



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**ASPECTOS DE LA BIOLOGÍA Y EL CONTROL DE *Eleusine indica* Y *Eleusine Tristachya* EN
BARBECHOS Y EN EL CULTIVO DE SOJA**

Ing. Agr. Alejandro M. Brunori

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

Director: Dr. Eduardo Puricelli

Co-Director: Dr. Ignacio Dellaferrera

ZAVALLA (SANTA FE) ARGENTINA

2019

ASPECTOS DE LA BIOLOGÍA Y EL CONTROL DE *Eleusine indica* Y *Eleusine tristachya* EN BARBECHOS Y EN EL CULTIVO DE SOJA

Alejandro Martín Brunori

Ingeniero Agrónomo – Universidad Nacional de Rosario

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR) Zavalla (Santa Fe) y en la Facultad de Cs. Agropecuarias (UNL) Esperanza (Santa Fe) durante el período comprendido entre el 1 de junio de 2015 y el 1 de septiembre de 2019, bajo la dirección del Dr. Eduardo Puricelli y la co-dirección del Dr. Ignacio Dellaferrera.

.....
Ing. Agr. Alejandro Brunori
Doctorando

.....
Dr. Eduardo Puricelli
Director

.....
Dr. Ignacio Dellaferrera
Co-director

Defendida: de de 2020

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo Puricelli por haberme compartido sus conocimientos a lo largo de estos 5 años. Aquello que comenzó como una relación laboral se transformó en una hermosa amistad. Gracias Edu por tu tiempo, las conversaciones, los viajes, enseñanzas y oportunidades.

A mi Co-director Dr. Ignacio Dellaferrera por brindarme tus conocimientos, tu optimismo para con el futuro y por asistirme todo este tiempo en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral (FCA-UNL) en Esperanza, Santa Fe.

A todos los integrantes de la cátedra de Terapéutica Vegetal y de Malezas de la Facultad de Cs. Agrarias UNR (FCA-UNR), por su apoyo en los experimentos y su compañía.

A los Ing. Agr. Mirta Kahl (EEA INTA Paraná) y Emiliano Jozami (Climatología Agrícola FCA-UNR) por facilitarme los biotipos de *Eleusine tristachya* de difícil control de Entre Ríos.

A los Ing. Agr. Carlos Gosparini y Nidia Montechiarini por su colaboración con el estudio de las semillas.

A Guillermo Boretto (FCA-UNL) por todo el trabajo en conjunto en la Facultad de Cs Agrarias en Esperanza y por el “buen café”.

A los Lic. Patricia Torres (FCA-UNR), Gonzalo Urrutia (Universidad de California, San Diego) y Belén Conde (EEA INTA Marcos Juárez) por su asistencia en los análisis estadísticos.

A los colegas Silvina Berasaluce, Renata Luna, Silvina Actis, Franco Herranz, Luca Miriani y José Testa por su colaboración en los experimentos. Además, muy especialmente al Sr. Juan Perez “Perito”, por su ayuda y todos los momentos compartidos en el invernáculo de la sección Malezas.

A Ariel Rodriguez (FCA-UNR) por su ayuda en la edición de esta tesis.

A las Facultades de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario y del Litoral por el acceso a sus instalaciones, y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por los recursos económicos a través de la beca doctoral.

A mis papás por haberme dado la posibilidad de estudiar y convertirme en profesional, y por su ayuda económica en este tiempo de Beca.

A mi ahijado Dante, por enseñarme a priorizar las cosas.

A mi esposa Melisa Defagot por su apoyo desde el primer día, por contenerme y alentarme siempre en todo lo que hago. Gracias por entender que el trabajo de campo no tiene fechas de calendario y por cuidar de Valentino cuando no estuve presente.

DEDICATORIA

A mi esposa Melisa,
a mi hijo Valentino,
y a los que vendrán.

A la vida.-

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

Publicaciones:

Brunori, A.; Puricelli, E. Effect of herbicides and doses on short- and long- term *Eleusine tristachya* control. Weed Research Journal ID: WRE-2019-0077. Aceptada con correcciones menores al momento de la presentación de la tesis.

Presentaciones a Congresos:

Brunori, A.; Berasaluce, S.; Gentili, A.; Luna, R. “Dormición en semillas de *Eleusine indica* (L.) Gaertn. Y *Eleusine tristachya* (Lam.) Lam.: Evaluación de técnicas para la salida de la dormición primaria”. En el libro resúmenes del XVIII Congreso y XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario 2016. Vol 1, núm. 1. Año 2016. ISSN: 2314-1484. Tipo de publicación: resumen breve.

Brunori, A.; Torres, P.; Berasaluce, S.; Luna, R. “Caracterización de la sensibilidad al control químico de biotipos de *Eleusine tristachya* (Lam.) Lam. y *Eleusine indica* (L.) Gaertn”. En el libro resúmenes del XIX Congreso y XXXVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario 2017. Vol 1, núm. 1. Año 2017. ISSN: 2314-1484. Tipo de publicación: resumen breve.

Brunori, A.; Herranz, F.; Balassone, F.; Puricelli, E. “Control de biotipos de *Eleusine tristachya* (lam.) lam. con distintas dosis de glifosato”. En las actas del II Congreso Argentino de Malezas ASACIM 2018: Ciencia, producción y sociedad: hacia un manejo sustentable, realizado los días 5 y 6 de junio de 2018 en el City Center Rosario, Santa Fe. Tipo de publicación: resumen breve.

Brunori, A.; Montechiarini, N.; Gosparini, C.; Lescano, M.; Herranz, F.; Puricelli, E. “Germinación de *Eleusine indica* (L.) Gaertn: Rol del tegumento”. En las actas del II Congreso Argentino de Malezas ASACIM 2018: Ciencia, producción y sociedad: hacia un manejo sustentable, realizado los días 5 y 6 de junio de 2018 en el City Center Rosario, Santa Fe. Tipo de publicación: resumen extendido.

INDICE

| | |
|--|----|
| Agradecimientos | 3 |
| Publicaciones y presentaciones a congresos | 6 |
| Abreviaturas y símbolos..... | 10 |
| Resumen | 11 |
| Summary | 13 |
| | |
| CAPÍTULO I | 15 |
| Introducción general y descripción del problema..... | 16 |
| Concepto de maleza | 16 |
| Problemática..... | 17 |
| Clasificación taxonómica de <i>Eleusine</i> spp..... | 17 |
| Origen, distribución geográfica e importancia..... | 18 |
| Ciclo de vida y descripción botánica | 19 |
| Caracterización de la zona de estudio | 22 |
| Justificación, objetivos, hipótesis y estructura del trabajo..... | 23 |
| Objetivo general..... | 23 |
| Objetivos específicos | 23 |
| Hipótesis | 24 |
| Estructura de la tesis..... | 26 |
| | |
| CAPÍTULO II | 28 |
| Control Químico. Efecto de las dosis de herbicidas postemergentes sobre el control a corto plazo de <i>Eleusine indica</i> , y a corto y largo plazo de <i>Eleusine tristachya</i> | 29 |
| Resumen | 29 |
| Introducción | 30 |
| Hipótesis | 31 |
| Materiales y métodos..... | 31 |
| Identificación de los biotipos..... | 31 |
| Diseño experimental..... | 32 |
| a) Control a corto plazo..... | 33 |
| b) Control a largo plazo..... | 33 |
| Resultados..... | 34 |
| a) Control a corto plazo..... | 34 |
| b) Control a largo plazo..... | 51 |
| Discusión | 54 |
| Conclusiones | 55 |

| | |
|---|-----|
| CAPÍTULO III | 57 |
| Competencia entre el cultivo de soja y las malezas <i>Eleusine indica</i> y <i>Eleusine tristachya</i> .. | 58 |
| Resumen | 58 |
| Introducción | 59 |
| Definición de interferencia, competencia y alelopatía..... | 59 |
| Evaluación de la competencia..... | 61 |
| Análisis del crecimiento de las plantas | 62 |
| Hipótesis | 62 |
| Materiales y métodos | 63 |
| Rendimiento relativo total (RYT) e índice de agresividad (AI)..... | 64 |
| Parámetros de crecimiento | 65 |
| Resultados y discusión | 66 |
| <i>RYT</i> _{biomasa} | 66 |
| Agresividad biomasa | 72 |
| <i>RYT</i> _{semillas} | 72 |
| Agresividad semillas | 74 |
| Altura de la planta | 75 |
| Parámetros de crecimiento | 76 |
| Producción de semillas | 79 |
| | |
| CAPÍTULO IV | 81 |
| Demografía de <i>Eleusine indica</i> y <i>Eleusine tristachya</i> en barbecho y en el cultivo de soja... | 82 |
| Resumen | 82 |
| Introducción | 83 |
| Hipótesis | 87 |
| Experimento 1. Demografía de <i>E. indica</i> y <i>E. tristachya</i> en el barbecho y en soja | 88 |
| Diseño experimental | 88 |
| Resultados | 91 |
| <i>Emergencia</i> | 92 |
| <i>Mortalidad</i> | 105 |
| <i>Producción de biomasa de las malezas</i> | 108 |
| <i>Producción de semillas de las malezas</i> | 108 |
| <i>Banco de semillas</i> | 109 |
| <i>Reclutamiento</i> | 111 |
| Discusión | 111 |
| Experimento 2. Efecto de la profundidad de entierro en la longevidad de la semilla de <i>Eleusine indica</i> y <i>Eleusine tristachya</i> | 117 |
| Introducción | 117 |
| Hipótesis | 117 |

| | |
|--|-----|
| Diseño experimental | 118 |
| Resultados..... | 118 |
| Discusión | 119 |
| | |
| CAPÍTULO V | 121 |
| Factores de las hojas que afectan la absorción de herbicidas y daño anatómico foliar causado por herbicidas en <i>Eleusine indica</i> y <i>Eleusine tristachya</i> en dos estados de crecimiento | 122 |
| Resumen | 122 |
| Introducción | 123 |
| Hipótesis | 128 |
| Materiales y Métodos..... | 129 |
| <i>Caracterización de la superficie foliar</i> | 129 |
| <i>Caracterización de cantidad de ceras epicuticulares</i> | 130 |
| <i>Estudios anatómicos foliares</i> | 130 |
| Resultados..... | 131 |
| <i>Caracterización de la superficie foliar y cantidad de ceras epicuticulares</i> | 131 |
| <i>Anatomía foliar</i> | 134 |
| Discusión | 141 |
| Conclusiones | 145 |
| | |
| CAPÍTULO VI | 146 |
| Reseña de tesis, análisis de las hipótesis y posibilidades de investigación futura..... | 147 |
| Reseña de tesis | 147 |
| Análisis de las hipótesis | 147 |
| Líneas futuras de investigación..... | 151 |
| | |
| BIBLIOGRAFÍA | 153 |

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

µm: micrómetro

A: *Eleusine tristachya* biotipo Aranguren

C: *Eleusine tristachya* biotipo Crespo

DDA: días después de la aplicación

DDE: días desde la emergencia

DDS: días después de la siembra

-dim: herbicida cicloheximida

EC: concentrado emulsionable

ED₅₀: dosis efectiva de herbicida que produce el 50 % de control de maleza

ED₉₀: dosis efectiva de herbicida que produce el 90 % de control de maleza

-fop: herbicida ariloxifenoxi

g: gramos.

h: hora.

ha: hectárea.

L: litro

m: metro.

min: minuto.

mL: mililitro.

n: número.

°C: grados Celsius

RYT: rendimiento relativo total

RY: rendimiento relativo

TDM: materia seca total por planta

RGR: tasa de crecimiento relativo

ACCasa: acetil coenzima carboxilasa

e.a.: equivalente ácido

i.a.: ingrediente activo

Zi: *Eleusine indica* biotipo Zavalla

Zt: *Eleusine tristachya* biotipo Zavalla

s: segundo

SL: líquido soluble

µmol: micromoles

RESUMEN

Las malezas son plantas que interfieren con la actividad productiva agrícola, están adaptadas a los ambientes modificados por el hombre y constituyen una de las principales causas de pérdida de rendimientos de los cultivos. En Argentina se ha incrementado el problema de malezas gramíneas de difícil control con glifosato y graminicidas en el barbecho y en el cultivo de soja. Es necesario generar conocimientos en la región sojera núcleo sobre las malezas de gran difusión como *E. indica* y especialmente de especies problemáticas de reciente aparición como *E. tristachya* de la que no se dispone de información a nivel mundial. Los objetivos de esta tesis fueron estudiar la bioecología y el control de *E. indica* y *E. tristachya* en el barbecho y en el cultivo de soja, abordando i) la caracterización de la sensibilidad de biotipos a glifosato y graminicidas en distintos estados de crecimiento; ii) la competencia entre las malezas y el cultivo de soja a través del análisis de la complementariedad de recursos (RYT) y la habilidad competitiva (IA) mediante la biomasa y producción de semillas; y de la altura y la tasa de crecimiento relativo (RGR) y producción de biomasa (TDM); iii) la dinámica poblacional con y sin herbicidas, la emergencia y mortalidad por cohortes, la producción de biomasa, la producción y longevidad de semillas; iv) el estudio de factores que afectan la absorción de estos herbicidas en dos estados de crecimiento de las malezas.

Los siguientes estudios se realizaron en el campo experimental de la Facultad de Cs. Agrarias UNR en Zavalla, Santa Fe:

Se determinó entre 2016 y 2018, el efecto de los herbicidas (glifosato, haloxifop-metil y cletodim) en el corto plazo (biomasa 30 días después de la aplicación-DDA-) y en el largo plazo (número de macollos, altura y producción de semilla - rebrote 330 DDA) – utilizando un diseño factorial en macetas con tres biotipos de *E. tristachya* y un biotipo de *E. indica* y se les aplicó 10 dosis de herbicidas en el estado de plántula, vegetativo y reproductivo. Los datos de biomasa fueron ajustados a un modelo log-logístico. El control de *E. indica* en el estado de plántula y de los biotipos de *E. tristachya* en los estados de plántula y vegetativo en el corto plazo se logró con ED₅₀ y ED₉₀ menores o iguales a las recomendadas para todos herbicidas. En cambio, *E. indica* en los estados vegetativo y reproductivo y *E. tristachya* en el estado reproductivo requirió mayores dosis con los tres herbicidas. El control a largo plazo de *E. tristachya* a la dosis recomendada o inferior no es aceptable en el estado reproductivo ya que se observó rebrote con todos los herbicidas.

Se estableció un banco artificial de semillas a partir del cual se identificaron tres cohortes diferentes todos los años. En *E. indica* y *E. tristachya* en 2016 no hubo diferencias en el número de plantas con y sin herbicida y la segunda cohorte presentó el mayor número de emergencias. En 2017 en ambas especies hubo mayor número de plantas sin

herbicidas. La tercera cohorte produjo menos plantas que las dos primeras. Sin aplicación de herbicida en la primera cohorte, la mortalidad de *E. indica* en 2016 fue menor que en *E. tristachya*. En 2017 no hubo diferencias. En la segunda y tercera cohorte la mortalidad fue del 100 %, lo que se atribuye a la competencia ejercida por el canopeo, ya que en el momento de emergencia de la segunda cohorte, la soja se encontraba en el estado V3-V4.

El estudio de la competencia se realizó en macetas a la intemperie durante 2016 y 2017 mediante un diseño aditivo. La cantidad de semillas producidas por planta fue superior para *E. indica* vs *E. tristachya*. Ambos años, RYT_{biomasa} y RYT_{semillas} entre malezas no fue significativamente diferente de 1, indicando competencia completa o ausencia de complementariedad de recursos. La biomasa de *E. indica* en presencia de *E. tristachya* en relación con su monocultura creció 80 %, mientras que *E. tristachya* en presencia de *E. indica* aumentó 26 %. Por lo tanto, la reducción del crecimiento debido a la competencia fue menor para *E. indica*. En los estadíos R3 y R5 de la soja, *E. indica* presentó mayor altura que el cultivo y que *E. tristachya*. RGR entre ambas especies de *Eleusine* no difirió, excepto a los 7 días después de la emergencia (DDE) y en los momentos de RGR máximo para cada especie (0,37 a 42 DDE en *E. indica* y 0,32 a 49 DDE en *E. tristachya*). Estos resultados también señalan que *E. indica* alcanzó su máximo RGR antes que *E. tristachya*. La TDM al final del ciclo de crecimiento en *E. indica* es 90 g superior que la de *E. tristachya*.

En la Facultad de Cs. Agrarias UNL en Esperanza se realizó la caracterización morfológica y anatómica foliar de *Eleusine indica* (Zavalla) y de tres biotipos de *Eleusine tristachya* (Aranguren, Crespo y Zavalla) en estado vegetativo y reproductivo, a través de la cuantificación de tricomas, estomas, y la cantidad de ceras epicuticulares; y de la evaluación del daño anatómico foliar a las 96 h post aplicación de glifosato y graminicidas. La densidad estomática aumentó en todos los casos en el estado reproductivo en relación al estado vegetativo. La cantidad de ceras epicuticulares en estado vegetativo y reproductivo fue mayor para los biotipos de *E. tristachya* Aranguren y Crespo. No se hallaron diferencias entre estados de crecimiento para cada especie y biotipo. Todos los herbicidas produjeron cambios en la anatomía foliar de las malezas, principalmente en el espesor de los tejidos de la hoja.

La integración de los conocimientos generados sobre la bioecología y control de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* suscitará el diseño de estrategias y tácticas de control que de manera integrada permitan un abordaje sustentable de los agroecosistemas de la región pampeana.

Palabras Claves: MALEZAS GRAMÍNEAS- HERBICIDAS – DINÁMICA POBLACIONAL

ASPECTS OF THE BIOLOGY AND CONTROL OF *Eleusine indica* AND *Eleusine tristachya* IN FALLOWS AND SOYBEANS

SUMMARY

Weeds are plants that interfere with agricultural productive activity, are adapted to man-modified environments and constitute one of the main causes of loss of crop yields. In Argentina, concern about grassy annual weeds control with glyphosate and graminicides in fallow and soybean cultivation has increased lately. It is necessary to generate knowledge in the central soybean region about widespread weeds such as *E. indica* and especially of problematic species of recent appearance such as *E. tristachya* for which there is no information available worldwide. The objectives of this thesis were to study the bioecology and control of *E. indica* and *E. tristachya* in the fallow and in soybean, addressing i) the characterization of the biotypes sensitivity to glyphosate and graminicide in different growth stages; ii) competition between weeds and soybean through the analysis of resource complementarity (RYT), competitive ability (AI), and biomass and seed production; and height and relative growth rate (RGR) and biomass production determined by total dry matter (TDM); iii) population dynamics with and without herbicides, emergence and mortality in each cohort, biomass and seed production and seed longevity; iv) the study of factors that affect the absorption of glyphosate and graminicides in two stages of weed growth.

The following studies were conducted in the experimental field of the Facultad Cs. Agrarias UNR at Zavalla, Santa Fe:

Between 2016 and 2018, the effect of herbicides (glyphosate, haloxyfop-methyl and cletodim) was determined in the short term (biomass 30 days after application-DDA-) and in the long term (number of tillers, height and production of seed - regrowth 330 DDA) - using a factorial design in pots with three biotypes of *E. tristachya* and a biotype of *E. indica* and 10 doses of herbicides were applied in the seedling, vegetative and reproductive stage. The biomass data were adjusted to a log-logistic model. The control of *E. indica* at the seedling stage and of the biotypes of *E. tristachya* at the seedling and vegetative stages in the short term was achieved with ED₅₀ and ED₉₀ less than or equal to those recommended for all herbicides. In contrast, *E. indica* at the vegetative and reproductive stages and *E. tristachya* at the reproductive stage required higher doses with the three herbicides. Long-term control of *E. tristachya* at the recommended or lower dose is not acceptable in the reproductive stage since regrowth was observed with all herbicides.

An artificial seed bank was established, and three different cohorts were identified every year. For *E. indica* and *E. tristachya* in 2016 there were no differences in the number of plants with and without herbicide and the second cohort showed the highest emergence.

In 2017 in both species density was higher without herbicides. The third cohort produced fewer plants than the first two. Without herbicide application in the first cohort, the mortality of *E. indica* in 2016 was lower than for *E. tristachya*. In 2017 there were no differences. In the second and third cohort the mortality was 100%, which is attributed to the competition exerted by the canopy, since at the time of emergence of the second cohort, soybean were in the V3-V4 stages.

The study of the competition was carried out outdoors in pots during 2016 and 2017 using an additive design. The quantity of seeds produced per plant was higher for *E. indica* vs. *E. tristachya*. Both years, RYT_{biomass} and RYT_{seeds} among weeds was not significantly different from 1, indicating complete competition or lack of resource complementarity. The biomass of *E. indica* in the presence of *E. tristachya* in relation to its monoculture was 80%, while *E. tristachya* in the presence of *E. indica* was 26%. Therefore, the reduction in growth due to competition was lower for *E. indica*. In R3- R5 of soybean stages, *E. indica* showed greater height than the crop and than *E. tristachya*. RGR did not differ between both species of *Eleusine*, except at 7 days after emergence (DAE) and at periods of maximum RGR for each species (0.37 to 42 DDE in *E. indica* and 0.32 to 49 DDE in *E. tristachya*). These results also indicate that *E. indica* reached its maximum RGR before *E. tristachya*. TDM at the end of the growing season was 90 g higher for *E. indica* than for *E. tristachya*.

At Facultad Cs. Agrarias UNL at Esperanza, the morphological and anatomical characterization of *Eleusine indica* (Zavalla) and three biotypes of *Eleusine tristachya* (Aranguren, Crespo and Zavalla) were carried out in a vegetative and reproductive stages, through the quantification of trichomes, stomata, and amount of epicuticular waxes; and the evaluation of the anatomical damage foliar at 96 h post application of glyphosate and graminicides. Stomatic density increased in all cases in the reproductive relative to the vegetative stage. The amount of epicuticular waxes in the vegetative and the reproductive stages were higher for the biotypes of *E. tristachya* Aranguren and Crespo. No differences were found between growth stages for each species and biotype. All herbicides produced changes in the leaf anatomy of the weeds, mainly in the thickness of the leaf tissues.

Integration of the results obtained about the bioecology and control of *Eleusine indica* and *Eleusine tristachya* will contribute to the design of control strategies and tactics so as to allow a sustainable management of the agroecosystems of the soybean central region.

Keywords: GRASSY WEEDS - HERBICIDES - POPULATION DYNAMICS

CAPÍTULO I

Introducción general y descripción del problema

CAPÍTULO I

Introducción general y descripción del problema

Concepto de maleza

Históricamente, los agricultores han reconocido que las especies no cultivadas interferían con el crecimiento del cultivo (Martínez Ghera et al., 2000). Las malezas prosperan en hábitats perturbados y producen suficiente número de semillas viables (Cavers, 1983). Existen numerosas definiciones de maleza como la de Ralph Waldo Emerson: "planta cuyas virtudes aún no se han descubierto". La mayoría de las definiciones modernas consideran a las plantas de malezas como indeseables. Las plantas no son deseadas por muchas razones, siendo la principal la idea de que la planta de maleza dificulta la actividad humana. Tradicionalmente, las malezas son plantas no deseadas que interfieren con la utilización de los recursos de la tierra y el agua y, por lo tanto, afectan negativamente el bienestar humano" (Rao, 2000). Esta definición no se refiere a la biología de las plantas de malezas, sino que sugiere que las malezas solo interfieren con la actividad de los humanos. Además, esto lleva a comprender que los cultivos que crecen espontáneamente pueden considerarse a veces malezas. Navas (1991) incluyó aspectos biológicos y ecológicos en la definición de malezas: "Las malezas son plantas que forman poblaciones que pueden ingresar a hábitats cultivados y potencialmente afectar a las poblaciones de plantas cultivadas. Aldrich y Kremer (1997) definieron a nivel ecológico una maleza como "una planta que se originó en un entorno natural y, en respuesta a los ambientes naturales o impuestos, evolucionó, y continúa haciéndolo, como una asociación que interfiere con nuestros cultivos y actividades". En esta definición, las malezas se reconocen como parte de un "ecosistema dinámico". Crawley (1997) reconoció las dificultades de la definición de malezas y sugirió que para que una especie se considere maleza debe encontrarse en una densidad por encima de un nivel específico que cause un daño.

En la presente tesis se considera a la maleza como una especie de planta que interfiere con la actividad productiva agrícola, está adaptada a los ambientes modificados por el hombre y constituye una de las principales causas de pérdida de rendimientos de los cultivos (Bedmar et al., 2000).

Problemática

Descripción del problema

Las malezas constituyen una de las principales causas de pérdida de rendimientos de los cultivos (Bedmar et al., 2000). El pasaje de labranza convencional a siembra directa primero, y a partir de 1997 la introducción de cultivares transgénicos resistentes a glifosato ha producido cambios en las comunidades de malezas (Faccini y Puricelli, 2007; Puricelli y Faccini, 2009). En la actualidad, los materiales resistentes a glifosato representan prácticamente el 100% de la superficie de soja y el 75% de la superficie de maíz (Trigo, 2016).

Entre las malezas presentes en el cultivo de soja las gramíneas, tanto anuales como perennes, se han convertido en uno de los principales problemas para la región sojera núcleo, elevando año tras año los costos en herbicidas para su control (Tuesca y Puricelli, 2007, CREA; 2015; Carta y Baudrix, 2019). Dos exponentes son *Eleusine indica* (L.) Gaertner y como especie de reciente aparición del mismo género, *E. tristachya* (Lam.) Lamarck. Ambas especies se encuentran a menudo creciendo juntas en los mismos cultivos agrícolas.

Eleusine indica es una especie anual, ampliamente difundida en distintas partes del mundo, y descrita por Holm et al. (1977) como la quinta maleza más importante del mundo en un ranking compuesto por 18 malezas. Al presente posee 35 biotipos resistentes a herbicidas alrededor del mundo, de los cuales 5 corresponden a resistencia múltiple (Ng et al, 2004, Vargas et al., 2013, Scarabel et al. 2014, Heap, 2019). Por otro lado, la especie perenne *E. tristachya*., cuya reproducción se logra a través de semillas y rizomas, fue hasta hace poco tiempo un problema menor ya que se encontraba en relictos y ocasionalmente en lotes de producción en muy bajas densidades (Puricelli et al., 2012), pero recientemente se incrementó su importancia en los barbechos, en soja [*Glycine max* (L.) Merr.] y otros cultivos de verano como una especie de difícil control (Acciaresi et al., 2018), si bien no se han determinado biotipos resistentes de esta maleza.

Clasificación taxonómica de *Eleusine* spp.

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Monocotyledoneae

Orden: Poales

Familia: Gramíneas o Poaceae

La familia Poaceae presenta un número significativo de especies que se han convertido en invasoras

Género: *Eleusine* Gaertner incluye 9-11 especies, siete de las cuales viven en África, que parece ser el centro de la diversificación del género (Phillips 1972). Se puede dividir en dos grupos de especies, anuales o perennes (Blumenthal y Jordan, 2001) reconocidas como un problema en los agroecosistemas a nivel mundial (Steinmann y Klingebiel, 2004).

En cada grupo, las diferencias entre las especies suelen ser pequeñas. Se analizan a continuación las especies consideradas en esta tesis:

1) Nombre científico: *Eleusine indica* (L.) Gaertner

Nomenclatura

Nombre común en la región de estudio: pata de ganso. Otros nombres comunes en español: pie de gallina, grama, horquetilla, paja de burro, pasto amargo, grama carraspera. Nombres comunes en inglés: goosegrass, crowsfoot grass, yard grass, wire grass (CABI, 2019).

2) Nombre científico: *Eleusine tristachya* (Lam) Lamarck

Nomenclatura

Nombre común en la región de estudio: pasto ruso, pata de perdíz, pata de gallo. Otros nombres comunes en español: pata de gallo, pata de perdiz. Nombres comunes en inglés: three-spiked goosegrass, goosegrass, crowsfoot grass (CABI, 2019)

Origen, distribución geográfica e importancia

Eleusine indica es una gramínea exótica introducida en América que está distribuida en los trópicos especialmente en Asia, África, Sudamérica y en el sur de Norteamérica. Su hábitat es amplio encontrándose desde el nivel del mar hasta los 2500 m salvo en regiones de clima frío. Está catalogada como una de las malezas gramíneas más importantes del mundo y se ha informado que es dañina en 45 cultivos en huertos, granjas de hortalizas y cultivos agronómicos como el maíz (Kissmann, 1997) y la soja (Ulguim, 2016, Puricelli et al, 2012) en más de 60 países (Holm et al., 1977, Holm et al., 1979; Radosevich et al., 1997; Lee y Ngim, 2000; Randall, 2012; Ma et al., 2015). Una sola planta puede producir más de 50,000 semillas pequeñas, que pueden ser fácilmente dispersadas por el viento y el agua, adheridas a pieles de animales y maquinaria y como contaminantes en el suelo (Waterhouse, 1993). Invade hábitats perturbados en áreas naturales y en los márgenes de

bosques naturales y pastizales, marismas, arroyos y áreas costeras. También es una maleza común a lo largo de rutas, caminos y corredores de líneas eléctricas (Departamento de Industrias Primarias y Pesca de Queensland, 2011). Actualmente está catalogada como invasiva en varios países de Europa, Asia, América Central y del Sur, el Caribe y en muchas islas del Océano Pacífico. El estatus migratorio en Argentina es el de especie naturalizada.

Eleusine tristachya es autóctona del norte y centro de Argentina y países limítrofes (Burkart, 1969; Phillips, 1972; Willis, 1973; Troiani, 2008). Se encuentra presente en América del Norte y Europa como especie invasora (CABI, 2019). Puede presentarse en los alrededores de poblaciones y en la vegetación urbana.

Ciclo de vida y descripción botánica

Eleusine indica es una especie cosmopolita, anual, de ciclo estival. Forma matas de 30 a 60 cm de altura (Foto 1.4) Posee tallos comprimidos, subglabros, de sección elíptico, tenaces, con hojas y ramificaciones basales y caulinares (Foto 1.2, 1.3). Sus hojas son lineales, dísticas, con lígula muy brevemente membranosa y pestañosa (Foto 1.1). Presenta además innovaciones intravaginales. Su estructura reproductiva está compuesta por numerosas espigas digitadas en el ápice, con espiguillas sésiles, comprimidas, glabras y múticas (Foto 1.5). Su fruto es un aquenio utrículo, ovoide, grueso, oscuro, de 2 mm largo (Burkart, 1969; Gasser y Vegetti, 1997).

Eleusine tristachya es perenne, de ciclo primavera estival. Se encuentra presente en Sudamérica cálida, especialmente en Argentina y Uruguay. Asimismo, también se encuentra naturalizada en otros países. Es cespitosa, forma matas densas de 10 a 45 cm de altura (Foto 1.4). Posee tallos delgados, tenaces, comprimidos (Foto 1.2, 1.3). Sus hojas son lineales, plegadas, con su zona ligular pálida, a veces con un mechón de pelitos sedosos y su lígula es brevemente membranosa y pestañosa (Foto 1.1). Su estructura reproductiva está compuesta por espigas en cantidades variables de una a tres, cortas y gruesas, digitadas en la extremidad, con un mechón de pelos sedosos en su inserción (Foto 1.5). El fruto es un aquenio utrículo de 2 mm de longitud, grueso, ovoide, de color oscuro (Burkart, 1969, Gasser y Vegetti, 1997). Ambas especies emergen a mediados de octubre y vegetan hasta mayo, creciendo en los cultivos estivales. Florecen desde fines de enero hasta el otoño (Parodi, 1964).



Foto 1.1. *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) en estado vegetativo. Plántula



Foto 1.2. *Eleusine indica* (izquierda) y *Elusine tristachya* (derecha) en estado vegetativo. Planta chica



Foto 1.3. *Eleusine indica* (izquierda) y *Elusine tristachya* (derecha) en estado vegetativo. Pre-reproductivo



Foto 1.4. *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) en plena floración y fructificación



Foto 1.5. Inflorescencia de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha)

Control químico

Herbicidas utilizados

Eleusine indica y *E. tristachya* son susceptibles a prácticamente todos los grupos de herbicidas estándar que controlan gramíneas (en paréntesis algunos ejemplos): ureas sustituidas (diuron), uracilos (bromacilo), triazinas (atrazina), dinitroanilinas (trifluralina), dimetiléteres (oxifluorfen), graminicidas (fluazifop, sethoxydim), imidazolinonas (imazaquin), propanil, oxadiazón, clomazone, quinclorac, difenamida, paraquat, glufosinato, glifosato y flumioxazin (CABI, 2019).

Resistencia

El uso de herbicidas en la actualidad está siendo amenazado por la evolución de malezas resistentes y tolerantes (Duke & Powles, 2008, Heap 2019). A pesar de existir muchos mecanismos de acción, el control de *Eleusine indica* se ha visto comprometido por el desarrollo de resistencia a algunos herbicidas. La primera resistencia que se detectó fue a

trifluralina perteneciente al grupo dinitroanilinas en los EEUU. y se ha demostrado que hay resistencia cruzada a todos los demás herbicidas de este grupo (Vaughn et al., 1990). En Costa Rica, Valverde et al., (1993) informó la resistencia al imazapyr con resistencia cruzada a otras imidazolinonas y a sulfonilurea. Dos años más tarde, Leach et al., (1995) encontró resistencia cruzada de fluazifop-butil con a la mayoría de los graminicidas en Malasia. Asimismo, se ha reportado resistencia a quinclorac (Yukari et al., 2009), Otros biotipos resistentes a ariloxifenoxipropionato y ciclohexanodiona se han reportado en Malasia desde 1989, pero eran fácilmente controlados con glifosato. En EEUU también se encontró resistencia a este grupo de herbicidas (McCullough et al., 2016). Más tarde, se encontró un biotipo resistente a glifosato con un índice de resistencia de 8 a 12 (Lee LimJung y Ngim, 2000). Dill et al. (2000) informaron que no hubo diferencias significativas en la absorción y translocación de glifosato en biotipos resistentes y sensibles. Doll (2000) afirmó que la resistencia al glifosato es de tipo *target*. Las poblaciones resistentes al glifosato también se han confirmado en EEUU (Mueller et al., 2011) y con menores valores de resistencia en Rio Grande do Sul, Brasil (Vargas et al., 2013) y en Argentina (Ustarroz y Rainiero, 2013), en China (Chen et al., 2017) y en Bolivia (Heap, 2019). En Argentina se reportó un biotipo resistente a ACCasa (Devani, 2016). Se ha informado también la existencia de resistencia múltiple a glifosato, inhibidores de ACCasa y otros herbicidas (Heap, 2019). Al momento de la presentación de esta tesis no han sido reportados casos de resistencia a herbicidas para *E. trystachya*. Sin embargo, posee denuncias de técnicos y productores por ser una maleza de difícil control con herbicidas.

Caracterización de la zona de estudio

El área del estudio está ubicada en la pampa ondulada, en el sur de la provincia de Santa Fe, Argentina. La cuenca corresponde a la del Arroyo Ludueña, a pocos kilómetros de sus nacientes, por lo que ocupa una posición relativamente elevada.

Posee un clima subhúmedo-húmedo mesotermal con inviernos fríos y veranos calurosos. Se presentan los promedios históricos de los últimos 46 años (1973-2018) de la Estación Agrometeorológica ubicada en Zavalla, Santa Fe (lat. 33° 01 'S; long. 60° 53'). La temperatura máxima fue 23 °C, la mínima de 11 °C y la media de 17 °C. El clima es caluroso desde octubre a abril (de 18 °C a 36 °C). La precipitación anual histórica en Zavalla fue de 901 mm. En la región, llueve más en verano que en invierno, con un volumen de precipitaciones total de entre 800 y 1300 mm al año.

La vegetación natural corresponde a la pampa santafesina caracterizada por una pradera o pseudoestepa donde la comunidad más importante en áreas altas y bien drenadas es el flechillar (*Stipa* spp.). Se realizan cultivos de invierno (trigo) y de verano (soja, maíz y girasol). El suelo se clasifica taxonómicamente como Argiudol vértico y pertenece a la serie Roldan (Rd11). Presenta una capa superficial pardo oscura (horizonte A) de 28 cm de espesor, moderadamente bien provista de materia orgánica (3,3 %), y una composición textural de 2 % arena, 74 % limo and 23 % arcilla con pH of 5,8. El paisaje se caracteriza por tener lomas extendidas planas con pendiente de 0,5 %.

Justificación, objetivos, hipótesis y estructura del trabajo

En Argentina se ha incrementado el problema de malezas gramíneas de difícil control con glifosato y graminicidas en el barbecho y en el cultivo de soja por lo cual es necesario generar conocimientos locales de la bioecología y el control de las malezas de gran difusión en la región como *E. indica* y especialmente de especies problemáticas de reciente aparición como *E. tristachya* de la que, para mi conocimiento, no se dispone de información a nivel mundial. De esta manera se suscitará el uso de un manejo racional de las tácticas de control que permita un abordaje sustentable de los agroecosistemas.

En este marco, el plan de trabajo comprende el estudio de la biología y el control de *E. indica* y *E. tristachya* en el barbecho y en el cultivo de soja, abordando la dinámica poblacional, la producción de biomasa, la producción y longevidad de semillas, la competencia entre estas malezas de verano y el cultivo de soja, la caracterización de la sensibilidad de biotipos a glifosato y graminicidas, y el estudio de factores que afectan la absorción de estos herbicidas en las especies bajo estudio.

Objetivo general

Estudiar la bioecología y el control de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en el barbecho y en el cultivo de soja.

Objetivos específicos

Estudiar para ambas malezas:

1. el control con distintas dosis de herbicidas (glifosato, graminicidas ariloxifenoxi (fop) y cicloheximidias (dim) en distintos estadios de desarrollo
2. la complementariedad de recursos y la habilidad competitiva en base a materia seca y semillas, y la altura en competencia entre sí y con el cultivo de soja

3. la materia seca total por planta (TDM), tasa de crecimiento relativo (RGR) y la producción de semillas
4. la dinámica poblacional en el barbecho y en el cultivo de soja con y sin herbicida
5. la longevidad de las semillas
6. los factores que afectan la absorción de los herbicidas: características de la superficie foliar, cantidad de las ceras epicuticulares, el espesor y el aspecto de la cutícula foliar
7. el daño producido por el glifosato y los graminicidas en la anatomía foliar

Hipótesis

Se plantearon las siguientes hipótesis

Asociadas al objetivo n°1

- a) La sensibilidad medida a nivel de DL₅₀ con glifosato del biotipo de *E.indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya*.
- b) La sensibilidad medida a nivel de DL₉₀ (que expresa el control esperado a campo) con glifosato del biotipo de *E.indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya*.
- c) Existe al menos un biotipo de *E. tristachya* que al estado de plántula posee una DL₅₀ que supera en 4 veces o más la DL₅₀ del resto indicando así la existencia de biotipos susceptibles y resistentes dentro de la especie.
- d) La DL₉₀ con glifosato de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* en todos los estadios de crecimiento y biotipos.
- e) Considerando la DL₉₀ en relación a la dosis de uso, se requiere más dosis de glifosato que de graminicidas para controlar a todos los biotipos de *E. tristachya* y de *E. indica*.
- f) El rebrote de las plantas de *E. tristachya* aplicadas a la dosis de uso en estadio reproductivo se produce con glifosato, pero no con graminicidas.

Asociadas al objetivo n°2

- a) El rendimiento relativo (RY) evaluado a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*).
- b) El RY es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*.
- c) La complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja - *E. tristachya* que para soja - *E. indica*.

- d) La complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja-malezas que para las malezas entre sí.
- e) La habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*).
- f) La habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*.
- g) El RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*).
- h) El RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*.

Asociadas al objetivo n°3

- i) La tasa de crecimiento relativo (RGR) de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* durante todo el ciclo

Asociadas al objetivo n°4

- a) La emergencia de ambas especies de *Eleusine* difieren en el inicio y en la cantidad de individuos.
- b) La mortalidad natural en el cultivo de soja de las plántulas es reducida en ambas especies en el primer año aumentando en el segundo en *E. indica* y en *E. tristachya*.
- c) La mortalidad artificial de plantas producida por glifosato es menor que la producida por el graminicida.
- d) El reclutamiento de ambas especies de *Eleusine* es estable entre años.
- e) El control del graminicida sobre la producción de semillas en todas las cohortes es superior al de glifosato.
- f) En el cultivo de soja, *Eleusine indica* posee mayor producción de semillas.m⁻² que *E. tristachya*.
- g) El banco de semillas sin control químico en postemergencia se incrementa más en *E. tristachya* que en *E. indica*.

Asociadas al objetivo n°5

- h) La longevidad de las semillas en superficie vs 5 cm de profundidad a los 24 meses es mayor, si bien el porcentaje de longevidad difiere entre especies.

Asociadas al **objetivo n°6**

- a) La densidad estomática, la densidad de tricomas y la cantidad de ceras en nomófilos de tres biotipos de *E. tristachya* y un biotipo de *E. indica* es distinta, afectando de manera diferencial la absorción y en consecuencia la eficacia de glifosato y graminicidas.
- b) La cutícula de individuos más desarrollados presenta una mayor acumulación de ceras que actúan como un compartimento de la acumulación de herbicidas y, por lo tanto, impiden mayormente la entrada de graminicidas y en menor medida de glifosato.

Asociadas al **objetivo n°7**

- c) El daño anatómico foliar en plantas *E. tristachya* y *E. indica* difiere con los herbicidas glifosato, cletodim y haloxifop; y con el estadio de desarrollo de la maleza.

Estructura de la tesis

El presente trabajo de tesis se organiza de la siguiente manera:

En el Capítulo I - "Introducción general y descripción del problema", se brinda información general del tema de la tesis, se plantea la problemática, se caracterizan tanto la zona como las especies estudiadas y se plantean los objetivos.

En el Capítulo II - "Efecto de los herbicidas y dosis en el control de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya*", se cuantifica la sensibilidad de cada maleza a glifosato y graminicidas inhibidores de ACCasa, considerando el estadio de las plantas al momento de la aplicación a través de curvas dosis-respuesta.

En el Capítulo III - "Competencia de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* entre sí y con el cultivo de soja", se analizan a través de un diseño aditivo diversos índices para cuantificar la complementariedad de recursos y la habilidad competitiva, relacionando la producción de biomasa y de semillas de cada especie en monocultura y en mezcla.

En el Capítulo IV - "Demografía de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en barbecho y en el cultivo de soja", se estudia la dinámica poblacional a través de los cambios en densidad en los distintos estadios de ambas especies (semillas en el banco, plántulas, adultos y producción de semillas) a fin de identificar los procesos demográficos más vulnerables al empleo de herbicidas.

En el Capítulo V - "Factores de las hojas que afectan la absorción de herbicidas y daño anatómico foliar causado por herbicidas en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en dos

estados de desarrollo”, se comparan la densidad de tricomas, estomas, y la cantidad de ceras epicuticulares en *Eleusine indica* y en tres biotipos de *Eleusine tristachya* (Aranguren, Crespo y Zavalla) con el objetivo de analizar si estas características morfológicas contribuyen a una menor susceptibilidad a los herbicidas, y además se analizan las alteraciones producidas en la anatomía foliar de estas malezas luego de la aplicación de glifosato y graminicidas.

En el Capítulo VI- “Consideraciones finales, conclusión y estudios futuros”, se integran los conocimientos alcanzados en los capítulos precedentes y se señalan las perspectivas de posibles futuros estudios sobre el manejo de ambas malezas.

CAPÍTULO II

Control Químico

Efecto de las dosis de herbicidas postemergentes sobre el control a corto plazo de *Eleusine indica*, y a corto y largo plazo de *Eleusine tristachya*

CAPÍTULO II

Control Químico. Efecto de las dosis de herbicidas postemergentes sobre el control a corto plazo de *Eleusine indica*, y a corto y largo plazo de *Eleusine tristachya*

Resumen

Eleusine indica y *E. tristachya* se han constituido en Argentina como malezas problemáticas que pueden estar presentes en altas densidades en primavera y verano en barbechos y en maíz y soja. En particular, la razón del aumento de las poblaciones de *E. tristachya*, es que una vez que se establece la maleza, es difícil de eliminar ya que produce una gran cantidad de semillas y se genera un nuevo crecimiento de las plantas después de los tratamientos con herbicidas. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los herbicidas (glifosato, haloxifop-metil y cletodim) en el corto plazo (biomasa 30 días después de la aplicación-DDA-) y en el largo plazo (número de macollos, altura y producción de semilla - rebrote 330 DDA) - de biotipos de *E. tristachya* y *E. indica* aplicados en el estado de plántula, vegetativo y reproductivo. Los datos de biomasa fueron ajustados a un modelo log-logístico. El control de *E. indica* en el estado de plántula y de los biotipos de *E. tristachya* en los estados de plántula y vegetativo en el corto plazo se logró con ED₅₀ y ED₉₀ menores o iguales a las recomendadas para todos herbicidas. En cambio, *E. indica* en los estados vegetativo y reproductivo y *E. tristachya* en el estado reproductivo requirieron mayores dosis con los tres herbicidas. En *E. tristachya* los valores de ED₉₀ en estado reproductivo mostraron un aumento en relación al de plántula de 3 a 6 veces (glifosato), 6 a 52 veces (haloxifop-metil) y de 5 a 13 veces (cletodim). En *E. indica* este aumento fue de 2 a 4 veces para glifosato y no se pudo cuantificar para haloxifop-metil ni cletodim ya que los datos no ajustaron en estado reproductivo por el escaso control logrado a las máximas dosis ensayadas. El control a largo plazo de *E. tristachya* a la dosis recomendada o inferior no es aceptable en el estado reproductivo ya que el crecimiento de los macollos y la producción de semillas ocurrieron con todos los herbicidas. En consecuencia, se recomienda el control de *E. tristachya* al comienzo de la temporada de crecimiento ya que permite evitar infestaciones debidas al rebrote al año siguiente. Un programa de manejo basado en la combinación de glifosato con graminicidas post-emergencia aplicados en etapas tempranas será efectivo para controlar futuras infestaciones de la maleza.

Introducción

Eleusine indica y *E. tristachya* son capaces de colonizar rápidamente una variedad de ambientes diferentes. Ambas especies se propagan por semillas incrementando el banco en el suelo, y además *E. tristachya* lo hace también por rizomas lo que le permite reanudar el crecimiento luego del invierno. En Argentina, los cultivos agrícolas en la región sojera núcleo se encuentran mayoritariamente bajo sistemas de siembra directa (Alvarez y Steinbach, 2009) en los cuales la ausencia de remoción del suelo favorece la germinación y la emergencia de gramíneas de semillas pequeñas (Teasdale et al., 1991).

A partir de la década del 90 a nivel mundial y en Argentina en particular, los productores adoptaron rápidamente el maíz y la soja resistente a glifosato en sus esquemas productivos (Sikkema y Soltani, 2007). En los últimos años en Argentina, las aplicaciones de glifosato en el barbecho y en los cultivos han aumentado significativamente (Benbrook, 2016). El glifosato es un herbicida foliar no selectivo que puede ser aplicado en presiembra, preemergencia y postemergencia para el control de un amplio espectro de malezas anuales, bienales y perennes (Shaner, 2014). Además, el control de malezas gramíneas anuales y perennes se puede lograr mediante el uso de herbicidas inhibidores de la acetil coenzima carboxilasa (ACCase) en los barbechos y en los cultivos agrícolas (Burton et al., 1989) siendo ampliamente utilizados en soja (Vidrine, 1989, Vidrine et al., 1995; Wall y Smith, 2000). Estos herbicidas se clasifican en ariloxifenoxipropionatos (FOP), ciclohexanodionas (DIM) y fenilpirazolina (DEN) según sus estructuras químicas (Hochberg et al., 2009). Aunque los herbicidas inhibidores de la ACCase han demostrado ser muy eficaces en el control de malezas gramíneas, se han observado diferencias en los niveles de control entre distintas especies de gramíneas y biotipos. *Eleusine indica* posee varios biotipos resistentes al glifosato y ACCase en distintas partes del mundo como se ha comentado en el Capítulo 1.

Norsworthy et al. (2012) han informado que aplicaciones tardías de glifosato o graminicidas en los cultivos es una opción potencial para disminuir la producción de semillas y los escapes de gramíneas perennes como *Sorghum halepense*. Sin embargo, como se ha comentado, en *E. tristachya* se han observado rebrotes después de tratamientos de dichos herbicidas postemergentes en plantas provenientes de semillas, lo cual la convierte en una especie de difícil manejo con herbicidas en el largo plazo.

La determinación de la dosis de herbicida más adecuada de acuerdo al estado de desarrollo de las malezas ayuda a los productores a maximizar el control de las malezas y el rendimiento del cultivo. El pequeño tamaño de las plantas de malezas en el momento de la aplicación de herbicida es un factor clave para lograr un control adecuado, ya que en un estado temprano las malezas son más susceptibles (Klingman et al., 1992; Soltani et al.,

2016). El tamaño de la maleza influye particularmente en la eficacia de glifosato (Shrestha et al., 2007) y graminicidas (Friesen et al., 1976). Para *E. tristachya* y *E. indica* no hay información sobre la dosis biológicamente efectiva de herbicidas postemergentes en función de sus estados de desarrollo, y una mejor comprensión de las diferencias en el control entre los biotipos es esencial para desarrollar estrategias de manejo a corto y largo plazo. Los objetivos de este capítulo fueron determinar el control de los herbicidas postemergentes (glifosato, haloxifop-metil y cletodim) a diferentes dosis entre biotipos de *E. tristachya* y un biotipo de *E. indica* en tres etapas (plántula, vegetativa y reproductiva) a corto plazo mediante la reducción de la biomasa y en el largo plazo a través del efecto sobre el número de macollos, altura de la planta y la producción de semillas.

Hipótesis

- a) La sensibilidad medida a nivel de DL_{50} con glifosato del biotipo de *E. indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya*.
- b) La sensibilidad medida a nivel de DL_{90} (que expresa el control esparado a campo), con glifosato del biotipo de *E. indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya*.
- c) Existe al menos un biotipo de *E. tristachya* que al estado de plántula posee una DL_{50} que supera en 4 veces o más la DL_{50} del resto indicando así la existencia de biotipos susceptibles y resistentes dentro de la especie.
- d) La DL_{90} con glifosato de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* en todos los estados de crecimiento y biotipos.
- e) Considerando la DL_{90} en relación a la dosis de uso, se requiere más dosis de glifosato que de graminicidas para controlar a todos los biotipos de *E. tristachya* y de *E. indica*.
- f) El rebrote de las plantas de *E. tristachya* aplicadas a la dosis de uso en estado reproductivo se produce con glifosato, pero no con graminicidas.

Materiales y métodos

Los experimentos se realizaron en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias UNR (lat. 33°01'S, long. 60°53'O), Zavalla, Santa Fe, Argentina.

Identificación de los biotipos

En 2016 se recolectaron semillas en tres campos de la región sojera central de Argentina: Aranguren, Entre Ríos (A) {Lat. 32° 14' S Long. 60° 07' O}; Crespo, Entre Ríos (C) {Lat. 32° 02' S, Long. 60° 21' O} y Zavalla, Santa Fe (Zt) {Lat. 33°02'S Long. 60°52'O} para *E.*

tristachya. Asimismo, en Zavalla (Santa Fe) se recolectó semilla de *E. indica* (Zi). Los muestreos se realizaron en 100 plantas en cada sitio. Los campos en cada región comparten una historia agrícola de al menos 10 años caracterizada por el uso recurrente de glifosato y aplicaciones ocasionales de graminicidas. Todos los biotipos de *E. tristachya* utilizados habían sobrevivido a múltiples aplicaciones de glifosato con un efecto adverso reducido, mientras que el biotipo de *E. indica* había presentado algunas dificultades en su control con glifosato a la dosis de uso.

Las muestras de semillas se almacenaron a temperatura ambiente por 6 meses en el laboratorio hasta su siembra. Parte de esas semillas fueron sembradas en macetas aisladas en invernadero para la multiplicación y conservación de cada biotipo.

En cada año se sembraron semillas de los cuatro biotipos en macetas de 5 L (19 cm de profundidad, 20 cm de ancho) con orificios de drenaje. La tierra fue tamizada a través de una zaranda de 5 mm y luego desinfectada durante 24 h a 80 ° C. Las macetas se mantuvieron al aire libre para representar las condiciones naturales de luz y temperatura durante el barbecho primavero-estival, y se regaron regularmente. Cuando las plantas tuvieron dos hojas se ralearon a una planta por maceta. Cada maceta que contenía una plántula fue considerada una unidad experimental.

Diseño experimental

El diseño experimental fue factorial con cuatro repeticiones donde el primer factor fue la especie/biotipo con cuatro niveles [A, C, Zt y Zi]; el segundo factor fue el estado de desarrollo con tres niveles [plántula (A, C, Zt con 4 macollos y 7 cm de altura en promedio, y Zi con con 2,5 macollos y 13 cm de altura, en promedio), vegetativo (A,C, Zt con 12 macollos y 20 cm de altura en promedio y Zi con 4 macollos y 50 cm de altura en promedio), y reproductivo (A,C, Zt con 25 macollos y 37 cm de altura, en promedio y Zi con 5 macollos y 70 cm de altura en promedio)]; el tercer factor fue el herbicida con tres niveles [sin herbicida, Glifosato (Round up Ultra® SL, 360 g e.a. L⁻¹, Monsanto), haloxifop-metil (Galant® HL EC, 540 g i.a. L⁻¹, Dow) y cletodim (Select® EC, 240 g i.a. L⁻¹, Arysta Lifescience)]. Se utilizaron coadyuvantes, aceite vegetal (Optimizer® EC, Bayer) al 1% para los graminicidas y alcohol etoxilado (Eco Rizospray® SL, 480 g a.i. L⁻¹, Rizobacter) al 0,05% para glifosato]. El cuarto factor fue la dosis con 10 niveles [0X, 1/16X, 1/4X, 1/8X, 1/2X, 1X, 2X, 4X, 8X y 16X (siendo X = 1080 g e.a. ha⁻¹ de glifosato, 64,8 g i.a. ha⁻¹ de haloxifop-metil, y 120 g i.a. ha⁻¹ de cletodim)]. El quinto factor fue el año [2016 y 2017].

La aplicación de herbicidas se realizó cada año en diciembre con las malezas en tres estados de desarrollo en una cabina de pulverización con boquilla hidráulica abanico plano 8002 a 3 bares de presión, erogando una tasa de aplicación de 114 L.ha⁻¹.

a) Control a corto plazo

A los 30 días después de la aplicación (DDA) se realizó la estimación de daño visual respecto a un testigo sin tratar (0 X) utilizando una escala de 0 a 100%, donde cero representó ningún daño y 100% la muerte total de la planta. Se cortaron las plantas por maceta y en bolsas rotuladas fueron llevadas a estufa por 48 horas a 72 °C. Se determinó el peso seco por tratamiento que se expresó como porcentaje respecto a plantas testigos sin control.

Los datos fueron analizados con ANVA y ajustados a una curva sigmoidea log-logística de cuatro parámetros.

b) Control a largo plazo

El rebrote y la producción de semillas solo se evaluaron para los tres biotipos de *E. tristachya* utilizando un diseño factorial con los mismos factores del diseño mencionado anteriormente, con cuatro repeticiones. Después de la aplicación, las macetas fueron mantenidas al aire libre con riegos periódicos hasta noviembre del siguiente año (330 DDA) momento en el cual se determinó el número de macollos, altura y fecundidad. El número de semillas por planta se estimó con el peso de dos submuestras de 100 semillas por cada planta. El total de semillas por planta fue calculado con el uso de la ecuación 1 (Mager et al. 2006):

$$S = \left(\frac{W}{A}\right) * 100 \quad \text{ecuación 1}$$

Donde S es el total de semillas de cada planta, W es el peso total de las semillas de cada planta, y A es el promedio del peso de las dos submuestras.

Análisis estadístico

Se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson y de Spearman entre la estimación visual y el peso de materia seca de las malezas. Los datos se analizaron con Shapiro Wilks para comprobar su normalidad. Se evaluaron las diferencias e interacciones entre los factores con ANVA. Para cada especie/biotipo se realizaron regresiones entre la reducción de la biomasa vegetal de la maleza y la dosis de herbicida usando el modelo log-logístico de cuatro parámetros descrito por Seefeldt et al (1995) como se indica en la siguiente ecuación:

$$y = C + \frac{(D - C)}{1 + (x/ED_{50})^b} \quad \text{ecuación2}$$

Donde y es la variable respuesta (peso seco, daño en la maleza), c representa el límite inferior de la curva, d representa el límite superior, b es la pendiente de la curva, x es la dosis del herbicida, y ED_{50} es la dosis efectiva que produce el 50% de la respuesta (por ejemplo 50% de daño, de biomasa o control visual respecto al testigo sin control).

Los análisis de las curvas dosis respuesta y la comparación de los parámetros fueron realizados con el software estadístico de licencia libre R3.5.2 (R Development Core Team, 2018) y el paquete de software drc (Ritz y Streibig, 2005; Knezevic, et al., 2007).

Se determinaron para cada especie/biotipos la dosis de herbicida efectiva que reduce el crecimiento en un 50 % y un 90 % respecto al control sin tratar (ED_{50} y ED_{90} respectivamente). Se analizaron las diferencias por un lado entre los distintos estados de crecimiento para cada maleza y por el otro para un mismo estado de crecimiento entre las distintas especies bajo estudio. Entre distintos estados de crecimiento se elaboraron cocientes de dosis efectivas (ED_{90}/ED_{50}) a modo de indicar el incremento en la dosis de herbicida para producir un control aceptable a campo de 90 %.

Resultados

a) Control a corto plazo

Los coeficientes de correlación entre la estimación visual y el peso de materia seca de las malezas fueron significativos ($P < 0,01$). En consecuencia, se analizaron los datos de materia seca como porcentaje de reducción respecto al testigo sin control. Se determinó una interacción significativa entre los herbicidas, la dosis y estado de todas las especies/biotipos pero no para años. En consecuencia, los datos de los dos años se agruparon y se consideraron 8 repeticiones por tratamiento. Las pruebas de falta de ajuste indicaron que las regresiones describieron adecuadamente los datos de todos los herbicidas y especies/biotipos, excepto para *E. indica* en el estado reproductivo con cletodim y haloxifop-metil ($P < 0,05$). En los casos en que no hubo ajuste no se consideraron la ED_{50} y ED_{90} obtenidas.

Los experimentos mostraron que la susceptibilidad de todas las malezas a glifosato, haloxifop-metil y cletodim pudo ser cuantificada en los diferentes estados de crecimiento a través de la ED_{50} y ED_{90} a los 30 DDA y también considerando el control de 100 % relativo a la dosis recomendada (1X) a los 30 DDA.

Glifosato

Los resultados se muestran en la Figura 1 y Tabla 1.

Las comparaciones de ED_{50} entre los biotipos fueron las siguientes: en el estado de plántula ($A = C = Z_t = Z_i$); en el estado vegetativo ($Z_i > A > C = Z_t$), y en la etapa reproductiva ($C = Z_t > Z_i > A$). Se observó un aumento de 2 veces la dosis en ED_{50} para el estado reproductivo en relación con los estados de plántula y vegetativo para C y Z_t . Para Z_i el incremento fue de 1,4 veces entre estado de plántula, vegetativo y reproductivo.

Tabla 1. Parámetros de la regresión (Ecuación 2) y dosis de glifosato (g e.a. ha⁻¹) que provee un 90% de control (ED₉₀) en el corto plazo (30 DDA) calculado como porcentaje de materia seca respecto a un testigo sin control para cada estado de crecimiento y biotipo de *Eleusine tristachya*: Aranguren (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine Indica*: Zavalla (Zi)

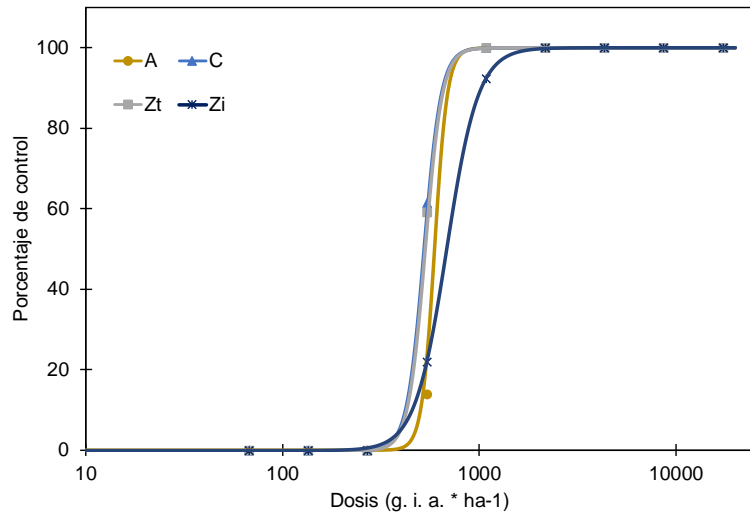
| Herbicida | Estado de crecimiento | Biotipo | Parámetros de la regresión | | | | | | ED ₉₀ | | | |
|---------------------|-----------------------|---------------|----------------------------|--------|------|--------|-------|--------|------------------|---------|--------|-----------|
| | | | b | | c | | d | | ED ₅₀ | | | |
| Glifosato | | | | | | | | | | | | |
| Plántula | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -13,4 | (4,66) | 0,0 | (0,12) | 100,0 | (0,11) | 591,5 | (52,28) | 646,3 | (76,00) |
| | | Crespo (C) | -10,0 | (8,76) | -0,1 | (0,72) | 100,0 | (0,59) | 523,4 | (48,36) | 595,0 | (130,00) |
| | | Zavalla (Zt) | -10,0 | (7,60) | -0,1 | (0,42) | 100,0 | (0,35) | 530,4 | (37,77) | 599,2 | (88,40) |
| | | Zavalla (Zi) | -5,4 | (0,33) | -0,1 | (0,71) | 100,0 | (0,71) | 682,2 | (62,34) | 1023,0 | (39,50) |
| Vegetativo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -5,3 | (0,50) | -0,1 | (0,67) | 99,8 | (0,66) | 600,0 | (8,67) | 906,6 | (49,50) |
| | | Crespo (C) | -6,3 | (1,11) | -0,3 | (0,62) | 99,3 | (0,53) | 532,8 | (4,45) | 609,4 | (42,20) |
| | | Zavalla (Zt) | -9,4 | (3,56) | -0,1 | (0,46) | 99,6 | (0,36) | 512,9 | (18,20) | 565,4 | (120,00) |
| | | Zavalla (Zi) | -1,8 | (0,09) | -1,5 | (1,13) | 101,9 | (1,10) | 717,9 | (24,24) | 2391,0 | (1430,00) |
| Reproductivo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -1,3 | (0,09) | -3,8 | (2,01) | 103,0 | (1,91) | 615,2 | (38,17) | 2803,0 | (207,00) |
| | | Crespo (C) | -2,0 | (0,20) | 1,9 | (1,55) | 103,5 | (1,69) | 1189,2 | (54,06) | 3409,0 | (199,00) |
| | | Zavalla (Zt) | -2,8 | (0,10) | -0,2 | (0,50) | 100,7 | (0,61) | 1178,4 | (24,54) | 2530,7 | (119,00) |
| | | Zavalla (Zi) | -1,7 | (0,07) | -1,0 | (0,81) | 102,4 | (0,99) | 1010,2 | (27,38) | 3558,0 | (244,40) |

Leyenda: Error estándar (ES) entre paréntesis. ED= dosis efectiva.

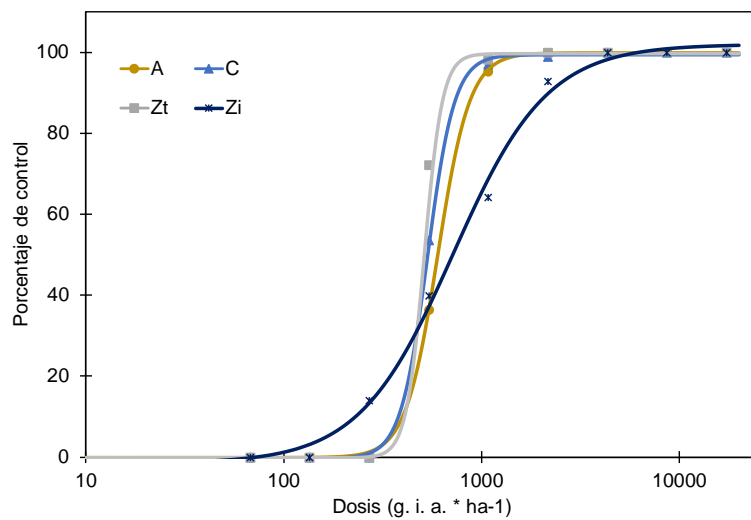
Para ED₉₀, los resultados de comparación fueron los siguientes: en el estado de plántula ($Z_i > A = C = Z_t$); en el estado vegetativo ($Z_i > A > C = Z_t$); y en el estado reproductivo ($Z_i = C > A = Z_t$). Al considerar todos los biotipos de *E. tristachya*, ED₉₀ en el estado reproductivo fue de 3 a 6 veces mayor en relación con los otros estados, mientras que para *E. indica* aumentó entre 2 y 4 veces.

Para todos los biotipos de *E. tristachya*, se alcanzó control de 100 % con 1X al estado de plántula y al estado vegetativo y con 4X al estado reproductivo (Fotos 1, 2 y 3). Para *E. indica* el 100 % de control en los estados de plántula, vegetativo y reproductivo se alcanzó con 2X, 4X y 8X respectivamente (Fotos 4, 5 y 6).

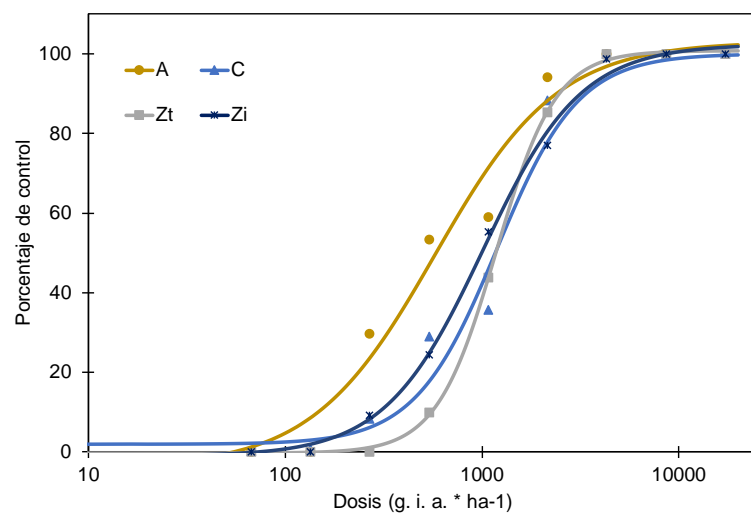
En la presente tesis, solo se muestran las fotos de un biotipo por especie: *Eleusine tristachya* Zavalla y *E. indica* Zavalla.



(1)



(2)



(3)

Fig. 1. Porcentaje de control de materia seca respecto a un testigo sin control de los biotipos *Eleusine tristachya* Aranguren: (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine indica* Zavalla (Zi) a los 30 DDA con diferentes dosis de glifosato aplicados en tres estados de crecimiento de las malezas: **(1)** Plántula, **(2)** Vegetativo y **(3)** Reproductivo. Las líneas de regresión fueron construidas utilizando la Ecuación 2 y los valores de los parámetros de la tabla 2. Cada punto corresponde al promedio de los años 2016 y 2017.

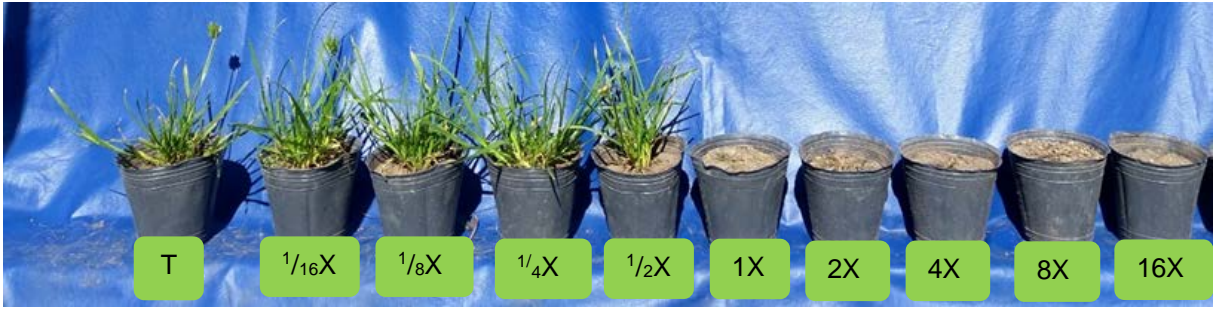


Foto 1. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado de plántula



Foto 2. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado de plántula

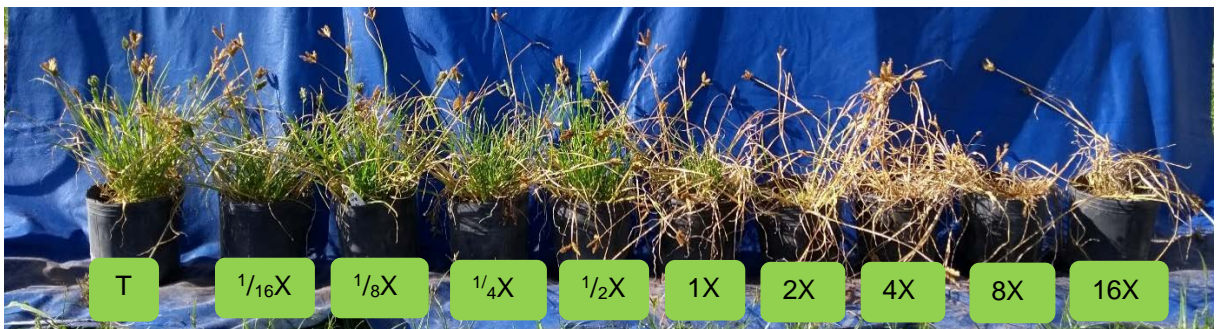


Foto 3. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado de plántula

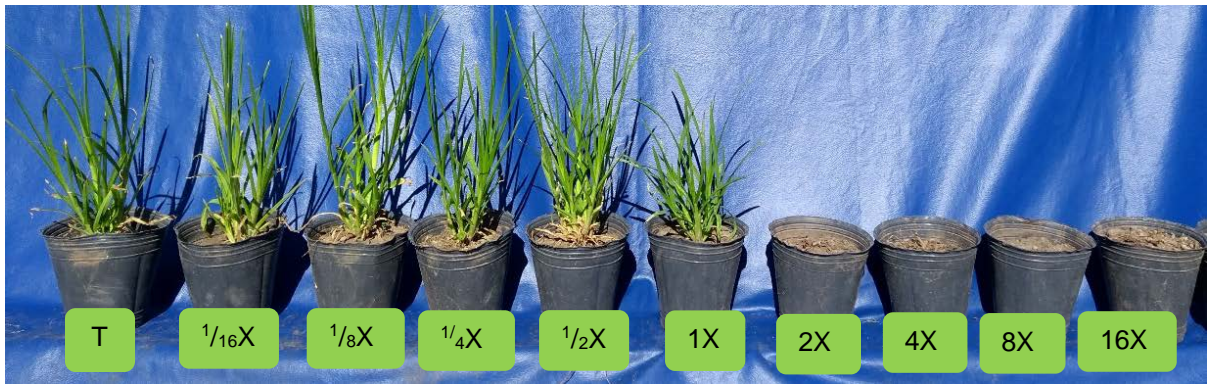


Foto 4. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado de plántula

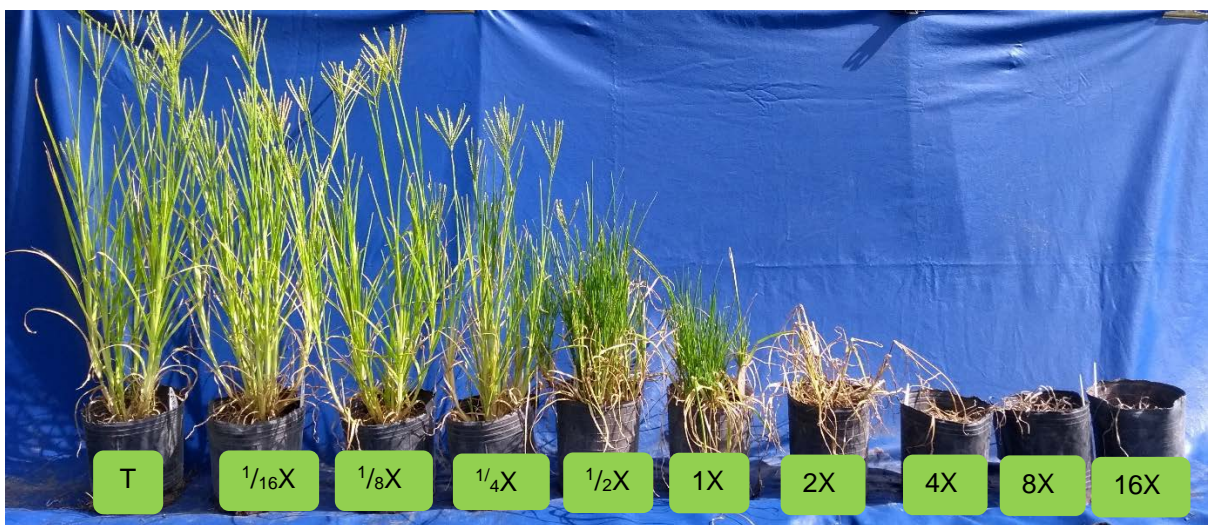


Foto 5. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado vegetativo



Foto 6. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de glifosato en estado reproductivo

Haloxifop-metil

Se muestran los resultados en la Figura 2 y Tabla 3.

Los resultados de las comparaciones de ED₅₀ entre los biotipos fueron los siguientes: en el estado de plántula ($Z_i = A = Z_t > C$); en el estado vegetativo ($Z_i > Z_t > A > C$); y en el estado reproductivo ($A = C > Z_t$). En *E. tristachya* se determinó un aumento de dosis de 6 a 11 veces en la ED₅₀ para el estado reproductivo en relación con el estado de plántula.

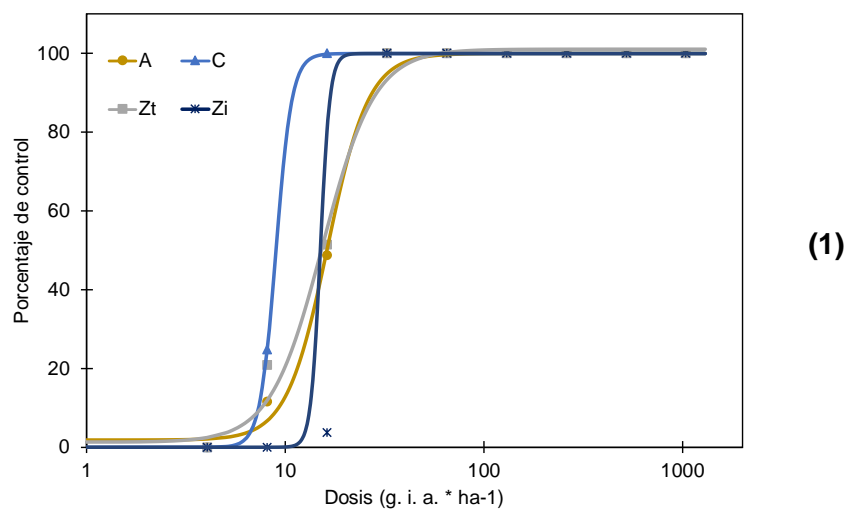
Para ED₉₀ se observaron las siguientes órdenes de eficacia para los biotipos: en estado de plántula ($A = Z_t > Z_i > C$), en estado vegetativo ($Z_i > A > C > Z_t$) y en estado reproductivo ($C > Z_t > A$). En *E. tristachya* se observó un aumento de la dosis de 6 a 52 veces en ED₉₀ para el estado reproductivo en relación con el estado de plántula, mientras que en *E. indica* el incremento fue de 5 veces la dosis en ED₉₀ al cambiar de estado de plántula a vegetativo.

El control del 100% de todos los biotipos de *E. tristachya* en el estado de plántula se puede lograr con 1/4X o 1/2X mientras que en el estado vegetativo se controló con 1X (Fotos 7 y 8). En el estado reproductivo, el control del 100% se obtuvo con 8X para los biotipos C y Z_t y con 16X para A (Foto 9). En *E. indica* el 100 % se logró con 1/2X en plántula, 8X en vegetativo (Foto 10) y 16X en reproductivo.

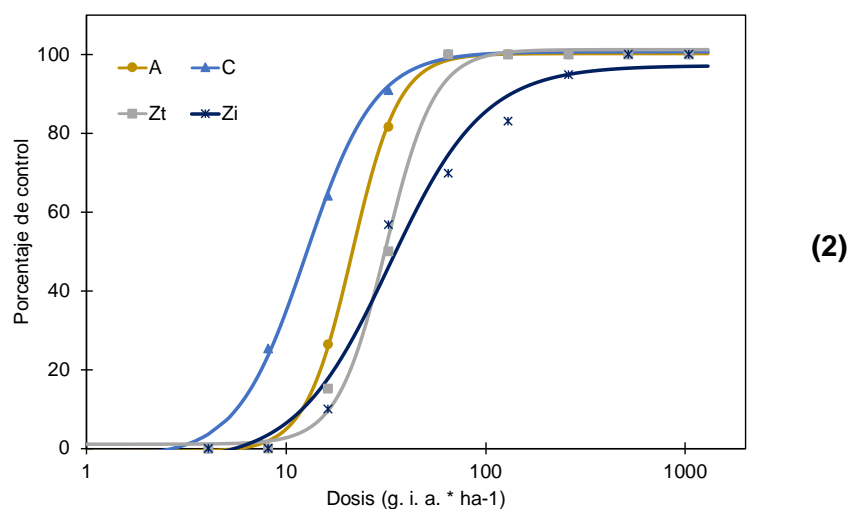
Tabla 2. Parámetros de la regresión (Ecuación 2) y dosis de Haloxifop metil (g i.a. ha⁻¹) que provee un 90% de control (ED₉₀) en el corto plazo (30 DDA) calculado como porcentaje de materia seca respecto a un testigo sin control para cada estado de crecimiento y biotipo de *Eleusine tristachya*: Aranguren (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine Indica*: Zavalla (Zi)

| Herbicida | Estado de crecimiento | Biotipo | Parámetros de la regresión | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------------|---------------|----------------------------|--------|------|--------|-------|---------|------------------|----------|------------------|------------|
| | | | b | | c | | d | | ED ₅₀ | | ED ₉₀ | |
| Haloxifop | | | | | | | | | | | | |
| Plántula | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -4,2 | (0,51) | 1,8 | (1,41) | 100,0 | (0,26) | 16,3 | (0,35) | 27,5 | (1,64) |
| | | Crespo (C) | -10,8 | (7,17) | -0,0 | (1,38) | 100,0 | (0,74) | 8,3 | (0,83) | 9,0 | (2,64) |
| | | Zavalla (Zt) | -3,3 | (0,28) | 1,2 | (1,57) | 101,1 | (0,86) | 15,3 | (0,44) | 31,1 | (1,54) |
| | | Zavalla (Zi) | -12,1 | (6,6) | 0,0 | (0,11) | 100,0 | (0,08) | 14,9 | (1,25) | 21,6 | (8,19) |
| Vegetativo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -3,6 | (0,24) | -0,8 | (1,22) | 100,2 | (0,91) | 21,4 | (0,54) | 38,8 | (1,83) |
| | | Crespo (C) | -2,5 | (0,15) | -2,1 | (1,65) | 100,7 | (0,93) | 12,5 | (0,40) | 30,2 | (1,78) |
| | | Zavalla (Zt) | -3,5 | (0,32) | 1,0 | (1,21) | 101,2 | (0,95) | 31,6 | (0,79) | 21,6 | (88,19) |
| | | Zavalla (Zi) | -1,8 | (0,12) | -3,6 | (1,26) | 97,1 | (1,28) | 33,0 | (1,29) | 109,2 | (10,65) |
| Reproductivo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -4,0 | (0,34) | -0,3 | (0,96) | 95,0 | (1,30) | 95,5 | (2,59) | 164,0 | (8,82) |
| | | Crespo (C) | -1,3 | (0,13) | -3,6 | (1,81) | 103,2 | (3,71) | 88,5 | (8,20) | 454,7 | (66,13) |
| | | Zavalla (Zt) | -1,7 | (0,11) | -2,2 | (1,16) | 99,1 | (1,43) | 57,0 | (2,27) | 199,0 | (18,27) |
| | | Zavalla (Zi) | -0,7 | (0,11) | -1,0 | (1,47) | 125,8 | (33,43) | 897,5 | (613,44) | 17666,1 | (19692,42) |

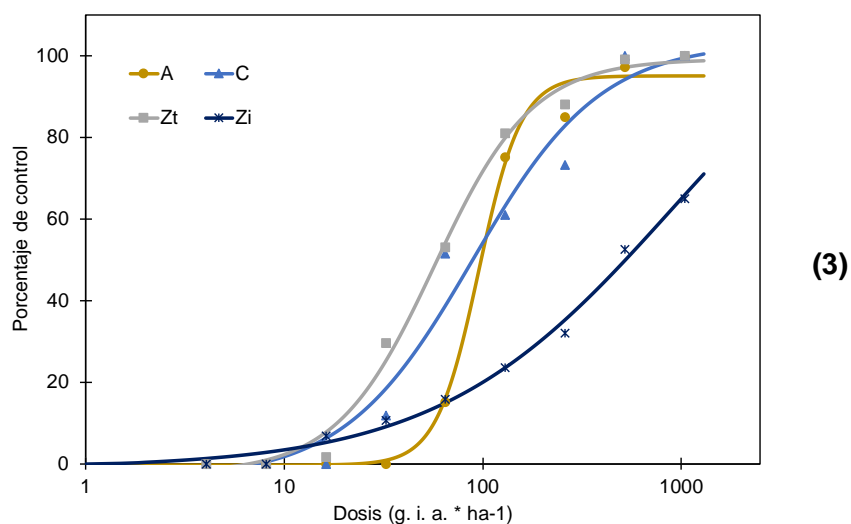
Leyenda: Error estándar (ES) entre paréntesis. ED= dosis efectiva.



(1)



(2)



(3)

Fig. 2. Porcentaje de control de materia seca respecto a un testigo sin control de los biotipos *Eleusine tristachya* Aranguren: (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine indica* Zavalla (Zi) a los 30 DDA con diferentes dosis de haloxyfop-metil aplicados en tres estados de crecimiento de las malezas: **(1)** Plántula, **(2)** Vegetativo y **(3)** Reproductivo. Las líneas de regresión fueron construidas utilizando la Ecuación 2 y los valores de los parámetros de la tabla 2. Cada punto corresponde al promedio de 2016 y 2017.



Foto 7. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de haloxifop-metil en estado de plántula

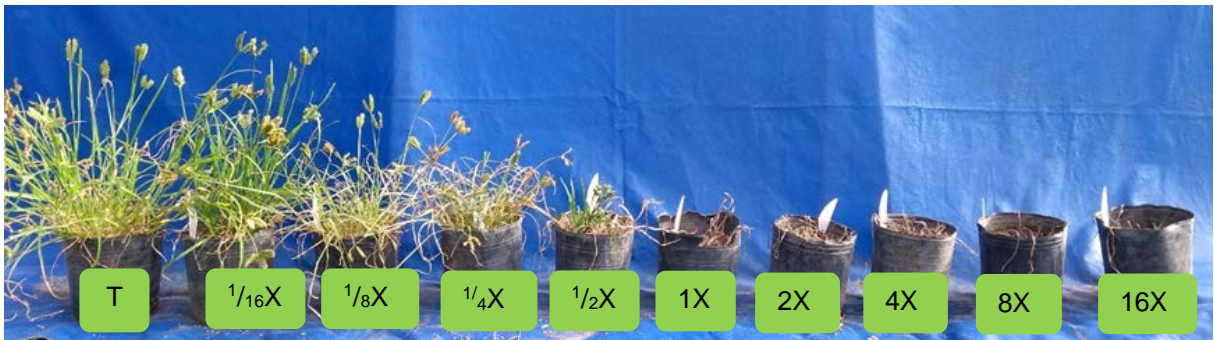


Foto 8. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de haloxifop-metil en estado vegetativo

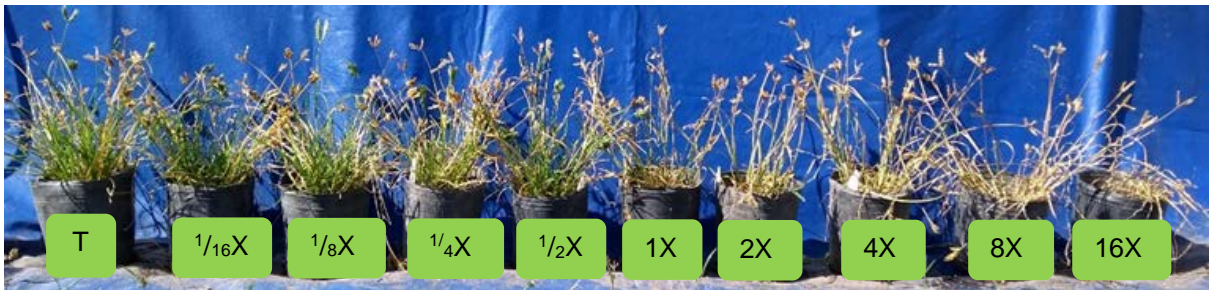


Foto 9. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de haloxifop-metil en estado reproductivo

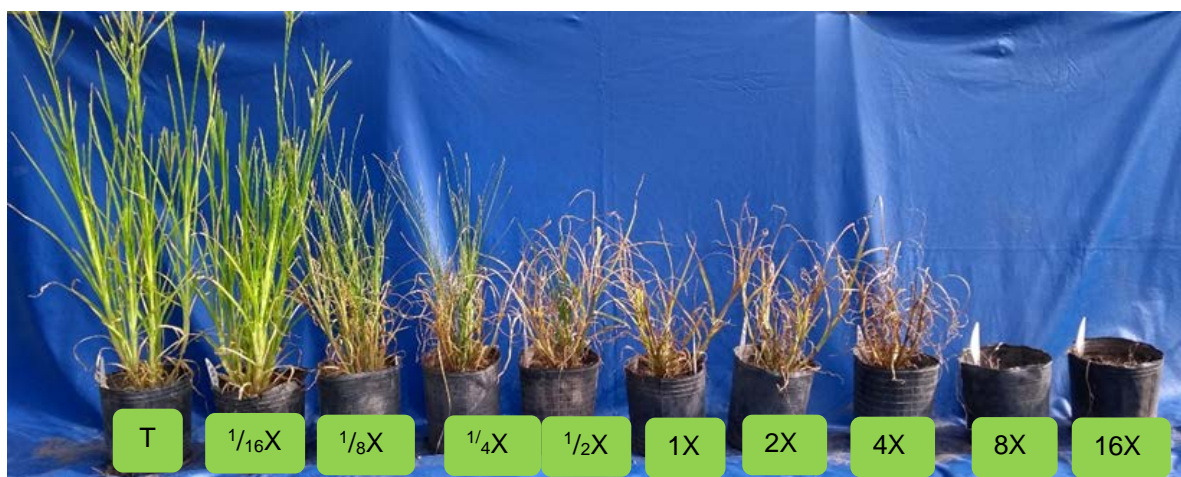


Foto 10. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de haloxifop-metil en estado vegetativo. Las fotografías al estado de plántula y reproductivo no se encuentran disponibles.

Cletodim

Se muestran los resultados en la Figura 3 y Tabla 3.

Los resultados de las comparaciones de ED₅₀ entre los biotipos fueron los siguientes: en el estado de plántula ($Z_i > A > C > Z_t$); en el estado vegetativo ($Z_i > A > C > Z_t$); y en la etapa reproductiva ($A = C > Z_t$). Para los biotipos de *E. tristachya* se incrementó 6 veces la ED₅₀ entre el estado de plántula y reproductivo.

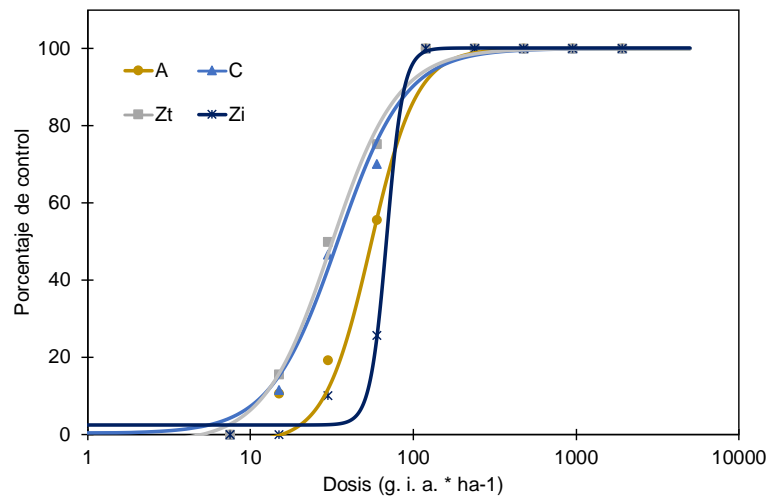
Para ED₉₀ se observaron las siguientes clasificaciones para los biotipos: en la etapa de la plántula ($A = C > Z_t = Z_i$), en el estado vegetativo ($Z_i > A = C = Z_t$) y en la etapa reproductiva ($A = C > Z_t$). Se observó en los biotipos de *E. tristachya* un aumento en la dosis de 5 a 13 veces en ED₉₀ entre el estado de plántula y reproductivo, mientras que en *E. indica* el incremento fue de 7 veces la dosis en ED₉₀ al pasar de estado de plántula a vegetativo.

El control del 100 % de todos los biotipos de *E. tristachya* en el estado de plántula y vegetativo se logró con 1X (Fotos 11 y 12) mientras que en el estado reproductivo con 16X (Foto 13). En cambio, para *E. indica* el 100 % de control en estado de plántula se logró con 1X (Foto 14), en estado vegetativo con 8 X (Foto 15) y en estado reproductivo no se observó ya que a la máxima dosis utilizada en este experimento (16X) fue de 80% (Foto 16).

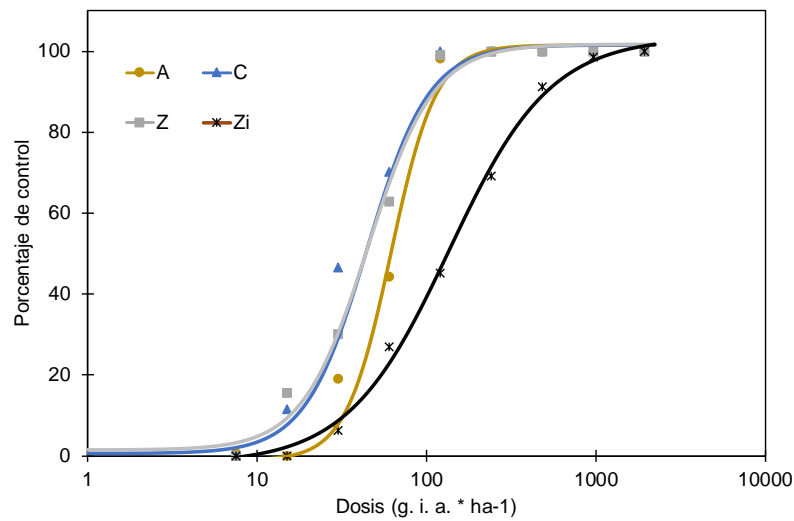
Table 3. Parámetros de la regresión (Ecuación 2) y dosis de cletodim (g i.a. ha⁻¹) que provee un 90 % de control (ED₉₀) en el corto plazo (30 DDA) calculado como porcentaje de materia seca respecto a un testigo sin control para cada estado de crecimiento y biotipo de *Eleusine tristachya*: Aranguren (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine Indica*: Zavalla (Zi)

| Herbicida | Estado de crecimiento | Biotipo | Parámetros de la regresión | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------------|---------------|----------------------------|--------|------|--------|-------|--------|------------------|---------|------------------|-----------|
| | | | b | | c | | d | | ED ₅₀ | | ED ₉₀ | |
| Cletodim | | | | | | | | | | | | |
| Plántula | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -3,0 | (0,24) | -2,0 | (1,43) | 100,0 | (0,39) | 54,7 | (1,50) | 111,8 | (5,68) |
| | | Crespo (C) | -2,0 | (0,11) | 0,3 | (0,21) | 100,0 | (0,20) | 34,4 | (1,16) | 98,5 | (6,07) |
| | | Zavalla (Zt) | -2,1 | (0,11) | -2,0 | (1,47) | 100,0 | (0,27) | 31,2 | (1,04) | 88,3 | (5,51) |
| | | Zavalla (Zi) | -8,5 | (2,28) | 2,4 | (0,54) | 100,1 | (0,55) | 68,7 | (2,50) | 89,5 | (6,31) |
| Vegetativo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -3,2 | (0,28) | -1,1 | (1,21) | 101,5 | (0,77) | 61,6 | (1,58) | 120,9 | (6,32) |
| | | Crespo (C) | -2,3 | (0,11) | 0,6 | (1,04) | 101,5 | (0,71) | 44,5 | (1,09) | 112,3 | (4,79) |
| | | Zavalla (Zt) | -2,2 | (0,12) | 1,4 | (1,17) | 101,7 | (0,78) | 45,0 | (1,26) | 120,1 | (5,91) |
| | | Zavalla (Zi) | -1,4 | (0,06) | -1,9 | (0,94) | 103,5 | (1,38) | 135,7 | (4,94) | 617,6 | (71,58) |
| Reproductivo | | | | | | | | | | | | |
| | | Aranguren (A) | -1,0 | (0,07) | -2,2 | (1,39) | 104,0 | (2,94) | 177,9 | (13,43) | 1345,2 | (218,80) |
| | | Crespo (C) | -1,1 | (0,09) | -2,2 | (1,49) | 97,7 | (3,50) | 190,8 | (17,55) | 1350,9 | (240,20) |
| | | Zavalla (Zt) | -1,3 | (0,08) | -4,2 | (1,49) | 99,3 | (1,77) | 77,8 | (4,45) | 419,1 | (53,40) |
| | | Zavalla (Zi) | -0,8 | (0,08) | -3,2 | (1,02) | 92,5 | (5,43) | 364,08 | (56,27) | 4218,8 | (1347,50) |

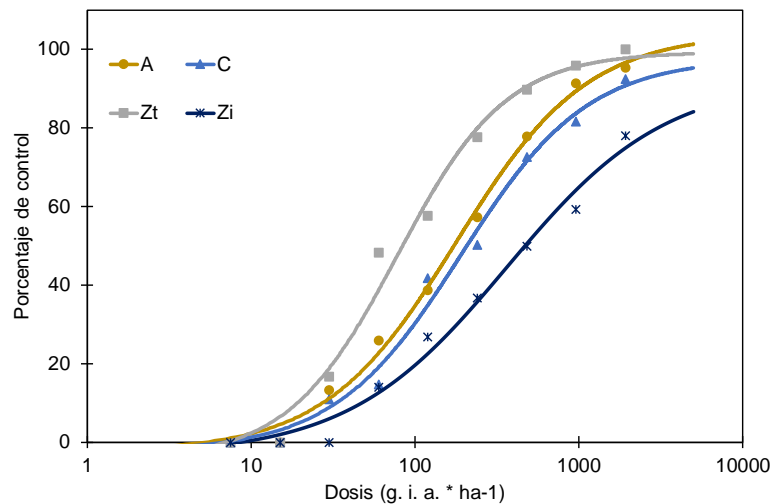
Leyenda: Error estándar (ES) entre paréntesis. ED= dosis efectiva.



(1)



(2)



(3)

Fig. 3. Porcentaje de control de materia seca respecto a un testigo sin control de los biotipos *Eleusine tristachya* Aranguren: (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine indica* Zavalla (Zi) a los 30 DDA con diferentes dosis de cletodim aplicados en tres estados de crecimiento de las malezas: **(1)** Plántula, **(2)** Vegetativo y **(3)** Reproductivo. Las líneas de regresión fueron construidas utilizando la Ecuación 2 y los valores de los parámetros de la tabla 2. Cada punto corresponde al promedio de 2016 y 2017.

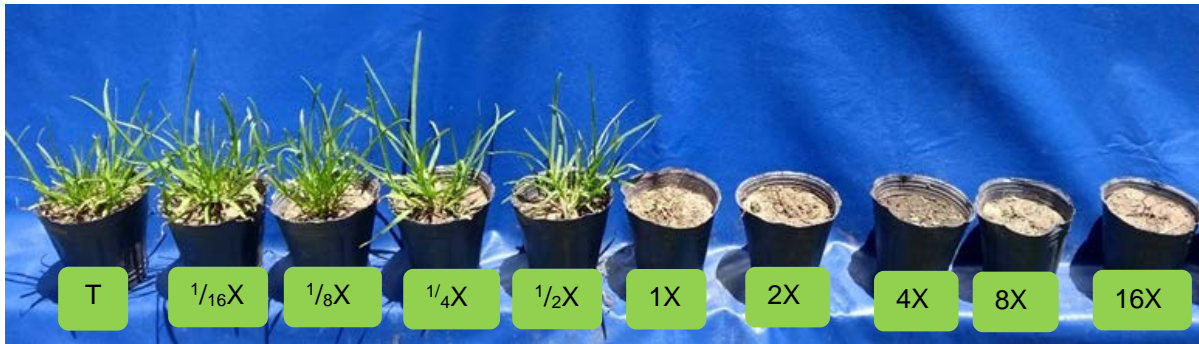


Foto 11. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado de plántula

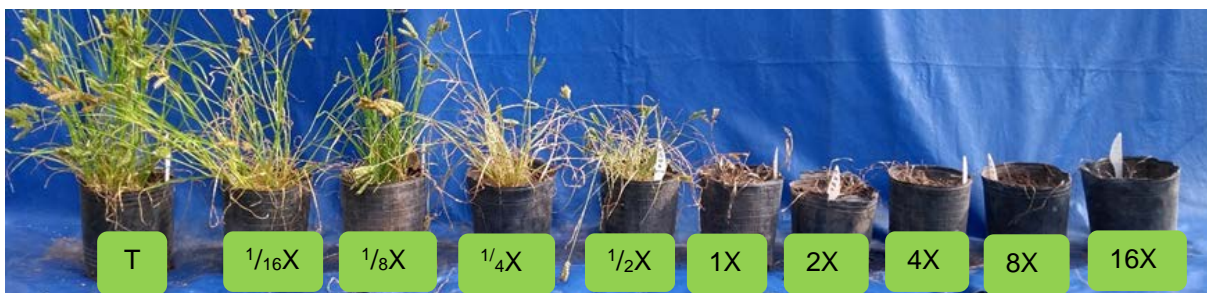


Foto 12. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado vegetativo

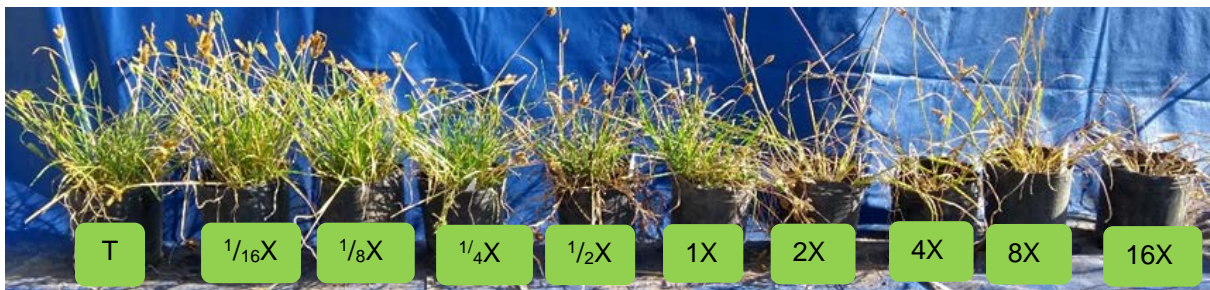


Foto 13. Control de *Eleusine tristachya* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado reproductivo

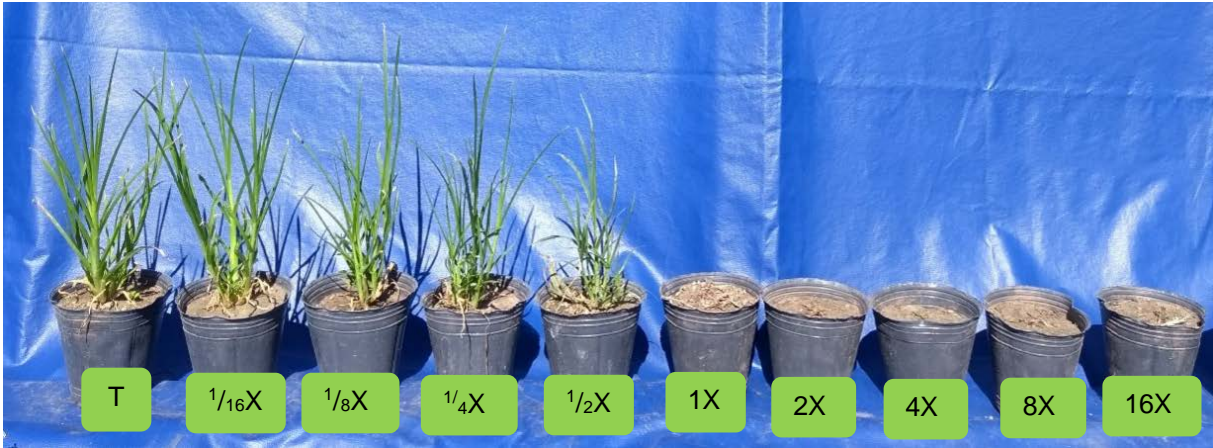


Foto 14. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado de plántula

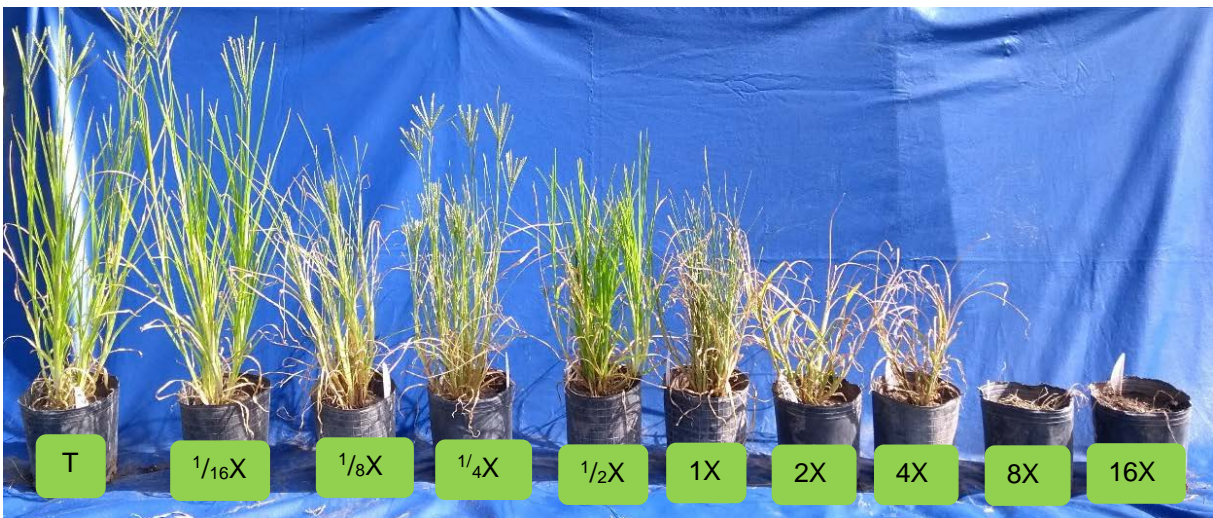


Foto 15. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado vegetativo

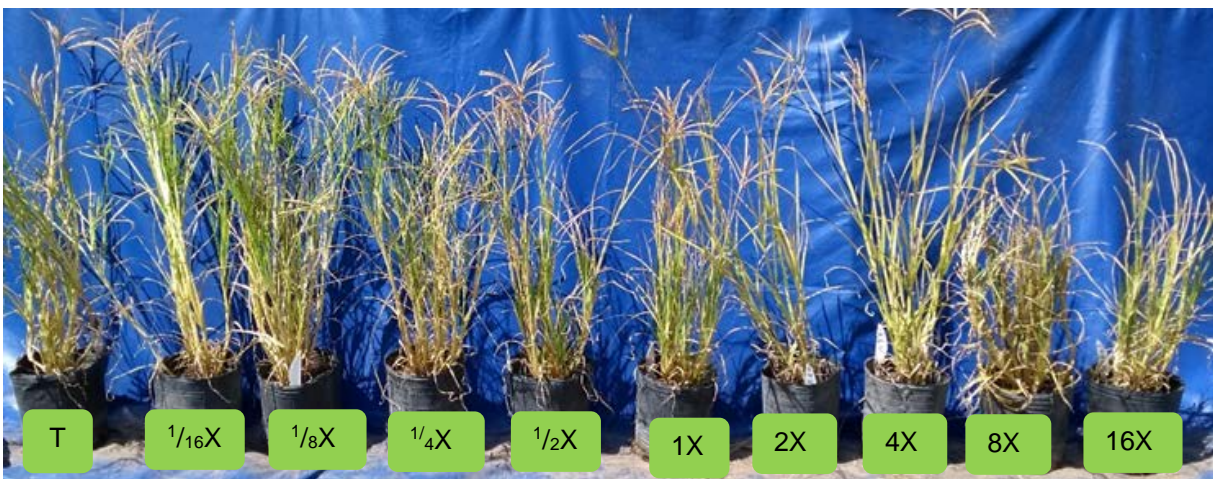


Foto 16. Control de *Eleusine indica* Zavalla a los 30 DDA de clethodim en estado reproductivo

Para cada herbicida y estado de crecimiento el ordenamiento de los biotipos y especies según ED₅₀ o ED₉₀ fue diferente. No fue posible determinar la existencia de un biotipo susceptible y otro resistente de *E. tristachya* y, por consiguiente, no se pudo evaluar la resistencia a los herbicidas.

Por otro lado, si se realiza la comparación entre herbicidas se observa que a medida que aumenta el tamaño de la maleza se requiere mayor cantidad de DL₉₀ en relación a la dosis de uso en graminicidas que en glifosato (Tabla 4).

Tabla 4. Unidades de dosis de uso de los herbicidas glifosato, haloxifop-metil y cletodim que proveen un 90% de control (ED₉₀) en el corto plazo (30 DDA) calculado como porcentaje de materia seca respecto a un testigo sin control para cada estado de crecimiento y especie/biotipo de *Eleusine tristachya*: Aranguren (A), Crespo (C), Zavalla (Zt) y *Eleusine Indica*: Zavalla (Zi)

| Estado de crecimiento | Especie/biotipo | Herbicida | | |
|-----------------------|-----------------|-----------|-----------------|----------|
| | | Glifosato | Haloxifop-metil | Cletodim |
| Plántula | Aranguren (A) | 0,60 | 0,42 | 0,93 |
| | Crespo (C) | 0,55 | 0,14 | 0,82 |
| | Zavalla (Zt) | 0,55 | 0,48 | 0,74 |
| | Zavalla (Zi) | 0,95 | 0,33 | 0,75 |
| Vegetativo | Aranguren (A) | 0,84 | 0,60 | 1,01 |
| | Crespo (C) | 0,56 | 0,47 | 0,94 |
| | Zavalla (Zt) | 0,52 | 0,33 | 1,00 |
| | Zavalla (Zi) | 2,21 | 1,69 | 5,14 |
| Reproductivo | Aranguren (A) | 2,60 | 2,53 | 11,21 |
| | Crespo (C) | 3,16 | 7,02 | 11,26 |
| | Zavalla (Zt) | 2,34 | 3,07 | 3,49 |
| | Zavalla (Zi) | 3,29 | - | - |

Leyenda: Las celdas verdes indican dosis menores a 0,90 dosis de uso, las celdas amarillas indican dosis cercanas a la dosis de uso (0,90-1,10), y las celdas rojas indican dosis mayores a la dosis de uso (>1,10). (1= a la dosis de uso para cada herbicida). Un guión (-) significa que no se pudo calcular este índice.

b) **Control a largo plazo**

A 330 DAT, no hubo diferencias en la respuesta entre los biotipos para cada herbicida y en cada crecimiento de la maleza, por lo que solo se muestran los resultados para el biotipo A (Tabla 5).

Para glifosato, el rebrote con aplicaciones en el estado de plántula y vegetativo se produjo en el rango de dosis entre 0X a 1/2X, mientras que, en estado reproductivo, se observaron nuevos macollos con dosis que oscilaron entre 0X y 1X. Para todos los estados de crecimiento, con 1/16X y 1/8X el número de macollos y semillas fue mayor que para 0X, mientras que la altura de las plantas fue similar. El número de macollos y semillas aumentó con el desarrollo de la maleza y con la reducción de la dosis.

Para los graminicidas, en el estado de plántula, el rebrote se produjo de 0X a 1/4X para haloxifop-metil y de 0X a 1/2X para cletodim. Para ambos herbicidas en el estado vegetativo, se observó rebrote con dosis entre 0X a 1/2X. El número de macollos y semillas mostró una respuesta errática con el estado de desarrollo de la maleza, pero los números siempre aumentaron con la reducción de la dosis.

Comparando glifosato versus graminicidas, con dosis inferiores a 1X, el rebrote fue mayor para glifosato en todos los estados de crecimiento de la planta. En cambio, a 1X, el número de macollos fue más bajo para glifosato, intermedio para cletodim y más alto para haloxifop-metil. A 2X el rebrote se produjo solo con graminicidas. La producción de semillas en el estado reproductivo a 1X fue mayor con glifosato, intermedio para cletodim y menor para haloxifop-metil, mientras que con 2X solo se observó producción de semillas con graminicidas.

Tabla 5. Efecto a largo plazo de las dosis de herbicidas aplicadas en diferentes estados de crecimientos de *E. tristachya* sobre el número y altura de macollos y la producción de semilla

| Herbicida | Estado de crecimiento | Variable | Dosis (X = dosis recomendada de herbicida) | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|----------|--|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|---------|-------|---------|---|----|---|---------------|--|
| | | | 0X | | 1/16X | | 1/8X | | 1/4X | | 1/2X | | 1X | | 2X | | 4X - 8X - 16X | |
| Glifosato | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <i>Plántula</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 23,2 | (1,82) | 27,6 | (2,35) | 25,0 | (2,33) | 18,1 | (1,51) | 13,4 | (1,38) | - | - | - | - | - | - | |
| | Altura | 21,0 | (0,96) | 21,3 | (1,42) | 22,6 | (0,81) | 17,4 | (1,15) | 15,9 | (0,63) | - | - | - | - | - | - | |
| | Semillas | 923,2 | (100,12) | 1146,0 | (111,87) | 1188,0 | (92,45) | 948,2 | (84,93) | 395,1 | (14,84) | - | - | - | - | - | - | |
| | <i>Vegetativo</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 24,1 | (1,94) | 37,8 | (3,56) | 35,5 | (3,26) | 22,3 | (1,66) | 10,3 | (1,31) | - | - | - | - | - | - | |
| | Altura | 23,3 | (1,28) | 24,5 | (1,93) | 22,6 | (2,52) | 21,7 | (2,14) | 13,8 | (1,55) | - | - | - | - | - | - | |
| | Semillas | 988,1 | (98,53) | 1392,0 | (115,32) | 1309,0 | (125,09) | 1135,7 | (99,72) | 609,8 | (43,23) | - | - | - | - | - | - | |
| | <i>Reproduct.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 25,7 | (2,24) | 44,4 | (3,31) | 45,6 | (2,90) | 40,1 | (3,10) | 28,7 | (2,17) | 9,2 | (1,40) | - | - | - | - | |
| | Altura | 23,4 | (1,72) | 23,6 | (1,55) | 25,5 | (1,73) | 22,1 | (1,91) | 15,8 | (2,21) | 15,4 | (2,06) | - | - | - | - | |
| | Semillas | 1054 | (81,56) | 1446,3 | (130,46) | 1458,4 | (125,74) | 1352,7 | (117,68) | 1082,6 | (97,20) | 630,5 | (48,78) | - | - | - | - | |
| Haloxifop metil | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <i>Plántula</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 26,3 | (1,84) | 24,1 | (2,13) | 17,5 | (1,56) | 11,4 | (1,88) | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Altura | 21,2 | (1,78) | 22,3 | (2,02) | 19,4 | (1,98) | 15,6 | (2,26) | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Semillas | 874,0 | (90,49) | 764,8 | (56,76) | 784,6 | (52,63) | 658,2 | (48,41) | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | <i>Vegetativo</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 25,5 | (1,63) | 27 | (1,47) | 25,1 | (1,55) | 16,4 | (1,26) | 12,6 | (0,99) | - | - | - | - | - | - | |
| | Altura | 23,2 | (1,92) | 24,1 | (2,14) | 22,4 | (1,23) | 21,8 | (1,63) | 20,6 | (1,48) | - | - | - | - | - | - | |
| | Semillas | 1011 | (106,24) | 954,7 | (70,32) | 935,0 | (60,17) | 878,3 | (77,87) | 841,2 | (64,26) | - | - | - | - | - | - | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-------------------|-------|---------|--------|----------|-------|----------|--------|---------|-------|---------|-------|---------|--------|---------|---|---|
| | <i>Reproduct.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 24,4 | (1,59) | 26,3 | (1,27) | 24,8 | (1,26) | 25,4 | (1,26) | 26,0 | (1,21) | 29,4 | (1,51) | 17,6 | (1,86) | - | - |
| | Altura | 24,0 | (2,25) | 23,0 | (0,99) | 24,0 | (1,24) | 24,0 | (1,55) | 23,0 | (1,25) | 20,0 | (1,24) | 15,0 | (0,71) | - | - |
| | Semillas | 936,7 | (81,32) | 850,0 | (49,18) | 963,3 | (75,27) | 1036,7 | (70,97) | 935,0 | (49,56) | 513,3 | (53,77) | 267,0 | (28,35) | - | - |
| Cletodim | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <i>Plántula</i> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 23,2 | (1,33) | 20,1 | (1,18) | 19,4 | (1,96) | 16,5 | (1,20) | 10,8 | (1,73) | - | - | - | - | - | - |
| | Altura | 21,4 | (1,52) | 20,8 | (1,66) | 21,9 | (2,03) | 18,4 | (1,92) | 10,7 | (2,18) | - | - | - | - | - | - |
| | Semillas | 891,3 | (99,36) | 1053,0 | (108,31) | 972,4 | (81,54) | 729,8 | (67,68) | 648,6 | (51,46) | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Vegetativo</i> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 24,6 | (1,54) | 24,7 | (1,85) | 21,6 | (1,57) | 22,6 | (0,99) | 17,5 | (1,26) | - | - | - | - | - | - |
| | Altura | 25,2 | (1,26) | 25,4 | (1,74) | 23,6 | (1,58) | 19,7 | (1,26) | 12,5 | (0,91) | - | - | - | - | - | - |
| | Semillas | 933,8 | (60,78) | 862,4 | (81,34) | 938,4 | (76,84) | 847,1 | (50,74) | 756,8 | (66,43) | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Reproduct.</i> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Macollos | 25,7 | (1,76) | 24,2 | (1,86) | 22,8 | (1,06) | 18,4 | (1,75) | 15,9 | (1,59) | 16,2 | (1,4) | 16,57 | (1,14) | - | - |
| | Altura | 22,3 | (0,72) | 22,4 | (1,33) | 23,8 | (1,80) | 18,6 | (1,21) | 16,7 | (0,658) | 15,6 | (0,8) | 14,76 | (1,13) | - | - |
| | Semillas | 1086 | (93,51) | 1098,7 | (84,80) | 972,0 | (101,44) | 904,2 | (91,38) | 695,4 | (62,74) | 435 | (33,2) | 255,01 | (28,70) | - | - |

Leyenda: Error estandar en paréntesis (ES). El guión medio (-) indica que no se produjo rebrote. Reproduct: reproductivo.

Discusión

No hay trabajos publicados sobre el efecto del estado de desarrollo de *E. indica* y *E. tristachya* sobre la eficacia de herbicidas. Para todos los herbicidas estudiados, a los 30 DDA (control a corto plazo), ED₅₀ y ED₉₀ aumentaron con el estado de desarrollo con excepción de la ED₅₀ del biotipo A de *E. tristachya* con glifosato. Queda demostrado que el estado de la planta al momento de la aplicación es un factor clave para controlar la biomasa de ambas especies de *Eleusine*. Estos resultados concuerdan con otros estudios con glifosato en los cuales las especies de malezas son generalmente más susceptibles a los herbicidas en las etapas iniciales de crecimiento en comparación con las plantas más grandes (Jordan et al., 1997; Kudsk, 2008; Soltani et al., 2016). En estudios con otras especies, se estableció que fue necesario mayor dosis de glifosato para controlar *Conyza* spp en estados avanzados de crecimiento (Shrestha et al., 2007) y alrededor del doble de la dosis para controlar *S. halepense* cuando se aplicó a individuos más grandes al final del ciclo en comparación con las plantas que tienen 30 cm o menos al comienzo del ciclo (Johnson et al., 2009; Johnson y Norsworthy, 2014). La eficacia de los graminicidas en el presente estudio también disminuyó en estados avanzados lo que coincide con Friesen et al. (1976), posiblemente debido a que en plantas más desarrolladas se reduce la absorción y el metabolismo (Singh y Singh, 2004).

El hecho de que en el presente estudio se alcanzó mejor o igual control con menos dosis en relación a la dosis de uso con haloxifop-metil en comparación con cletodim, especialmente en el estado de plántula, concuerda con otro estudio que muestra que los FOP fueron más efectivos que los DIM en *Setariaviridis* (L.) Beauv. y *Avena fatua* L., cuando se aplicaron en una etapa temprana de crecimiento (Friesen et al., 1976). En contraste, en otro estudio, el cletodim controló mejor plántulas y plantas con rizomas de *S. halepense* que FOP cuando se aplicaron con 3 a 4 hojas de la maleza (Rosales-Robles et al., 1999).

Aunque todos los tipos de *E. tristachya* se recolectaron en campos con aplicaciones repetidas de glifosato, no demostraron ser resistentes a este herbicida ni a los graminicidas. Sin embargo, en la especie relacionada *E. indica*, existen precedentes de evolución de resistencia a varios modos de acción, como los inhibidores de la EPSPS (Lee y Ngim, 2000) y los inhibidores de la ACCasa (McCullough et al., 2016). Además, *E. tristachya* es una gramínea perenne y hay abundante bibliografía sobre la resistencia a los herbicidas para este grupo de malezas como por ejemplo *S. halepense* (Smeda et al., 1997, Vila-Aiub, 2007) por lo cual es probable que se encuentren en el futuro biotipos resistentes de *E. tristachya*.

La hormesis puede explicar el mayor crecimiento a largo plazo (330 DDA) en dosis bajas de glifosato en relación con el control sin herbicidas determinado en el presente estudio. Otros estudios también informan que las dosis subtóxicas de glifosato inducen consistentemente la hormesis en una variedad de especies de plantas, en varios órganos. Como este efecto no es inducido por los graminicidas, es probable que esté relacionado con el sitio de acción del glifosato (Duke et al., 2006; Velini et al. 2008; Duke, 2018). La estimulación del crecimiento de las plantas cuando se aplica glifosato a dosis bajas (<50 % ED₅₀) generalmente ocurre en un solo rasgo de las plantas (Duke et al., 2006) si bien en el presente estudio se observó en dos rasgos para *E. tristachya*, a nivel de número de semillas y de macollos, pero no para altura. En un estudio previo, la hormesis no se prolongó con el tiempo (Cedergreen, 2008), pero en el presente experimento se demostró que el efecto se observó varios meses después de la aplicación (330 DAT).

Cuando se realizó la aplicación de herbicidas en el estado reproductivo, el control a largo plazo fue difícil con glifosato a la dosis recomendada y con graminicidas a dos veces la dosis recomendada, debido a la capacidad de *E. tristachya* de producir macollos de rebrote. Esto sugiere que los herbicidas no se translocaron lo suficiente hacia los tejidos subterráneos, o que los herbicidas se metabolizaron en los tejidos como se observó en un estudio de Obrigawitch et al., (1990) sobre control de *S. halepense* con glifosato.

La producción de semillas en las malezas anuales y perennes con mayor éxito ecológico puede variar ampliamente entre especies relacionadas, biotipos de una misma especie, sitios y tipo de herbicida. En consecuencia, los programas de control de malezas en postemergencia han mostrado resultados variables en la reducción de la producción de semillas de malezas (Defelice et al., 1989; Steckel et al., 1990; Walker y Oliver, 2008). Muchos autores han mencionado que glifosato reduce la producción de semillas cuando se aplica en o cerca de la floración (Biniak y Aldrich, 1986; Isaacs et al., 1989; Shuma y Raju 1993; Shuma et al., 1995; Taylor y Oliver, 1997; Clay y Griffin, 2000; Walker y Oliver, 2008). En el presente estudio, la producción de semillas de plantas de rebrote de *E. tristachya* dependió principalmente del tipo de herbicida y fue mayor con glifosato en cualquiera de las dosis consideradas.

Conclusiones

Se concluye que la dosis de glifosato o de graminicida para controlar la biomasa en los distintos estados de desarrollo varía entre los biotipos de *E. tristachya* y *E. indica* para el control a corto plazo. Por otro lado, las dosis requeridas se acrecientan sustancialmente con

el aumento en el desarrollo de ambas especies de malezas, aunque en forma variable entre herbicidas y especies/biotipos. En el estado reproductivo aún con la mayor dosis ensayada no fue posible lograr un control aceptable de *E. indica* con graminicidas. Teniendo en cuenta el control a largo plazo, todos los biotipos muestran el mismo comportamiento, que consiste en el rebrote y la producción de semillas cuando la aplicación fue realizada a dosis de uso en la etapa reproductiva. En consecuencia, un control adecuado a corto plazo implica una buena respuesta a largo plazo que puede obtenerse a través de un programa de aplicación en postemergencia a la dosis recomendada o incluso a dosis más bajas, pero siempre en los estados de plántula o vegetativo. En cambio, en el estado reproductivo se necesitan dosis muy altas de herbicida postemergente para evitar nuevas infestaciones debidas al rebrote.

CAPÍTULO III

Competencia entre el cultivo de soja y las malezas *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya*

CAPÍTULO III

Competencia entre el cultivo de soja y las malezas *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya*

Resumen

La interferencia es una interacción entre dos especies que incluye a la alelopatía y la competencia. No hay información publicada sobre competencia entre cultivos y *E. tristachya* y existen pocos estudios sobre *E. indica*. Los diseños aditivos incluyen monoculturas con la misma densidad y una mezcla binaria también con la misma densidad de cada uno de los componentes en monoculturas. Este tipo de experimento es apropiado para iniciar estudios de competencia entre especies, considerando que el factor de interés es el tipo de vecino y no la densidad o la proporción de la mezcla. El rendimiento relativo total (RYT) consiste en la adición de los rendimientos relativos de cultivos y malezas e indica la complementariedad de recursos. La agresividad tiene en cuenta el efecto de la competencia tanto en el cultivo como en la maleza e indica la habilidad competitiva que es una función de muchos atributos de una especie que hace que la misma obtenga una mayor proporción de recursos limitados en relación a otras especies. No se han determinado RYT y agresividad para *E. indica* ni para *E. tristachya*, si bien existen estudios que lo han evaluado para otras malezas en Argentina. Los objetivos de este capítulo fueron evaluar para *E. tristachya* y *E. indica*: a) la complementariedad de recursos para biomasa (RYT_{biomasa}) y semillas (RYT_{semillas}), la habilidad competitiva para biomasa (RYT_{biomasa}) y semillas (RYT_{semillas}) y la altura, en competencia entre sí y con el cultivo de soja; y b) la materia seca total por planta (TDM) y la tasa de crecimiento relativo (RGR). La cantidad de semillas producidas por planta fue superior para *E. indica* vs *E. tristachya*. Ambos años, RYT_{biomasa} y RYT_{semillas} entre malezas no fue significativamente diferente de 1, indicando competencia completa o ausencia de complementariedad de recursos. La biomasa de *E. indica* en presencia de *E. tristachya* en relación con su monocultura creció 80 %, mientras que *E. tristachya* en presencia de *E. indica* aumentó 26 %. Por lo tanto, la reducción del crecimiento debido a la competencia fue menor para *E. indica*. En los estadios R3 y R5 de la soja, *E. indica* presentó mayor altura que el cultivo y que *E. tristachya*. RGR entre ambas especies de *Eleusine* no difirió, excepto a los 7 días después de la emergencia (DDE) y en los momentos de RGR máximo para cada especie (0,37 a 42 DDE en *E. indica* y 0,32 a 49 DDE en *E. tristachya*). Estos resultados también señalan que *E. indica* alcanzó su máximo RGR antes

que *E. tristachya*. La TDM al final del ciclo de crecimiento en *E. indica* es 90 g superior que la de *E. tristachya*.

Introducción

Definición de interferencia, competencia y alelopatía

La interferencia es una interacción entre dos especies que incluye a la alelopatía y la competencia. Se considera que la alelopatía es relativamente poco importante y muy difícil de demostrar en condiciones de campo. En la competencia, las malezas y los cultivos se afectan de manera adversa por compartir recursos limitados (Goldberg, 1990, Gaudet y Keddy, 1988; Keddy y Shipley, 1989; Aarssen, 1992, Swanton et al., 2015) lo que puede conducir a una menor supervivencia, o reducción en el crecimiento o reproducción de los individuos intervinientes (Harper, 1977). Es importante remarcar que la competencia resulta en perjuicio para ambas especies involucradas (Radosevich y Ghera 1997). Así, la competencia es un proceso clave que afecta a las poblaciones o comunidades de plantas (Casper y Jackson, 1997; Berger et al., 2008, Jha, 2017).

Por su rusticidad, las malezas competitivas se destacan por la velocidad y la eficiencia de utilización de los recursos ambientales (Myers & Anderson, 2003), asegurando su supervivencia y ventajas de crecimiento ya afectando a las plantas cultivadas, aunque en muchos casos los cultivos son también competitivos con las malezas. Así, los principales cultivos agrícolas presentan capacidad variable para competir con las malezas, lo que comprende desde cultivos que prácticamente no proporcionan competencia hasta competidores muy agresivos. Los cultivares competitivos tienen el potencial de reducir el crecimiento y la producción de semillas de malezas evitando la reposición del banco de semillas por lo que pueden servir como una herramienta de bajo costo en el manejo de malezas (Holt, 1995, Kumar et al., 2013, Sardana et al., 2017). Muchos cultivares modernos pueden reducir la competencia causada por las malezas durante las primeras semanas después de la siembra, etapa de cultivo donde existe una gran competencia por los recursos del ambiente.

El éxito de la competencia entre especies vegetales se ha atribuido a:

- a) la fenología como la velocidad de crecimiento (Buchanan y Burns, 1971; Kropff, 1988, Rizzardí et al., 2003; Bianchi et al., 2006a)
- b) las características fisiológicas como la eficiencia de los recursos ambientales, incluyendo agua, luz y nutrientes (Regnier y Stoller, 1989; Ballaré y Casal, 2000; Bianchi et al., 2006b; Marín y Weiner, 2014)

- c) las diferencias morfológicas como la altura (Kissmann, 1997; Kumar, 2016)
- d) la relación entre el tamaño y el tiempo de establecimiento, es decir, plantas que se establecen antes que otras plantas y probablemente crezcan más.

Estas diferencias entre las malezas y el cultivo pueden explicar los cambios en la habilidad competitiva. A su vez, las especies de malezas, y a veces las especies dentro de un mismo género, pueden variar mucho en sus hábitos de crecimiento presentando tasas de crecimiento por planta marcadamente diferentes y alcanzando alturas muy variables. Las malezas de alto porte que no son controladas durante el establecimiento de los cultivos, pueden superarlos en altura y causar grandes pérdidas de rendimiento debido al sombreado. El objetivo del manejo de malezas es fortalecer la competitividad del cultivo al reducir o retrasar el crecimiento y desarrollo de las malezas, lo que hace posible que el cultivo obtenga una mayor proporción de los recursos limitados. Es importante contar con métodos culturales complementarios al control químico a raíz del aumento en la cantidad de especies de malezas resistentes, a la selección de especies tolerantes y los problemas ambientales que los herbicidas generan. No hay información publicada sobre competencia entre los cultivos y *E. tristachya*, por lo que solo se mencionarán estudios sobre *E. indica*, si bien hasta la fecha, tampoco se cuenta con suficientes investigaciones sobre la competencia de dicha especie.

En maíz, Rambakudzibga et al. (2002) indican que *E. indica* puede reducir el crecimiento, desarrollo y rendimiento. Wandscheer et al. (2013) evaluaron el impacto de *E. indica* con el modelo de serie de reemplazo y encontraron reducción de la productividad cuando la densidad de las malezas fue mayor que la del maíz.

Por otra parte, en algodón, *E. indica* crece semipostrada y rara vez supera los 90 cm, permaneciendo a menor altura que el cultivo durante todo el período de crecimiento. Esto resulta en un uso menos eficiente de la luz que el algodón, lo que podría ser una de las razones por las que *E. indica* no es competitiva con este cultivo a bajas densidades. Sin embargo, en otros estudios se demostró que, siendo que *E. indica* es una gramínea de raíces profundas, cuanto más densa es su población, más agua y nutrientes requiere, lo que reduce el rendimiento del algodón (Buchanan et al., 1977; Rushing et al. 1985). En otro estudio, se demuestra que la competencia de *E. indica* puede reducir significativamente el rendimiento del algodón a una densidad de 4 plantas.m⁻¹ en la fila por lo que se recomienda controlar *E. indica* aún con bajas densidades temprano en la temporada de crecimiento para mantener el rendimiento del algodón (Ismail et al., 2003).

La soja es el principal cultivo oleaginoso en Sud América y en particular en Argentina (Cerdeira et al, 2011). Para una gestión exitosa y sostenible de las dos especies de *Eleusine* presentes en Argentina, es relevante conocer sus hábitos de crecimiento, la complementariedad de recursos, la capacidad competitiva y la producción de semillas entre el cultivo de soja y *E. indica* o *E. tristachya* y entre ambas malezas, por lo tanto, los estudios sobre la biología y las relaciones de competencia de estas especies son fundamentales. No hay estudios publicados sobre la competencia entre dos especies que pertenecen a un mismo género.

Evaluación de la competencia

Los diseños aditivos incluyen monoculturas con la misma densidad y una mezcla binaria con la misma densidad de cada uno de los componentes en monoculturas (Cousens, 1991). Este tipo de experimento es apropiado para iniciar estudios de competencia entre especies, considerando que el factor de interés es el tipo de vecino y no la densidad o la proporción de la mezcla (Cousens, 1991).

Se utilizan diferentes índices para evaluar la competencia. Algunos de esos índices son:

a) Rendimiento relativo total

El rendimiento relativo total (RYT) (De Wit, 1960) consiste en la adición de los rendimientos relativos de cultivos y malezas e indica la *complementariedad de recursos*. RYT no se ha determinado para *E. indica* ni para *E. tristachya* si bien existen estudios que lo han evaluado para otras malezas en Argentina (Puricelli et al., 2003; Puricelli et al., 2012).

b) Agresividad

La agresividad tiene en cuenta el efecto de la competencia tanto en el cultivo como en la maleza e indica la *capacidad competitiva*. La capacidad competitiva es una función de muchos atributos de una especie que hace que la misma obtenga una mayor proporción de recursos limitantes que otras especies (Holt, 1988). Hay estudios sobre la capacidad competitiva de varias malezas en un cultivo determinado (Welbank, 1963; Farahbakhsh et al., 1987; Wilson y Wright, 1990) y se sabe que la agresividad de una maleza puede ser mayor o menor que la del cultivo (Dawson, 1965; Moraes et al. 2009; Silva et al. 2014).

Análisis del crecimiento de las plantas

El análisis del crecimiento es una herramienta analítica empleada para caracterizar las especies de plantas, con datos de la biomasa acumulada en los diferentes órganos a lo largo del ciclo (Poorter et al., 2012). Por lo general, las plantas que presentan un crecimiento más rápido y un mayor tamaño son aquellas que están más capacitadas para competir por los recursos del ambiente (Roush y Radosevich, 1985). Las evaluaciones de la biomasa y de los órganos reproductivos asociados con el crecimiento y desarrollo de las poblaciones de malezas se considera un requisito previo para mejorar las prácticas de manejo (Lamichhane et al., 2017).

La tasa de crecimiento relativo (RGR) se ha propuesto como un medio para integrar los atributos fisiológicos de una planta (Evans 1972; Grime y Hunt 1975; Benincasa, 2003). En ecología vegetal, se considera que RGR es una de las características clave de las plantas que se correlacionan positivamente con la capacidad competitiva (Grime 1977; Grace 1990). Como el RGR tiene en cuenta la biomasa preexistente, un RGR alto indica que un cultivo o una especie de maleza aumenta de tamaño más rápidamente y puede ocupar un espacio más grande que sus vecinos (Poorter et al., 2012). Un estudio realizado por Mohammadi (2007) reveló que, entre los parámetros de crecimiento, el RGR fue el mejor predictor de la competitividad del maíz.

La flora herbácea anual está formada generalmente por especies ruderales que se adaptan a ambientes perturbados y fértiles. Una de las características de los ruderales es un alto RGR en la fase de plántula (Grime, 2001). El conocimiento del RGR de las plántulas es fundamental para comprender la ecología funcional de las especies (Grime y Hunt, 1975; Grime et al., 1997; Hunt y Cornelissen, 1997; Poorter y Garnier, 1999). Dentro de una comunidad de malezas hay un rango de RGR (Seibert y Pearce, 1993) y es importante determinar este parámetro para las especies principales de malezas en una región a fin de desarrollar sistemas de manejo de malezas sostenibles económica y ambientalmente. El análisis de crecimiento de las malezas Poaceae ha recibido poca atención.

Hipótesis

- a) el rendimiento relativo (RY) evaluado a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*)
- b) el RY es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*
- c) la complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja - *E. tristachya* que para soja- *E. indica*

- d) la complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja-malezas que para las malezas entre sí
- e) la habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*)
- f) la habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*
- g) el RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*)
- h) el RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya*
- i) La tasa de crecimiento relativa de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* durante todo el ciclo

Los objetivos de este capítulo fueron:

- 1) evaluar para *E. tristachya* y *E. indica* en competencia de las malezas entre sí y de cada una con el cultivo de soja:
 - a) la complementariedad de recursos en base a biomasa (RYT_{biomasa}) y a producción de semillas (RYT_{semillas})
 - b) la habilidad competitiva en base a biomasa y producción de semillas
 - c) la altura
- 2) Analizar la biomasa total por planta (TDM), tasa de crecimiento relativo (RGR) y la producción de semillas de *E. tristachya* y *E. indica*

Materiales y métodos

El experimento se realizó en la Estación Experimental de la Universidad de Rosario, en Zavalla (lat.33°01'S, long. 60°53'O), Argentina, en 2015/16 y 2016/17 durante la temporada de crecimiento de las malezas y la soja.

Dependiendo del tratamiento (monocultura o mezclas binarias), las semillas de malezas y/o soja se sembraron en macetas de 15 L con orificios de drenaje (40 cm de profundidad, 30 cm de ancho). Este tamaño de maceta minimiza las restricciones de crecimiento de la raíz. Las macetas contenían un suelo tamizado de 5 kg. que se obtuvo del sitio, se tamizó a través de una malla de 5 mm y se pasteurizó durante 24 horas a 80 °C. Las semillas de malezas y soja se sembraron a una profundidad de 2-3 cm y 1-2 cm,

respectivamente. Se permitió que las plántulas se establecieran al aire libre y se regaron regularmente. Las plantas de maleza se ralearon cuando tenían 2 hojas verdaderas y las de soja al estado cotiledonar, para dejar una planta por especie. El suelo de las macetas no se fertilizó y las plantas se trataron con insecticidas cuando fue necesario. Las plantas distintas de las malezas estudiadas y de la soja fueron eliminadas. Las macetas se rotaron dos veces a la semana durante el experimento para evitar cualquier sesgo asociado con la disposición de la maceta. En estas rotaciones, las macetas se movieron en sentido contrario a las agujas del reloj por bloque.

Rendimiento relativo total (RYT) e índice de agresividad (AI)

Los tratamientos consistieron en monoculturas de cada una de las malezas y de soja, mezclas de soja creciendo con *E. indica* o *E. tristachya*, y mezcla entre ambas malezas; se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La densidad total de plantas en mezclas de malezas (2 plantas por maceta) fue igual a la suma de la densidad de cultivos y malezas en monocultivos (1 planta por maceta), un diseño totalmente aditivo según Snaydon (1991).

Los RYT se calcularon utilizando la ecuación 1 propuesta por McGilchrist y Trenbath (1971):

$$RYT = (RY_{ab} / RY_{aa}) + (RY_{ba} / RY_{bb}) \quad \text{ecuación 1}$$

donde RY_{aa} y RY_{bb} son los pesos ($RYT_{biomasa}$) o semillas ($RYT_{semillas}$) por planta de las especies 'a' y 'b' cuando se cultivan en monocultivos y RY_{ab} y RY_{ba} son los pesos por planta o semillas de las especies en mezclas entre sí.

Los valores de RYT se muestran en diagramas bivariados (Snaydon y Satorre, 1989) trazando la biomasa relativa de la soja contra la de cada una de las malezas y la biomasa relativa de *E. tristachya* contra la de *E. indica*. Para un experimento aditivo, un valor RYT de 1 significa competencia completa entre especies, y un valor RYT de 2 significa no competencia. Cualquier valor de RYT entre 1 y 2 significa que la competencia es parcial, es decir, que existe cierta complementariedad de recursos entre las especies.

Para medir la agresividad de las malezas cuando se cultivan en mezcla con la soja, se calculó el índice de agresividad (AI) (McGilchrist y Trenbath 1971). Los valores de AI de malezas por debajo de cero indican que la especie de maleza es menos competitiva que la soja y los valores de AI por encima de cero indican que la maleza es más competitiva que la soja. Los valores de AI para biomasa o semillas se determinaron para cada especie de maleza con soja mediante la ecuación 2:

$$AI = (RY_{ab} / RY_{aa}) - (RY_{ba} / RY_{bb})$$

ecuación 2

donde RY_{aa} y RY_{bb} son los pesos o semillas por planta de las especies de malezas correspondientes (a) y soja (b) cuando se cultivan en monocultivos y RY_{ab} y RY_{ba} son los pesos por planta o semillas de las especies en mezclas entre sí. En mezclas de ambas malezas, (a) corresponde a *E. indica* y (b) a *E. tristachya*.

Parámetros de crecimiento

Los tratamientos consistieron en monoculturas de *E. indica* y *E. tristachya* (1 planta por maceta). Las cosechas de plantas se realizaron semanalmente en 16 fechas durante la temporada de crecimiento: de 7 a 135 días después de la emergencia (DDE). El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con cuatro repeticiones. En cada fecha de muestreo, se determinó la altura de las plantas y luego se cortaron las mismas a nivel del suelo para evaluar la materia seca a fin de calcular la tasa de crecimiento relativo (RGR), que expresa el crecimiento de una planta en un período de tiempo, considerando la materia seca acumulada al inicio de este intervalo, calculado por la siguiente ecuación:

$$RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

ecuación 3

donde W_2 y W_1 son el peso de la planta (g) en los tiempos 2 y 1 (días) (t_2 y t_1 , respectivamente). RGR es la tasa de crecimiento relativo ($g\ g^{-1}\ día^{-1}$).

Asimismo, para describir la dinámica de crecimiento de cada especie, los datos se ajustaron a la siguiente logística de 4 parámetros:

$$y = C + \frac{(D - C)}{1 + (x/t_{50})^b}$$

ecuación 4

Donde y es la variable respuesta (materia seca), c representa el límite inferior de la curva, d representa el límite superior, b es la pendiente de la curva, x es la cantidad de días acumulados, y t_{50} es la cantidad de días que proporciona el 50% de la variable de respuesta

Producción de semillas

El número de semillas por planta se estimó con la metodología del Capítulo 2 (ecuación 1).

Análisis estadístico

Los análisis y la comparación de los parámetros fueron realizados con el software estadístico de licencia libre R3.5.2 (R Development Core Team, 2018).

Antes del análisis, la materia seca se transformó en logaritmo ($\log(x^{-1/2}+1)$) para homogeneizar la varianza y mejorar la normalidad. Se utilizó un ANVA ($P < 0,05$) para probar el efecto del año, los tratamientos y todas las posibles interacciones.

Los valores de rendimiento relativo total ($\text{RYT}_{\text{biomasa}}$ y $\text{RYT}_{\text{semilla}}$) de todos los tratamientos se sometieron a ANVA ($P < 0,05$), y se calculó el LSD ($P < 0,05$) para comparar los valores medios con un RYT de 1. Agresividad, y altura de todos los tratamientos se sometieron a ANVA ($P < 0,05$). Las comparaciones de TDM y RGR por fecha entre *E. indica* y *E. tristachya* se realizaron utilizando una prueba t ($P < 0,05$).

Resultados y discusión

RYT biomasa

La interacción año x tratamiento no fue significativa en $\text{RYT}_{\text{biomasa}}$ y $\text{RYT}_{\text{semillas}}$ para *E. indica* en mezcla con *E. tristachya* y para ambas malezas en mezcla con soja, por lo que los datos agruparon entre años.

Ambos años, $\text{RYT}_{\text{biomasa}}$ y $\text{RYT}_{\text{semillas}}$ entre malezas no fue significativamente diferente de 1, indicando competencia completa o no complementariedad de recursos (Figura 1). En otros experimentos sobre competencia entre especies de gramíneas perennes, se demostró que después de algún período de establecimiento, $\text{RYT}_{\text{biomasa}}$ fue 1 indicando que las especies a menudo se excluyen mutuamente, (De Wit y Van Den Bergh; 1965). La biomasa de *E. indica* en presencia de *E. tristachya* en relación con su monocultura creció 80 %, mientras que *E. tristachya* en presencia de *E. indica* creció 26 %, por lo tanto, la reducción del crecimiento debido a la competencia fue menor para *E. indica* (Figura 1 y Foto 1). En un estudio en el que se comparó de a pares el crecimiento de distintas especies de plantas se determinó que la competencia es generalmente asimétrica en el sentido de que una especie es más afectada que la otra (Keddy et al., 1997).



Eleusine indica en monocultura (a)



Eleusine y *E. tristachya* en mezcla binaria (a + b)



Eleusine tristachya en monocultura (b)

Foto 1. *Eleusine indica* (a) y *E. tristachya* (b) creciendo en monocultura y en mezcla binaria (a + b)

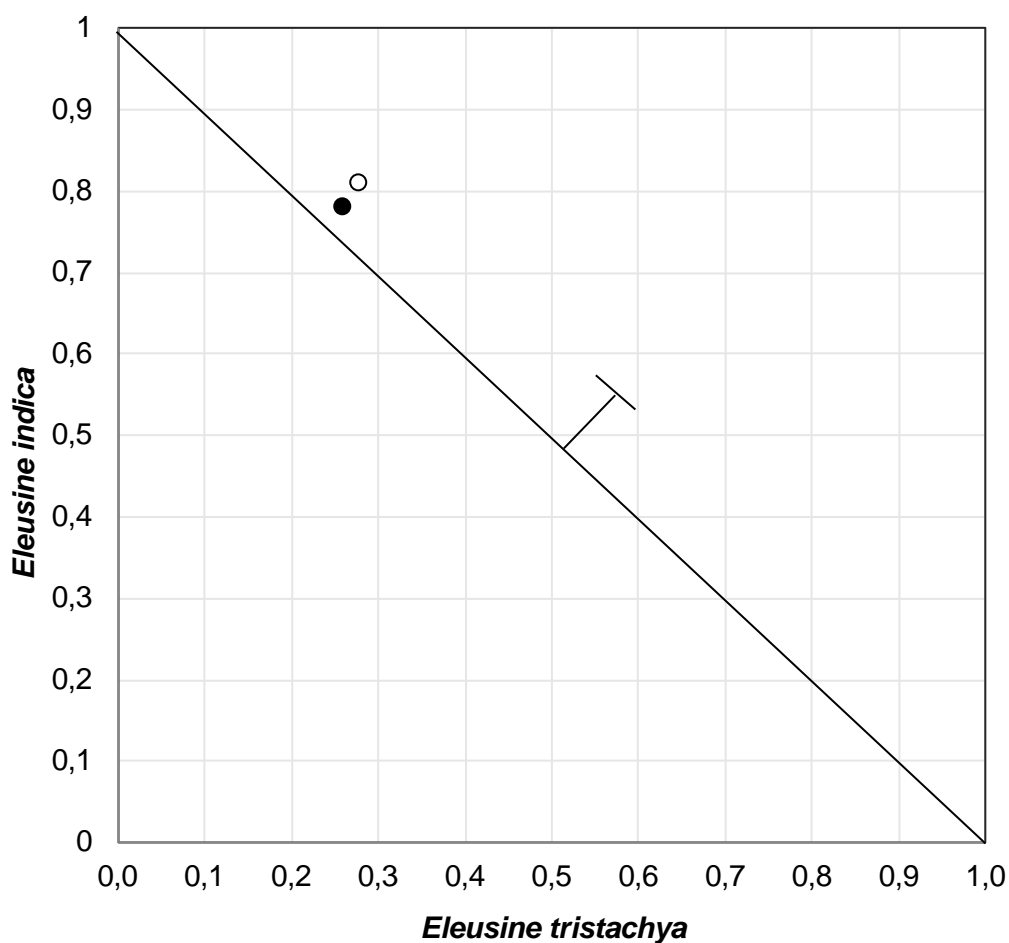


Figura 1. Diagrama bivariado basado en la biomasa relativa de *Eleusine indica* en competencia con *E. tristachya* en (○) 2016 y (●) 2017. La línea diagonal indica las condiciones de $RYT_{\text{biomasa}} = 1$. La barra indica un LSD ($P = 0,05$).

RYT_{biomasa} de soja en mezcla con *E. indica* fue significativamente mayor que 1, mostrando una competencia parcial o complementariedad de recursos (Figura 2 y Foto 2) y cierto grado de diferenciación de nicho (Fowler, 1982). En general, la complementariedad de recursos se observa en mezclas de leguminosas y especies de gramíneas, debido a la fijación de nitrógeno por *Rhizobium* asociado con la leguminosa (De Wit et al., 1966; Hartfield y Stewart, 1994; Liebman et al., 2001) como es el caso de la soja. Radosevich et al. (1997) señalan que existe menor pérdida de productividad en mezclas ya que las plantas de distintas especies tienen diferente nicho ecológico.

En presencia de *E. indica*, la biomasa de soja en relación con su monocultura fue del 53 % (Figura 2 y Foto 2). Estos valores fueron más bajos que para el cultivo de soja con *E. tristachya* (81 %) (Figura 2 y Foto 2). Esto implica que la soja mostró una mayor complementariedad de recursos con *E. tristachya* que con *E. indica*. Por lo tanto, la mayor

evitación parcial de la competencia de la soja en relación a ambas especies de malezas fue evidente. Los valores de $RYT_{biomasa}$ superiores a 1 se determinaron en otros estudios con especies de malezas en barbechos entre sí (Puricelli et al., 2012) y con malezas en soja (Crotser y Witt 2000; Vitta y Satorre 1999; Puricelli et al., 2003). Asimismo, se ha observado competencia completa en un estudio con soja en coexistencia con *Brachiaria plantaginea* en la misma proporción de individuos (Agostinetto et al., 2009).

La biomasa de *E. indica* en presencia de soja en relación con su monocultura creció 87 %, mientras que *E. tristachya* en presencia de soja creció 83 %, por lo tanto, la reducción del crecimiento debido a la competencia es menor para *E. indica* (Figura 3 y Foto 3).

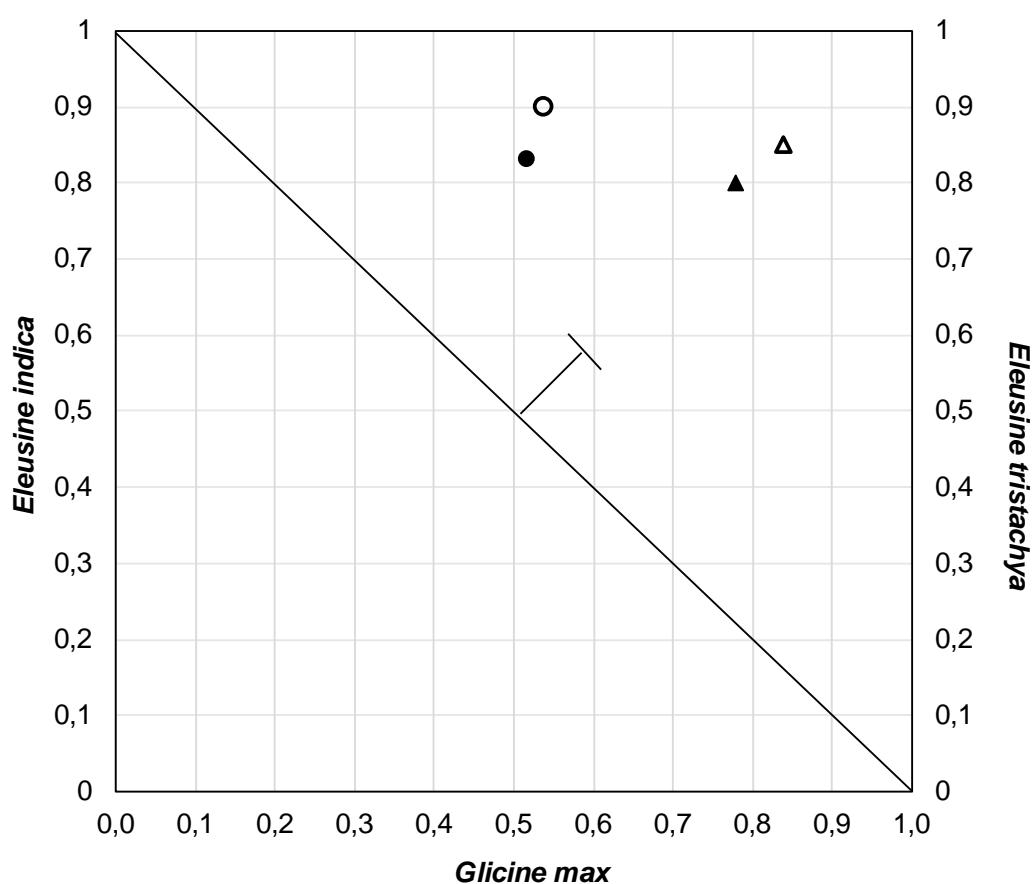


Figura 2. Diagrama bivariado basado en la biomasa relativa de *Glicine max* (soja) en competencia con *Eleusine indica* en (○) 2016 y (●) 2017 y *Glicine max* en competencia con *Eleusine tristachya* en (△) 2016 y (▲) 2017. La línea diagonal indica las condiciones de $RYT_{biomasa} = 1$. La barra indica un LSD ($P = 0,05$).



Soja en monocultura (a)



Soja y *E. indica* en mezcla binaria (a + b)



Eleusine indica en monocultura (b)

Foto 2. Soja (a) y *Eleusine indica* (b) creciendo en monocultura y en mezcla binaria (a + b)



Soja en monocultura (a)



Soja y *E. tristachya* en mezcla binaria (a + b)



Eleusine tristachya en monocultura (b)

Foto 3. Soja (a) y *Eleusine tristachya* (b) creciendo en monocultura y en mezcla binaria (a + b)

Agresividad biomasa

Para la IA_{biomasa} , no se detectó una interacción significativa año x tratamiento; por lo tanto, se agruparon los datos de cada año.

1. IA entre cultivo (en esta tesis el cultivo de soja) y malezas pueden existir tres relaciones distintas:

1.1 La maleza tiene mayor habilidad competitiva que el cultivo

IA para la mezcla de soja y *E. indica* fue de 0,34. Otros experimentos también muestran que las malezas pueden tener mayor habilidad competitiva que la soja (Regnier y Stoller, 1989, Puricelli et al., 2003, Lamego et al., 2005; Bianchi et al. 2006). La alta habilidad competitiva de *E. indicaremarca* el beneficio de controlar esta especie para optimizar el manejo de malezas. Roush y Radosevich (1985) han indicado que la aplicación de herbicidas debe dirigirse solo a las malezas más competitivas.

1.2 La maleza y el cultivo tienen la misma habilidad competitiva

IA para la mezcla de soja y *E. tristachya* fue de 0,02, lo que indica que lo que también ha sido observado en otro estudio con *E. indica* en maíz (Wandscheer, 2013).

1.3 La maleza tiene menor habilidad competitiva que el cultivo

Esta relación no fue observada en el presente estudio pero ha sido descrita en otros trabajos (Christoffoleti et al, 1996; Hoffman y Buhler, 2002; Moraes et al., 2009; Yamauti et al., 2011; Guglielmini et al., 2016)

2. IA de la mezcla de *E. indica* y *E. tristachya*

IA para la mezcla de ambas malezas fue de 0,54, siendo *E. indica* más competitiva que *E. tristachya*. Esto ha sido observado en *Galium aparine*, cuya habilidad competitiva fue mayor a otras especies de malezas aparentemente debido a su mayor tasa de crecimiento, especialmente en las últimas etapas y con plantas grandes (Wilson, 1986; Peters, 1984; Wilson y Wright, 1987).

RYT_{semillas}

La interacción del año x tratamiento no fue significativa para *E. indica* en mezcla con *E. tristachya* y para ambas malezas en mezcla con soja, por lo que los datos se agruparon entre años.

RYT_{semillas} fue significativamente menor que 1, lo que indica que ambas malezas en competencia producen menos semillas que en su monocultura (Figura 3). La producción de semillas de *E. indica* en presencia de *E. tristachya* en relación con su monocultura fue de 79%, mientras que la de *E. tristachya* en presencia de *E. indica* fue de 26%. Por lo tanto, la reducción de la producción de semillas debido a la competencia es menor para *E. indica*. Se ha demostrado que cuando las especies nativas crecen junto con especies exóticas reducen sustancialmente su producción de semillas (Cook-Patton y Agrawal, 2014), lo que puede explicar la menor producción de semillas de *E. tristachya* (nativa) en presencia de *E. indica* (exótica).

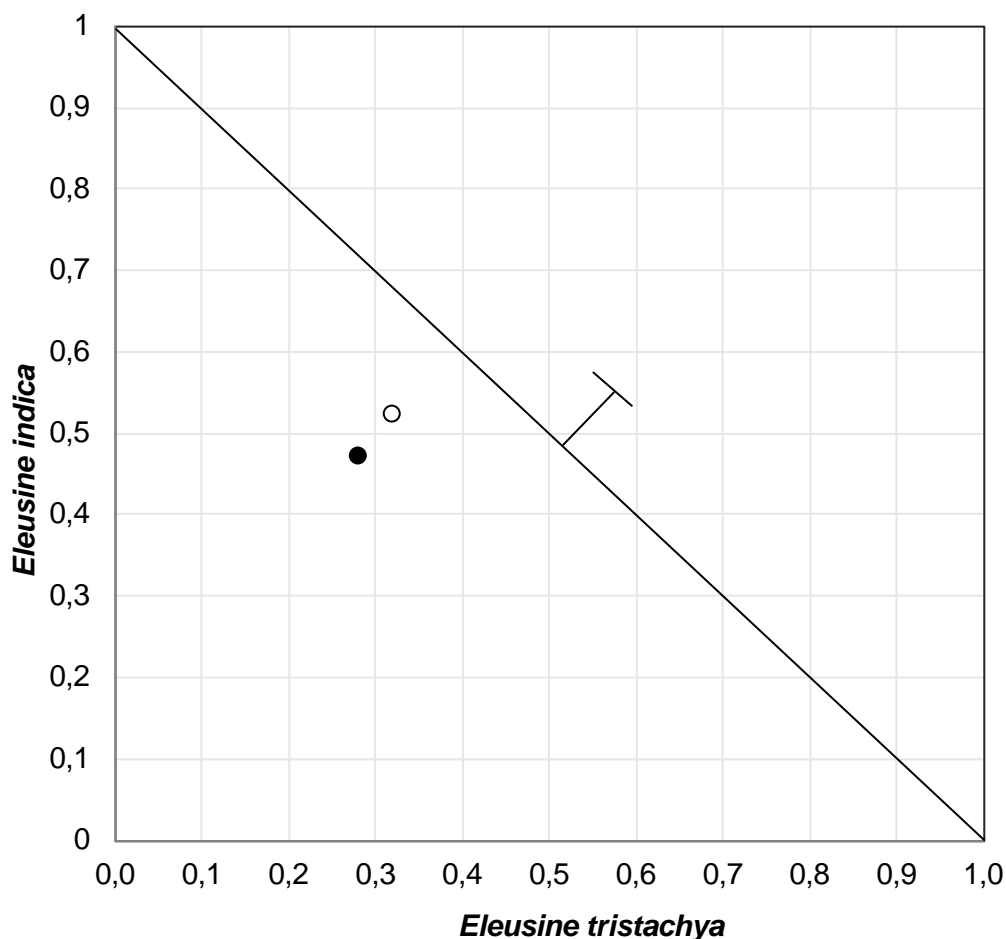


Figura 3. Diagrama bivariado basado en la producción de semillas relativa de *Eleusine indica* en competencia con *E. tristachya* en (○) 2016 y (●) 2017. La línea diagonal indica las condiciones de $RYT_{\text{biomasa}} = 1$. La barra indica un LSD ($P = 0,05$).

RYT_{semillas} de soja en mezcla con *E. indica* fue significativamente mayor que 1, indicando competencia parcial o complementariedad de recursos (Figura 4). La cantidad de semillas de soja en relación con su monocultura fue del 53%. Estos valores fueron más bajos que para el cultivo de soja con *E. tristachya* (81%). No se conocen estudios que comparen RYT_{semillas} de diferentes especies de malezas o cultivos.

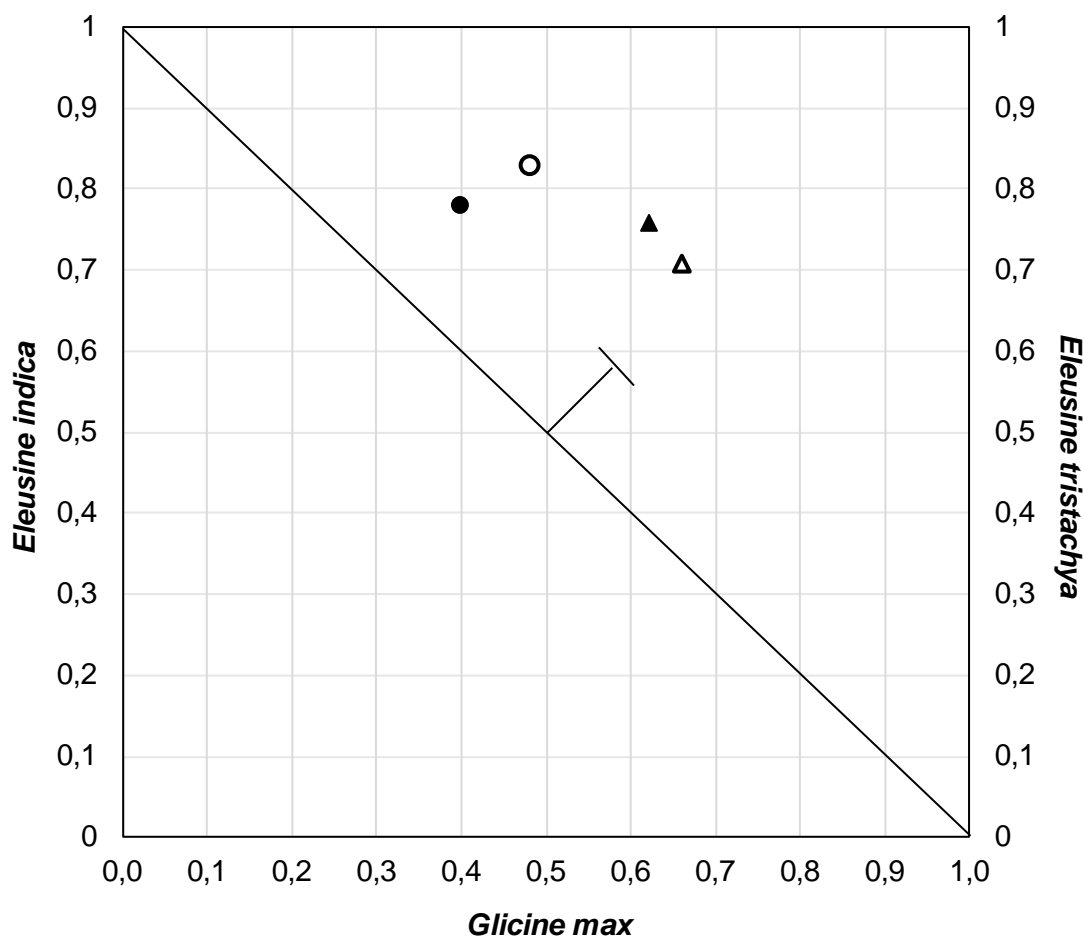


Figura 4. Diagrama bivariado basado en la producción de semilla relativa de *Glicinemax* (soja) en competencia con *Eleusine indica* en (○) 2016 y (●) 2017 y *Glicine max* en competencia con *Eleusine tristachya* en (△) 2016 y (▲) 2017. La línea diagonal indica las condiciones de $RYT_{\text{biomasa}} = 1$. La barra indica un LSD ($P = 0,05$).

Agresividad semillas

Para la IA_{semillas} , no se detectó una interacción significativa año por tratamiento, por lo tanto, se agruparon los datos de cada año.

IA para la mezcla de soja y *E. indica* fue de 0,36 lo cual indica la mayor competencia de esta maleza en la producción de semillas. En cambio, IA de la mezcla de soja y *E. tristachya* no fue significativamente diferente de 0, señalando igual habilidad competitiva.

Se determinó correlación entre AI_{biomasa} y AI_{semilla} .

A continuación, en la Tabla 1 se puede observar las distintas relaciones y el grado de intensidad entre las mezclas estudiadas para RYT biomasa y semillas y AI biomasa y semilla:

Tabla 1. Relaciones e intensidad entre las mezclas *Eleusine indica* – Soja, *Eleusine tristachya* – Soja y *Eleusine indica* – *Eleusine tristachya* para los índices RY_{biomasa} , RY_{semilla} , AI_{biomasa} y AI_{semilla}

| | Combinaciones de especies | | |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------|---|
| | <i>E. indica</i> – Soja | <i>E. tristachya</i> - Soja | <i>E. indica</i> – <i>E. tristachya</i> |
| RY_{biomasa} | ++ | +++ | + |
| RY_{semilla} | ++ | +++ | - |
| AI_{biomasa} | <i>E. indica</i> >Soja | <i>E. tristachya</i> =Soja | <i>E. indica</i> > <i>E. tristachya</i> |
| AI_{semilla} | <i>E. indica</i> >Soja | <i>E. tristachya</i> = Soja | <i>E. indica</i> > <i>E. tristachya</i> |

Leyenda: el signo positivo indica valores mayores a 1. El signo negativo indica valores menores a 1. La intensidad está expresada con la cantidad de signos+/-, tres signos indican mayor intensidad, dos signos intensidad intermedia y un signo menor intensidad.

Altura de la planta

El efecto competitivo está relacionado con la adquisición de recursos con plantas grandes o altas que deprimen a las más pequeñas (Gaudet y Keddy, 1988; Keddy y Shipley, 1989; Goldberg, 1990; Aarssen, 1992). En varios estudios, se muestra que la altura de la planta puede influir en la competencia entre las malezas y los cultivos en función de las especies involucradas, sus comportamientos de crecimiento y su período de coexistencia (Zanine y Santos, 2004; Blackshaw, 1994; Huel y Hucl, 1996; Lemerle et al., 2001). En el presente estudio, la altura de la soja y las malezas no difirió entre mezclas y monoculturas. Como se muestra en la Figura 5, la soja en el estadio V2 fue más alta que las malezas, las cuales no difirieron entre sí en altura. En R3 y R5, *E. indica* presentó mayor altura que la soja y que *E. tristachya*. Algunas especies de malezas que producen follaje por encima del canopeo del cultivo de soja causan pérdidas en el rendimiento de la soja al competir por la luz (Coble et al., 1981; Stoller y Woolley, 1985; Wiles y Wilkerson, 1991; Silva et al., 2004; Bianchi et al.,

2006; Rezende et al., 2012). En otros estudios, la altura de la soja fue superior a la de la maleza (Jannink et al., 2000; Puricelli et al., 2003).

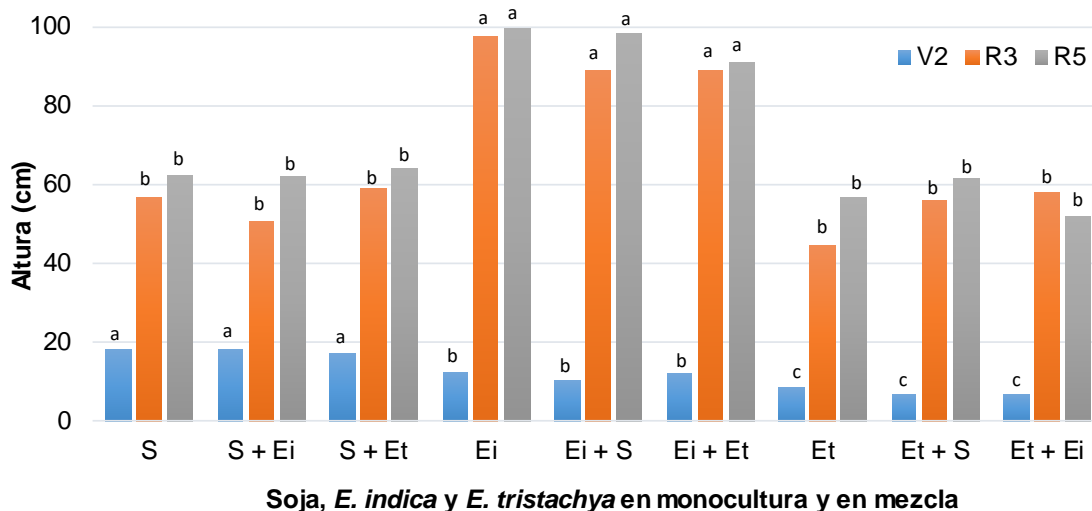


Figura 5. Altura de Soja (S), *Eleusine indica* (Ei) y *Eleusine tristachya* (Et) en monocultura y en mezcla binaria evaluados en tres estadios fenológicos de la soja: V2, R3 y R5 (Fehr y Caviness, 1977), a los 25, 45 y 90 días después de la emergencia del cultivo y las malezas. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas para cada estadio fenológico entre la soja y cada una de las malezas.

Parámetros de crecimiento

TDM y RGR

En el presente estudio, *E. indica* y *E. tristachya* no mostraron diferencias en la biomasa por planta hasta los 35 DDE (Figura 6) según una prueba de t ($P < 0,05$). La acumulación de materia seca fue baja durante este período inicial, lo que coincide con otros estudios en Poaceae, como *Digitaria insularis* y *Chloris polydactyla*, que también muestran una acumulación lenta de materia seca hasta alrededor de 45 DDE (Carvalho et al., 2005; Machado et al., 2006).

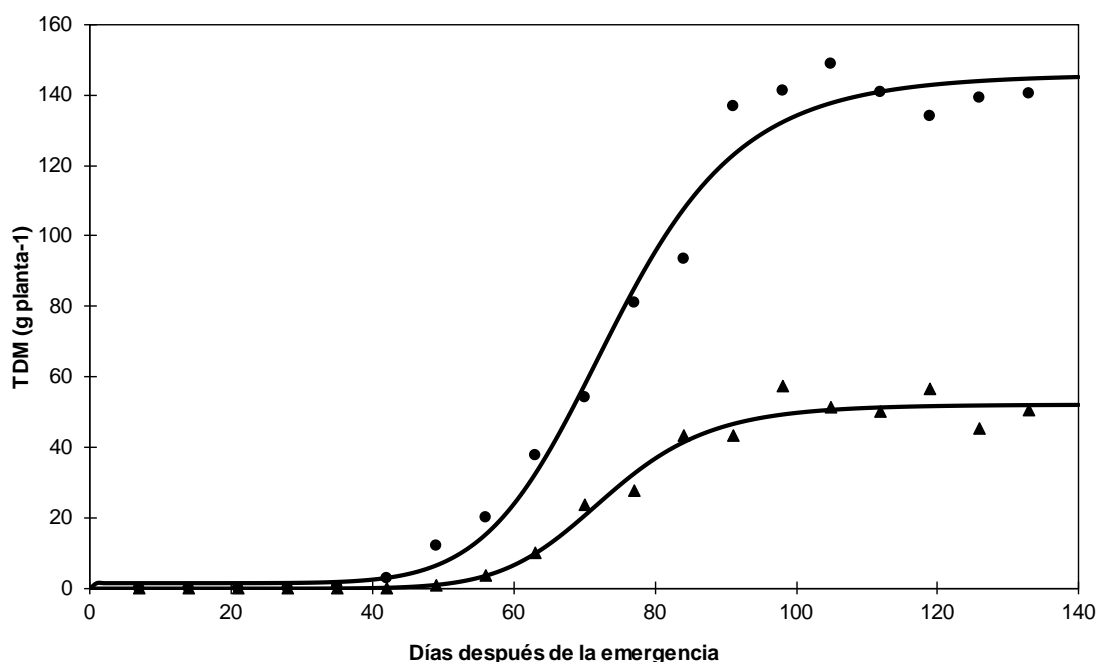


Figura 6. (TDM) Materia seca total por planta (g día⁻¹) a lo largo del ciclo de desarrollo de *Eleusine indica* (●) y *Eleusine tristachya* (▲) creciendo en monocultura

A partir de 35 DDE en *E. indica* y de 42 en *E. tristachya*, se determinó un aumento exponencial en la acumulación de biomasa hasta llegar a un punto de inflexión a los 74 DDE para las dos malezas. En otro estudio en un invernadero con *E. indica*, el punto de inflexión se produjo más temprano en la temporada de crecimiento, probablemente debido a las temperaturas más altas durante el experimento (Takano, 2016). Luego del punto de inflexión, se redujo la acumulación, siendo RGR muy baja (Figura 6) hasta el final del ciclo de crecimiento, lo que concuerda con el estudio realizado por Takano (2016). La baja acumulación se debe a que el gran aumento en la producción de materia seca resulta en nuevas estructuras de la planta que requieren fotoasimilados para su mantenimiento, lo que disminuye la cantidad de energía disponible para desarrollar nuevas estructuras (Benincasa, 2003). Las diferencias en TDM se maximizan en el final del ciclo de crecimiento, con 90 gramos más por planta en *E. indica* que *E. tristachya* (Foto 4 y Figura 6).



Foto 4. De izquierda a derecha: *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* a los 107 días de crecimiento en monocultura

En ecología vegetal, se considera que RGR es una de las características claves de las plantas que se correlaciona positivamente con la capacidad competitiva (Grime, 1977; Grace, 1990). Los ambientes agrícolas más productivos tienden a tener especies con mayor RGR (Grime y Hunt, 1975) que pueden competir mejor por recursos limitantes (Roush y Radosevich, 1985). Sin embargo, en otro estudio en arroz RGR no se asoció a la mayor competitividad, mientras que la biomasa al momento del macollaje del arroz fue el mejor predictor de la competitividad contra malezas (Ni et al., 2000). En el presente estudio, RGR entre ambas especies de *Eleusine* no difirió, excepto a los 7 DDE y en los momentos de RGR máximo para cada especie (0,37 a 42 DDE en *E. indica* y 0,32 a 49 DDS en *E. tristachya*). Estos resultados también indican que *E. indica* alcanza su máximo RGR antes que *E. tristachya*.

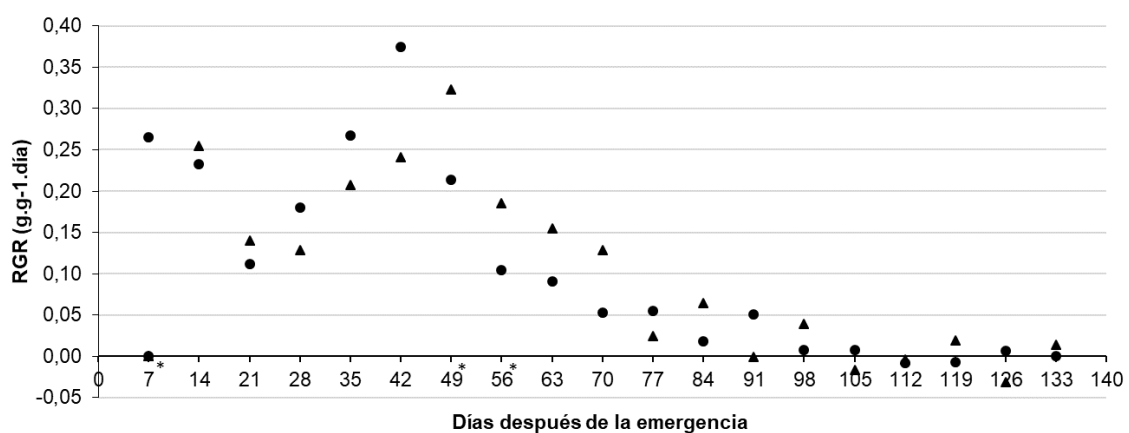


Figura 7. Tasa de crecimiento relativo (gg⁻¹día) de *Eleusine indica* (●) y *Eleusine tristachya* (▲) en el tiempo (días después de la emergencia) creciendo en monocultura. Un asterisco

(*) indica para cada fecha diferencias estadísticas significativas de RGR entre ambas especies, según una prueba de t ($P < 0,05$).

Como se observa en la Figura 7, los valores máximos de RGR son mayores a los determinados en *E. indica* de $0,15 \text{ g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ (Takano, 2016) y de otras malezas C4, como *Digitaria insularis* (Machado et al., 2006) y *Cyperus rotundus* (Brighenti et al., 1997), que exhiben un RGR máximo que varía de $0,12$ a $0,14 \text{ g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$. En gramíneas, Storkey (2004) encontró valores ($\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$) de $0,18$ para *Bromus sterilis*, $0,20$ para *Lolium multiflorum*, y $0,21$ en *Poa annua*.

En consecuencia, de los resultados se infiere que es importante controlar *E. indica* antes de que la planta alcance el RGR más alto. La eficacia de los herbicidas de post emergencia (glifosato o inhibidores de ACCasa) se reduce considerablemente con el aumento de la etapa de desarrollo y se optimiza con aplicaciones realizadas hasta cuatro hojas como lo ha determinado Ulguim et al. (2013) lo que coincide también con lo demostrado en el capítulo 2 de la presente tesis.

Producción de semillas

La reproducción sexual contribuye al mantenimiento de una alta variabilidad genética y permite a las especies de malezas colonizar nuevos hábitats mediante la dispersión a gran distancia de las semillas (Heimann y Cussans, 1996). No hay información publicada sobre la producción de semillas de *E. tristachya*. Los datos de crecimiento y producción de semillas de *E. indica* y *E. tristachya* obtenidos en el presente y en otros estudios se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Duración de la estación de crecimiento, inicio de la producción de semillas, período de producción de semillas y producción de semillas por planta de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en el presente estudio y en la literatura.

| | <i>E. indica</i> * | <i>E. indica</i> | <i>E. tristachya</i> * |
|--|--------------------|--------------------|------------------------|
| Duración de la estación de crecimiento (días) | 142 | 120 (Takano, 2016) | 142 |
| Inicio de la producción de semillas (días después de la siembra) | 100 | 38 | 84 |
| Período de producción de | 40 | 70 (Takano, 2016) | 58 |

| | | | |
|--|-------|---|------|
| semillas (días) | | 40 (Ismail et al. 2002, 2003) | |
| | | 4000 (Mailett, 1991) | |
| Producción de semillas por planta (n° semillas / planta) | 20127 | 120000 (Takano, 2016) 140000 (Chin, 1979) 400000 (Ismail et al. 2002, 2003) | 3502 |

Leyenda: Un asterisco (*) indica los datos del presente estudio.

Un largo período de producción y dispersión de semillas contribuye a la reposición del banco de semillas *in situ* y la dispersión a nuevas áreas (Walsh & Powles, 2014). Se ha determinado que *E. indica* puede propagarse rápidamente en áreas cultivadas ya que su alta fecundidad contribuye a su éxito como una maleza en todo el mundo (Ismail, 2003) y además porque las semillas pueden ser transportadas por el viento (Kissmann, 1997). La cantidad de semillas producidas por planta fue superior para *E. indica* vs *E. tristachya*. La menor producción de semillas de *E. tristachya* puede deberse a que esta maleza también se reproduce por vía vegetativa.

CAPÍTULO IV

Demografía de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en barbecho y en el cultivo de soja

CAPÍTULO IV

Demografía de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en barbecho y en el cultivo de soja

Resumen

El conocimiento de la composición y la abundancia de los bancos de semillas de las especies de malezas en cultivos agrícolas es necesario para poder anticipar los efectos de las prácticas de manejo en la dinámica de la población de malezas. El objetivo de este capítulo es examinar en un banco de semillas establecido artificialmente la dinámica poblacional de *Eleusine tristachya* y *Eleusine indica*, evaluando el impacto de los herbicidas postemergentes (glifosato y cletodim) en términos de emergencia, banco de semillas, reclutamiento, mortalidad de plántulas, biomasa vegetal y producción de semillas durante 3 ciclos de crecimiento de las malezas; y la longevidad de las semillas. Se identificaron tres cohortes diferentes todos los años. En *E. indica* y *E. tristachya* en 2016 no hubo diferencias en el número de plantas con y sin herbicida y la segunda cohorte presentó el mayor número de emergencias. En 2017 en ambas especies hubo mayor número de plantas sin herbicidas. La tercera cohorte produjo menos plantas que las dos primeras. Sin aplicación de herbicida en la primera cohorte, la mortalidad de *E. indica* en 2016 fue 0,3 plantas.m⁻², lo que representa un porcentaje del 17 % de la cohorte. Este valor fue significativamente menor que el de *E. tristachya* que alcanzó 0,7 plantas.m⁻², representando un porcentaje del 33 %. En 2017 no hubo diferencias en densidad, pero sí en porcentaje. La mortalidad de *E. indica* fue de 2 plantas.m⁻² lo que representa un 38 % y la de *E. tristachya* fue de 3 plantas m⁻² siendo en porcentaje del 22 %. En la segunda y tercera cohorte la mortalidad fue del 100 %, lo que se atribuye a la competencia ejercida por el canopeo, ya que en el momento de emergencia de la segunda cohorte, la soja se encontraba en el estado V3-V4. La biomasa por planta (g planta⁻¹) de la primera cohorte sin herbicidas (la única sobreviviente) fue mayor para *E. indica* que para *E. tristachya*. La producción de semilla.m⁻² de malezas de la primera cohorte sin herbicidas no difirió entre las especies. Se puede concluir que el incremento en los bancos de semillas y en la producción de semillas de *E. indica* y *E. tristachya* puede reducirse marcadamente mediante la eliminación de las plantas emergidas por aplicación de herbicidas postemergentes al estado de plántula, lo que concuerda con otros estudios en malezas gramíneas.

Introducción

La dinámica poblacional consiste en estudiar los cambios en densidad en los distintos estadios de una especie (semillas en el banco, plántulas, adultos y producción de semillas). El conocimiento de la dinámica poblacional de una maleza permite identificar los procesos demográficos más vulnerables a través del empleo de herbicidas u otras medidas de control (Figura 1) (Cousens y Mortimer, 1995). En la mayoría de las especies, el estadio de plántula es el más vulnerable (Fenner, 1987; Buhler, 1999).

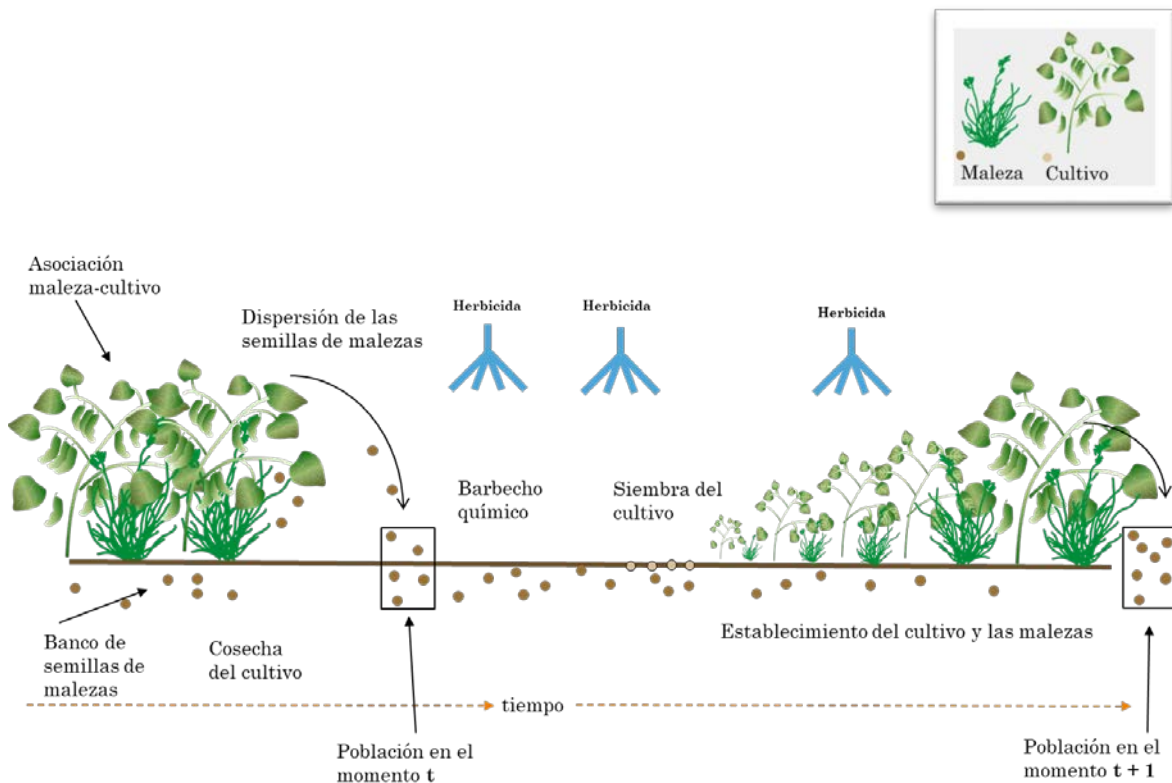


Figura 1. Un ciclo de vida idealizado en una asociación maleza gramínea – cultivo de soja (Adaptado de Cousens y Mortimer, 1995)

Es necesario conocer la dinámica poblacional para mejorar las decisiones de manejo (Buhler, 1996) ya que una correcta práctica de control a largo plazo debe tener en cuenta la disminución del aporte de semillas al banco de semillas de malezas en los campos agrícolas (Dyer, 1995).

Existe abundante bibliografía sobre los cambios en la composición y la abundancia de los bancos de semillas de las especies de malezas en cultivos agrícolas (Cavers, 1983; Forcella et al., 1992; Holst et al., 2007; Poggio, 2012). El conocimiento de estas diferencias es necesario para poder anticipar los efectos de las prácticas de manejo en la dinámica de la población de malezas (Ball y Miller, 1989; Buhler et al., 1997; Ambrosio et al., 2004;

Puricelli y Tuesca, 2005; Tuesca y Puricelli, 2007; Creech et al., 2008). El banco de semillas es la fuente para la renovación de la mayoría de las malezas y es responsable de los eventos de emergencia en cohortes de las plantas que permiten que la maleza persista a las perturbaciones creadas por el hombre mediante la dispersión exitosa a través del espacio (colonización) y el tiempo (es decir, persistiendo como semillas en un sitio) (Buhler et al., 1997; Buhler, 1999). La creciente preocupación sobre la resistencia a los herbicidas y la sostenibilidad agronómica y ambiental del control de malezas actualmente dominado por herbicidas muestran la necesidad de un manejo integrado de malezas que se basa en el conocimiento de la biología y ecología de las malezas (Mortensen et al.; 2000, Van Acker, 2009). Para los fines del control, los estudios cuantitativos de la demografía de malezas pueden ayudar a identificar los cambios en las poblaciones y, en consecuencia, pueden ser útiles para interrumpir el ciclo de vida de las malezas en el punto más vulnerable (Crawley, 2007). Estos cambios pueden implicar la disminución (outputs) como emergencia o predación o aumentos (inputs) del banco de semillas como producción de semillas.

Emergencia de plántulas

Las semillas son órganos de almacenamiento de compuestos de alta energía que suministran a los embriones los recursos necesarios para germinar y establecerse. La germinación de semillas de malezas a menudo resulta en la emergencia exitosa de las plántulas desde la superficie del suelo (Kennedy, 1999; Benvenuti et al., 2001; Van Mourik et al., 2005) y gran parte del trabajo realizado en la ciencia de las malezas en las últimas dos décadas ha tenido como objetivo el conocimiento del momento y la magnitud de la emergencia de las plántulas de malezas para optimizar los métodos de control (Davis y Renner, 2007).

Mortalidad de plántulas

Dadas las altas tasas de reproducción de malezas anuales (Liebman et al., 2001), las tasas de supervivencia reportadas parecen sorprendentemente altas, y probablemente indican que la mayor mortalidad de malezas ocurre antes de la emergencia o se debe a medidas de control posteriores a la emergencia. La tasa de mortalidad generalmente disminuye al aumentar el tamaño o la edad de la planta (Weiss, 1981; Mahler y Callaway, 1992; Buhler y Owen, 1997). En cambio, la mortalidad artificial por las prácticas de cultivo desarrolladas por el hombre son una fuente importante que afecta a semillas germinadas y plántulas recién emergidas a través de los herbicidas preemergentes y plántulas y plantas de malezas por parte de los herbicidas postemergentes (Faccini y Puricelli, 2007; Puricelli y Faccini, 2009).

La mortalidad artificial puede también deberse a la utilización del control mecánico y cultural (Gunsolus, 1990; Puricelli et al., 2002). El uso de estos controles en conjunto con el control químico permite el manejo integrado de malezas (Harker y O'Donovan, 2013). Aunque la etapa de semilla es comparativamente menos vulnerable al manejo que la etapa de plántula, los modelos de simulación sugieren que la dinámica de la población es particularmente sensible a la mortalidad de las semillas (Jordan et al., 1995; Puricelli et al., 2007). Según Forcella et al. (1992), 50-90% del total de semillas en el banco de semillas se compone de semillas muertas.

Producción de semillas

En los agroecosistemas, las semillas ingresan al suelo a través de muchas fuentes, pero la principal es la producción de semillas por parte de plantas que escapan al control y se reproducen dentro del campo (Cavers, 1983). Las semillas acumuladas en el perfil del suelo contribuyen a aumentar el banco de semillas (Forcella et al., 2003). Poseer un alto rendimiento reproductivo es un rasgo clave de las malezas exitosas (Perrone et al., 2014). En particular, las malezas gramíneas de verano tienen por lo general una elevada fecundidad especialmente cuando se encuentran en densidades bajas (Nisensohn et al., 2011). Incluso en suelos con baja densidad de población de semillas, el número de malezas puede aumentar rápidamente si las plantas pueden producir semillas (Burnside et al. 1986; Buhler et al. 1998).

Banco de semillas

Banco natural

Los experimentos de campo se pueden realizar con poblaciones de malezas ya establecidas en forma natural. Los bancos naturales de semillas proporcionan un escenario real de cómo las especies respondieron a las condiciones a las que estuvieron expuestas (Mulugeta y Stoltenberg, 1997). Los estudios con bancos naturales se han realizado creando recintos para evitar la dispersión de semillas (Peart, 1989), eliminación de la producción de semillas (Putwain et al., 1968) o la eliminación de las contribuciones del banco de semillas (Edwards y Crawley, 1999; Rogers y Hartnett, 2001). Estos enfoques permiten un examen explícito de la contribución del reclutamiento de plántulas a los bancos de semillas establecidos naturalmente frente a la producción de semillas de las generaciones anteriores, pero en presencia de bancos naturales no son posibles estudios demográficos precisos porque es

difícil determinar con precisión el número de semillas presentes inicialmente en el suelo (Ter Heerd et al., 1996).

Banco artificial

Muchos de los experimentos diseñados para evaluar el banco de semillas a lo largo del tiempo teniendo en cuenta factores como la germinación, la emergencia, la descomposición y la predación, se han realizado utilizando bancos de semillas artificiales (Bello et al., 1998; Gallagher y Cardina, 1998; Kegode et al., 1998; Rehman y Park, 2000; Puricelli et al., 2005). Los bancos de semillas artificiales consisten en una cantidad conocida de semillas sembradas en una parcela libre de la especie de maleza considerada, permitiendo así seguir el destino de una cantidad conocida de semillas a lo largo del tiempo en diferentes condiciones (Hartzler et al. 1999; Hussain et al., 2017). Según diversos autores, los estudios de bancos de semillas artificiales han proporcionado información útil sobre los patrones de ganancia y pérdida de propágulos (Roberts y Feast, 1973; Buhler y Hartzler, 2001).

Reclutamiento

El reclutamiento es la proporción del banco de semillas de malezas que emerge cada año (Mortimer et al., 1980) y depende de varios factores (Webster, 2003) que se analizarán más adelante: la persistencia de las semillas en el suelo y la capacidad de las semillas para emerger.

Predación

La predación es otro mecanismo importante de pérdida de semillas (Westerman et al., 2003). Las reservas de energía de las semillas son una excelente fuente de alimento para una variedad de animales que viven en o cerca de los campos agrícolas. Los predadores que actúan luego de la dispersión de semillas incluyen muchos invertebrados como carábidos y hormigas (Brust y House, 1988; Zhang et al. 1997; Aslan et al., 2019) y vertebrados generalistas como aves y roedores (Mittelbach y Gross, 1984, Chambers y MacMahon, 1994). La importancia relativa de los diversos gremios de predadores de semillas varía según los hábitats (Hulme, 1998; Menalled et al., 2000; Gallant, 2005). Los sistemas sin labranza como el estudiado en la presente tesis poseen condiciones propicias para la predación (Murdock y Ellis, 1992; Puricelli et al., 2005; Baraibar et al., 2009). Se ha informado que un 90 % o más de las semillas de un lote agrícola pueden ser removidas por predación (Zhang et al., 1997). Por otro lado, el hecho de que el agotamiento de los bancos

de semillas poco profundos sea más rápido que de los más profundos, es posiblemente debido a la predación (Roberts y Feast, 1972; Roberts y Feast, 1973a).

Hipótesis

- a) La emergencia de ambas especies de *Eleusine* difieren en el inicio y en la cantidad de individuos.
- b) La mortalidad natural en el cultivo de soja de las plántulas es reducida en ambas especies en el primer año aumentando en el segundo en *E. indica* y en *E. tristachya*.
- c) La mortalidad artificial de plantas producida por glifosato es menor que la producida por el graminicida.
- d) El reclutamiento de ambas especies de *Eleusine* es estable entre años.
- e) El control del graminicida sobre la producción de semillas en todas las cohortes es superior al de glifosato.
- f) En el cultivo de soja, *Eleusine indica* posee mayor producción de semillas.m⁻² que *E. tristachya*.
- g) El banco de semillas sin control químico en postemergencia se incrementa más en *E. tristachya* que en *E. indica*.

Objetivos

El objetivo de este capítulo es examinar en un banco de semillas establecido artificialmente la dinámica poblacional de *E. tristachya* y *E. indica* con y sin herbicidas postemergentes (glifosato y cletodim) en el barbecho y en el cultivo de soja, evaluando la emergencia, mortalidad de plántulas, biomasa vegetal, producción de semillas, banco de semillas y reclutamiento durante 2 cultivos de soja y 3 barbechos.

Sitio experimental

En el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario en 2016, 2017 y 2018 se realizaron dos experimentos. El sitio experimental se encontraba libre de *E. indica* y *E. tristachya* y había estado bajo un sistema de siembra directa durante más de 15 años.

Lluvia

La precipitación diaria se obtuvo en la Estación Agrometeorológica ubicada a 500 m del sitio de estudio. Hubo suficiente humedad cada año en la fecha de siembra de soja y en

consecuencia la emergencia del cultivo ocurrió siempre entre los 6 y los 8 días después de la siembra (DDS).

Material vegetal

Las semillas maduras de *E. indica* y *E. tristachya* se recolectaron directamente de al menos 50 plantas al azar mediante la agitación de las inflorescencias dentro de bolsas de papel. Las semillas se limpiaron, contaron y almacenaron en la oscuridad a una humedad relativa del 40% a temperatura ambiente hasta su disposición en el suelo. El porcentaje de germinación inicial y la viabilidad de las semillas se determinaron justo antes de la siembra mediante la colocación de cuatro repeticiones de 200 semillas de cada especie, en placas de Petri. Se procedió a la incubación de las cajas en una cámara de crecimiento a 20-30 °C en la luz a 30 mmol m⁻² s⁻². Las semillas con radícula emergente fueron definidas como germinadas. Después de 14 días, las semillas restantes se retiraron, se cortaron y se trataron con cloruro de tetrazolio (TTC) al 0,1% (Moore, 1985) para determinar la viabilidad. Las semillas que mostraron un color rosado a rojizo después de 48 h se consideraron viables. El número de semillas viables se determinó agregando el número de semillas que germinaron y el número de semillas que dieron positivo en la prueba TTC.

Experimento 1. Demografía de *E. indica* y *E. tristachya* en el barbecho y en soja

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de parcelas divididas en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones, siendo el primer factor la especie con dos niveles (*E. indica* y *E. tristachya*) y el segundo factor el herbicida con tres niveles (sin herbicida, glifosato y cletodim). Las parcelas consistieron en cuadros fijos de 2 x 1 m. En cada tratamiento, una mitad del cuadro se utilizó para determinar la demografía y la otra para cuantificar la densidad del banco de semillas a la cosecha de soja. Los cuadros se reubicaron en el mismo lugar luego de la siembra de soja.

Procedimientos experimentales

A mediados de noviembre de cada año se realizó la siembra de soja cultivar FN 4505 (Feria del Norte) plantado a 52 cm entre hileras a una densidad 250.000 plantas ha⁻¹. Los estadios fenológicos promedio de la soja (Fehr y Cavinness, 1977) se determinaron en cada fecha de

registro en cinco plantas por parcela. En abril de cada año y cuando la soja se encontraba en R8 se procedió a su cosecha.

El control de las malezas en el barbecho se realizó con aplicaciones de herbicidas no residuales como glifosato y/o glifosato + 2,4-D para un mayor control de latifoliadas cuando fue necesario hasta fines de septiembre que es el momento donde comienzan a emerger las maleza del estudio durante el barbecho. Luego, previo a la siembra del cultivo de soja en noviembre, se realizó una aplicación de glifosato para diferenciar el período de barbecho con el inicio de las cohortes de malezas en el cultivo.

El experimento finalizó en noviembre de 2018 inmediatamente después de la siembra de soja.

Emergencia y mortalidad

Para cada tratamiento, en un cuadro de 1 x 1 m se cuantificaron y marcaron semanalmente las plántulas emergidas de la especie de maleza correspondiente con fichas de un color diferente en cada una de las 3 cohortes durante todo el ciclo del cultivo (plántulas emergidas entre 0 y 30 días después de la siembra–DDS-, entre 31 y 60 DDS y entre 61 y 150 DDS). La mortalidad de plantas en cada cohorte se determinó contando el número de fichas de cada color sin plantas o con plantas muertas.

Durante todo el experimento, se eliminaron a mano las malezas distintas de *E. indica* y *E. tristachya* que crecieron en los cuadros y alrededor de los mismos para evitar el sombreado y la lluvia de semillas que podrían afectar los resultados

Producción de biomasa de malezas

Las plantas de *E. tristachya* y *E. indica* se cortaron a nivel del suelo para determinar la biomasa a la cosecha del cultivo de soja en el cuadro utilizado para la demografía. Se separaron las plantas entre cohortes y se pesaron después de secarlas a 70 °C durante 48 h.

Producción de semillas

La producción de semillas se evaluó mediante la recolección periódica de inflorescencias maduras separadas por cohorte y el posterior el conteo de las semillas. Luego del conteo las semillas se esparcieron en la parcela de la cual se habían extraído las inflorescencias.

Banco de semillas

Al comienzo del experimento (14 de mayo de 2016), las semillas de *E. indica* y *E. tristachya* se sembraron superficialmente a una densidad de 1650 semillas.m⁻². La viabilidad de las semillas utilizadas para establecer el banco artificial de *E. indica* y *E. tristachya* fue del 100 %. Se realizó la siembra de semillas de malezas en la superficie porque la parcela estaba bajo un sistema de siembra directa que es el sistema de labranza más utilizado en la región.

En 2017 y 2018, a la cosecha del cultivo de soja, se tomaron 6 muestras de suelo en cada cuadro correspondiente a los distintos tratamientos con un barreno de 5,5 cm de diámetro a una profundidad de 2 cm. Las muestras dentro de cada cuadro se agruparon, se tamizaron a través de un tamiz de alambre de malla de 0,5 mm y las semillas se separaron a mano, se contaron y se colocaron en cajas de Petri durante 14 días para determinar la germinación realizando a continuación pruebas de TTC de las semillas restantes como se describió antes para la determinación inicial de viabilidad.

Reclutamiento

El número de semillas en el banco determinado a la cosecha de soja en otoño se utilizó como base para calcular el reclutamiento de la siguiente manera:

$(\text{Número de plantas emergidas entre mayo año}_i \text{ y mayo año}_{i+1} \cdot \text{m}^{-2} / \text{número de semillas en el banco en abril año}_i \cdot \text{m}^{-2}) * 100$

En el último período (6 meses) comprendido entre mayo de 2018 y noviembre de 2018 también se evaluó el reclutamiento con las emergencias del barbecho, como se indica a continuación:

$(\text{Número de plantas emergidas entre mayo año}_{2018} \text{ y noviembre año}_{2018} \cdot \text{m}^{-2} / \text{número de semillas en el banco en abril año}_{2018} \cdot \text{m}^{-2}) * 100$

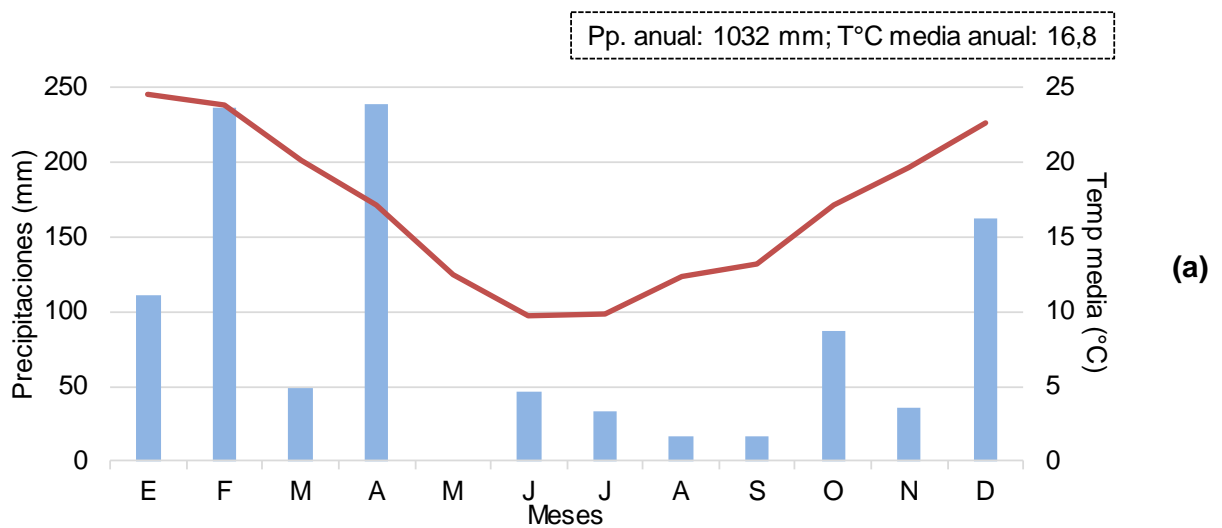
Análisis estadístico

Para cada año, la densidad de plantas de *E. indica* y *E. tristachya*, el porcentaje de emergencia y la mortalidad en cada cohorte, la densidad de semillas del banco, el reclutamiento, la biomasa de la maleza y la producción de semillas, se analizaron utilizando ANVA con diseño factorial en parcelas divididas. El análisis permite obtener un efecto principal del año y de las repeticiones dentro del año, y luego los efectos principales de especies, herbicidas y cohortes, junto con las interacciones entre pares de tratamientos

(año, especies, herbicidas y cohortes) y la interacción de los tres factores. Antes de realizar los análisis estadísticos, la densidad de plántulas emergidas y muertas y la cantidad de semillas se transformaron a raíz cuadrada, se realizó transformación angular del reclutamiento, la biomasa se transformó a logaritmo natural siendo la constante agregada de 0,375 y se realizó una transformación logit de la mortalidad de las plantas en porcentaje para estabilizar las variancias.

Resultados

El registro de las lluvias y la temperatura de Zavalla durante los años del estudio se muestran en la Figura 2a, 2b y 2c.



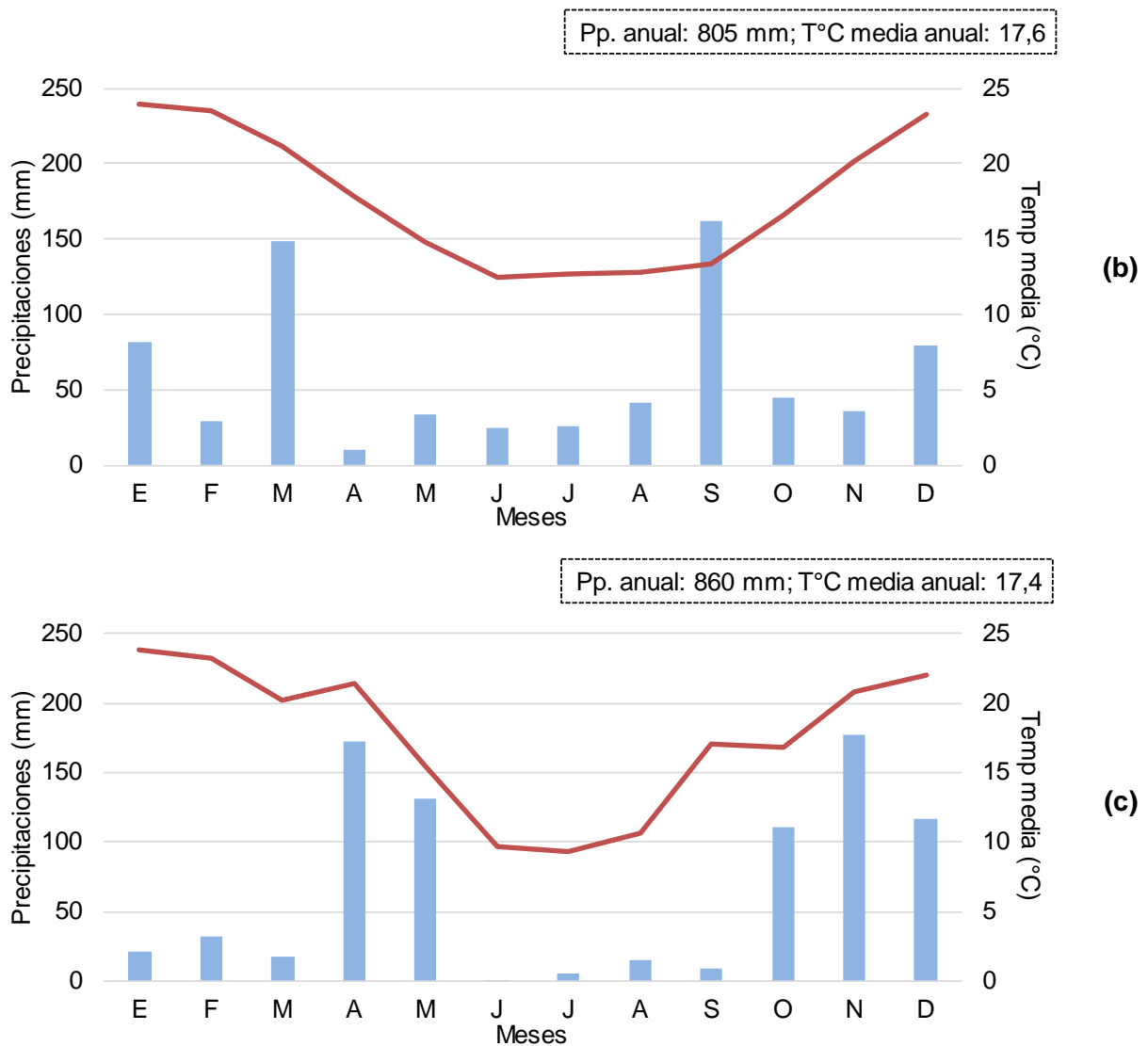


Figura 2. Lluvia y temperatura durante 2016 (a), 2017 (b) y 2018 (c) registrada en la Estación meteorológica de Zavalla, de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Rosario (Lat. 33° 01 'S; long. 60° 53') ubicada aproximadamente a 500 m del sitio experimental.

Emergencia

La interacción entre especies, años y herbicidas fue significativa ($P > 0,05$) (Tabla 1).

Para ambas especies, en el barbecho, la emergencia aumentó a lo largo del experimento solo en las parcelas no tratadas. La emergencia fue igual en *E. indica* que en *E. tristachya* en 2016 mientras que fue mayor en *E. indica* en 2017 y 2018. Con ambos herbicidas, en *E. indica* la emergencia aumentó en 2017 mientras que disminuyó notablemente en 2018. En *E. tristachya*, la emergencia fue baja en el barbecho sin diferencia entre años.

En el cultivo de soja, sin herbicida, la emergencia disminuyó con los años para *E. indica* y aumentó para *E. tristachya*. La emergencia fue mayor en 2016 para *E. indica*, mientras que en 2016 fue mayor para *E. tristachya*.

La emergencia (%) en las parcelas no tratadas y con herbicidas en el primer año fue mayor en soja que en el barbecho para *E. indica* y *E. tristachya* mientras que la emergencia del segundo año fue mayor en el barbecho para *E. indica*, no observándose diferencias en *E. tristachya*. No hubo diferencias en la emergencia entre herbicidas.

Tabla 1. Emergencia en número y porcentaje de las plántulas en el barbecho (desde la cosecha del cultivo hasta la siembra de soja) y en el cultivo de soja con tres prácticas de manejo: sin aplicación de herbicidas postemergentes en el cultivo de soja, con cletodim y con glifosato.

| | Sin herbicida | | | Cletodim | | | Glifosato | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------|-----|-----|----------|-----|-----|-----------|----|-----|-----|-----|-----|----|---|-----|
| | B | S | B+S | B | S | B+S | B | S | B+S | | | | | | |
| <i>E. indica</i> | | | | | | | | | | | | | | | |
| May 16/17 | 5 | b * | 25 | a * | 30 | 5 | b * | 24 | a * | 28 | 4 | b | 21 | a | 25 |
| (%) | 17 | | 83 | | 100 | 16 | | 83 | | 100 | 15 | | 85 | | 100 |
| May 17/18 | 61 | a * | 12 | c | 73 | 53 | b * | 6 | d | 59 | 49 | b * | 5 | d | 54 |
| (%) | 83 | | 16 | | 100 | 90 | | 10 | | 100 | 90 | | 10 | | 100 |
| May18/Nov 18 | 84 | a* | SD | | 84 | 8 b | | SD | | - | 8 b | | SD | | - |
| (%) | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>E. tristachya</i> | | | | | | | | | | | | | | | |
| May 16/17 | 2 | b | 18 | a | 20 | 2 | b | 16 | a | 19 | 3 | b | 17 | a | 20 |
| (%) | 11 | | 88 | | 100 | 13 | | 87 | | 100 | 15 | | 84 | | 100 |
| May 17/18 | 23 | a | 26 | a* | 50 | 6 | b | 9 | b | 15 | 6 | b | 7 | b | 13 |
| (%) | 53 | | 47 | | 100 | 39 | | 61 | | 100 | 46 | | 54 | | 100 |
| May18/Nov 18 | 31 | a | SD | | 31 | 9 | b | SD | | 9 | 8 | b | SD | | 8 |

Para barbecho (B) y soja (S) en May 16/17 y May 17 /18 y para B en May18/Nov18, en cada especie y dentro de una misma fecha, letras distintas indican diferencias significativas para la emergencia en número según una prueba de LSD ($P < 0,05$). Para una misma columna y año, * indica diferencias entre especies según una prueba t ($P < 0,05$). SD = sin datos. El experimento terminó en noviembre de 2018 después de la siembra de soja. B + S = Barbecho +Soja (total).

En la Tabla 2 se muestra la emergencia por cohortes durante el ciclo de crecimiento del cultivo de soja.

Tabla 2. Emergencia de plantas por cohortes durante el ciclo de crecimiento del cultivo de soja

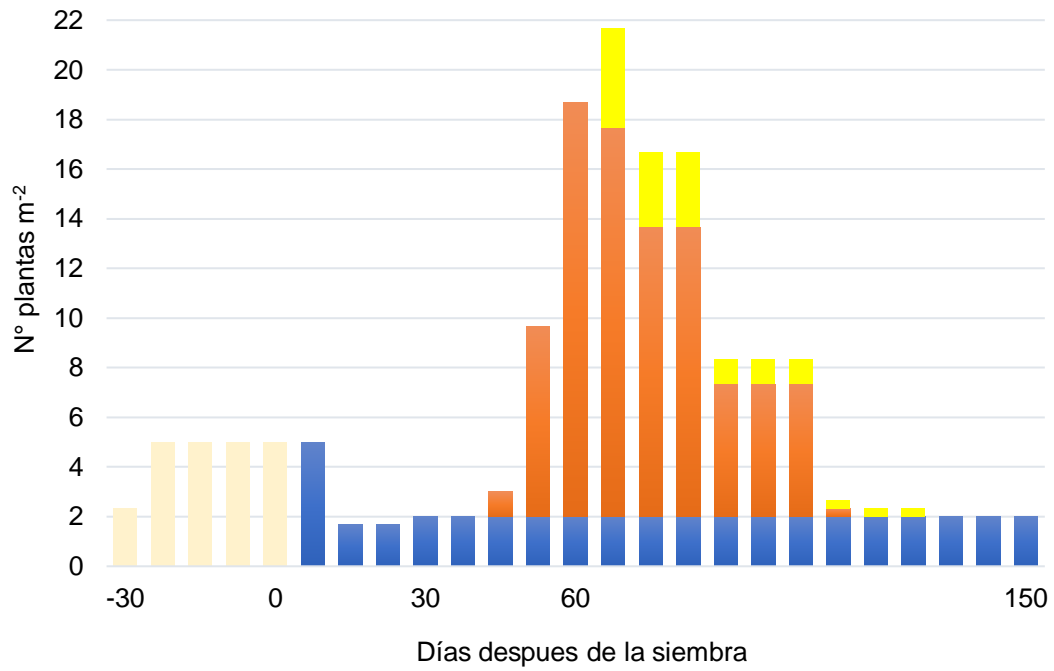
| | Cohorte | Estadío soja (1) | DDS | Sin herbicida | Cletodim | Glifosato |
|----------------------|---------|--------------------------------|--------|---------------|----------|-----------|
| <i>E. indica</i> | | | | | | |
| 2016 | 1° | V _e -V ₃ | 0-30 | 2 a B | 3 a B | 2 a B |
| | 2° | V ₃ -R ₂ | 31-60 | 18 a A | 14 a A | 15 a A |
| | 3° | R ₂ -R ₈ | 61-150 | 5 a B * | 7 a B * | 4 a B * |
| 2017 | 1° | V _e -V ₃ | 0-30 | 6 a A * | 3 b A * | 3 b A * |
| | 2° | V ₃ -R ₂ | 31-60 | 6 a A * | 2 b A * | 3 b A |
| | 3° | R ₂ -R ₈ | 61-150 | 1 a B | 0 b B | 0 b B |
| <i>E. tristachya</i> | | | | | | |
| 2016 | 1° | V _e -V ₃ | 0-30 | 2 a B | 2 a B | 2 a B |
| | 2° | V ₃ -R ₂ | 31-60 | 15 a A | 14 a A | 14 a A |
| | 3° | R ₂ -R ₈ | 61-150 | 1 a B | 1 a B | 1 a B |
| 2017 | 1° | V _e -V ₃ | 0-30 | 12 aA | 6 b A | 6 bA |
| | 2° | V ₃ -R ₂ | 31-60 | 11 aA | 4 b A | 2 b A |
| | 3° | R ₂ -R ₈ | 61-150 | 3 a B | 0 b B | 0 b B |

Para cada fila, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según LSD ($P < 0,05$). Para cada tratamiento, especie y año, letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre cohortes según LSD ($P < 0,05$). Para cada tratamiento, cohorte y año, * indica diferencias significativas entre las especies según una prueba t ($P < 0,05$). Los herbicidas se aplicaron a los 30 DDS. (1) Fehr y Caviness, 1977.

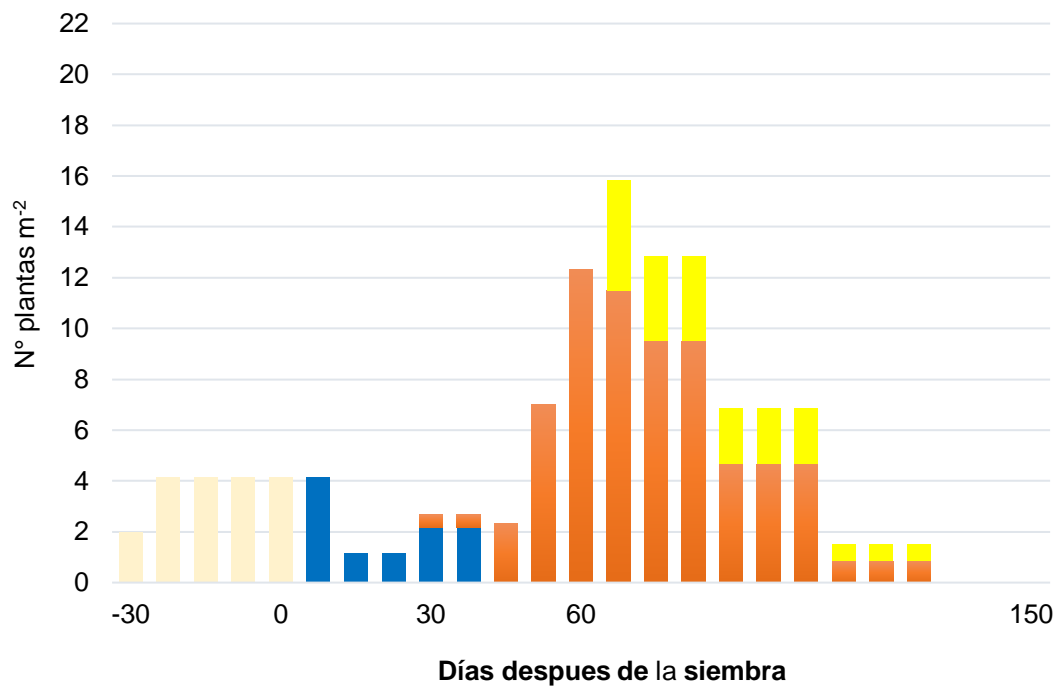
Se identificaron tres cohortes todos los años en *E. indica* y *E. tristachya* (Figuras 2, 3, 4 y 5). En 2016 no hubo diferencias en el número de plantas con y sin herbicida en cada cohorte y la que presentó el mayor número de emergencias fue la segunda. En 2017 en ambas especies hubo mayor número de plantas sin herbicidas. La tercera cohorte produjo menos plantas que las dos primeras, las cuales no mostraron diferencias entre sí.

En el primer año la tercera cohorte con y sin herbicida de *E. indica* fue superior a la de *E. tristachya*. En el segundo año, la primera cohorte con y sin herbicida fue superior para *E. tristachya* respecto a *E. indica* y la segunda cohorte de *E. tristachya* fue superior a la de *E. indica* sin herbicidas y con cletodim, no mostrando diferencias con glifosato.

En las Figuras 3, 4, 5 y 6 se muestran la emergencia total y por cohorte de las malezas cada 7 días durante el barbecho y el cultivo de soja con y sin aplicación de herbicidas a los 30 DDS en los años 2016/2017 y 2017/2018.

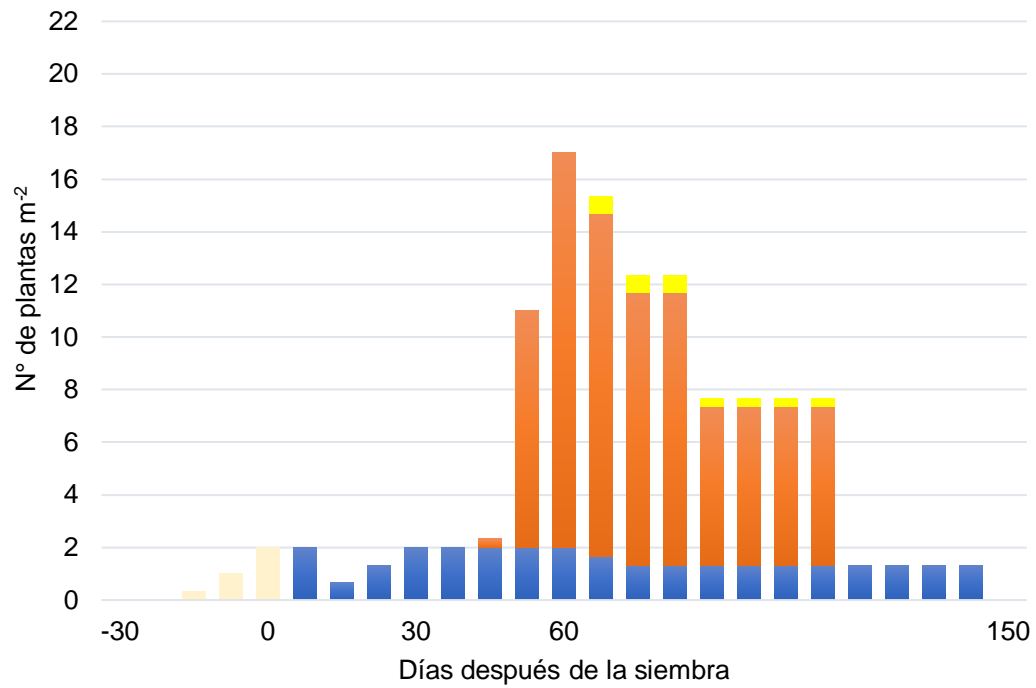


(a)

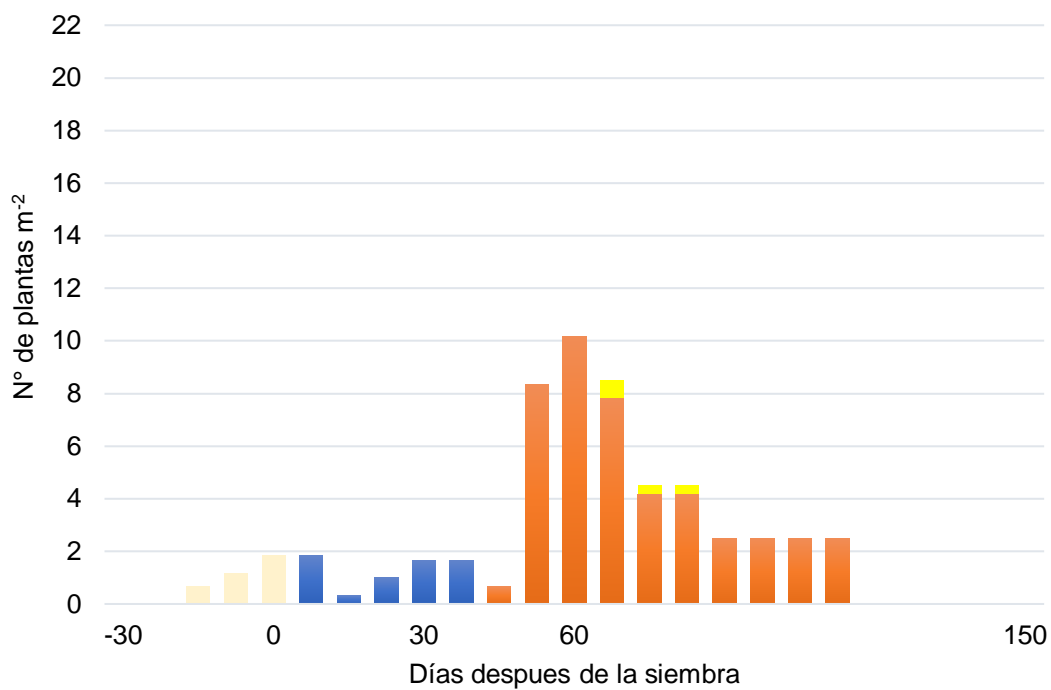


(b)

Figura 3. Emergencia de *Eleusine indica* cada 7 días en el barbecho □, y en el cultivo de soja por cohortes (1^{ra} ■; 2^{da} ■; 3^{ra} ■) sin herbicidas (a) y con herbicidas (b) aplicados a los 30 DDS en 2016/2017. Las emergencias con herbicida son el promedio de cletodim y glifosato, ya no que mostraron diferencias significativas.

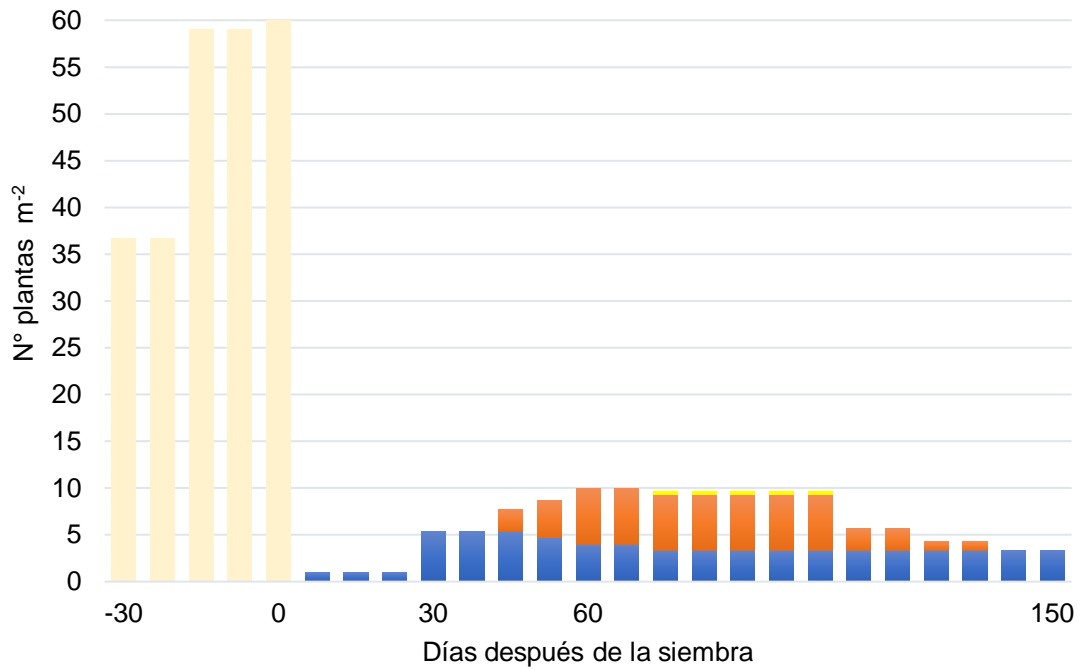


(a)

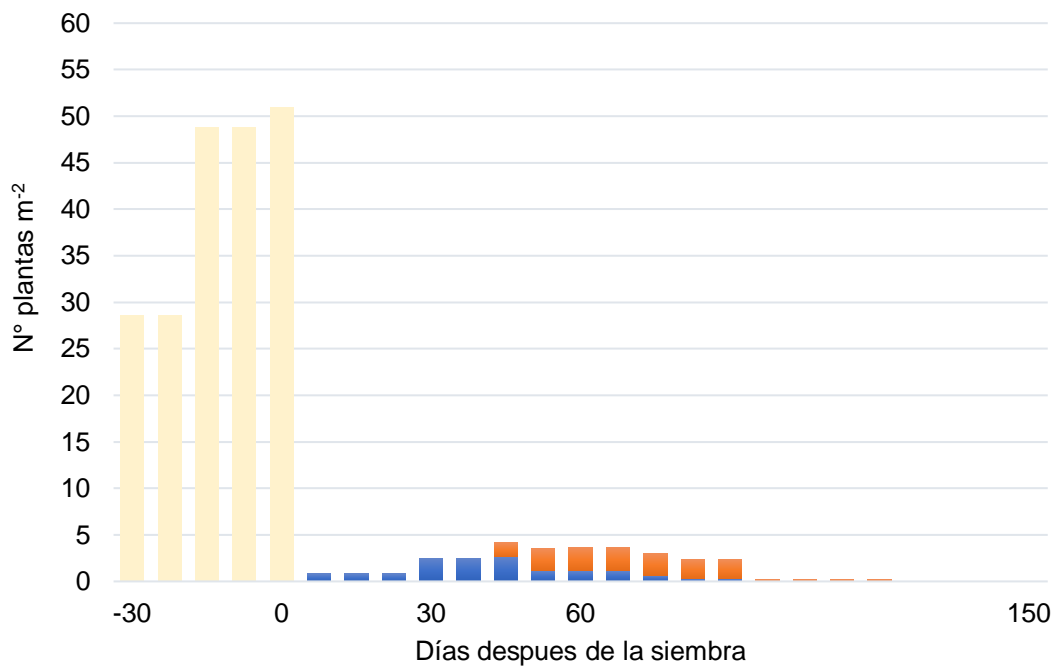


(b)

Figura 4. Emergencia de *Eleusine tristachya* cada 7 días en el barbecho □, y en el cultivo de soja por cohortes (1^{ra} ■; 2^{da} ■; 3^{ra} ■) sin herbicidas (a) y con herbicidas (b) aplicados a los 30 DDS en 2016/2017. Las emergencias con herbicida son el promedio de cletodim y glifosato, ya no que mostraron diferencias significativas.



(a)



(b)

Figura 5. Emergencia de *Eleusine indica* cada 7 días en el barbecho □, y en el cultivo de soja por cohortes (1^{ra} ■; 2^{da} ■; 3^{ra} ■) sin herbicidas **(a)** y con herbicidas **(b)** aplicados a los 30 DDS en 2017/2018. Las emergencias con herbicida son el promedio de cletodim y glifosato, ya no que mostraron diferencias significativas.

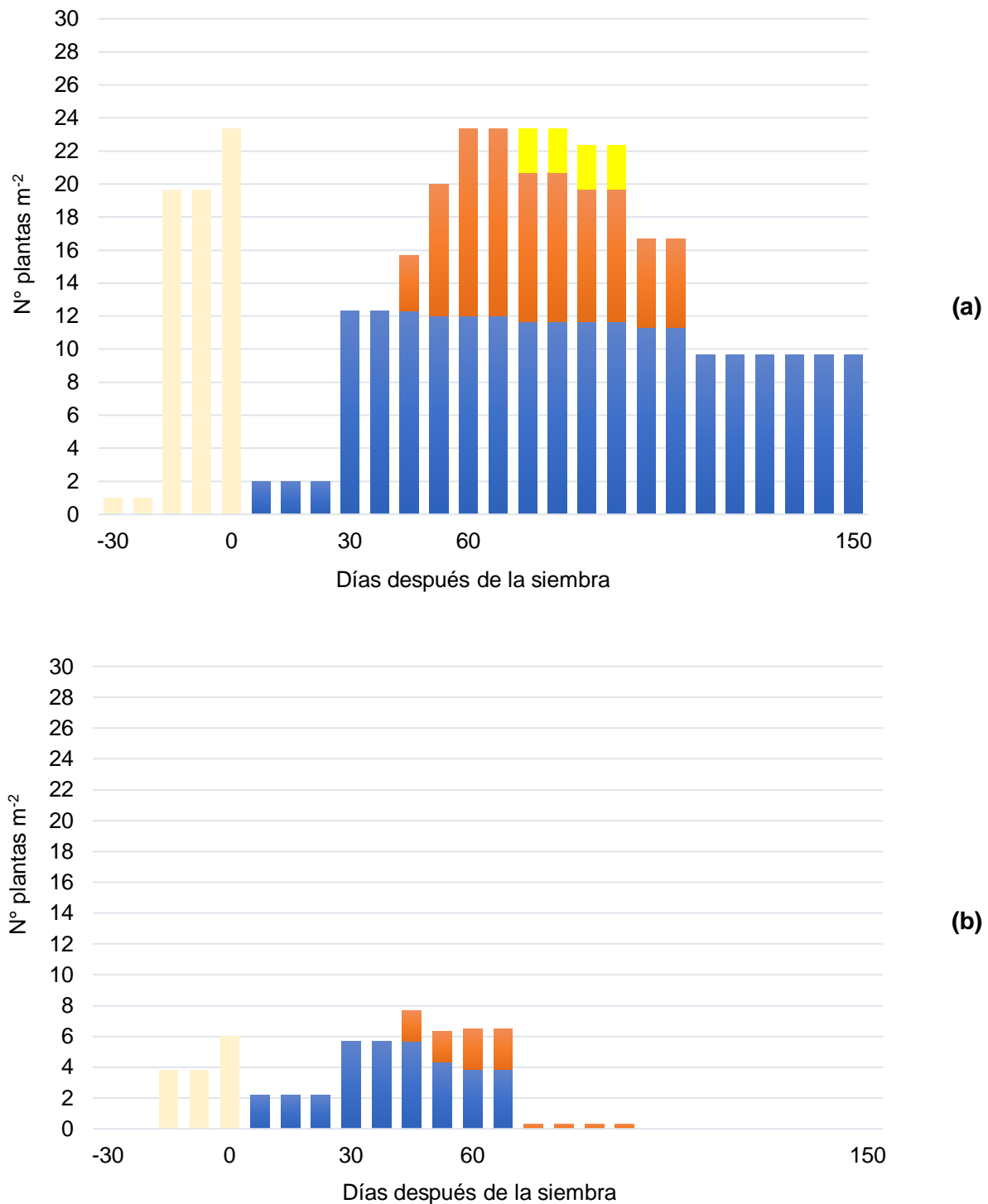


Figura 6. Emergencia de *Eleusine tristachya* cada 7 días en el barbecho □, y en el cultivo de soja por cohortes (1^{ra} ■; 2^{da} ■; 3^{ra} ■) sin herbicidas **(a)** y con herbicidas **(b)** aplicados a los 30 DDS en 2017/2018. Las emergencias con herbicida son el promedio de cletodim y glifosato, ya no que mostraron diferencias significativas.

A continuación, se muestra la evolución de *Eleusine indica* y *E. tristachya* en 2017/2018 en parcelas testigo (Foto 1, 2, 3, 4 y 5) desde el estadio fenológico de la soja V3 hasta R8. En la Foto 6 se puede observar parcelas de *Eleusine indica* y *E. tristachya* con glifosato y cletodim en el estadio fenológico R8.



Foto 1. Plantas de la primera cohorte de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) cuando el cultivo de soja se encontraba en V3 (diciembre de 2017).



Foto 2. Plantas de distintas cohortes de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) cuando el cultivo de soja se encontraba en R2. Las fichas verdes identifican la segunda cohorte (enero de 2018).



(a)



(b)



(c)

Foto 3. Plantas en parcelas testigo de la primera cohorte de *Eleusine indica* con inflorescencias sobrepasando el canopeo de soja **(a)** y en el entresurco **(b)**; y de *Eleusine tristachya* **(c)** en el entresurco, cuando el cultivo de soja se encontraba en R5 (febrero de 2018).



(a)



(b)



(c)

Foto 4. Plantas en parcelas testigo de la primera cohorte de *Eleusine indica* con inflorescencias sobrepasando el canopeo de soja **(a)** y en el entresurco **(b)**; y de *Eleusine tristachya* **(c)** en el entresurco, cuando el cultivo de soja se encontraba en R6 (marzo de 2018).



Foto 5. Plantas de la primera cohorte de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) en parcelas testigo, cuando el cultivo de soja se encontraba en R8 (abril de 2018).



Foto 6. Ausencia de malezas en parcela tratada con glifosato (izquierda) y cletodim (derecha) a los 30 DDS, cuando el cultivo de soja se encontraba en R8 (abril de 2018).

Mortalidad

Se encontró interacción entre los porcentajes de mortalidad de *E. indica* y *E. tristachya*, con y sin herbicida, año y cohortes. En consecuencia, los datos se analizaron por separado (Figuras 7 a y b, y Figura 8 a y b). Sin aplicación de herbicida en la primera cohorte, la mortalidad de *E. indica* en 2016 fue 0,3 plantas.m⁻², lo que representa un porcentaje del 17 % de la cohorte. Este valor fue significativamente menor que el de *E. tristachya* que alcanzó 0,7 plantas.m⁻², representando un porcentaje del 33 % de la cohorte. En 2017 no hubo diferencias en densidad pero sí en porcentaje. La mortalidad de *E. indica* fue de 2 plantas.m⁻² lo que representa un 38 % y la de *E. tristachya* fue de 3 plantas m⁻² siendo en porcentaje el 22 %. En la segunda y tercera cohorte la mortalidad fue del 100 %, lo que se atribuye a la competencia ejercida por el canopeo, ya que en el momento de emergencia de la segunda cohorte, la soja se encontraba en el estadio fenológico V3-V4 (Fehr y Caviness, 1977).

La mortalidad de plántulas de semilla de *E. indica* y *E. tristachya* en el barbecho en los años 2016, 2017 y 2018 con una aplicación de glifosato en presiembra del cultivo de soja fue total. Sin embargo, la mortalidad de plantas de *E. tristachya* que se establecieron como perennes en 2017 y rebrotaron en 2018 fue apenas del 25 % lo

cual pone de manifiesto la dificultad para controlar esta especie cuando reanuda su crecimiento en la primavera (Foto 7).

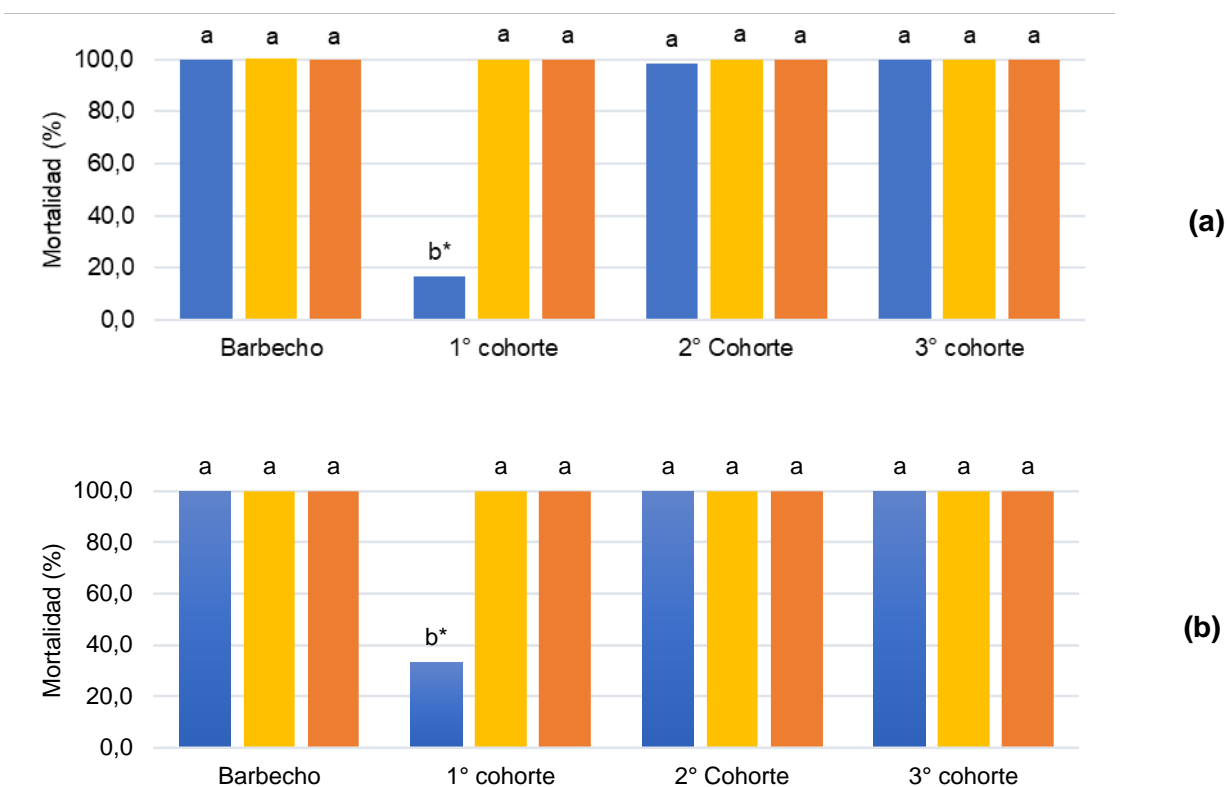


Figura 7. Porcentaje de mortalidad de *Eleusine indica* (a) y *E. tristachya* (b) sin herbicida (■), con glifosato (■) y con cletodim (■) aplicados a los 30 DDS, en el barbecho y en cada cohorte de plantas en el cultivo de soja en 2016/2017. Letras distintas indican para el barbecho y cada una de las cohortes en el cultivo de soja, diferencias significativas entre tratamientos según una prueba de LSD ($P < 0,05$). Asterisco (*) indica diferencias entre especies para cada tratamiento en el barbecho y en cada cohorte en soja.

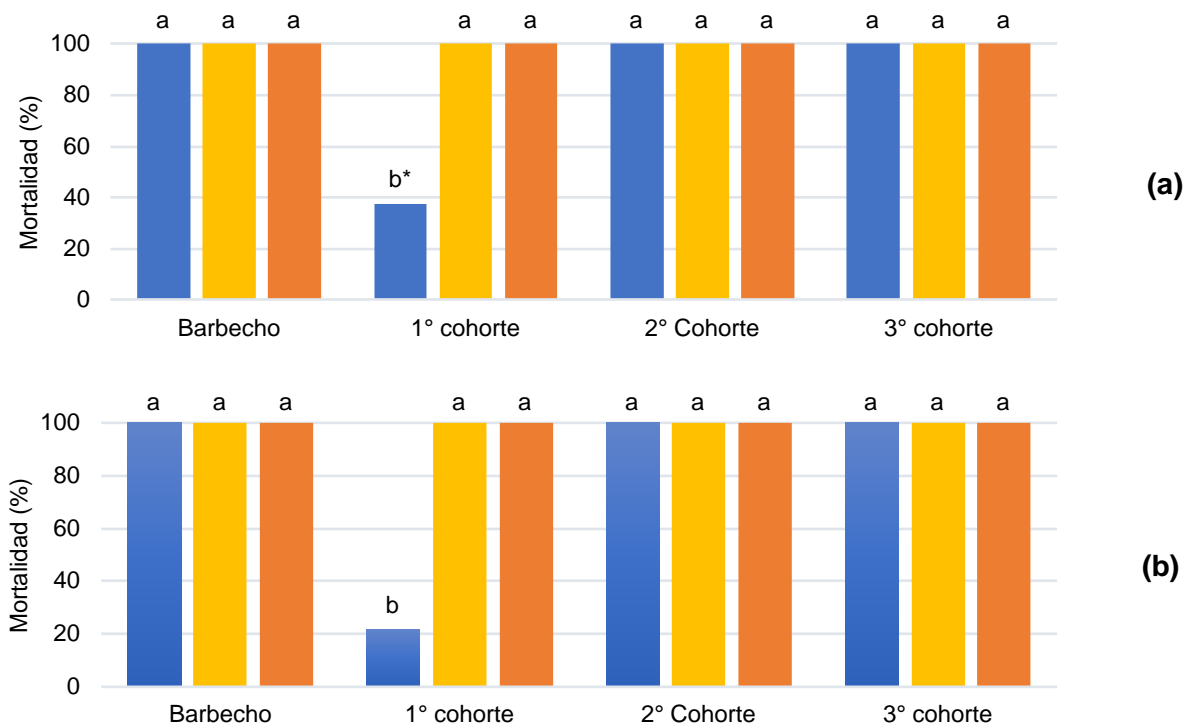


Figura 8. Porcentajes de mortalidad de *Eleusine indica* (a) y *E. tristachya* (b) sin herbicida (■), con glifosato (■) y con cletodim (■) aplicados a los 30 DDS, en el barbecho y en cada cohorte de plantas en el cultivo de soja en 2017/2018. Letras distintas indican para el barbecho y cada una de las cohortes en soja, diferencias significativas entre tratamientos según una prueba de LSD ($P < 0,05$). Asterisco (*) indica diferencias entre especies para cada tratamiento en el barbecho y en cada cohorte en soja

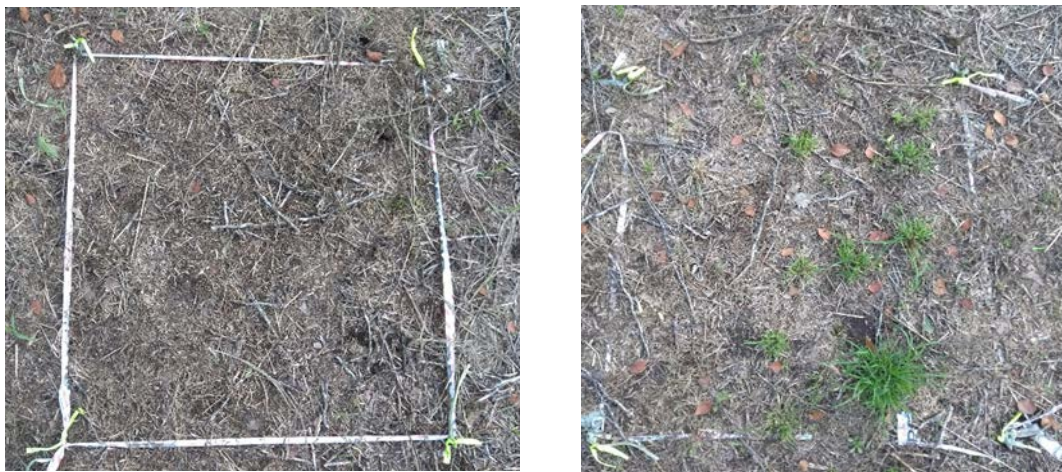


Foto 7. Parcelas en barbecho en 2018 luego de una aplicación de glifosato en las que se observa control total de *Eleusine indica* (izquierda) y escaso control de los rebrotes de *E. tristachya* (octubre de 2018)

Producción de biomasa de las malezas

La biomasa por planta (g.planta^{-1}) de la primera cohorte sin herbicidas (la única sobreviviente) fue mayor para *E. indica* (18,4 con una densidad promedio de 2 plantas. m^{-2} en 2016 y de 23,3 con una densidad promedio de 5 plantas. m^{-2} en 2017) que para *E. tristachya* (4,8 con una densidad promedio de 2 plantas. m^{-2} en 2016 y 5,7 con una densidad promedio de 11 plantas. m^{-2}). En la siguiente foto se puede observar una planta de la primera cohorte de cada especie en la parcela testigo cuando el cultivo de soja se encontraba en R8.



Foto 8. Planta de la primera cohorte de *Eleusine indica* (izquierda) y de *E. tristachya* (derecha) en la parcela testigo cuando el cultivo de soja se encontraba en R8 en el año 2018

Producción de semillas de las malezas

La producción de semillas. m^{-2} de la primera cohorte sin herbicidas no difirió entre las especies y fue para *E. indica* de 1216 en 2016 y 6336 en 2017 y para *E. tristachya* 1433 en 2016 y 6890 en 2017. En cambio, en el barbecho de 2018, *E. tristachya* produjo 8880 semillas. m^{-2} de plantas de rebrote mientras que las plántulas de *E. indica* no produjeron semillas.

Banco de semillas

Se observó interacción significativa ($P < 0,05$) entre especies y tratamientos para el número de semillas del banco al momento de la cosecha del cultivo de soja (mayo de 2016, 2017 y 2018) y su siembra (noviembre de 2018), por lo que se analizó en forma separada para cada año y especies entre tratamientos de manejo; y por otro lado, entre especies para cada tratamiento. Se determinó que sin herbicida el número de semillas se incrementó con el tiempo desde mayo de 2016 a mayo 2018 para *E. indica* (Figura 9 a) y durante todo el experimento para *E. tristachya* (Figura 9 b).

La mayor cantidad de semillas de *E. tristachya* en noviembre 2018 se debe a que los vástagos de rebrote produjeron semillas. Ambos herbicidas controlaron todas las plantas emergidas por lo cual no hubo producción de semilla observándose una disminución marcada de la población en el banco con el tiempo, lo cual fue más acentuado en *E. indica* que en *E. tristachya* debido a la menor longevidad de las semillas de *E. indica* (ver experimento 2).

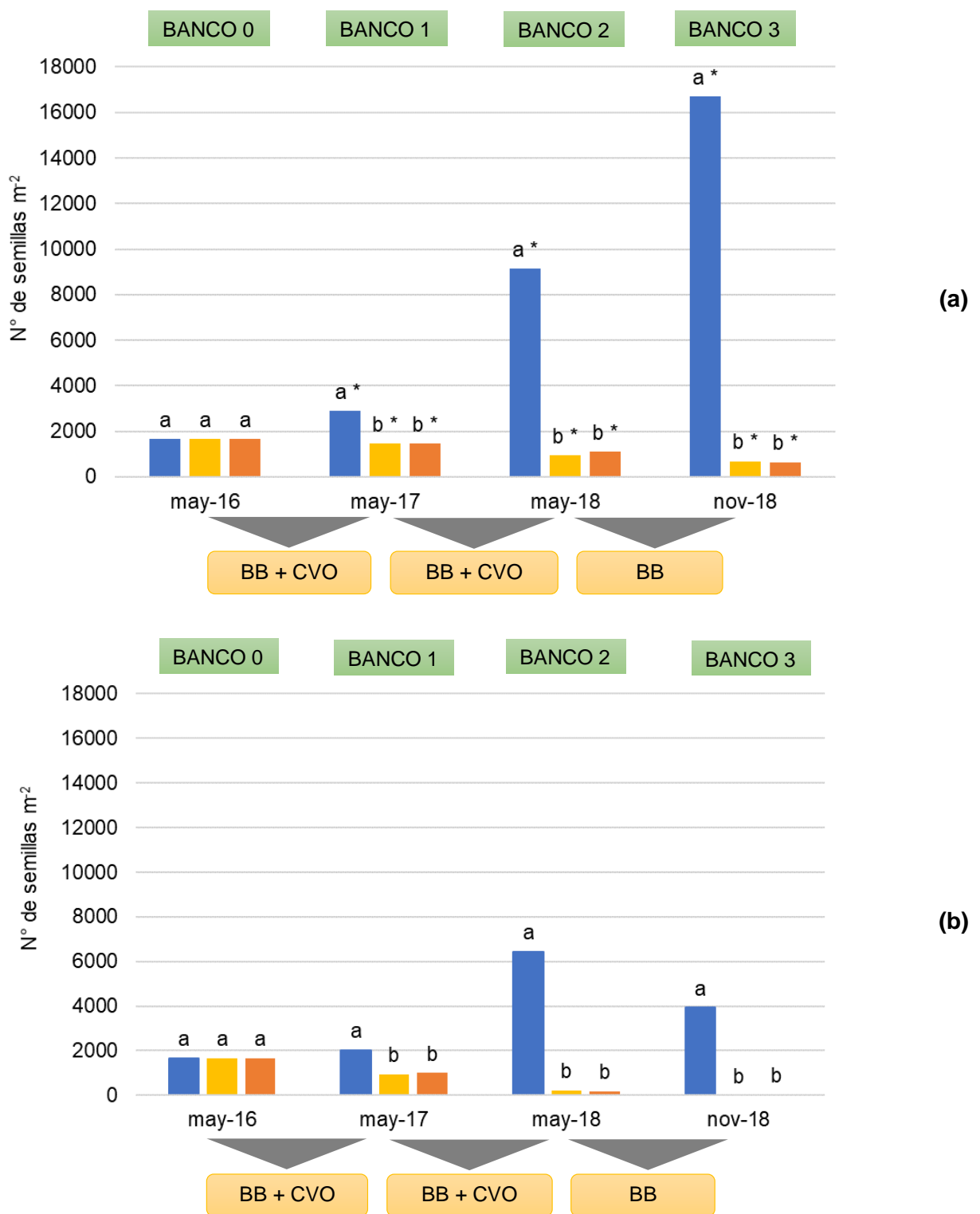


Figura 9. Banco de semillas de *Eleusine tristachya* (a) y *Eleusine indica* (b) sin herbicida (■), con glifosato (■) y con cletodim (■) a la cosecha (mayo) en 2016, 2017 y 2018; y a la siembra del cultivo de soja (noviembre) en 2018. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos según una prueba de LSD ($P < 0,05$). Asterisco (*) indica diferencias entre especies para el mismo año y tratamiento según una prueba t ($P < 0,05$).

Reclutamiento

El reclutamiento para *E. indica* y *E. tristachya* en tres períodos de tiempo se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de reclutamiento en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* sin control químico (testigo) en postemergencia, con graminicida y con glifosato aplicados a los 30 después de la siembra del cultivo de soja en tres períodos de tiempo.

| Período | <i>Eleusine indica</i> | | | <i>Eleusine tristachya</i> | | |
|--------------|------------------------|----------|-----------|----------------------------|----------|-----------|
| | Testigo | Cletodim | Glifosato | Testigo | Cletodim | Glifosato |
| May 16/17 | 1,8 a * | 1,7 a * | 1,5 a * | 1,2 a | 1,1 a | 1,2 a |
| May 17/18 | 3,6 b * | 5,9 a * | 5,8 a * | 1,9 a | 1,1 b | 1,1 b |
| May18/Nov 18 | 1,3 b * | 4,8 a * | 4,0 a * | 0,4 b | 1,0 a | 0,9 a |

Para un mismo período y especie, letras distintas indican diferencias significativas según LSD ($P < 0,05$). Para cada tratamiento, * indica diferencias significativas entre especies según una prueba de t ($P < 0,05$).

Se observó interacción entre especies y tratamientos. En *E. indica* el reclutamiento fue mayor que en *E. tristachya* en los tres períodos determinados. Solamente en el segundo y tercer período se observaron diferencias entre tratamientos. Entre mayo de 2017 y 2018 en *E. indica* el reclutamiento fue mayor en las parcelas tratadas con herbicidas, mientras que en *E. tristachya* fue superior en la parcela testigo (sin herbicida). Entre mayo y noviembre de 2018, el reclutamiento fue superior en las parcelas tratadas con herbicidas en las dos especies.

Discusión

Emergencia

Un componente clave de los modelos de la demografía de las plantas es la emergencia de las plántulas y el conocimiento de los factores que la controlan (Maxwell et al., 1988; Buhler et. al., 1997; Werle, 2004; Masin, 2012). La flora de malezas está dominada por la dinámica de las plántulas que a su vez está fuertemente influenciada por los sistemas de cultivo prevalecientes. El presente estudio se realizó en un sistema de siembra directa de soja donde la mayoría de las semillas permanecen en la superficie del suelo después de la siembra del cultivo (Chauhan et al., 2006; Refsell y Hartzler, 2009) lo que estimula la germinación y emergencia de varias especies de malezas Poaceae que representan algunas de los principales problemas en sistemas de siembra directa en Argentina (Tuesca y Puricelli, 2005). Las

semillas recién recolectadas de *Eleusine indica* y de *Eleusine tristachya* mostraron un alto nivel de dormición por lo cual hubo escasa germinación en el barbecho del primer año. Esta alta dormición inicial también fue observada en la gramínea anual *Setaria viridis* tanto a campo como en cajas de Petri (Born, 1971).

El período de emergencia de *E. indica* y de *E. tristachya* en el presente estudio tuvo una duración de alrededor de 90 días. En otros estudios la emergencia continuó en el cultivo de soja hasta fines de otoño (Chuah et al., 2004). El ciclo de *E. indica* y de *E. tristachya* duró 150 días. En un estudio en Brasil con mayores temperaturas que en la región pampeana, el ciclo de *E. indica* tuvo una duración menor (120 días), considerándose terminado en el momento en que la planta inicia la senescencia natural (Takano et al., 2016). Es relevante conocer la densidad de plantas emergidas en cada cohorte (Mulugeta y Stoltenberg, 1997). En este estudio, sin herbicidas, la primera cohorte fue la única capaz de sobrevivir y producir semillas lo que coincide con otro estudio de malezas en soja (Puricelli et al., 2002).

La temperatura se ha propuesto como el factor ambiental más importante que limita la germinación de semillas de malezas en regiones templadas y se ha utilizado para describir el potencial de emergencia y el tiempo de los bancos de semillas (Washitani y Takenaka, 1984; Baskin y Baskin, 1989; Forcella, 1993). Es posible que las diferentes condiciones climáticas o los diferentes niveles de dormición de las semillas en el presente estudio sean responsables de las diferencias entre *E. indica* y *E. tristachya* ya que la emergencia comenzó después de un período de temperaturas frías. La mayoría de las especies de ciclo primavero estival como las gramíneas objeto de la presente tesis poseen mecanismos para posponer la germinación (Hoyle et al., 2015). *Eleusine indica* germina cuando las temperaturas del suelo son superiores a 18° C (Chauhan y Johnson, 2008). La emergencia de *E. indica* ocurrió antes de la emergencia de *E. tristachya*, lo que sugiere que esta última tiene una temperatura base más alta para la germinación y la emergencia que *E. indica*.

Además de la temperatura como desencadenante importante para romper la dormición de las semillas en algunas especies, la germinación de las semillas se puede vincular también con otros factores ambientales como la lluvia (Werth et al., 2017). En los barbechos de 2016, 2017 y 2018 las lluvias a partir de agosto fueron suficientes para permitir la emergencia a partir de octubre en 2016 y setiembre de 2017 y 2018. En 2017, la emergencia de ambas especies durante la soja fue menor por la presencia de lluvias escasas en diciembre de 2017 a marzo de 2018. Por falta de lluvias los niveles de humedad del suelo pueden ser insuficientes para la imbibición y la emergencia de plántulas (Bittencourt et al., 2016). El efecto de las lluvias en el patrón de emergencia de las plántulas de *Eleusine* spp, se apoya en observaciones

realizadas en otras especies de malezas (Stoller y Wax, 1973; Mulugeta y Stoltenberg, 1997; Puricelli et al., 2003). Se concluye en este punto que las semillas de *E. indica* y *E. tristachya* perciben y responden a su entorno (Vleeshouwers et al., 1995) para evitar una respuesta de germinación a la temperatura o la lluvia que no respaldaría el crecimiento posterior de las plántulas (Hoyle et al., 2015).

Mortalidad

Otro componente biológico requerido para modelar la dinámica del banco de semillas es una estimación de la mortalidad de las plántulas (Chauhan, 2006; Davis et al., 2016). El bajo porcentaje de mortalidad natural de plántulas de la primera cohorte del presente ensayo aseguró un alto retorno de semillas al banco. Las plantas emergidas pueden desaparecer debido a la mortalidad natural ya que la emergencia exitosa de las plántulas de malezas disminuye en respuesta a la baja o muy alta humedad del suelo y las temperaturas extremas (Weaver, 1988). Las tasas de mortalidad natural debido a enfermedades, herbivoría y sequía son generalmente bajas para las malezas establecidas en los cultivos anuales (Liebman et al., 2001). En ausencia de control de malezas después de la emergencia, las tasas de supervivencia de las malezas anuales desde la germinación hasta la emergencia se encuentran entre 25 % y 75 % (Sagar y Mortimer, 1976; Weiss, 1981; Mack y Pyke, 1983; Lapointe et al., 1984; Mohler y Callaway, 1992) y ocasionalmente superan el 90% (Young, 1986) o se acercan al 0 % (Lindquist et al., 1995). En cambio, las plantas de *E. indica* y *E. tristachya* de la segunda y tercera cohorte no fueron capaces de sobrevivir bajo el canopeo denso de la soja que reduce la luz que penetra a través del dosel.

En cuanto a la mortalidad artificial, los herbicidas desempeñan un papel importante en la reducción de la composición, la diversidad y la abundancia de malezas que debe ser bien estudiado en cada agroecosistema (Tuesca et al., 2001; Puricelli et al., 2003; Vitta et al., 2004; Puricelli y Tuesca 2005; Andreasen y Streibig, 2011). En el presente estudio, la densidad de ambas especies de *Eleusine* disminuyó por efecto de los herbicidas postemergentes, ya sea glifosato o graminicidas a las dosis de uso ya que las poblaciones fueron susceptibles a estos herbicidas y a que estos productos poseen acción relativamente rápida después de la emergencia sin causar daños a la soja. Si bien no tienen actividad residual, realizaron un control total debido a que fueron aplicados al estado de plántula. Este control total eliminó la posibilidad de que ambas especies de *Eleusine* generen semillas y, por lo tanto, una emergencia considerable de plántulas en el período siguiente. En los últimos años se han producido cambios rápidos y drásticos en las poblaciones de malezas como resultado del uso incorrecto de los herbicidas causando problemas de resistencia y

ambientales (Evans et al., 2006). Uno de los principales motivos por los que los sistemas de control basados en herbicidas se han convertido en los más utilizados en todo el mundo en un gran número de especies, es su alta eficacia para mantener los bancos de semillas en niveles bajos por reducir el aporte de semillas, en comparación con otros métodos de control de malezas. Harker y O'Donovan (2013) determinaron una mayor producción de semillas de malezas en una rotación de maíz/soja con control mecánico en comparación con control con herbicidas. Se recomienda utilizar herbicidas para eliminar las plántulas durante el barbecho antes de la siembra (Puricelli y Papa, 2006; Oliveira et al., 2017) para asegurar el control de mayor cantidad de plantas. Los herbicidas postemergentes incluidos en este trabajo pertenecen a dos mecanismos de acción muy utilizados para control de gramíneas: la inhibición de EPSP sintasa en el caso del glifosato y la inhibición de ACCasa en el caso de los graminicidas, como cletodim y setoxydim (Parker et al., 2006). En evaluaciones del control de diferentes herbicidas en cultivos de verano en *E. indica*, el glifosato es eficaz en biotipos no resistentes si bien en muchos estudios se muestra que solo tuvo un máximo de 70% de control sobre plantas pequeñas y 55% de control sobre plantas grandes Takano (2018). En este último trabajo el autor determinó que todos los graminicidas solos o asociados con glifosato mostraron una eficacia superior al 80% en las plantas de *E. indica*, con la excepción de glifosato + fenoxaprop. En *E. indica* resistente al glifosato, con plantas con cuatro macollos, las únicas opciones eficaces fueron cletodim, haloxyfop-metil, quizalofop-tefuril, quizalofop-metil y fluazifop solos o en mezclas con glifosato en aplicaciones de post-emergencia en la soja convencional o la soja resistente a glifosato (Prachand et al., 2015; Takano et al., 2018). Se cuenta con abundante información sobre el momento de control de *E. indica* recomendándose adoptar medidas antes de los 9 días después de la emergencia (Takano, 2016) y se sabe que cuando la especie es resistente a glifosato puede requerir dosis mayores a de 680 g e.a. ha⁻¹ de glifosato (Chen et al, 2015). En cambio, antes de la presente tesis (Capítulo 2) no se disponía de sobre el control químico de *E. tristachya*. La comprensión del efecto del control químico sobre la mortalidad de la población de malezas de ambas especies de *Eleusine* puede contribuir a un enfoque integrado para el manejo en la región de estudio.

Biomasa de las plantas de malezas

En el presente estudio, los pesos secos por planta fueron muy inferiores a los citados para *E. indica* en algodón donde se observó un efecto denso dependiente en el peso por planta que varía entre 42 y 387 g de peso seco a la cosecha (Ma et al, 2015). Esta diferencia es debida probablemente a que la competencia de la soja es mayor que la

de algodón ya que Job Franco et al. (2017) muestran que la soja ejerce un efecto competitivo marcado contra *E. indica*.

Producción de semillas de malezas

Las gramíneas están adaptadas a condiciones ambientales cambiantes en cuanto a temperatura y lluvias, como se ha mencionado anteriormente en relación a la germinación. En consecuencia, son capaces de producir una gran cantidad de semillas en condiciones variables poco tiempo después de su dispersión (Leon y Owen, 2003; Leony Owen, 2004; Loddo et al., 2016). La cantidad de semillas producidas es también variable en las diferentes especies dentro de la familia como es el caso de dos gramíneas como *Digitaria sanguinalis* que produjo hasta 140 veces más semillas que *Brachiaria decumbens* (Johnson y Coble, 1986). Sin control con herbicidas, las gramíneas pueden producir de 5.460 a 1.259.900 semillas.planta⁻¹, incluso creciendo asociadas a cultivos como el maíz (Johnson y Coble, 1986). En el presente estudio, *E. indica* y *E. tristachya* tuvieron un alto rendimiento reproductivo, que es un rasgo clave de la reposición del banco de semillas compartidas por la mayoría de las malezas exitosas. En otros estudios, la producción de semillas de *E. indica* fue aún mayor y estuvo entre 40.000 (Holm et al., 1977) a 140.000 semillas.planta⁻¹ (Takano, 2016).

Banco de semillas

Los bancos de semillas varían desde cerca de 0 hasta 1 millón de semillas m⁻² (Radosevich et al., 1997). En el presente estudio, la densidad del banco inicial de *E. indica* y *E. tristachya* y la densidad máxima alcanzada con herbicidas en 2018 coincide con otros estudios en los cuales la densidad total de semillas de todas las malezas entre 0 y 10 cm de profundidad fue de alrededor de 1.300 semillas.m⁻² en rotaciones de cultivos en siembra directa (Webster et al., 2003) y 2000 semillas.m⁻² en sistemas de cultivo convencionales y de altos insumos (Koocheki et al., 2009). Otro estudio considera que un banco de semillas de malezas de <100 semillas m⁻² no requeriría manejo, si posee entre 100 y 1000 semillas m⁻² sería suficiente un control mecánico mientras que con > 1000 semillas m⁻² es seguramente necesario una combinación de control mecánico y aplicación de herbicida para evitar la pérdida de rendimiento del cultivo (Forcella et al., 1993). Esto indica que una alta densidad en el banco de semillas del suelo como la considerada en esta tesis puede ocasionar problemas de manejo considerables debido a la ventaja competitiva de las malezas gramíneas sobre muchos cultivos, particularmente si las especies de malezas dominantes crecen más rápido que el cultivo.

En el presente estudio se consideró el comportamiento de un banco de semillas artificial. Este tipo de bancos puede reflejar el comportamiento de un banco natural especialmente en sistemas con laboreo donde la dormición de las semillas está influida por las fluctuaciones ambientales (temperatura o humedad) que se producen al invertir el suelo (Pareja y Staniforth, 1985). Sin embargo, ya que no hubo remoción del suelo las condiciones en cuanto a cambios en la humedad y la temperatura del suelo no difirieron de las de un banco natural como los presentes la región donde está generalizada la siembra directa.

Reclutamiento

El reclutamiento involucra el cálculo de la emergencia anual de plántulas basada en el conjunto de semillas que permanecen en el suelo y proporciona una evaluación realista del comportamiento de las semillas de malezas en el suelo (Bulher y Hartzler, 2001). Muchos otros estudios han analizado el reclutamiento de plántulas de malezas en campos (Chancellor, 1964; Grundy et al., 2003; Sester et al., 2006) o en condiciones controladas (Benvenuti et al., 2001). En el caso de *E. indica* y *E. tristachya*, el reclutamiento estuvo dentro del rango de 0,1 a 5,9 %, que es más reducido en amplitud y con límite superior menor al observado por Forcella et al., (1992) y Forcella et al. (1997) que estuvo entre 0,1 y 30 %. En otros estudios, el reclutamiento de las plántulas de las gramíneas anuales *Setaria glauca*, *Setaria faberi* y *Panicum dichotomiflorum* especie osciló entre el 3 y el 25% mientras que el de *Digitaria sanguinalis* fue de 41 % (Webster et al., 2003). En siembra directa, el reclutamiento de plántulas fue de 11 a 17% para *Lolium rigidum*, 8% para *Vulpia bromoides* y 32% para *Avena fatua* (Chauhan et al., 2006). En el presente estudio, el reclutamiento fue estable y con valores similares a otros experimentos en *E. indica* donde la proporción de plántulas que emergió fue constante y de alrededor del 7 % en varios cultivos (Chauhan y Johnson, 2008). La estabilidad en el reclutamiento observada en el presente estudio indica que sería posible predecir la emergencia de *E. indica* y *E. tristachya* a partir de la cantidad de semillas en el banco en la región.

Estos resultados difieren de otros estudios que señalan que, en muchas especies de malezas, existe gran variabilidad entre el banco de semillas y las poblaciones de plántulas (Ball y Miller, 1989; Forcella et al.; 1997; Webster et al., 2003). Esta variabilidad puede tener varias causas entre las cuales se encuentran el tamaño de la muestra del banco de semillas, el tiempo de la muestra y los diferentes patrones de reclutamiento en invernadero frente al campo (Derksen y Watson, 1998). Analizando en el presente estudio las parcelas tratadas y no tratadas se observó mayor valor de reclutamiento en las parcelas no tratadas. Esto se debe a que se

establecieron plantas que produjeron semillas incrementando el banco mientras que el mayor reclutamiento de *E. tristachya* vs *E. indica* se atribuye a la mayor longevidad de *E. tristachya*. En el último período analizado que fue más reducido que los anteriores, el porcentaje de reclutamiento menor o igual a 1 en las parcelas testigo de ambas especies se debe por un lado al abultado banco de semillas formado luego de la dispersión de semillas del período anterior y por el otro a que solo se consideró la emergencia de las plantas en el barbecho.

Predación

La predación no se determinó en el presente estudio, pero es probable que haya contribuido a la pérdida de semillas debido a que los predadores oportunistas de semillas pueden realizar un control biológico significativo de malezas, lo que reduce la longevidad del banco de semillas, como se ha observado en otros estudios (Zhang et al. 1997; Vander Wall et al. 2005; Puricelli et al., 2005; Benvenuti, 2007). La predación en gramíneas se ha cuantificado en aproximadamente 20 % en *Echinochloa colona* en un sistema conservacionista (Cromar et al., 1999).

Experimento 2. Efecto de la profundidad de entierro en la longevidad de la semilla de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya*.

Introducción

La longevidad de una semilla se define como la vida útil de la semilla desde que es producida por la planta madre hasta que germina. Esta información es importante para comprender los cambios del banco de semillas en el tiempo ya sea en superficie o en profundidad (Davis y Renner, 2007).

El decaimiento implica la descomposición de las semillas como resultado del envejecimiento y el ataque de patógenos (Lonsdale, 1993; Kremer, 1993; Gallandt, 2006) que en algunos casos se encuentran en las mismas semillas de malezas (Kirkpatrick y Bazzaz, 1979).

El objetivo de este experimento fue estudiar la longevidad de las semillas de *Eleusine tristachya* y *Eleusine indica*.

Hipótesis

La longevidad de las semillas en superficie vs 5 cm de profundidad a los 24 meses es mayor, si bien el porcentaje de longevidad difiere entre especies.

Diseño experimental

El experimento de entierro de semillas de ambas malezas se inició en mayo de 2016 y aún continúa. El diseño experimental fue factorial en parcelas divididas con cuatro réplicas de la subparcela especies anidadas dentro de la duración del entierro de la parcela principal. Se seleccionaron al azar 100 semillas viables de *E. indica* y *E. tristachya* de las poblaciones de Zavalla y se colocaron en una bolsa semipermeable de 5 cm x 5 cm hecha de malla plástica de 0,5 mm a profundidades de 0 (superficie) y 5 cm en el campo. La malla utilizada permitió el flujo natural de agua y patógenos y resguardó a las semillas de la predación. Para determinar el efecto de la profundidad de enterramiento en ambas especies, se recogió una bolsa de cada profundidad semestralmente. Las semillas recuperadas se sacaron de las bolsas de malla, se lavaron con agua esterilizada y se colocaron en cajas de Petri en incubadores a 14 h luz y 10 h de oscuridad con 30-20 °C respectivamente para determinar la germinación. A las semillas no germinadas se les realizó una prueba de TTC como se indicó para el experimento 1. El decaimiento fue calculado como n° de semillas iniciales - (n° semillas recuperadas - semillas germinadas - semillas viables) * 100.

Resultados

Como se observa en la Figura 8, a los 6 y 12 meses la longevidad de *E. indica* y *E. tristachya* fue similar entre profundidades. A los 6 y 12 meses fue menor para *E. indica* con 76 % y 65 % respectivamente, que para *E. tristachya* con valores de 96 % y 89 %.

Entre los 18 y los 30 meses fue menor en *E. indica* que para *E. tristachya*. A los 18 meses fue para *E. indica* de 44 % a 0 cm y 61 % a 5 cm y para *E. tristachya* de 87 % en ambas profundidades. A los 24 meses para *E. indica* fue de 32 % a 0 cm y 49 % a 5 cm y en *E. tristachya* de 80-85 % sin diferencia entre profundidades. A los 30 meses para *E. indica* fue de 20 % a 0 cm y 35 % a 5 cm y en *E. tristachya* de 70-80 % sin diferencia entre profundidades.

A los 36 meses hay diferencias en la longevidad en ambas profundidades siendo menor en *E. indica* (10 % a 0 cm y 23 % a 5 cm) que en *E. tristachya* (50 % a 0 cm y de 60 % a 5 cm).

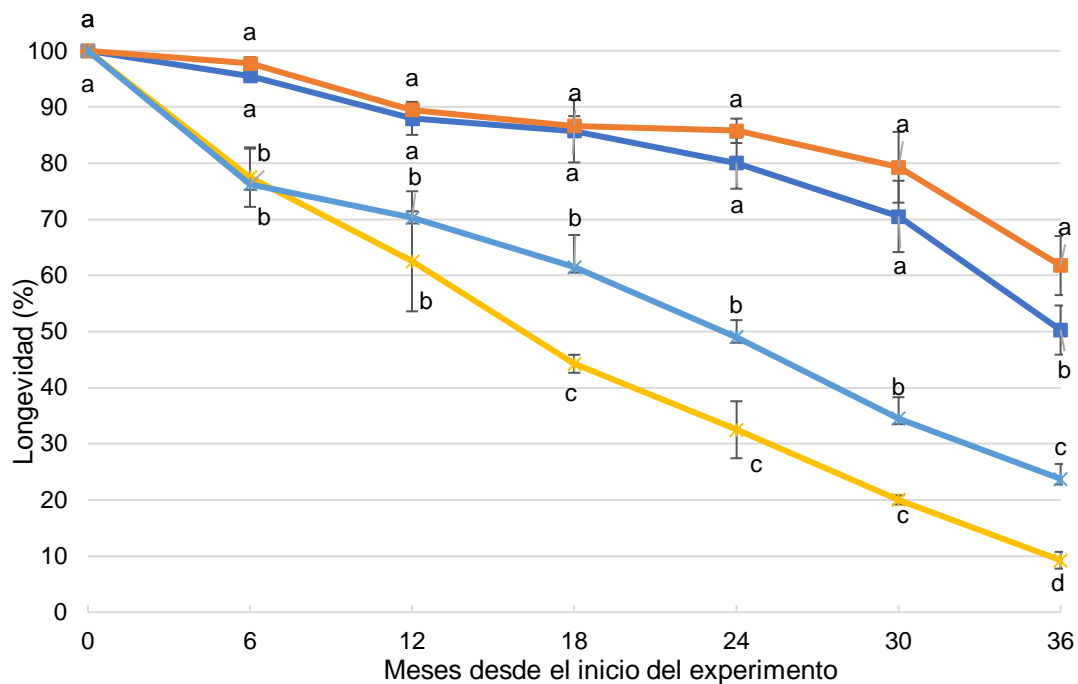


Figura 8. Efecto de la profundidad de entierro sobre la longevidad (%) de semillas de *Eleusine indica* en superficie (—x—) y a 5 cm de profundidad (—*—) y de *Eleusine tristachya* en superficie (—■—) y a 5 cm de profundidad (—■—) en condiciones de campo. Cada punto es un promedio del número total (%) de semillas que no germinaron en el campo, y que respondieron positivamente a la prueba de viabilidad.

Discusión

La longevidad de semillas de malezas desempeña un papel clave en el comportamiento de la población de malezas a lo largo del tiempo (Loddo et al., 2015). Los experimentos de entierro de semillas y las pruebas posteriores de germinabilidad o viabilidad pueden identificar con bastante precisión la longevidad del banco de semillas del suelo. En el presente experimento se observó una gran disminución en las semillas del banco de *E. indica* a los 36 meses del entierro. En contraste, en otro estudio, *E. indica* en profundidad demostró un comportamiento diferente, con mayor longevidad y sin dormición (Masin et al., 2006).

La mayoría de las gramíneas tienden a germinar en gran medida en los primeros años después de la dispersión y generalmente se caracterizan por una menor longevidad en el suelo que las latifoliadas (Buhler 1999; Bulher y Hartzler, 2001; Masin et al. 2006). Zorner et al. (1984) encontraron pérdidas de 80 % por decaimiento en semillas de gramíneas luego de permanecer 6 meses en la superficie del suelo. En consecuencia, si se controlan las emergencias, la reducción del banco de semillas se puede lograr más fácilmente con malezas gramíneas en relación con las malezas de

hoja ancha, como *Abutilon theophrasti*, que se considera una de las semillas más longevas en condiciones agrícolas (Lueschen et al., 1993; Buhler y Hartzler, 2001). Por otro lado, en *E. tristachya* el banco se redujo solo a la mitad lo que indica que muchas semillas tienen la capacidad de permanecer viables en condiciones de campo durante al menos 36 meses después de la dispersión desde la planta madre. Posiblemente esto se atribuya a que *E. tristachya* es perenne ya que la longevidad de las semillas de muchas gramíneas perennes como *Sorghum halepense* es mayor que el de gramíneas anuales como *Echinochloa colona* y *Avena sterilis* (Burnside et al., 1996). Los resultados también coinciden con estudios de Burnside et al., (1986) quienes encontraron que la densidad de las semillas en el suelo disminuyó en un 95 % después de un período de 5 años y con Humphries et al. (2018) que han identificado que entre el 74 % y el 91 % de las semillas de la gramínea *N. trichotoma* germinan en los primeros seis a doce meses, y que algunas semillas permanecen latentes en el suelo hasta tres años antes de perder su viabilidad. En general, la menor cantidad de semillas recuperadas de profundidad se debe a la degradación microbiana (Buhler et al., 1997). Así, el entierro a 5 cm tuvo un efecto protector sobre las semillas, especialmente en *E. indica*, ya que estas semillas tenían una mayor viabilidad en comparación con aquellas expuestas a las condiciones de la superficie. La descomposición microbiana de las semillas en el banco de semillas es un mecanismo potencial de control biológico de malezas que se dirige directamente a las semillas (Kennedy, 1999; Kremer, 1993). Esto ha sido observado en un gran número de estudios de longevidad de semillas de malezas (Lewis, 1973; Dawson y Bruns, 1975; Egley y Chandler, 1983). La ausencia de germinación en profundidad puede deberse a la hipoxia y las bajas tasas de difusión gaseosa en el suelo (Benvenuti, 2003; Chauhan, 2008).

En otro estudio las diferencias en longevidad de las semillas entre las especies se hicieron evidentes después de 18 meses (Saatkamp et al., 2009) por lo que los autores proponen que se utilice la densidad de semillas en el suelo y el porcentaje de longevidad de las semillas después de 1,5 años de entierro como los dos factores principales en la formación de bancos de semillas en el suelo. Considerando los datos de abundancia de semillas sin herbicidas en el suelo del experimento 1 y el de longevidad del Experimento 2 se observa que a los 24 meses que la densidad de *E. indica* fue de 6440 semillas.m⁻² y la longevidad en superficie fue 22 % mientras que la densidad de *E. tristachya* fue de 8500 semillas.m⁻² y su longevidad de 80 %. De estos datos se infiere que el banco de semillas de *E. tristachya* es más persistente que el de *E. indica*.

CAPÍTULO V

Factores de las hojas que afectan la absorción de herbicidas y daño anatómico foliar causado por herbicidas en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en dos estados de crecimiento

CAPÍTULO V

Factores de las hojas que afectan la absorción de herbicidas y daño anatómico foliar causado por herbicidas en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en dos estados de crecimiento

Resumen

La superficie foliar es la primera barrera que debe atravesar un herbicida postemergente para ingresar en una planta. La absorción foliar y la eficacia biológica de los herbicidas depende de la morfología y composición química de la superficie foliar, de la permeabilidad de la cutícula y de la anatomía foliar de las malezas. Las características de la superficie foliar como las ceras cuticulares y epicuticulares, y la presencia de tricomas y estomas, pueden variar entre especies, biotipos y estados de crecimiento de las malezas. Esta información es escasa en *Eleusine indica* y se encuentra ausente en *Eleusine tristachya* ya que es una maleza de reciente aparición en los sistemas agrícolas y no ha sido estudiada previamente. El objetivo de este capítulo fue caracterizar morfológicamente las hojas de *Eleusine indica* y de tres biotipos de *Eleusine tristachya* (Aranguren, Crespo y Zavalla) en estado vegetativo y reproductivo a través de la comparación de la densidad de tricomas, estomas, y la cantidad de ceras epicuticulares para analizar si estas características morfológicas contribuyen a una menor susceptibilidad a los herbicidas; y anatómicamente a través del estudio en las alteraciones producidas en la anatomía de estas malezas luego de la aplicación de glifosato, haloxifop y cletodim. En estado vegetativo la densidad estomática en *Eleusine indica* fue menor con respecto a los biotipos de *E. tristachya* Crespo y Zavalla. El biotipo de *E. tristachya* Aranguren no mostró diferencias con el resto de los biotipos ni con *E. indica*. Cuando las plantas alcanzaron el estado reproductivo, *E. tristachya* Aranguren registró la mayor densidad estomática. La densidad estomática de los nomofilos aumentó en todos los casos al pasar de estado vegetativo a reproductivo. La cantidad de ceras epicuticulares en estado vegetativo y reproductivo fueron mayores para los biotipos de *E. tristachya* Aranguren y Crespo. Para cada especie y biotipo no se hallaron diferencias entre estados de crecimiento. No se pudo correlacionar el número de estomas con la sensibilidad a los herbicidas, a excepción del biotipo de *E. tristachya* Aranguren en estado reproductivo con glifosato en el cual fue positiva. En el resto de los biotipos las características morfológicas no explicaron la sensibilidad mostrada en el capítulo dos.

Todos los herbicidas produjeron cambios en la anatomía foliar de las malezas a las 96 horas después de su aplicación, principalmente en el espesor de los tejidos de la hoja.

Introducción

La superficie foliar es la primera barrera que debe atravesar un herbicida postemergente para ingresar en una planta. La absorción foliar y la eficacia de los herbicidas depende de la morfología y composición química de la superficie foliar y de la permeabilidad de la cutícula de los cultivos y de las malezas (Franke, 1969; Hull et al., 1975; Baker, 1982; Bukovac et al., 1990; Dayan et al., 1996a, b; Burghardt et al., 1998; Beattie y Marcell, 2002; Bondada y Oosterhuis, 2002). En particular, la cutícula está conformada por ceras cuticulares y epicuticulares de naturaleza hidrofóbica, y tiene por función proteger a las células de la deshidratación y evitar que sustancias y organismos nocivos para la planta (xenobióticos), ingresen a la misma. (Puricelli, 2016).

La actividad de los herbicidas de contacto depende en mayor medida de esta capa (Chamel, 1986), mientras que la de los sistémicos como los evaluados en esta tesis, dependen, también de su capacidad para translocarse hasta el resto de la planta (Franke, 1969; Hull et al., 1975; Bukovac et al., 1990; Dayan et al., 1996a, b; Burghardt et al., 1998; Beattie y Marcell, 2002; Bondada y Oosterhuis, 2002; Shaner, 2009).

La penetración de la cutícula es un proceso meramente físico, que actualmente es explicado por la "hipótesis de las dos vías". De acuerdo a este punto de vista, una de las vías pasa a través de la fase amorfa de ceras cuticulares y es exclusiva para solutos lipofílicos, mientras que la segunda se da a través de poros con dimensiones moleculares que se encuentran llenos de agua y es utilizada por iones inorgánicos y compuestos orgánicos solubles en agua como glifosato (Chamel, 1986; Santier y Chamel, 1998; Riederer y Schreiber, 2001; Schreiber et al., 2001; Schreiber, 2002) Devine, 1988; Schreiber, 2002; Beattie y Marcell, 2002; Shaner, 2009). Las ceras presentes en la cutícula son la barrera principal que controla la tasa de difusión transcuticular de compuestos lipofílicos como los graminicidas (Schreiber y Schönherr, 1992, 1993; Schreiber et al., 1996; Santier & Chamel, 1998; Storey y Price, 1999).

La cutícula, en general, está formada por varias zonas: la más externa se llama cutícula propiamente dicha, contiene cutina y ceras intracuticulares, sin presencia de compuestos típicos de la pared celular, generalmente es polilamelada; más internamente se ubica una región denominada capas cuticulares, que forma la mayor parte de la cutícula y puede presentar celulosa; y, por último, una capa de sustancias

pécticas que continúa con la lámina media de la pared celular (Chamel, 1986; Chamel & Vitton, 1996; Flores-Vindas, 1999). Sobre la cutícula se pueden depositar las ceras epicuticulares. Estas últimas pueden ser depositadas en una variedad de formas: película fina, placas o cristales (gránulos, bastones, túbulos, costras, agregados, etc.) (Barthlott et al., 1998), existiendo un paralelismo entre la diversidad de formas y la composición química (Koch y Ensicat, 2008).

La estructura y composición química de la cutícula muestra variaciones entre las diferentes especies, y dentro de una especie determinada, varía además en función de la edad de la hoja. A medida que aumenta la edad existe un incremento en la deposición de los diferentes compuestos químicos de la cutícula provocando una reducción en la absorción de compuestos por la hoja (Hull et al., 1975). Éstas y otras características de la superficie foliar como la rugosidad o presencia de tricomas y estomas y glándulas, además de su anatomía foliar pueden afectar la eficacia de absorción de herbicida en las malezas, interviniendo en la adherencia y su penetración (Wanamarta y Penner, 1989; Mcwhorter y Ouzts, 1994; Monquero et al., 2004a; Huangfu et al., 2009) y varían en forma y cantidad en función de la especie (Esau, 1982) y entre individuos de una misma especie cuando crecen ante condiciones ambientales diferentes (Hatterman-Valenti et al., 2011).

La densidad de estomas y tricomas presentes en la epidermis foliar produce variaciones en la morfología de la superficie foliar que se relacionan con la absorción diferencial de herbicidas. En distintas poblaciones de *Brassica juncea* (Huangfu et al., 2009) encontraron una correlación positiva entre el número de tricomas y la menor sensibilidad al glifosato, sin embargo en estas especies no se pudo correlacionar de manera significativa la cantidad de ceras epicuticulares con la distinta sensibilidad. Por otro lado en *Commelina erecta*, *Ipomoea grandifolia* y *Petunia axillaris* una mayor cantidad de ceras estuvo asociada con una menor absorción total o mayor tiempo de absorción de glifosato (Monquero, 2004; Dellaferrera, 2013), finalmente se ha encontrado que la mayor proporción de compuestos hidrofóbicos en la composición de la cutícula, asocia con una menor absorción de glifosato en *Parietaria debilis* y *Commelina erecta* (Monquero, 2004; Dellaferrera, 2013).

Debido a su comportamiento hidrofílico, la primera barrera foliar que debe vencer el glifosato para su absorción es la cutícula, conformada por ceras cuticulares y epicuticulares de naturaleza hidrofóbica. También la cutícula actúa controlando la tasa de difusión transcuticular de los compuestos lipofílicos como los graminicidas cletodim y haloxifop (Schreiber & Schönherr, 1992, 1993; Schreiber et al., 1996; Santier & Chamel, 1998; Storey & Price, 1999).

Luego de pasar por la cutícula, los herbicidas deben atravesar la pared y la membrana plasmática para poder ingresar al citoplasma de las células epidérmicas, y posteriormente atravesar la pared y plasmalema de los tejidos clorofilianos subepidérmicos, para llegar luego al floema y/o xilema en el que ocurrirá su translocación hasta los sitios de acción (Satchivi et al., 2000). La cutícula y la membrana plasmática son los obstáculos difíciles de sortear, ya que el paso a través de la pared celulósica es relativamente fácil debido a la presencia de espacios interfibrilares e intermicelares llamados ectodesmos o teicodos (Franke, 1969; Flores-Vindas, 1999).

El movimiento del glifosato por el floema sigue la misma ruta que los fotosintatos desde hojas fotosintéticamente activas hacia los lugares de la planta que los utilizan (raíces, tubérculos, rizomas, hojas jóvenes y regiones meristemáticas). Es por esto que las condiciones que benefician la fotosíntesis favorecen también la acción del glifosato (Della-Cioppa et al., 1986). Se desconoce el mecanismo de reducción de la translocación del glifosato, pero el patrón de su movimiento y acumulación puede ayudar a identificarlo (Gomez de Enciso, 2009). El herbicida debe entrar en el protoplasto de las células del floema, presumiblemente por vía simplástica. El glifosato puede hacer esto ya sea por difusión masal en las células del mesófilo, seguido por el movimiento hacia el floema a través de los plasmodesmos, o puede ser tomado activamente en el mesófilo o en células acompañantes a través de un transportador fosfato. Una vez que el glifosato entra en el elemento criboso, queda atrapado debido a sus propiedades hidrófilas y es transportado hacia los tejidos destino (Shaner, 2009). En varias especies de malezas la causa de resistencia a glifosato parece ser una translocación reducida hacia los meristemas. El glifosato se moviliza menos en los biotipos resistentes vs los susceptibles, lo cual determina diferencias de 3 a 10 veces en las concentraciones que inhiben el 50 % del crecimiento (GR_{50}). Este mecanismo se ha identificado en biotipos de *Conyza canadensis* (L.) Cronquist (Feng et al., 2004) *Lolium rigidum* Gaudin (Wakelin et al., 2004), *Lolium multiflorum* Lam. (Perez-Jones et al., 2007) y *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Dinelli et al., 2008).

La absorción del glifosato se produce rápidamente a través de la cutícula mientras que la translocación por simplasto es lenta. La duración de este proceso depende de varios factores: la especie, la edad de la planta, las características de la superficie foliar, las condiciones ambientales, la concentración del glifosato y el surfactante (Satchivi et al., 2000).

Los tricomas presentes en la superficie foliar pueden interceptar las gotas de una aspersión impidiendo que estas alcancen la epidermis propiamente dicha (Ricotta & Masiunas, 1992) y en general, existe una correlación positiva entre su densidad y la

absorción del herbicida (Huangfu et al., 2009). La absorción foliar puede estar correlacionada también con el número de estomas, sin embargo generalmente solo el 10 % de los estomas contribuyen a la absorción, como fue estudiado en *Allium porrum* L. (cv. Tropita) (Eichert y Burkhardt, 2001). En esta especie la penetración a través de los estomas está controlada por la distribución de las ceras epicuticulares (Eichert y Burkhardt, 2001), de esta forma la cantidad y presencia de ceras sobre los estomas afectará la absorción por esta vía. Sin embargo, entre todas las características foliares la cutícula ha sido considerada como la principal barrera que actúa sobre la absorción foliar de herbicidas (Bukovac, 1976).

Las ceras se destacan como la principal barrera a las pérdidas por transpiración y a la entrada de productos químicos hidrosolubles (Santier & Chamel, 1998). A pesar de que la morfología de las mismas es controlada genéticamente, la cantidad y distribución pueden ser modificadas por las condiciones ambientales (Barthlott et al., 1998) como temperatura, humedad, intensidad de luz, fotoperíodo y pH; aunque la temperatura es el factor más importante (Hull et al., 1975; Riederer y Schreiber, 2001). En varias especies se encontró que la mayor tolerancia a los herbicidas era consecuencia de una mayor cantidad de ceras superficiales, las que bloqueaban la absorción. En *Commelina benghalensis* L. se estableció que el principal mecanismo de tolerancia al glifosato fue la absorción diferencial relacionada con características de las ceras epicuticulares y la presencia de un metabolismo diferencial (Monquero et al., 2004a).

Las ceras se depositan sobre la cutícula formando cristales (Baker, 1982; Hess et al., 1974). Estas ceras epicuticulares contienen principalmente una variedad de hidrocarburos de cadenas cortas y largas, alcoholes, ácidos, ésteres, aldehídos y triterpenos (Baker, 1982). La cera es considerada esencialmente no polar lo que le confiere características hidrofóbicas, sin embargo existen variaciones entre especies. Dentro de los compuestos constituyentes de las ceras, los hidrocarburos son considerados altamente hidrofóbicos mientras que los alcoholes, ésteres y ácidos son relativamente hidrofílicos (Baker, 1982), además compuestos de cadenas carbonadas más largas resultan más hidrofóbicos que sus homólogos de cadenas más cortas (Wen et al., 2006). La proporción relativa de los compuestos que forman las ceras epicuticulares pueden ofrecer una idea de cuál es el grado de hidrofobia de la superficie foliar de cada planta en particular. La composición de las ceras tendría una relación más directa con la absorción que la cantidad total (Monquero et al., 2004a). Sin embargo, en algunas especies se encontró que la mayor tolerancia a los herbicidas era consecuencia de una mayor cantidad de ceras superficiales, las que bloqueaban la absorción. La remoción de estas ceras con cloroformo incrementó la

absorción de glifosato en plantas de coca (*Erythroxylum coca* var. *coca* (Lam.)) comparada con individuos con las ceras epicuticulares presentes (Ferreira y Reddy, 2000).

Finalmente, como se indicó previamente, la morfología de las hojas tiene influencia sobre la cantidad de herbicida interceptado y retenido; y la anatomía de las hojas prácticamente determina la facilidad con la que estos productos serán absorbidos, por lo que el estudio anatómico de las hojas puede mejorar la comprensión de las barreras que cada especie impone a la absorción de los herbicidas y, consecuentemente, proporcionar estrategias para superar estos obstáculos.

Los caracteres anatómico-foliar del género *Eleusine* concuerdan en líneas generales con los asignados a la subfamilia Eragrostoideas, "tipo cloridoide" de Brown (1958). Dicho tipo se caracteriza por el clorénquima radiado de células dispuestas en una serie, vaina mestomática presente por lo menos en los haces vasculares primarios, y vaina parenquimática bien desarrollada con cloroplastos. En efecto, en el "tipo cloridoide" de Brown el haz vascular es el centro de radiación del clorénquima (Figura 1).

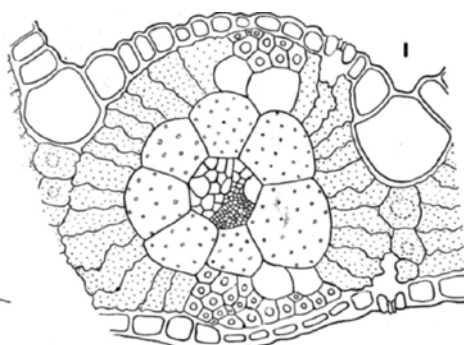


Figura 1. Corte transversal de lámina foliar de *Eleusine indica* (L.) Gaertn: haz vascular terciario con su vaina y clorénquima radiado (Sánchez, 1974).

El análisis anatómico foliar podría ser aplicado con éxito en la identificación de las especies sensibles, tolerantes o resistentes a ciertos químicos, así como en la descripción de los síntomas fitotóxicos, contribuyendo a los estudios de selectividad del herbicida a las especies terrestres o acuáticas (Procópio et al., 2003b). Los herbicidas generan post aplicación una serie de cambios anatómicos. En *Brachiaria subquadripara* (Trin.) Hitchc. la aplicación de glifosato aumentó el porcentaje de haces vasculares y de lagunas en el aerénquima a los 16 días post aplicación (Costa et al., 2011). Tuffi Santos *et al.* (2004) mencionan que el glifosato produce sobre la anatomía foliar una desorganización completa del mesófilo que termina con la muerte celular, no

afecta a los tejidos epidérmicos ni a los vasculares; sin embargo, en otras especies tolerantes se observó la desaparición o decoloración de los plastidios y un colapso del parénquima en empalizada sin producción de muerte celular (Traggiay et al., 2009). Por otro lado, Malpassi (2005) indicó que la aplicación de quizalofop p tefuril en plantas de *E. indica* produjo desde vainas con cloroplastos desorganizados o ausentes hasta hojas que presentaron todo su mesófilo (incluida la vaina) sin cloroplastos.

El análisis de la influencia de la superficie y anatomía foliar en la deposición y subsecuente absorción y translocación del herbicida permitiría comprender mejor el comportamiento de las especies de maleza *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* a los herbicidas glifosato, cletodim y haloxyfop.

En este capítulo se comparan la densidad de tricomas, estomas, y la cantidad de ceras epicuticulares en *Eleusine indica* y en tres biotipos de *Eleusine tristachya* (Aranguren, Crespo y Zavalla) con el objetivo de analizar si estas características morfológicas contribuyen a una menor susceptibilidad a los herbicidas, y se estudian las alteraciones producidas en la anatomía de estas malezas luego de la aplicación de glifosato, haloxyfop y cletodim.

Hipótesis

Las hipótesis son:

- a) La densidad estomática, la densidad de tricomas y la cantidad de ceras en nomófilos de tres biotipos de *E. tristachya* y un biotipo de *E. indica* son distintas, afectando de manera diferencial la absorción y en consecuencia la eficacia de glifosato y graminicidas.
- b) La cutícula de individuos más desarrollados (con más de tres macollos) presenta una mayor acumulación de ceras que actúan como un compartimento de la acumulación de herbicidas y, por lo tanto, impiden mayormente la entrada de graminicidas y en menor medida de glifosato.
- c) El daño anatómico foliar en plantas *E. tristachya* y *E. indica* difiere con los herbicidas glifosato, cletodim y haloxyfop; y con el estado de desarrollo de la maleza.

Objetivo general:

- Caracterizar morfológica y anatómicamente las hojas de *E. indica* Zavalla y de *E. tristachya* en estado vegetativo y reproductivo

Objetivos particulares:

- Caracterizar las estructuras presentes en la epidermis foliar que podrían comportarse como una barrera mecánica para la absorción y el posterior traslado de los herbicidas glifosato, cletodim y haloxifop en un biotipo de *E. indica* y tres biotipos de *E. tristachya* en estado vegetativo y reproductivo.

- Describir el daño producido por estos herbicidas en la anatomía foliar de *E. indica* Zavalla y *E. tristachya* Crespo en estado vegetativo y reproductivo.

Materiales y Métodos

Se cultivaron plantas de un biotipo de *E. indica*: Zavalla (Santa Fe) y tres biotipos de *E. tristachya*: Aranguren (Entre Ríos), Crespo (Entre Ríos) y Zavalla (Santa Fe). Todas las semillas germinaron en papel de filtro húmedo dentro de placas de Petri, luego fueron trasplantadas a macetas que contenían una mezcla de turba y tierra (1:2 v/v) en sala de crecimiento a una temperatura de 20/30 °C (día y noche) con un fotoperíodo de 16 h y una intensidad lumínica de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con 60 – 80 % de humedad relativa. Se realizaron dos siembras en diferentes fechas (con la misma metodología que en el capítulo dos) a fin de obtener plantas en estado vegetativo y reproductivo al momento de la caracterización de la superficie foliar.

Caracterización de la superficie foliar

Se contabilizaron los estomas y tricomas en la región central de la superficie adaxial de la lámina foliar. Para esto se desprendió la epidermis adaxial en la región media de la lámina foliar correspondiente a la zona inmediata adyacente a la nervadura central. La selección de esta zona de la hoja se fundamenta en que la frecuencia estomática generalmente es mayor en el ápice y en la base foliar, así como también es mayor en los bordes de la lámina comparada con la región vecina a la nervadura central (Knecht and Orton, 1970). Las muestras de epidermis fueron montadas en sendos portaobjetos con agua y se fotografiaron a 400 aumentos con una cámara Canon Rebel T3i 600d montada a un microscopio Leica DM1000 y controlada desde ordenador. Las imágenes fueron calibradas mediante fotografías a la misma resolución de una escala graduada, y analizadas mediante el programa ImageJ (Abramoff et al., 2004). Sobre

estas imágenes se contó el número de estomas y número de tricomas sobre una superficie conocida y se expresaron como densidad estomática (estomas/mm²) y densidad de tricomas (tricomas/mm²).

Las mediciones se realizaron en 15 preparados por especie y biotipo extraídos de 5 plantas (3 preparados por planta). En cada estado de crecimiento se analizó estadísticamente cada factor (densidad estomática y densidad de tricomas) mediante el test LSD a nivel de 0,05 de significancia para evaluar si había diferencias significativas debidas a la especie y/o el biotipo.

Caracterización de cantidad de ceras epicuticulares

Las ceras epicuticulares se extrajeron de 40 hojas de 10 plantas por especie. Las hojas de cada especie fueron introducidas separadamente en recipientes con cloroformo y metanol (90:10 ml) por 30 segundos agitándose suavemente para evitar que las hojas se rompan y se produzca la liberación de clorofila y otros compuestos. Los extractos obtenidos fueron filtrados y evaporados sobre una placa a 55 °C hasta reducir el volumen a aproximadamente 15 ml. Esta solución (cloroformo + ceras) fue transferida a tubos de 25 ml de peso conocido. El cloroformo fue evaporado a temperatura ambiente y los tubos se pesaron a los 2 y 4 días (hasta alcanzar peso constante) después de la obtención del residuo sólido (ceras). La cantidad de ceras se expresó por unidad de área foliar (µg/cm²). Para esto se determinó el área foliar de todas las hojas utilizadas previo a la extracción con un medidor de área foliar LI-COR modelo 3000. En cada estado de crecimiento se analizó estadísticamente la cantidad de ceras para evaluar diferencias significativas debido a la especie y/o al biotipo mediante el test LSD a nivel de 0,05 de significancia.

Estudios anatómicos foliares

Para evaluar el daño anatómico foliar causado por el herbicida se aplicó sobre individuos de *Eleusine indica* Zavalla y *Eleusine tristachya* Crespo una dosis de 1080 g i.a. ha⁻¹ de glifosato (sal potásica 62 % p/v); 60 g i.a. ha⁻¹ de Cletodim (cletodim 24%p/v) y 60 g i.a. ha⁻¹ de Haloxifop (haloxifop-R-metil ester (54 %p/v). Todas las aplicaciones se realizaron con una cámara de asperjado de laboratorio equipada con pastillas de abanico plano magnojet 8001, calibradas para asperjar 175 L ha⁻¹ a una presión de 275 kPa.

Posteriormente, se extrajeron muestras de la región central de la penúltima hoja expandida al momento de la aplicación de cada especie a las 0, y 96 horas post tratamiento, las mismas fueron fijadas en FAA a continuación se deshidrataron en una

serie creciente de alcoholes y luego fueron incluidas en parafina-cera para la obtención de los preparados histológicos permanentes. Se efectuaron cortes transversales normalizados de la hemilámina con micrótomo rotativo, los que fueron coloreados con safranina-fast green. Se digitalizaron imágenes a partir de los preparados los cuales fueron fotografiados con una cámara Canon Rebel T3i 600d montada a un microscopio Leica DM1000 y controlada desde ordenador. Las imágenes fueron calibradas mediante fotografías a la misma resolución de una escala graduada y analizadas mediante el programa ImageJ; las que fueron utilizadas para la descripción anatómica de cada especie. Además se cuantificaron los espesores de los tejidos encontrados y se determinó para cada especie/biotipo y estado de crecimiento si existían diferencias significativas debidas a la aplicación del herbicida mediante un test de LSD ($P < 0,05$). Además, para cada especie/biotipo sin aplicación de herbicida se realizó una prueba t ($P < 0,05$) para determinar diferencias entre estados de crecimiento.

Resultados

Caracterización de la superficie foliar y cantidad de ceras epicuticulares

Los estomas en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* se hallan al mismo nivel que las células epidérmicas propiamente dichas, están formados por dos células oclusivas en forma de pesas acompañadas por dos células subsidiarias y se distribuyen de manera ordenada, en filas paralelas al eje longitudinal de la lámina, como es característico de en las Poáceas (Foto 1 y 2).

En estado vegetativo (Foto 1) la densidad estomática en *Eleusine indica* fue menor con respecto a los biotipos de *E. tristachya* Crespo y Zavalla. El biotipo de *E. tristachya* Aranguren no mostró diferencias con el resto de los biotipos ni con *E. indica* (Tabla 1).

Cuando las plantas alcanzaron el estado reproductivo (Foto 2), *E. tristachya* Aranguren registró la mayor densidad estomática. La densidad estomática de los nomofilos aumentó en todos los casos al pasar de estado vegetativo a reproductivo (Tabla 1).

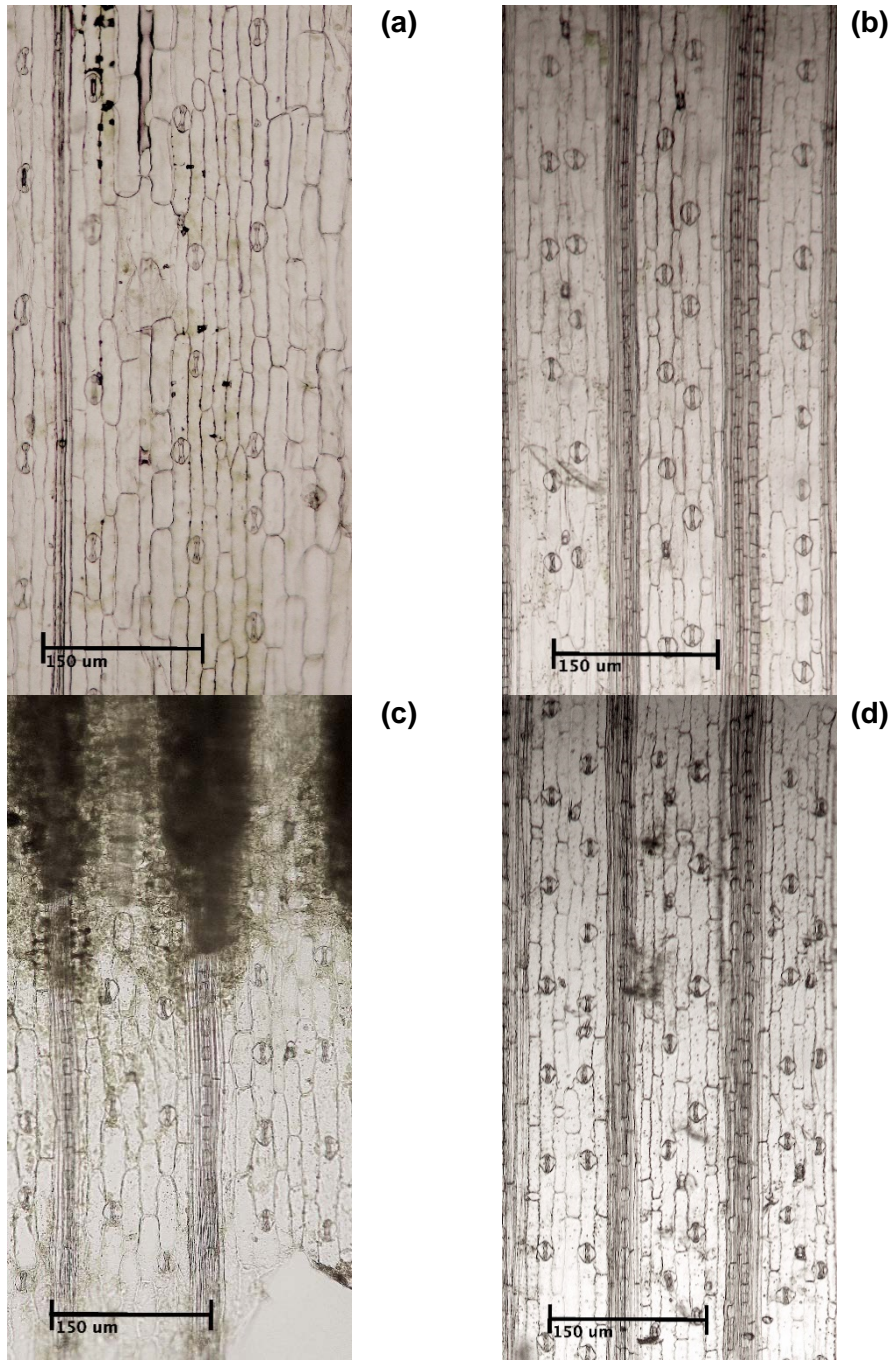


Foto 1. Superficie foliar de *Eleusine indica* Zavalla (a) y *Eleusine tristachya* Aranguren (b), Crespo (c) y Zavalla (d), en estado vegetativo.

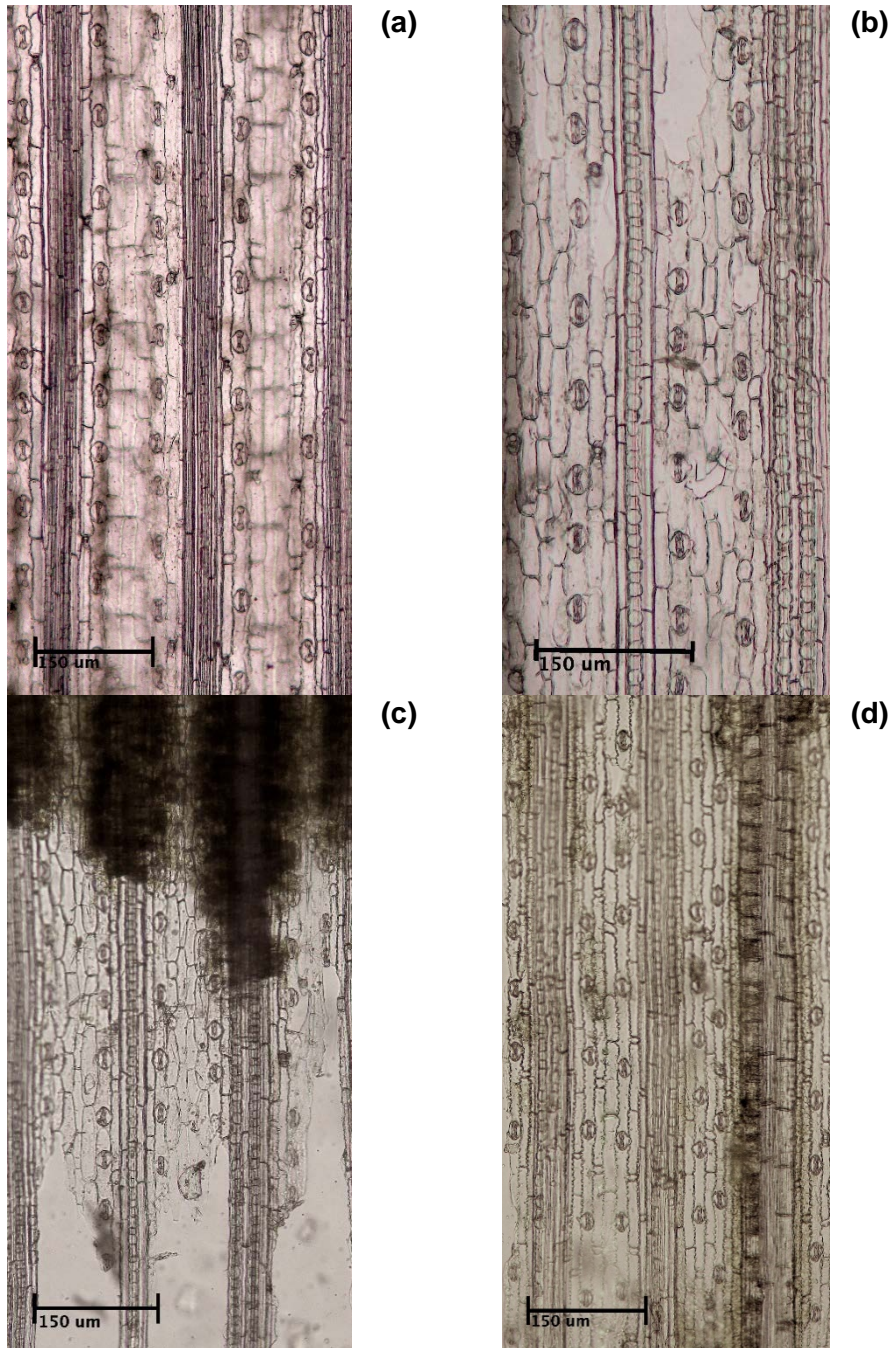


Foto 2. Superficie foliar de *Eleusine indica* Zavalla **(a)** y *Eleusine tristachya* Aranguren **(b)**, Crespo **(c)** y Zavalla **(d)**, en estado reproductivo.

Tabla 1. Parámetros epidérmicos de *Eleusine indica* Zavalla y de los biotipos de *Eleusine tristachya* Aranguren, Crespo y Zavalla.

| Estado de crecimiento | Especie/biotipo | Estomas /mm ² | E.E. | Ceras µg/cm ² | E.E. |
|-----------------------|---|--------------------------|-------|--------------------------|------|
| Vegetativo | <i>Eleusine indica</i> Zavalla | 65,3 b | 9,87 | 21,70 a | 0,35 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Aranguren | 99,6 ba | 6,62 | 35,93 b | 4,23 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Crespo | 81,8 a | 5,90 | 38,25 b | 7,72 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Zavalla | 102,9 a | 4,71 | 21,03 a | 0,49 |
| Reproductivo | <i>Eleusine indica</i> Zavalla | 163,5 a* | 10,27 | 21,00 a | 2,00 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Aranguren | 225,9 b* | 9,72 | 43,53 b | 2,70 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Crespo | 186,2 a* | 1,93 | 35,47 b | 3,69 |
| | <i>Eleusine tristachya</i> Zavalla | 154,8 a* | 18,04 | 23,47 a | 0,92 |

Referencias: los estomas fueron contabilizados de la epidermis foliar adaxial de cada especie mientras que las ceras fueron extraídas de ambos lados de los nomófilos de cada especie/biotipo respectivamente. En cada estado de crecimiento, letras distintas indican para cada parámetro estudiado diferencias significativas entre especie/biotipo según una prueba de LSD $\alpha = 0,05$. Un asterisco (*) indica para cada parámetro diferencias significativas entre estados de crecimiento de una misma especie/biotipo. E.E.= Error estándar.

Por otra parte, la cantidad de ceras epicuticulares en estado vegetativo y reproductivo fueron mayores para los biotipos de *E. tristachya* Aranguren y Crespo, mientras que las medias de las dos especies restantes resultaron similares (Tabla 1). Para cada especie y biotipo no se hallaron diferencias en la cantidad de ceras epicuticulares entre estados de crecimiento.

Anatomía foliar

Los cortes anatómicos de *E. indica* y *E. trischya* presentaron un espesor medio de lámina variable de entre 54 y 70 µm para los estados vegetativos y reproductivos. Las

epidermis tanto abaxial como adaxial son simples, y sus espesores fueron iguales o superiores en *E. indica* tanto en estado vegetativo como en reproductivo (Tabla 2a). En las dos especies, el mesófilo exhibe una típica anatomía tipo Kranz (típica para especies C4) y se observa un parénquima radiado que ocupa la mayor proporción de la superficie de tejido (Foto 2 y 3).

En estado vegetativo, *Eleusine indica* comparado con *Eleusine tristachya* en el tiempo 0 (testigo) mostró un mayor espesor en la lámina foliar (70 vs 54) y en todos los parámetros analizados con excepción del clorénquima abaxial. Además, en *E. indica* la Vaina de Kranz y el clorénquima total representó el 51 % y 24 % del espesor del nomófilo, mientras que en *E. tristachya* fue de 63 % y 21 % respectivamente, mostrando también diferencias significativas expresados en porcentaje.

Los cortes anatómicos post aplicación de herbicidas solo mostraron cambios en los espesores de las partes constituyentes del nomófilo (Tabla 2a), (Foto 2). En *Eleusine indica* en estado vegetativo, la aplicación de haloxifop disminuyó el espesor de la lámina foliar, la vaina de Kranz y el clorénquima situado en la cara abaxial. A su vez, y sin diferencias con glifosato y cletodim redujo el espesor de la epidermis tanto adaxial como abaxial. Los herbicidas glifosato y cletodim no mostraron diferencias con el testigo en cuanto al espesor de lámina foliar, la vaina de Kranz, el clorénquima AB y el clorénquima total. Por último, el clorénquima situado en la cara adaxial no se vió modificado con la aplicación de ningun herbicidas.

En *Eleusine tristachya* en estado vegetativo, la aplicación de herbicidas no mostró diferencias en la mayoría de los parámetros estudiados, con excepción de haloxifop en el clorénquima AB el cual fue menor y de la vaina de Kranz que fue significativamente mayor.

Tabla 2a. Parámetros anatómicos foliares de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en estado vegetativo a las 0 h (testigo) y a las 96 h post aplicación de glifosato, cletodim y haloxifop.

| Especie | Herbicidas | Resumen | Espesor | | | | | | |
|----------------------|------------|---------|----------|----------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| | | | Lámina | Epidermis abaxial | Epidermis adaxial | Clorenquima adaxial | Vaina de Kranz | Clorenquima abaxial | Clorenquima total |
| <i>E. indica</i> | Testigo | Media | 70,87 a* | 11,48 a* | 8,92 a* | 7,38 a | 41,62 a* | 12,48 a* | 19,99 a* |
| | | E.E. | 2,80 | 0,65 | 1,05 | 0,85 | 0,56 | 0,10 | 0,93 |
| | Glifosato | Media | 73,47 a | 6,52 b | 4,86 b | 8,62 a | 43,74 a | 9,73 a | 18,35 a |
| | | E.E. | 3,10 | 0,50 | 0,52 | 1,05 | 1,38 | 1,71 | 2,24 |
| | Cletodim | Media | 75,71 a | 8,96 b | 4,08 b | 10,46 a | 41,62 a | 10,59 a | 21,05 a |
| | | E.E. | 2,63 | 4,27 | 0,56 | 1,97 | 0,56 | 0,26 | 1,85 |
| | Haloxifop | Media | 53,33 b | 8,31 b | 6,53 b | 5,62 a | 35,99 b | 5,18 b | 10,80 b |
| | | E.E. | 1,45 | 0,23 | 1,26 | 0,58 | 0,63 | 1,02 | 0,44 |
| <i>E. tristachya</i> | Testigo | Media | 54,36 a | 4,32 a | 5,19 a | 6,56 a | 33,97 b | 4,32 b | 10,89 a |
| | | E.E. | 0,18 | 0,44 | 0,20 | 0,77 | 1,35 | 0,23 | 0,79 |
| | Glifosato | Media | 56,34 a | 4,56 a | 5,72 a | 6,30 a | 33,71 b | 6,05 a | 12,35 a |
| | | E.E. | 5,63 | 0,55 | 1,42 | 1,65 | 1,28 | 1,01 | 2,64 |
| | Cletodim | Media | 58,05 a | 5,08 a | 4,38 a | 5,25 a | 36,09 b | 7,25 a | 12,50 a |
| | | E.E. | 1,42 | 0,44 | 0,66 | 0,53 | 2,04 | 0,36 | 0,36 |
| | Haloxifop | Media | 65,93 a | 5,44 a | 5,88 a | 5,72 a | 46,91 a | 3,98 b | 9,69 a |
| | | E.E. | 3,47 | 1,08 | 1,37 | 0,79 | 2,17 | 0,39 | 0,48 |

Referencias: Espesor expresado en μm . E.E. error estándar. Por especie y por parámetro estudiado letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey $\alpha=0,05$. * indica diferencias significativas entre las dos especies para el tratamiento testigo, según una prueba de t ($P<0,05$)

Tabla 2b. Parámetros anatómicos foliares de *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en estado vegetativo a las 0 h (testigo) y a las 96 h post aplicación de glifosato, cletodim y haloxifop.

| Especie | Herbicidas | Resumen | Espesor | | | | | | |
|----------------------|------------|---------|-----------|----------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| | | | Lámina | Epidermis abaxial | Epidermis adaxial | Clorenquima adaxial | Vaina de Kranz | Clorenquima abaxial | Clorenquima total |
| <i>E. indica</i> | Testigo | Media | 53,98 b | 4,29 a | 3,68 a* | 6,57 a | 33,05 b | 6,40 a | 12,97 a |
| | | E.E. | 0,31 | 0,39 | 0,10 | 0,26 | 0,93 | 0,43 | 0,39 |
| | Glifosato | Media | 68,91 a | 3,37 a | 2,44 b | 8,84 a | 45,53 a | 8,73 a | 17,57 a |
| | | E.E. | 3,21 | 0,34 | 0,29 | 0,91 | 4,73 | 0,93 | 1,76 |
| | Cletodim | Media | 52,48 b | 3,44 a | 3,85 a | 8,71 a | 30,27 b | 6,19 a | 14,91 a |
| | | E.E. | 6,46 | 0,39 | 0,27 | 2,64 | 3,64 | 0,32 | 2,87 |
| | Haloxifop | Media | 57,10 ab | 4,28 a | 3,35 a | 5,85 a | 35,09 ab | 8,52 a | 14,37 a |
| | | E.E. | 3,54 | 0,85 | 0,14 | 0,36 | 3,72 | 1,33 | 1,05 |
| <i>E. tristachya</i> | Testigo | Media | 69,06 ab* | 4,40 a | 2,78 b | 6,27 b | 47,09 ab* | 8,51 a | 14,78 ab |
| | | E.E. | 1,50 | 0,57 | 0,32 | 0,52 | 0,55 | 1,94 | 2,25 |
| | Glifosato | Media | 60,31 b | 4,02 a | 4,45 a | 5,68 b | 39,42 b | 6,75 a | 12,43 b |
| | | E.E. | 10,92 | 0,20 | 0,23 | 0,64 | 9,09 | 0,75 | 1,39 |
| | Cletodim | Media | 63,18 b | 4,65 a | 4,56 a | 9,27 a | 37,42 b | 7,28 a | 16,54 a |
| | | E.E. | 1,64 | 0,41 | 0,53 | 0,94 | 0,74 | 1,08 | 0,92 |
| | Haloxifop | Media | 80,86 a | 3,72 a | 3,33 ab | 10,11 a | 52,88 a | 10,81 a | 20,93 a |
| | | E.E. | 1,82 | 0,72 | 0,35 | 1,00 | 3,54 | 2,32 | 3,21 |

Referencias: Espesor expresado en μm . E.E. error estándar. Por especie y por parámetro estudiado letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey $\alpha=0,05$; * indica diferencias significativas entre las dos especies para el tratamiento testigo, según una prueba de t ($P<0,05$)

En estado reproductivo y sin tratamientos herbicidas, *Eleusine tristachya* comparado con *Eleusine tristachya* mostró un mayor espesor en la lámina foliar (69 μm vs 54 μm) y en la Vaina de Kranz, representando este último el 68 % del nomófilo en *E. tristachya* y el 61 % en *E. indica*.

La epidermis abaxial se constituyó en el único parámetro superior en *E. indica*, siendo el 6,9 % del espesor de la lámina, mientras que en *E. tristachya* fue 4,2 %.

En cuanto a las variaciones anatómicas post aplicación de herbicidas solo se encontraron cambios en los espesores de las partes constituyentes del nomófilo (Foto 3 y Tabla 2b). En *E. indica* en estado reproductivo la aplicación de glifosato y haloxifop incrementó el espesor de la vaina de Kranz y la lámina foliar ya que como se comentó anteriormente la vaina de Kranz ocupa gran parte de la lámina. En cambio, la aplicación de cletodim no mostró diferencias con el testigo. Por otra parte, glifosato fue el único herbicida que redujo la epidermis adaxial. Los espesores de la epidermis abaxial y clorénquima ad, ab, y total no se vieron afectados por la aplicación de estos herbicidas.

En *E. tristachya* en estado reproductivo, el espesor de la vaina de Kranz y la lámina foliar con glifosato y cletodim se redujo. La epidermis adaxial y el clorénquima AD se incrementaron con glifosato y cletodim en el primer caso, y con cletodim y haloxifop en el segundo. Además, la epidermis abaxial y el clorénquima AB no mostró diferencias con el testigo.

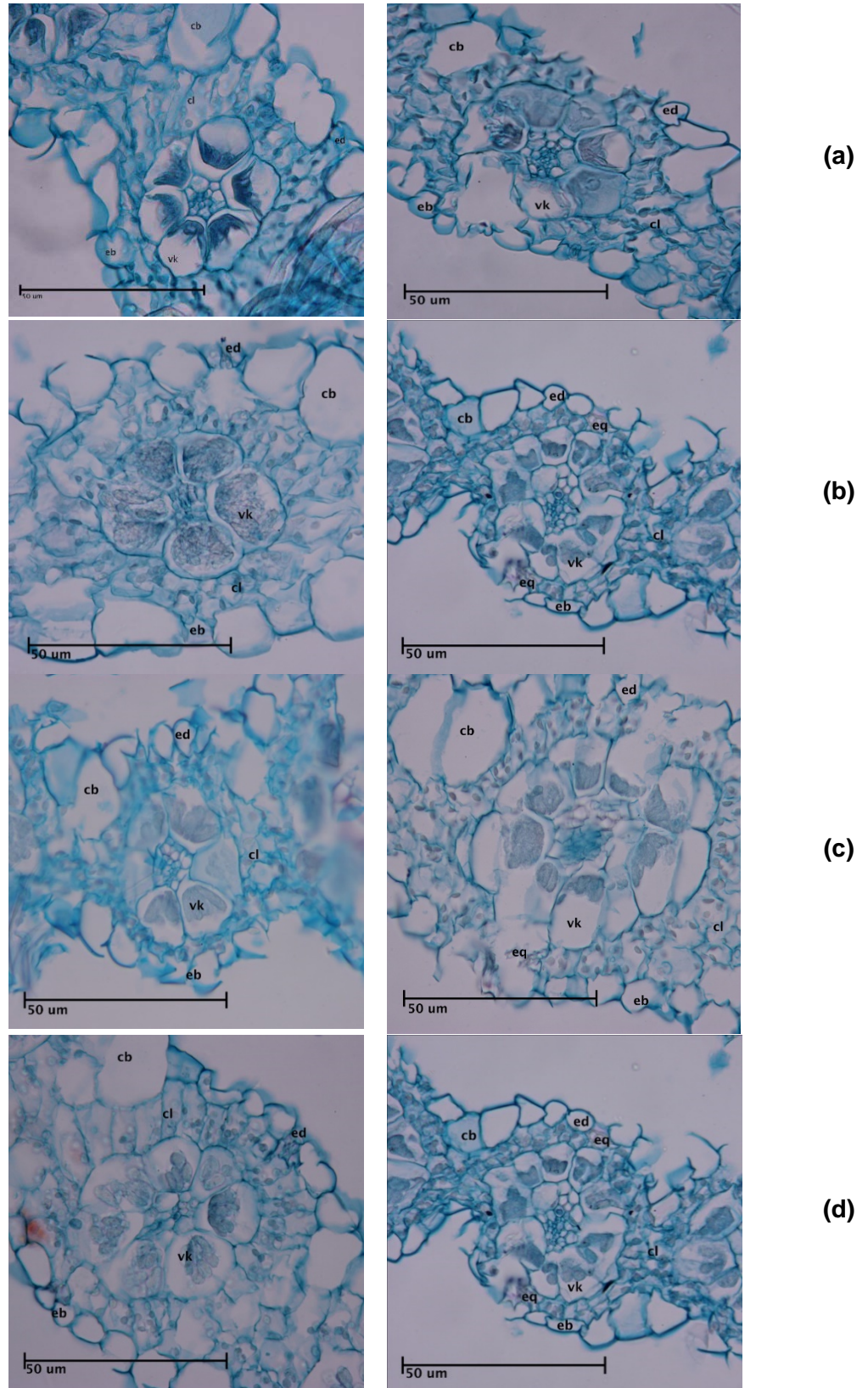


Foto 2. Cortes anatómicos de hojas de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) en estado vegetativo a las 0 h (testigo) **(a)** y 96 h post aplicación de glifosato **(b)**, cletodim **(c)** y haloxyfop **(d)**. Referencias: cb: célula buliforme; cl: clorénquima; eb: epidermis abaxial; ed: epidermis adaxial; cl: clorénquima; eq: esclerénquima; vk: vaina de Kranz.

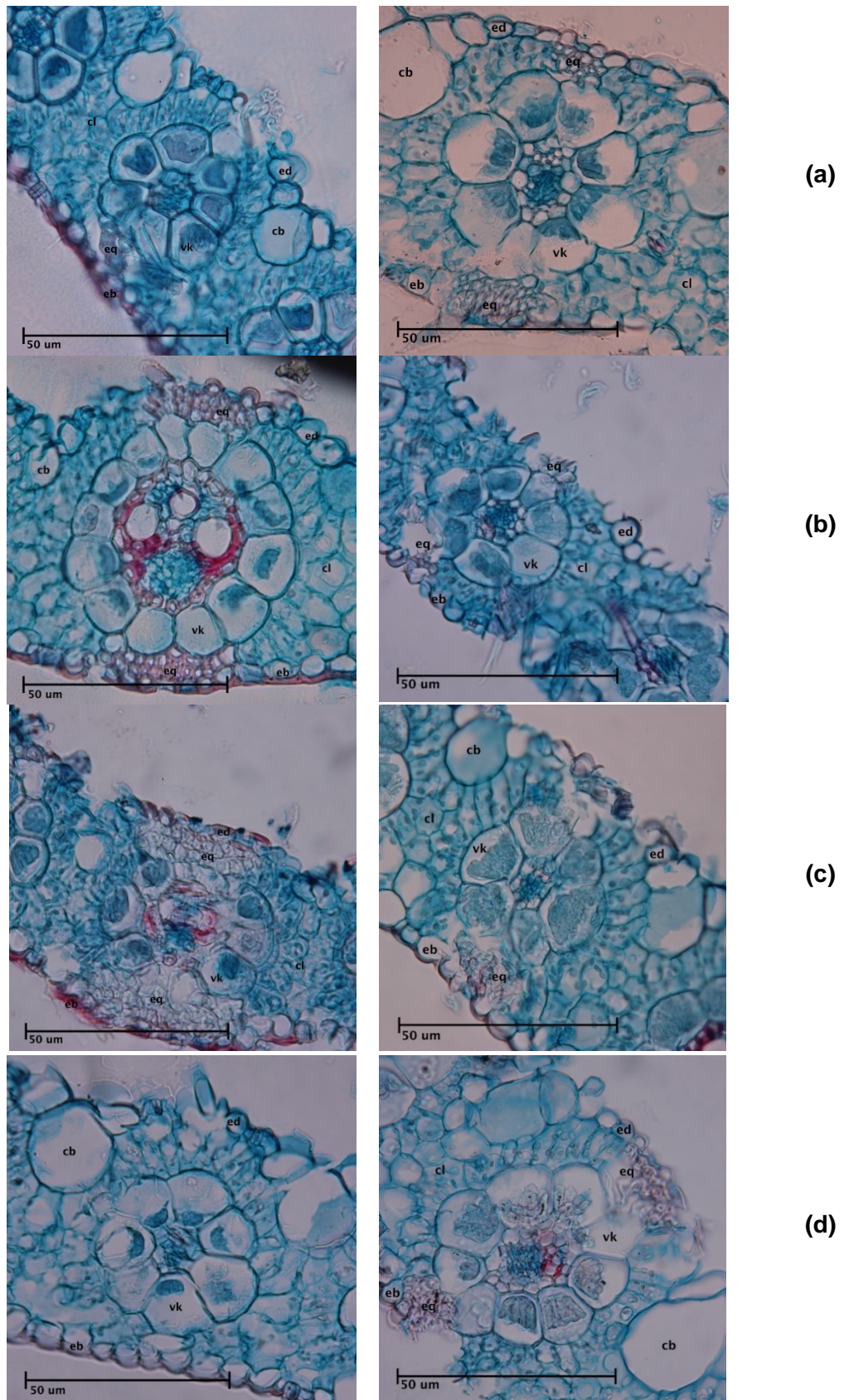


Foto 3. Cortes anatómicos de hojas de *Eleusine indica* (izquierda) y *Eleusine tristachya* (derecha) en estado reproductivo a las 0 h (testigo) **(a)** y 96 h post aplicación de glifosato **(b)**, cletodim **(c)** y haloxfop **(d)**. Referencias: cb: célula buliforme; cl: clorénquima; eb: epidermis abaxial; ed: epidermis adaxial; cl: clorénquima; eq: esclerénquima; vk: vaina de Kranz.

Discusión

El modo de acción del herbicida es la secuencia completa de eventos que ocurre desde el momento que contacta la planta hasta que expresa su efecto final.

Los herbicidas solubles en aceite penetran fácilmente la cutícula a través de sus componentes lipofílicos bajo un amplio rango de condiciones climáticas y vegetales, mientras que los compuestos solubles en agua tienden a penetrar más lentamente, por lo que requieren de tensoactivos y de una cutícula hidratada para su penetración (Devine, 1988). Bukovac et al., (1990) indican que la estructura de la cutícula es muy heterogénea, y por lo tanto puede existir variabilidad dentro y entre especies, lo que concuerda con la variabilidad hallada en las especies bajo estudio, donde *Eleusine indica* Zavalla y *Eleusine tristachya* Aranguren poseen mayor cantidad de cera en sus nomófilos que *E. tristachya* Crespo y Zavalla. El contenido de ceras epicuticulares de *E. indica* fue similar a los hallados en otros trabajos para la misma especie (Nghah et al., 2011; Cardoso Damato et al., 2017), y otras gramíneas como *Echinochloa crus-galli* (Sanyal et al., 2006). Además, en una investigación realizado en Malasia, *Eleusine indica* fue distinguida como la especie con más cantidad de ceras en un grupo con otras poaceas (Nghah et al., 2011).

No se pudieron realizar comparaciones con otros resultados de *E. tristachya* ya que no se dispone de información en la bibliografía internacional. En cuanto a cantidad de ceras, tanto *E. indica* como *E. tristachya* se encuentran en el rango de la mayoría de las especies, el cual varía entre 10 y 200 $\mu\text{g cm}^2$ (Mcwhorter y Ouzts, 1994), aunque se han reportado valores de más de 300 $\mu\text{g cm}^2$ (Baker, 1982).

Existe abundante bibliografía que demuestra una menor penetración de herbicidas por efecto de las ceras. Riederer y Schonherr (1985) encontraron que el rango de permeabilidad del 2,4-D en malezas por efecto de la cutícula foliar difirió en más de 200 veces. Asimismo, en biotipos de *Lolium multiflorum* la menor penetración de herbicidas fue explicada por diferencias en la cantidad de ceras foliares (De prado et al., 2005). Por otro lado, estudios sobre *Parietaria debilis* indicaron que las ceras no afectaron la cantidad de glifosato absorbido, pero sí el tiempo necesario para su penetración (Dellaferrera, 2013).

Otros autores han demostrado que la edad de la hoja es un factor muy importante debido a que se ha observado que a medida que aumenta, existe un incremento en la deposición de los distintos componentes químicos de la cutícula y ello provoca una mayor inhibición de la absorción (Hull et al., 1975; Chamel, 1986); lo que concuerda con un estudio en plantas adultas de *Isocoma spp*, donde la cantidad de ceras foliares se incrementó de 2 a 4 veces comparado con plantas jóvenes (Mayeux et al., 1981). En el mismo sentido, en otro estudio comparativo de cutículas llevado a cabo con folíolos de la especie latifoliada *Vicia*

faba de diferentes edades se observó que a medida que se incrementa la edad aumenta la retención de los herbicidas MCPA {[4-cloro-o-tolil] oxi] ácido acético} y MCPB {4- [(4-cloro-o-tolil] oxi] ácido butírico}, lo cual se cree que se debe a cambios cualitativos y cuantitativos de los componentes cuticulares (Chamel, 1986). Sin embargo, nuestros resultados indican que ante cambios en el estado de desarrollo de *Eleusine indica* y de los biotipos *Eleusine tristachya* provenientes de semillas, no hay cambios cuantitativos en la deposición de ceras foliares, lo cual también se observó en otras especies latifoliadas, donde las ceras por unidad de área fueron similares independientemente de la edad de las hojas, y se encontraron entre 22 y 37 $\mu\text{g cm}^2$ (Chachalis et al., 2001). En sentido opuesto, otros autores han verificado que la cantidad de ceras foliares está inversamente relacionado a la edad de la planta, y que por lo tanto, es mayor cuando las plantas inician su crecimiento (Freeman et al., 1979; Baker y Procopiou, 1980; McWhorther et al., 1990). Los resultados obtenidos en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* no explican el menor control ejercido por los herbicidas ante el avance en el estado de crecimiento de las malezas (capítulo 2), por lo que se sugiere que respondería a cambios cualitativos en los componentes cuticulares, como ha sido observado también en malezas latifoliadas (Chachalis et al., 2001).

Existe abundante bibliografía sobre cómo los diversos factores ambientales influyen sobre la permeabilidad de la cutícula, entre ellos temperatura, humedad, intensidad de luz (Baker, 1974; Koch et al., 2004), fotoperíodo y pH, (aunque el primero es el factor físico predominante (Hull et al., 1975). El control de las malezas en zonas áridas generalmente es más difícil que en las regiones húmedas, y ello se puede atribuir a una menor área foliar y a un incremento en la capa cuticular bajo condiciones de déficit hídrico (Dall'Armellina y Zimdahl, 1989). Westwood et al. (1997) informaron que las poblaciones de *Convolvulus arvensis* L. tolerantes al glifosato poseen cutícula mas gruesas y por lo tanto la absorción del herbicida es menor que en las plantas sensibles bajo condiciones de baja humedad relativa. Contrariamente, una disminución en el espesor de la capa cuticular y en el depósito de ceras podrían ser una ventaja para la penetración del herbicida y, por lo tanto, incrementar la absorción del mismo hacia los tejidos internos (Santier y Chamel, 1992). Como en los ensayos realizados las plantas de malezas crecieron bajo condiciones controladas se considera que los resultados no han sido influenciados por cambios en los factores ambientales.

Los herbicidas pueden ser absorbidos a través de los estomas (Wanamarta y Penner, 1989), y una menor cantidad de estomas en la superficie adaxial disminuiría la infiltración por esta vía. La razón por la que puede producirse una penetración diferencial en los estomas comparado con el resto de la cutícula es que las ceras son algo más delgadas y

permeables alrededor de las células oclusivas (Hess y Falk, 1990). Siendo así, los estomas pueden cobrar importancia en la absorción foliar, aunque según Eichert y Burkhardt (2001) solo el 10 % de los estomas contribuyen a la absorción foliar. Las especies analizadas muestran una alta densidad estomática en comparación con otras especies de malezas (Tabla 3.4), probablemente debido a que las plantas utilizadas para las mediciones crecieron en ambientes protegidos y esto puede tener como consecuencia que desarrolle mayor número de estomas que un individuo expuesto a condiciones de campo.

Tabla 3.4: Densidad de estomas y tricomas en la superficie adaxial de hojas de malezas (Ferreira et al., 2002a; b, 2003; Procópio et al., 2003a; b; Huangfu et al., 2009).

| <i>Especie</i> | Tricomas/mm ² | Estomas/mm ² |
|-------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>Leonurus sibiricus</i> | 62,4 | 0 |
| <i>Leonotis nepetaefolia</i> | 110,4 | 60 |
| <i>Plantago tomentosa</i> | 3,4 | 100 |
| <i>Sida glaziovii</i> | 33,8 | 86 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 18,8 | 45 |
| <i>Emilia sonchifolia</i> | 1,8 | 66 |
| <i>Ageratum conyzoides</i> | 3,6 | 60 |
| <i>Amaranthus deflexus</i> | 1,0 | 105 |
| <i>Amaranthus spinosus</i> | 0,0 | 156 |
| <i>Alternanthera tenella</i> | 5,2 | 106 |
| <i>Euphorbia heterophylla</i> | 1,0 | 138 |
| <i>Nicandra physaloides</i> | 5,2 | 98 |
| <i>Solanum viarum</i> | 4,8 | 16 |
| <i>Solanum americanum</i> | 1,6 | 27 |
| <i>Raphanus raphanistrum</i> | 1,0 | 236 |
| <i>Sonchus asper</i> | 0 | 118 |
| <i>Brassica Juncea</i> | - | 185 – 470 |

De las malezas estudiadas, el biotipo Aranguren de *E. tristachya* mostró los valores más altos en densidad estomática en estado reproductivo, y esto puede correlacionarse con la mayor sensibilidad exhibida a glifosato en estado reproductivo de la maleza ya que particularmente este biotipo mostró la mayor sensibilidad con respecto al resto de biotipos

de *E. tristachya* y a *E. indica* (Capítulo 2). Así pues, la densidad estomática tendría una correlación con la absorción de glifosato sólo en estado reproductivo, lo que coincide con algunos autores que sostienen que especies con alta densidad estomática en la cara adaxial de sus hojas, deberían poder absorber herbicidas más fácilmente (Chachalis et al., 2001). En otras especies no se encontraron relaciones claras entre el número de estomas y la menor sensibilidad al glifosato, como es el caso de distintas poblaciones de *Brassica juncea* (L.) Czern. (Huangfu et al., 2009) y *Lolium multiflorum* Lam. donde existieron diferencias significativas en el índice estomático entre biotipos siendo menor este valor en la planta sensible (Galvani et al., 2012). Por otro lado, en esta tesis queda demostrado que con el avance en el estado de crecimiento se incrementó el número de estomas, lo cual difiere de los valores hallados por Fadin y Monquero (2019) para la especie *Spermacoce verticillata*, en la cual el número de estomas se redujo y el número de tricomas se incrementó en estados avanzados de desarrollo de esa maleza.

Los tricomas presentes en la superficie foliar pueden interceptar las gotas de una aspersión impidiendo que éstas alcancen la epidermis propiamente dicha, además, cuando los tricomas son simples y se encuentran en baja densidad las gotas del asperjado pueden adherirse a éstos (Ricotta y Masiunas, 1992). De esta manera representan una barrera física para la normal penetración y/o absorción del herbicida aplicado, como fue determinado por Feng et al. (2004) en *Conyza canadiensis* y por Vila Aiub et al., (2012) en biotipos resistentes de *Sorghum halepense*. La eficiencia de absorción de herbicidas por los tricomas y la posterior translocación hacia las células epidérmicas es desconocida (Hess y Falk, 1990). De acuerdo con Hull (1970) puede ocurrir una mínima absorción vía tricomas, sin embargo en una revisión hecha por Hess y Falk (1990), se observa que siempre existe correlación negativa entre la adherencia de herbicidas a los tricomas y la eficacia de estos productos. Las hojas con tricomas son consideradas con mayor repelencia al agua que las sin tricomas, especialmente cuando la densidad de tricomas es mayor a 1 por 25 mm² (Wang y Liu, 2007). La repelencia al agua por parte de los tricomas está asociada con su densidad y el hecho de que los tricomas evitan que las gotas alcancen la superficie foliar, causando baja retención (Xu et al., 2010).

Las observaciones realizadas en este trabajo confirman la ausencia de tricomas en la superficie de las hojas de *E. indica* y *E. tristachya*, lo cual coincide con otra determinación en *E. indica* (Ngha et al., 2011) y con otras especies como *Sonchus asper* y *Brassica Juncea* (Tabla 3.4)

Con respecto al estudio anatómico de hojas luego de la aplicación de herbicidas, los resultados en *Eleusine indica* y *Eleusine tristachya* en estado vegetativo y reproductivo fueron erráticos. Esto puede deberse a que el tiempo post aplicación de los herbicidas (96 horas) no fue suficiente para la manifestación de daño en las especies, como fue descrito por Dellaferrera (2013) en un estudio de daño anatómico por efecto de glifosato en malezas latifoliadas. Herbicidas sistémicos como glifosato, cletodim y haloxifop, por su mecanismo de acción requieren un mayor tiempo para ejercer su actividad biológica (Puricelli y Arregui, 2018). En otras especies a las que se le realizó una aplicación de glifosato, los síntomas externos se evidenciaron entre los 5 y 10 días post aplicación (Dellaferrera, 2007; Tuffi Santos et al., 2009; Panigo et al., 2012). Las respuestas anatómicas reportadas en la bibliografía, en general, corresponden a períodos de muestreos coincidentes con la aparición de los síntomas o aún posterior a ellos. En otra investigación sobre *E. indica*, la edad de la planta fue un factor clave en el tiempo necesario para la aparición de daños en la ultraestructura foliar, como fue demostrado por Malpassi (2005) con aplicaciones de quizalofop p tefuril en plantas con distinto número de macollos. En esa investigación se observó que recién a partir del 5º día las áreas ocupadas por tejidos vasculares y áreas dañadas por el herbicida comienzan a ser significativas en las plántulas con tres macollos, del 3º día en las con 1-2 macollos, y tan pronto como al día siguiente en las que no poseen macollos. Las alteraciones reportadas comprendieron desde vainas con cloroplastos desorganizados o ausentes hasta hojas que presentaron todo su mesofilo (incluida la vaina) sin cloroplastos.

Conclusiones

Existen variaciones en densidad estomática y cantidad de ceras entre *E. indica* y los biotipos de *E. tristachya*; y entre estados de crecimiento, sólo en densidad estomática. La densidad estomática de los nomofilos aumentó en todos los casos al pasar de estado vegetativo a reproductivo.

Con excepción del biotipo de *E. tristachya* Aranguren en estado reproductivo en el cual se pudo correlacionar el mayor número de estomas con la mayor sensibilidad a glifosato, en el resto de los biotipos las características morfológicas no explicaron la sensibilidad mostrada en el capítulo dos.

Todos los herbicidas produjeron cambios en la anatomía foliar de las malezas a las 96 horas después de su aplicación, principalmente en el espesor de los tejidos de la hoja.

CAPÍTULO VI

Reseña de tesis, análisis de las hipótesis y posibilidades de investigación futura

CAPÍTULO VI

Reseña de tesis, análisis de las hipótesis y posibilidades de investigación futura

Reseña de tesis

La integración del conocimiento de la biología, ecología y control de las malezas puede mejorar su manejo. En base a los antecedentes del Capítulo 1 se formularon hipótesis que contribuyen a un mejor conocimiento de atributos de la biología, dinámica poblacional, competencia, control químico y características foliares que pueden afectar la absorción de herbicidas, en relación a dos especies de malezas del mismo género que a menudo conviven en las comunidades agrícolas de la zona sojera núcleo (*E. indica* y *E. tristachya*). Esta tesis aborda aspectos no estudiados en profundidad en *Eleusine indica* y especialmente en *E. tristachya*, ya que esta tesis se constituye en el primer estudio a nivel mundial esta maleza.

Análisis de las hipótesis

Capítulo 2

En este capítulo se ha estudiado el control químico a nivel de distintos estados de crecimiento de las dos especies de *Eleusine*. Se estudia el control químico postemergente para estas malezas. El manejo de plantas bien desarrolladas, es especialmente importante para *E. tristachya* que es una especie capaz de mantener la población en años siguientes aún siendo controlada su parte aérea, según los resultados de esta tesis. Así, las hipótesis que primero se abordan en esta tesis se relacionan con el manejo de los herbicidas postemergentes más utilizados en control de gramíneas, la dosis y el tamaño de la planta de ambas malezas. Los hallazgos del capítulo permiten optimizar el control químico en relación al efecto de los herbicidas postemergentes en el momento más propicio desde el punto de vista del desarrollo de las malezas apoyan y demuestran que las aplicaciones deben realizarse con plantas en estados tempranos de crecimiento para evitar que las fallas de control de las plantas de ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*) en el corto plazo y en el rebrote y producción de semillas de *E. tristachya* al año siguiente.

Hipótesis

- a) Se acepta la hipótesis de que la sensibilidad a nivel de DL₅₀ con glifosato del biotipo de *E. indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya* solo en el estado vegetativo ya

que en el estado de plántula no existieron diferencias entre las especies y biotipos estudiados, y en el estado reproductivo algunos biotipos de *E. tristachya* requirieron mayor DL_{50} que *E. indica*.

- b) Se acepta la hipótesis de que la sensibilidad medida a nivel de DL_{90} (que expresa el control esperado a campo), con glifosato del biotipo de *E. indica* es mayor que la de los biotipos de *E. tristachya* en el estado de plántula y vegetativo pero no en reproductivo ya que en este estado, *E. tristachya* biotipo Crespo (C), DL_{90} no difiere de la de *E. indica*.
- c) Del análisis de las hipótesis 1) y 2) se deduce que no hay correlación entre la susceptibilidad medida a nivel a nivel de DL_{50} y DL_{90} .
- d) Se rechaza la hipótesis de que existe al estado de plántula al menos un biotipo de *E. tristachya* cuya DL_{50} supera en 4 veces o más la DL_{50} del resto indicando así la existencia de biotipos susceptibles y resistentes dentro de la especie, ya que no se hallaron grandes diferencias entre biotipos y el control fue del 100 % en todos los casos.
- e) Se acepta la hipótesis de que DL_{90} con glifosato de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* en todos los estados de crecimiento y biotipos.
- f) No se acepta la hipótesis, considerando la DL_{90} en relación a la dosis de uso, se requiere más dosis de glifosato para controlar *E. indica* y *E. tristachya* que de graminicidas en ningún estadio, siendo que en todos los estados cletodim es el herbicida que requiere mayor dosis.
- g) No se acepta la hipótesis de que el rebrote de plantas de *E. tristachya* aplicadas a la dosis de uso en estadio reproductivo se produce con glifosato pero no con graminicidas ya que el rebrote se produce con todos los herbicidas.

Capítulo 3

La investigación de malezas en soja se ha ampliado a partir del énfasis en la tecnología de herbicidas, pero es también necesario incluir estudios de la competencia entre la maleza y el cultivo. Las hipótesis de este capítulo tienen implicaciones de la competencia entre las malezas *E. indica* y *E. tristachya* entre sí y con el cultivo de soja, el crecimiento de la biomasa y la producción de semillas de ambas especies, por lo que tienen implicancia en el manejo eficaz de las malezas estudiadas.

En esta línea se analizan las siguientes hipótesis planteadas.

- a) La hipótesis de que el rendimiento relativo (RY) evaluado a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*) no se acepta ya que las malezas tuvieron mayor o igual RY que la soja.
- b) La hipótesis de que RY es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya* se acepta. La mayor altura y biomasa y tasa de crecimiento relativo de *E. indica* con respecto a *E. tristachya* explicarían este resultado.
- c) La hipótesis de que la complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja - *E. tristachya* que para soja- *E. indica*, es aceptada.
- d) La hipótesis de que la complementariedad de recursos evaluada a través de la biomasa vegetal es mayor para la combinación soja-malezas que para las malezas entre sí, es aceptada.
- e) La hipótesis de que la habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*) no se acepta ya que es igual con *E. tristachya* y menor con *E. indica*.
- f) La hipótesis de que la habilidad competitiva evaluada a través de biomasa vegetal es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya* es aceptada.
- g) La hipótesis de que RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para la soja que para ambas malezas (*E. indica* y *E. tristachya*) no es aceptada ya que RY de soja es menor en ambos casos.
- h) La hipótesis de que RY evaluado a través de la producción de semillas es mayor para *E. indica* en relación con *E. tristachya* es aceptada.
- i) La tasa de crecimiento relativa de *E. indica* es mayor que la de *E. tristachya* durante todo el ciclo no es aceptada ya que en la mayor parte del ciclo la tasa no difiere.

Capítulo 4

En este capítulo se estudió la dinámica poblacional de dos importantes malezas de verano problemáticas en barbechos y en el cultivo de soja de la región pampeana núcleo. Las hipótesis se basan en los componentes y en los cambios de los parámetros de la dinámica poblacional de *E. indica* y *E. tristachya* en presencia del cultivo de soja con y sin la utilización de herbicidas postemergentes. El análisis de estas hipótesis permite estudiar formas de manejo que conduzcan a la reducción del banco, lo que permite derivar reglas específicas de decisión para el control de malezas en la región pampeana.

- a) La hipótesis de que la emergencia de ambas especies de *Eleusine* difieren en el inicio y en la cantidad de individuos es aceptada parcialmente que la emergencia de *E. tristachya* en ambos años comienza posteriormente a la de *E. indica* y por otro lado el número de plantas emergidas es superior en *E. indica* en el barbecho en 2016/2017 y 2017/2018 pero en el cultivo de soja esto solo ocurre en 2016/2017.
- b) Se acepta la hipótesis de que la mortalidad natural en el cultivo de soja de las plántulas es reducida en ambas especies en el primer año aumentando en el segundo en *E. indica* y en *E. tristachya*. Como se ha descrito en este capítulo las tasas de mortalidad natural debido a enfermedades, herbivoría y sequía son generalmente bajas para las malezas establecidas en los cultivos anuales.
- c) No se acepta la hipótesis de que la mortalidad artificial de plantas producida por glifosato es menor que la producida por el graminicida ya que todas las plantas pulverizadas murieron con ambos herbicidas.
- d) Se acepta la hipótesis de que el reclutamiento de ambas especies de *Eleusine* es estable entre años, ya que el mismo se encuentra en un rango de 0,4 y 6% y se encuentra en el rango de reclutamiento de otras malezas gramíneas.
- e) No se pudo poner a prueba la hipótesis de que el control del graminicida sobre la producción de semillas en todas las cohortes es superior al de glifosato ya que todas las plantas tratadas murieron por efecto de los herbicidas.
- f) No se acepta la hipótesis de que en el cultivo de soja, *Eleusine indica* posee mayor producción de semillas.m⁻² que *E. tristachya* ya que fue similar entre especies.
- g) Se acepta la hipótesis de que el banco de semillas sin control químico en postemergencia se incrementa más en *E. tristachya* que en *E. indica* ya que, si bien la producción de semillas en el cultivo de soja fue similar en ambas especies, *E. tristachya* mostró mayor longevidad. En el barbecho 2018, las diferencias se incrementan debido al aporte de semillas de plantas de rebrote de *E. tristachya*.
- h) Se acepta parcialmente la hipótesis de que la longevidad de las semillas en superficie vs 5 cm de profundidad a los 24 meses es mayor, si bien el porcentaje de longevidad difiere entre especies. En *E. indica* hay mayor longevidad en profundidad mientras que en *E. tristachya* no hay diferencias. Además, los porcentajes de longevidad fueron mayores en *E. tristachya*.

Capítulo 5:

Finalmente, en el Capítulo 5, las hipótesis apuntan a conocer qué características de la morfología-anatomía foliar pueden correlacionarse con la sensibilidad a los herbicidas estudiados en el capítulo 2. Con este fin se responde a las siguientes hipótesis:

- a) Se acepta parcialmente la hipótesis de que la densidad estomática, la densidad de tricomas y la cantidad de ceras en nomófilos de tres biotipos de *E. tristachya* y un biotipo de *E. indica* son distintas, afectando de manera diferencial la aborción y en consecuencia la eficacia de glifosato y graminicidas, ya que para densidad estomática y cantidad de ceras se hallaron diferencias entre especies y biotipos pero no para densidad de tricomas ya que no pudieron contabilizarse por ser muy escasos en todos los casos estudiados. A su vez las diferencias encontradas en la características morfológicas no se correlacionaron con la eficacia de los herbicidas, excepto para el biotipo Aranguren de *E. tristachya* en estado reproductivo.
- b) La hipótesis de que la cutícula de individuos más desarrollados presenta una mayor acumulación de ceras que actúan como un compartimento de la acumulación de herbicidas y, por lo tanto, impiden mayormente la entrada de graminicidas y en menor medida de glifosato se rechaza debido a que para cada especie y biotipo evaluado no se detectaron diferencias en la cantidad de ceras entre estados de crecimiento de las malezas; posiblemente por las condiciones de crecimiento de las malezas en invernadero.
- c) La hipótesis de que el daño anatómico foliar en plantas *E. tristachya* y *E. indica* difiere con los herbicidas glifosato, cletodim y haloxifop; y con el estadio de desarrollo de la maleza se acepta parcialmente ya que al momento de la evaluación, 96 horas post aplicación de los herbicidas y para cada especie se observaron cambios variables en los espesores de los tejidos entre herbicidas, pero no se hallaron anomalías en la anatomía foliar entre herbicidas como así tampoco entre estados de crecimiento.

Líneas futuras de investigación

La presente tesis ha generado un aporte valioso al conocimiento de *E. indica* y *E. tristachya* en Argentina y ha permitido profundizar en variados aspectos relacionados con el estudio de las malezas como la competencia, la dinámica poblacional y el control químico intentando reflejar las condiciones de manejo y técnicas más difundidas en la región de estudio. Sin

embargo, sería relevante profundizar algunos aspectos que podrían resultar de interés y que contribuirían a complementar los conocimientos generados. Por un lado, es necesario aún conocer los patrones de emergencia de estas malezas y en particular de *E. tristachya* de la que no se disponía de ninguna información antes de la realización de esta tesis. Es necesario determinar la temperatura base y otros requerimientos ambientales asociados a los procesos biológicos subyacentes (dormición y germinación) de la emergencia. Esta información posibilitará la construcción de modelos que permitan predecir los flujos de emergencia a campo permitiendo generar medidas de manejo apropiadas.

En la misma línea de estudios ecológicos, sería importante evaluar el efecto supresor de cultivos de cobertura sobre los patrones de emergencia de ambas malezas.

Se hace necesario otros estudios de competencia como el de las plantas de *E. tristachya* proveniente de rebrotes ya que quedó demostrado que en el cultivo de soja, ante ausencia o fallas de control en los primeros 30 días después de la siembra del cultivo o ante controles tardíos realizados sobre plantas muy desarrolladas, la maleza se establece en forma perenne. Estas plantas poseen altas tasas de sobrevivencia y de reiniciar su ciclo de crecimiento desde los rizomas situados en la base de planta en la primavera del año siguiente, siendo capaces de incrementar considerablemente el banco de semillas.

Para el manejo de plantas de rebrote de *E. tristachya* es fundamental caracterizar la sensibilidad a herbicidas postemergentes, para lo cual se requieren estudios de la respuesta a distintas dosis lo que permitirá generar recomendaciones agronómicas de las que no se dispone en la actualidad.

Además, resulta de interés conocer de las plantas de rebrote, respecto a las plantas provenientes de semilla, su anatomía y componentes foliares que puedan reducir la absorción de los herbicidas como la cantidad de ceras epicuticulares. Es necesario comprender si el daño anatómico foliar producido por los herbicidas es similar al observado en esta tesis por primera vez en cuanto a las plantas de semilla. Al mismo tiempo, el análisis de la movilidad de los herbicidas sistémicos postemergentes con técnica de carbono radioactivo en plantas de rebrote permitiría aportar información que posibilite comprender el grado de eficacia del control de rizomas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aarssen, L.W. 1992. Causes and consequences of variation in competitive ability in plant communities. *Journal of Vegetation Science*, 3: 165–174.
- Abramoff, M.D., Magalhães, P.J., Ram, S.J. 2004. Image processing with Image J. *Biophotonics international*, 11: 36–42.
- Acciaresi, H., Lavezzari, D., Principiano, M. 2018. Evolución en la distribución de malezas resistentes y tolerantes a herbicidas en el NO de la provincia de Buenos Aires. Informe de distribución de malezas resistentes y tolerantes a herbicidas. INTA Pergamino.
- Agostinetto, D., Rigoli, R.P., Galon, L., de Moraes, P.V.D, Fontana, L.C. 2009. Competitividade relativa da soja em convivênciacompapuã (Brachiariaplantaginea). *Scientia Agraria*, 10: 185-190.
- Aldrich, R.J., Kremer, R.J. 1997. Principles in weed management. 2nd eds. Iowa State University Press Ames, IA.
- Alvarez, R., Steinbach, H.S. 2009. A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in the Argentine Pampas. *Soil and Tillage Research*, 104: 1-15.
- Ambrosio, L.A., Iglesias, L., Marin, C., Monte, J.P. 2004. Evaluation of sampling methods and assessment of the sample size to estimate the weed seedbank in soil, taking into account spatial variability. *Weed Research*, 44: 224-236.
- An, J., Shen, X., Ma, Q., Yang, C., Liu, S., Chen, Y. 2014. Transcriptome profiling to discover putative genes associated with paraquat resistance in goosegrass (*Eleusine indica* L.). *PLoS ONE*, 9(6):e99940.
- Andreansen, C., Streibig, J.C. 2011. Evaluation of changes in weed flora in arable fields of Nordic countries - based on Danish long-term surveys. *Weed Research*, 51: 214-226.
- Aslan, C., Beckman, N.G., Rogers, H.S., Bronstein, J., Zurell, D., Hartig, F., Shea, K., Pejchar, L., Neubert, M., Poulsen, J., HilleRisLambers, J., Miriti, M., Loiselle, B., Effiom, E., Zambrano, J., Schupp, G., Pufal, G., Johnson, J., Bullock, J.M., Brodie, J., Bruna, E., Cantrell, S., Decker, R., Fricke, E., Gurski, K., Hastings, A., Kogan, O., Razafindratsima, O., Sandor, M., Schreiber, S., Snell, R., Strickland, C., Zhou, Y. 2019. Employing plant functional groups to advance seed dispersal ecology and conservation, *AoB PLANTS*, 11: 2, plz006, <https://doi.org/10.1093/aobpla/plz006>.
- Baker, E. 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. En: *The Plant Cuticle*, pp. 135-165, Cutler, D.F., Alvin, K.L., Price, C.E. eds. Academic Press, Londres.

- Baker, H. 1974. The evolution of Weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5: 1-24.
- Ball, D.A., Miller, S.D. 1989. A comparison of techniques for estimation of arable soil seedbanks and their relationship to weed flora. *Weed Research*, 29: 365-373.
- Ballaré, C., Casal, J. 2000. Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research*, 67: 149-160.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., Wilhelmi, H. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 126: 237-260.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. 1989. Role of temperature in regulating timing of germination in soil seed reserves of *Thlaspi arvense* L.. *Weed Research*, 29: 317-326.
- Beattie, G., Marcell, L. 2002. Comparative dynamics of adherent and non adherent bacterial populations on maize leaves. *Phytopathology*, 89 :353-359.
- Bedmar, F., Eyherabide, J.J., Satorre, E. 2000. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. Capítulo 10: Bases para el manejo de malezas. Editores Andrade; Sadras. Colección Científica INTA. Balcarce.
- Bello, I.A., Hatterman-Valentini, H., Owen, M.D.K., 1998. Effects of stratification, temperature, and oxygen on woolly cupgrass (*Eriochloa villosa*) seed dormancy. *Weed Science*, 46: 526-529.
- Benbrook, C.M. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28: 1-15.
- Benincasa, M.M.P. 2003. Análise de crescimento de plantas; noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 41 p.
- Benvenuti, S. 2003. Soil texture involvement in germination and emergence of buried weed seeds. *Agronomy Journal*, 95: 191-198.
- Benvenuti, S. 2007. Natural weed seed burial: effect of soil texture, rain and seed characteristics. *Seed Science Research*, 17: 211-219.
- Benvenuti, S., MacChia, M., Miele, S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49: 528-535.
- Berger, U., Piou, C., Schiffrs, K., Grimm, V. 2008. Competition among plants: Concepts, individual-based modelling approaches, and a proposal for a future research strategy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 9: 121-135.
- Bianchi, M.A., Fleck, N.G., Dillenburg, L.R. 2006 b. Partição da competição por recursos do solo e radiação solar entre cultivares de soja e genótipos concorrentes. *Planta Daninha*, 24: 629-39.

- Bianchi, M.A., Fleck, N.G., Federizzi, L.C. 2006 a. Características de plantas de soja que conferem habilidade competitiva com plantas daninhas. *Bragantia*, Campinas, 65: 223-632.
- Bianchi, M.A., Fleck, N.G., Lamego, F.P. 2006 a. Proporção entre plantas de soja e plantas competidoras e as relações de interferênciamútua. *Ciência Rural*, Santa Maria, 36: 1380-1387.
- Biniak, B.M., Aldrich, R.J. 1986. Reducing velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and giant foxtail (*Setaria faber*) seed production with simulated-roller herbicide applications. *Weed Science*, 34: 256–259.
- Bittencourt von Hertwig, H., Bonome, L., Pagnoncelli, F., Lana, M., Trezzi, M. 2016. Seed germination and emergence of *Eragrostis tenuifolia* (A. Rich.) Hochst. ex Steud. in response to environmental factors. *Journal of Plant Protection Research*, 56. 32-38.
- Blackshaw, R. 1994. Differential competitive ability of winter wheat cultivars against downy brome. *Agronomy Journal*, 86: 649-654.
- Blumenthal, D., Jordan, N.R., 2001. Weeds in field margins: A spatially explicit simulation analysis of Canada thistle population dynamics. *Weed Science*, 49: 509-519.
- Bondada, B.R., Oosterhuis, D.M. 2002. Ontogenic changes in epicuticular wax and chloroplast integrity of a cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf. *Photosynthetica*, 40: 431-436.
- Born, V.W.H. 1971. Green foxtail: seed dormancy, germination and growth. *Canadian Journal of Plant Science*, 51: 53-59.
- Boyd, N.S., Van Acker, R.C. 2003. The effects of depth and fluctuating soil moisture on the emergence of eight annual and six perennial plant species. *Weed Science*, 51: 725-730.
- Brighenti, A.M., Da Silva, J.F., Sedyama, T., Machado Silveira, J.S., Sedyama, C.S. 1997. Análise de crescimento da tiririca (*Cyperus rotundus* L.). *Revista Ceres*, 44: 94-110.
- Brown, W.V. (1958). Leaf anatomy in grass systematics. *Botanical Gazette*, 119: 170-178.
- Buchanan, G.A., Burns, E.R. 1971. Weed competition in cotton: II. Cocklebur and redroot pigweed. *Weed Science*, 19: 580-582.
- Buchanan, G.A., Crowley R.H., McLaughlin, R.D. 1977. Competition of prickly sida with cotton. *Weed Science*, 25: 106-110.
- Buhler D.D, Gunsolus, J.L. 1996. Effect of date of preplant tillage and planting on weed populations and mechanical weed control in soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 44: 373–379.
- Buhler, D.D. 1996. Development of alternative weed management strategies. *Journal of Productive Agriculture*, 9: 501-505.

- Buhler, D.D., Hartzler, R.G., Forcella, F. 1997. Implications of weed seedbank dynamics to weed management. *Weed Science*, 45: 329-336.
- Buhler, D.D., Hartzler, R.G. 2001. Emergence and persistence of seed of velvetleaf, common waterhemp, woolly cupgrass, and giant foxtail. *Weed Science*, 49: 230-235
- Buhler, D.D.; Owen, M.D.K. 1999. Emergence and survival of horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science*, 45: 98-101.
- Bukovac, M.J., P.D. Petracek, R.G. Fader and R.D. Morse. 1990. Sorption of organic compounds by plant cuticles. *Weed Science*, 38: 289-298.
- Bullock, J.M., Clear Hill, B., Dale, M.P., Silvertown, J. 1994. An experimental study of the effects of sheep grazing on vegetation change in a species-poor grassland and the role of seedling recruitment into gaps. *Journal of Applied Ecology*, 31: 493-507.
- Burghardt, M.; Schreiber, L., Riederer, M. 1998. Enhancement of the diffusion of active ingredients in barley leaf cuticular wax by monodisperse alcohol ethoxylates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1593-1602.
- Burgos, N.R., Tranel, P.J., Streibig, J.C. 2013. Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. *Weed Science*, 61: 4–20.
- Burkart, A. 1969. La Flora Ilustrada de Entre Ríos, Argentina. Tomo IV, Parte II. Monocotiledóneas, Gramíneas, Troncoso; Bacigalupo N.M., editores. Colección Científica INTA. Buenos Aires. p. 233-234.
- Burnside, O.C., Moomaw, R.S., Roeth, F.W., Wicks, G.A., Wilson, R.G. 1986. Weed seed demise in soil in weed-free corn (*Zea mays*) production across Nebraska. *Weed Science*, 34: 248–251.
- Burnside, O.C., Wilson, R.G, Weisberg, S., Hubbard, K.G. 1996. Seed longevity of 41 weed species buried 17 years in eastern and western Nebraska. *Weed Science*, 44: 74-86.
- Burton, J.D., Gronwald, J.W., Somers, D.A., Gengenbach, B.G., Wyse, D.L. 1989. Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 34: 76–85.
- Busi, R., Vila-Aiub, M.M., Beckie, H.J., Gaines, T.A., Goggin, D.E., Kaundun, S.S., Lacoste, M., Neve, P., Nissen. S.J., Norsworthy, J.K., Renton, M, Shaner, D.L., Tranel, P.J., Wright, T., Yu, Q., Powles, S.B. 2013. Herbicide-resistant weeds: from research and knowledge to future needs. *Evolutionary Application*, 6: 1218-21.
- CABI, 2019. *Eleusine tristachya* and *Elesine indica*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.
- CABI, 2019. *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.

- Cardoso Damato, T., Carrasco, L.D.M., Carmona-Ribeiro, A.M., Vagner Luiz, R., Godoy, R., Petri, D.F.S. 2017. The interactions between surfactants and the epicuticular wax on soybean or weed leaves: Maximal crop protection with minimal wax solubilization. *Crop Protection*, 91: 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.019>.
- Carta, H.; Baudrix, L. 2019. Malezas problema: Una historia circular. INTA Pergamino, Agencia de Extensión Rural 9 de Julio, Buenos Aires. Artículo de divulgación. https://inta.gob.ar/sites/default/files/malezas_problema_una_historia_circular.pdf
- Carvalho, S. J. P., Pereira Silva, R.F., López-Ovejero, R.F., Nicolai, M., Christoffoleti, P.J. 2005. Crescimento, desenvolvimento e produção de sementes da planta daninha capim-branco (*Chloris polydactyla*). *Planta Daninha*, 23: 603-609.
- Casper, B.B., Jackson, R.B. 1997. Plant Competition Underground. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28, 545-570. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.545>
- Cavers, P.B. 1983. Seed demography. *Canadian Journal of Botany*, 61: 3678-3590
- Cedergreen, N. 2008. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? *Environmental Pollution*, 156: 1099–1104.
- Cerdeira, A.L., Gazziero D.L., Duke, S.O., Matallo, M.B. 2010. Agricultural impacts of glyphosate-resistant soybean cultivation in South America. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 8: 59: 5799-807.
- Cerrudo, D., Page, E., Tollenaar, M., Stewart, G., Swanton, C. 2012. Mechanisms of yield loss in maize caused by weed competition. *Weed Science*, 60: 225-232.
- Cha, T.S., Najihah, M.G., Sahid, I.B., Chuah, T.S. 2014. Molecular basis for resistance to ACCase-inhibiting fluzifop in *Eleusine indica* from Malaysia. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 111:7-13.
- Chachalis, D., Reddy, K., Elmore, C. (2001). Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. *Weed Science*, 49: 156-163. doi:10.1614/0043-1745(2001)049[0156:COLSWC]2.0.CO;2
- Chamel, A. 1986. Foliar absorption of herbicides: study of the cuticular penetration using isolated cuticles. *Physiol. Vég.*, 24: 491-508.
- Chamel, A., Vitton, N., 1996. Sorption and diffusion of ¹⁴C-atrazine through isolated plant cuticles. *Chemosphere*, 33: 995-1003.
- Chancellor, R.J. 1976. Competition between wild oats and crops. In: *Wild oats in World Agriculture*, Jones, D.P. (Ed.). Agricultural Research Council, London, pp: 99-112.

- Chauhan, B.S., Gill, G., Preston, C. 2006. Influence of tillage systems on vertical distribution, seedling recruitment, and persistence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) seed bank. *Weed Science*, 54: 669-676.
- Chauhan, B.S., Johnson, D.E. 2008. Germination ecology of goosegrass (*Eleusine indica*): an important grass weed of rainfed rice. *Weed Science*, 56: 699-706.
- Chen, J., Huang, H., Wei, S., Huang, Z., Wang, X., Zhang, C. (2017) Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) by RNA sequencing technology. *The Plant Journal*, 89: 407–415.
- Chen, J., Huang, H., Wei, S., Zhang, C., Huang, Z. 2015. Characterization of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica*) populations in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 919-925.
- Chin, H.F. 1979. Weed seed - a potential source of danger. In: Kwee L.T., ed., *Proceedings of the Plant Protection Seminar*. Malaysian Plant Protection Society, pp. 115–119.
- Christoffolleti, P.J.; Victoria Filho, R. 1996. Efeitos da densidade e proporção de plantas de milho (*Zea mays*L.) e caruru (*Amaranthus retroflexus* L.) em competição. *Planta Daninha*, 14: 42-47.
- Chuah, T.S., Salmijah, S., Teng, Y.T., Ismail, B.S. 2004. Changes in seed bank size and dormancy characteristics of the glyphosate-resistant biotype of goosegrass (*Eleusine indica* [L.] Gaertn.). *Weed Biology and Management*, 4: 114-121.
- Clay, P.A., Griffin, J.L. 2000. Weed seed production and seedling emergence responses to late-season glyphosate applications. *Weed Science*, 48: 481–486.
- Coble, H.D., Williams, F.M., Ritter, R.L. 1981. Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) interference in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*, 3: 339-342.
- Cook-Patton, S.C., Agrawal, A.A. 2014. Exotic plants contribute positively to biodiversity functions but reduce native seed production and arthropod richness. *Ecology*, 95: 1642–1650.
- Costa, N.V., Martins, D., Rodella, R.A., Rodrigues, A.C.P. 2011. Alterações anatômicas do limbo foliar de plantas de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms submetidas à aplicação de herbicidas. *Planta Daninha*, 29.
- Cousens, R.; Mortimer, M. 1995. *Dynamics of Weed Populations*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido. 348 pp.
- Cousens, R.D. 1991. Aspects of the design and interpretation of competition (interference) experiments. *Weed Technology*, 5: 664-673.
- Crawley, M.J. 1997. Biodiversity. In: Crawley, M.J., (ed.) *Plant Ecology*, 2nd edn. Blackwell Scientific, Oxford.

- Crawley, M.J. 2007. Plant population dynamics. En: May, R.M., McLean, A.R. (eds): Theoretical Ecology Principles and Applications. Oxford University Press. Inc. New York. pp. 62-83.
- CREA, 2015. Módulos de evaluación de estrategias químicas y de manejo para el control de malezas problema. Proyecto Malezas.
- Creech, J.E., A. Westphal, V.R. Ferris, J. Faghihi, T.J. Vyn, J.B. Santini, Johnson, W.G. 2008. Influence of winter annual weed management and crop rotation on soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) and winter annual weeds. *Weed Science*, 56: 103-111.
- Crotser, M.P., Witt, W.W. (2000). Effect of Glycine max canopy characteristics, G. max interference, and weed-free period on *Solanum ptycanthum* growth. *Weed Science*, 48: 20-26.
- Cury, J.P, Santos, J.B., Silva, E.B, Byrro, E.C.M., Braga, R.R., Carvalho, F.P., 2012. Acúmulo e partição de nutrientes de cultivares de milho em competição com plantas daninhas. *Planta Daninha*, 30: 287-296.
- Dal Magro, T., Soldatelli, P., Agostineto, D., Vargas, L. 2010. Supressão da dormência de sementes de capimpé de galinha (*Eleusine indica*). E: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, Ribeirão Preto. pp. 1-5.
- Dall'Armellina, A., Zimdahl, R. 1989. Effect of watering frequency, drought, and glyphosate on growth of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.). *Weed Science*, 36: 438-447.
- Davis, A.S., Fu, X., Schutte, B.J., Berhow, M.A., Dalling, J.W. 2016. Interspecific variation in persistence of buried weed seeds follows trade-offs among physiological, chemical, and physical seed defenses. *Ecology and Evolution*, 6: 6836-6845.
- Davis, A.S., Renner, K.A. 2007. Influence of seed depth and pathogens on fatal germination of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and giant foxtail (*Setaria faberi*). *Weed Science*, 55: 30-35.
- Dawson, J.H. 1965. Competition between irrigated sugar beets and annual weeds. *Weeds*, 13: 245-249.
- Dawson, J.H., Bruns, V.F. 1975. Longevity of barnyardgrass, green foxtail, and yellow foxtail feeds in soil. *Weed Science*, 23: 437-440.
- Dayan, F.E., Green, H.M., Weete J.D., Hancock H.G. 1996a. Postemergence activity of sulfentrazone: effects of surfactants and leaf surfaces. *Weed Science*, 44: 797-803.
- Dayan, F.E., Weete J.D., Hancock H.G. 1996b. Physiological basis for differential sensitivity to sulfentrazone by sicklepod (*Senna obtusifolia*) and coffee senna (*Cassia occidentalis*). *Weed Science*, 44: 12-17.

- De Prado, J.L., Osuna, M.D., Heredia, A., De Prado, R. 2005. *Lolium rigidum*, a Pool of Resistance Mechanisms to ACCase Inhibitor Herbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2185-2191. DOI: 10.1021/jf049481m
- De Wit, C.T. 1960. On Competition. *Verslagen Landbouwkundige Onderzoekingen*, 66, 1-82. De Wit, C.T. and van den Bergh. 1965. Competition between herbage plants. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 13, 212-221.
- De Wit, C.T., Tow, P.G., Ennik, G.C. 1966. Competition between legumes and grasses. *Versl. Landbouwk. Onderz.*, 687, 1-30
- Defelice, M.S., Brown, W.B., Aldrich, R.J., Sim, B.D., Judy, D.T., Guethle D.R. 1989. Weed control in soybean (*Glycine max*) with reduced rates of postemergence herbicides. *Weed Science*, 37: 365-374.
- Della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Klein, B.K., Shah, D.M., Fraley, R.T., Kishore G.M. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83: 6873–6877.
- Dellaferrera, I. 2007. Variación en la forma de crecimiento de *Parietaria debilis* G. Forst. y *Veronica persica* Poir. producida por glifosfato.
- Dellaferrera, I. 2013. Mecanismos de tolerancia al glifosato en *Parietaria debilis* y *Petunia axillaris*. Tesis Doctoral. UNL. Argentina.
- Devine M.D. 1988. Environmental influences on herbicide performance: a critical evaluation of experimental techniques. *Proceedings EWRS Symposium 'Factors affecting herbicides'*.
- Derksen, D.A., Watson, P.R. 1998. Weed community composition in seedbanks, seedlings, and mature plant communities in a multi-year trial in western Canada. *Aspects of Applied Biology*, 51: 43–50.
- Devani, L., Vargas, P.D., Sabaté, S., Vinciguerra, H.F., Olea, I.L. 2016. Detección de resistencia a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa en *Eleusine indica* en la provincia de Tucumán. REM (Aapresid).
- Dill, G., Baerson, S., Casagrande, L., Feng, Y., Brinker, R., Reynolds, T., Taylor, N., Rodriguez, D., Teng, Y. 2000. Characterization of glyphosate resistant *Eleusine indica* biotypes from Malaysia. *Third International Weed Science Congress, Abstracts*, Foz do Iguassu, Brazil.
- Dinelli, G., Marotti, I., Bonetti, A., Catizone, P., Urbano, J., Barnes, J. 2008. Physiological and molecular bases of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* biotypes from Spain. *Weed Research*, 48: 257-265.

- Doll J, 2000. Glyphosate resistance in another plant. *Resistant Pest Management*, 11: 5-6.
- Duke, S.O. 2018. Glyphosate: The world's most successful herbicide under intense scientific scrutiny. *Pest Management Science*, 74: 1025–1026.
- Duke, S.O., Cedergreen, N., Velini, E., Belz, R. 2006. Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management*, 17: 29–33.
- Duke, S.O., Powles, S.B. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*, 64: 319–325.
- Dyer, W.E. 1995. Exploiting weed seed dormancy and germination requirements through agronomic practices. *Weed Science*, 43: 498-503.
- dynamics of plants with special reference to weeds. *Applied Biology*, 1: 1–43.
- Edwards, G.R., Crawley, M.J. 1999. Herbivores, seed banks, and seedling establishment in mesic grassland. *Journal of Ecology*, 87: 423-435.
- Egley, G., Williams, R.D. 1991. Emergence periodicity of six summer annual weed species. *Weed Science*, 39: 595–600.
- Eichert, T., Burkhardt, J. 2001. Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system. *Journal of Experimental Botany*, 52: 771–781.
- Esau, K. (1982). *Anatomía de las plantas con Semilla*. 1° edición capítulo XX pp 911. Editorial Hemisferio Sur SA, Argentina.
- Evans, G. C. 1972. *The quantitative analysis of plant growth*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Evans, J.A., Tranel, P.J., Hager, A.G., Schutte, B., Wu, C., Chatham, L.A., Davis, A.S. 2016. Managing the evolution of herbicide resistance. *Pest Management Science*, 72: 74-80
- Faccini, D., Puricelli, E. 2007. Efficacy of herbicide dose and plant growth stage on weeds present in fallow ground. *Agriscientia*, 24: 23-29.
- Faccini, D.; Puricelli, E. 2007. Efficacy of herbicide dose and plant growth stage on weeds present in fallow ground. *Agriscientia*, 24: 23-29.
- Fadin, D.A., Monquero, P.A. (2019) Leaf characterization of 'Spermacoce verticillata' at three stages of development. *Australian Journal of Crop Science*, 3: 792-797.
- Farahbakhsh, A., Murphy, K.J., Madden, A.D. 1987. The effect of weed interference on the growth and yield of wheat. *Proceedings of the British Crop Protection Conference. Weeds*, 2: 955-961.
- Fehr W., Caviness, C. 1977. *Stage of Soybean Development*. Special Report 80. Iowa State University, Ames, IA, USA.
- Fehr W.R., Caviness, C.E. 1977. *Stages of Soybean Development*. Iowa Station University Special Report 80. 11 pp.

- Feng, P., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R., Heck, G., Jacob, C. 2004. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadiensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science*, 52: 498-505.
- Fenner, M. 1987. Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytologist*, New York, 95: 697-706.
- Ferreira, E.A., Procópio, S.O., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N. 2002a. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas: I - *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. *Planta Daninha*, 20: 159–167.
- Ferreira, E.A., Procópio, S.O., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N. 2002b. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas: II - *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. *Planta Daninha*, 20: 327–335.
- Ferreira, E.A., Procópio, S.O., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N. 2003. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil: IV - *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. *Planta Daninha*, 21: 263–271.
- Ferreira, J.F., Reddy, K.N. 2000. Absorption and translocation of glyphosate in *Erythroxylum coca* and *E. novogranatense*. *Weed Science*, 48:193–199.
- Flores-Vindas, E. 1999. *La planta: estructura y función*. Vol. I. Cartago, Costa Rica.
- Forcella, F., Eradat-Oskoui, K., Wagner, S.W. 1993. Application of weed seedbank ecology to low-input crop management. *Ecological Applications*, 3: 74–83.
- Forcella, F., Webster, T., Cardina, J. 2003. Protocols for weed seed bank determination in agro-ecosystems. *Weed Management for Developing Countries*. Addendum 1.
- Forcella, F., Wilson, R.G., Dekker, J. 1997. Weed seedbank emergence across the corn belt. *Weed Science*, 45: 67-76.
- Forcella, F., Wilson, R.G., Renner, K.A., Dekker, J., Harvey, R.G., Alm, D.A., Buhler, D.D., Cardina, J.A. 1992. Weed seedbanks of the U.S. cornbelt: magnitude, variation, emergence, and application. *Weed Science*, 40: 636-644.
- Fowler, N. 1982. Competition and coexistence in a North Carolina Grassland. *Ecology*, 70: 77-92.
- Franke, W. 1969. Ectodesmata in relation to binding sites for inorganic ions and urea on isolated cuticular membrane surfaces. *American Journal of Botany*, 56: 432-435.
- Freeman, B., Albrigo, L. G., Biggs, R. H. 1979. Ultra structure and chemistry of cuticular waxes of developing citrus leaves and fruits. *Journal of American Society in Horticultural Science*, 104: 801-808.

- Friesen, H.A., O'Sullivan P.A., Born, W.H.V. 1976. HOE 23408, a new selective herbicide for wild oats and green foxtail in wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Science*, 56: 567–578.
- Gallagher. R.S., Cardina. J. 1998. The effect of light environment during tillage on the recruitment of various summer annuals. *Weed Science*, 46: 214-216.
- Gallandt, E.R. 2006. How can we target the weed seedbank? *Weed Science*, 54: 588-596.
- Gallant, E.R. 2005. Experimental substrate affects rate of seed removal in assays of invertebrate seed predation. *Weed Technology*, 19: 481-485.
- Galvani, J., Rizzardi, M.A., Carneiro, C.M., Bianchi, M.A. 2012. Leaf anatomy of *Lolium multiflorum* sensitive and resistant to glyphosate. *Planta Daninha*, 30: 407–413.
- Gasser, M., Vegetti, A.C. 1997. Inflorescence typology in *Eleusine indica* and *Eleusine tristachya* (Poaceae), *Flora*, 192: 17-20.
- Gaudet, C.L., Keddy, P.A. 1988. Predicting competitive ability from plant traits: a comparative approach. *Nature*, 334: 242-243.
- Goldberg D.E. 1990. Components of resource competition in plant communities. In: Grace JB, Tilman D (eds) *Perspectives on plant competition*. Academic, New York, pp 27–49.
- Gomez de Enciso, C. 2009. Mecanismos de resistencia de *Parthenium hysterophorus* L. a glifosato, Valle Del Cauca, Colombia.
- Grace J.B. 1990. On the relationship between plant traits and competitive ability. En: *Perspective on Plant Competition* (ed. by Grace J.B. and Tilman D.). Academic Press, San Diego, CA: 51-65.
- Grime J.P. 1974. Vegetation classification by reference to strategies. *Nature*, 250: 26-31.
- Grime J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist*, 111: 1169-1194.
- Grime J.P. 1979. *Plant strategies and vegetation process*. Chichester, New York: John Wiley.
- Grime J.P. 1987. Dominant and subordinate components of plant communities: implications for succession, stability and diversity. In: Gray AJ, Crawley MJ & Edwards PJ (eds.) *Colonization, Succession and Stability*, pp. 413-428. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Grime J.P. 1996. An experimental study of plant community invasibility. *Ecology*, 77: 776–790.
- Grime J.P. 2002. *Plant Strategies, Vegetation Process, and Ecosystem Properties*. 2nd edition. Chichester, New York: John Wiley Second Edition
- Grime J.P., Hodgson J.G., Hunt, R. 1988. *Comparative Plant Ecology. A Functional Approach to Common British Species*. London: Unwin Hyman.

- Grime J.P., Hunt, R. 1975. Relative growth-rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology*, 63: 393- 422.
- Grime, J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist*. 111: 1169-1194.
- Grundy, A.C., Mead, A., Burston, S. 2003. Modelling the emergence response of weed seeds to burial depth: interactions with seed density, weight and shape. *Journal of Applied Ecology*. 40: 757–770.
- Guglielmini A.C., Verdú, A.M.C., Satorre, E.H. 2017. Competitive ability of five common weed species in competition with soybean. *International Journal of Pest Management*. 63: 30-36
- Gunsolus, J.L. 1990. Mechanical and cultural weed control in corn and soybeans. *American Journal of Alternative Agriculture*, 5: 114-119.
- Harker, N.K., O'Donovan, J.T. 2013. Recent weed control, weed management, and integrated weed management. *Weed Technology*, 27: 1-11.
- Harper, J.L. 1977. *The Population Biology of Plant*. Academic Press, London, pp: 78-80.
- Hartzler, R.G. 1996. Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) population dynamics following a single year's seed rain. *Weed Technology*, 10: 581–586.
- Hartzler, R.G., Buhler, D.D., Stoltenberg, D.E. 1999. Emergence characteristics of four annual weed species. *Weed Science*, 47: 578-584.
- Hartzler, R.G., Roth, G.W., 1993. Effect of prior year's weed control on herbicide effectiveness in corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 7: 611- 614.
- Hatfield, J.L., Stewart, B.A. 1997. *Integrated Weed and Soil Management*. 1st Edition. CRC Press. 400 pages.
- 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. 2019. The international survey of herbicide resistant weeds. Available at: www.weedscience.org (last accessed 10 April 2019)
- Heimann, B. and Cussans, G. (1996). The importance of seeds and sexual reproduction in the population biology of *Cirsium arvense* - a literature review. *Weed Research*, 36: 493-503.
- Hess, F.D., Bayer, D.E., Falk, R.H. 1974. Herbicide dispersal patterns: I. As a function of leaf surface. *Weed Science*, 22: 394–401.
- Hess, F.D., Falk, R. (1990). Herbicide deposition on leaf surfaces. *Weed Science*, 38: 280-288.

- Hochberg, O., Sibony, M., Rubin, B. 2009. The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. *Weed Research*, 49: 37–46. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0099940>
- Hoffman, M.L., Buhler, D.D. 2002. Utilizing Sorghum as a functional model of crop-weed competition. Establishing a competitive hierarchy. *Weed Science*, 50: 466-472.
- Holm L.G., Pancho J.V., Herberger J.P., Plucknett D.L. 1979. A geographical atlas of world weeds. New York, USA: John Wiley and Sons, 391 pp.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V., Herberger, J.P. 1977. The world's worst weeds - Distribution and biology. Honolulu: The University Press of Hawaii.
- Holst, N., Rasmussen, I.A., Bastiaans, L. 2007. Field weed population dynamics: a review of model approaches and applications. *European Weed Research*, 47: 1-14.
- Holt, J.S., 1988. Ecological characteristics of weeds. In: *Weed Management in Agroeco Systems Ecological Approaches*, Altieri, M.A. and Liebman, M. (Eds.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp: 9.
- Holt, J.S., 1995. Plant responses to light: a potential tool for weed management. *Weed Science*, 43: 474-482.
- Hoyle, G. L., Steadman, K. J., Good, R. B., McIntosh, E. J., Galea, L. M., Nicotra, A. B. 2015. Seed germination strategies: an evolutionary trajectory independent of vegetative functional traits. *Frontiers in Plant Science*, 6: 731. doi:10.3389/fpls.2015.00731. https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/malezas/archivos/000001_Chloris%20sp.,%20Trichloris%20spp.,%20Echinochloa%20sp.%20y%20Eleusine%20sp.%20-%20Regi%C3%B3n%20CREA%20Norte%20de%20Santa%20Fe%20-%20Proyecto%20Malezas%20CREA.pdf
- Huangfu, C., Song, X., Qiang, S. 2009. Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations. *Weed Biology and Management* 9: 234–242.
- Hull, H. 1970. Leaf structure as related to absorption of pesticides and other compounds. *Residue Reviews*, 31: 1-150.
- Knecht, G.N.; Orton, E.R. 1970. Stomate density in relation to winter hardiness of *Ilex opaca* Ait. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 95: 341-5.
- Huel D.G., Hucl P. 1996. Genotypic variation for competitive ability in spring wheat. *Plant Breeding*, 115: 325–329.
- Humphries, T., Chauhan, B.S., Florentine, S.K. 2018. Environmental factors affecting the germination and seedling emergence of two populations of an aggressive agricultural

- weed; *Nassella trichotoma*. PLoS ONE 13(7): e0199491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199491>
- Hunt, R., Cornelissen, J.H.C. 1997. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 plant species. *New Phytology*, 135: 395–417.
- Hussain, M., Ali, S., Tahir, M.N., Shah, G.A., Ahmad, I., Sarwar, M.A., Latif, S.. 2017. A comparative study of soil weed seed bank determination in pothwar region by using different methodologies. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 30: 310-315.
- Iamil, B.S., Chuah, T.S., Salmijah, S., Teng, Y.T., Schumacher R.W. 2002. Germination and seedling emergence of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of goosegrass (*Eleusine indica*[L.] Gaertn.). *Weed Biology and Management*, 2: 177-185.
- Isaacs, M.A., Murdock, E.C., Toler, J.E., Wallace, S.U. 1989. Effects of late-season herbicide applications on sicklepod (*Cassia obtusifolia*) seed production and viability. *Weed Science*, 37: 761–765.
- Ismail B.S., Chuah T.S., Salmijah S., Teng Y.T. 2003. Effects of shade and watering frequency on growth and development of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of goosegrass (*Eleusine indica* [L.]Gaertn.). *Plant Protection Quarterly*, 18: 30–34.
- Ismail, B.S., Chua, T.S., Salmijah, T.S., Teng, Y.T., Schumacher. R.W. 2002. Germination and seedling emergence of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of goosegrass (*Eleusine indica* [L.] Gaertn.). *Weed Biology and Management*, 2: 177-185.
- Jalaludin, A., Ngim, J., Bakar, B.H.J., Zazali,A.. 2010. Preliminary findings of potentially resistant goosegrass (*Eleusine indica*) to glufosinate-ammonium in Malaysia. *Weed Biology and Management*, 10: 256-260.
- Jannink, J.L., Orf, J.H., Jordan, N.R., Shaw. R.G. 2000. Index selection for weed suppressive ability in soybean. *Crop Science*, 40: 1087-1094
- Jha, P., Kumar, V., Godara R.K., Chauhan, B.S. 2017. Weed management using crop competition in the United States: A review. *Crop Protection*, 95: 31-37.
- Job Franco, J., Agostinetto, D., Langaro, A. C., Tessari Perboni, L., Vargas, L., Job Franco, J.J. 2017. Relative competitiveness of goosegrass biotypes and soybean crops. *Revista Caatinga*, 30: 271-277.
- Johnson, D.B., Norsworthy, J.K. 2014, Johnsongrass (*Sorghum halepense*) management as influenced by herbicide selection and application timing. *Weed Technology*,28: 142–150.
- Johnson, W.C. III, Coble H.D. 1986. Crop rotation and herbicide effects on the population dynamics of two annual grasses. *Weed Science*, 34: 452-456.

- Johnson, W.G., Davis, V.M., Kruger, G.R., & Weller, S.C. 2009. Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy*, 31: 162–172.
- Jordan D.L., Griffin J.L., Vidrine P.R., Shaw D.R., Reynolds D.B. 1997. Comparison of graminicides applied at equivalent costs in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 11: 804–809.
- Jordan, D.L. 2007. Weed management in peanuts. Peanut Information. North Carolina State University Cooperative Extension Service. Series AG-331. 132 , pp 47-74
- Keddy P., Twolan-Strutt L., Shipley B. 1997. Experimental evidence that interspecific competitive asymmetry increases with soil productivity. *Oikos*, 80: 253–256. doi:10.2307/3546593
- Kegode, G.O., Brent Pearce, R. 1998. Influence of environment during maternal plant growth on dormancy of shattercane (*Sorghum bicolor*) and giant foxtail (*Setaria faberi*) seed. *Weed Science*, 46: 322-329.
- Kennedy, A.C. 1999. Soil microorganisms for weed management. *Journal of Production Agriculture*, 2: 123-13.
- Kirkpatrick. B.L., Bazzaz, F.A. 1979. Influence of certain fungi on seed germination and seedling survival of four colonizing annuals. *Journal of Applied Ecology*, 16: 515-527
- Kissmann, K.G. 1997. Plantas infestantes e nocivas. 2.ed. São Paulo: BASF Brasileira, 825 p. Tomo I.
- Kissmann, K.G. 1997. Plantas infestantes e nocivas. 2.ed. São Paulo: BASF Brasileira, Tomo I, 825 p.
- Klingman, T.E., King, C.A., Oliver, L.R. 1992. Effect of application rate, weed species, and weed stage of growth on imazethapyr activity. *Weed Science*, 40: 227-232.
- Knezevic, S.Z., Streibig, J.C., Ritz, C. 2007. Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology*, 21: 840–848..
- Koch, K., Ensikat, H. 2008. The hydrophobic coatings of plant surfaces: epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly, *Micron* 39: 759–772.
- Koocheki, A., Nassiri, M., Alimoradi, L., Ghorbani, R. 2009. Effect of cropping systems and crop rotations on weeds. *Agronomy for Sustainable Development*, 29: 401-408.
- Kremer, R.J. 1993. Management of weed seed banks with microorganisms. *Ecological Applications*, 3: 42-52.
- Kropff, M.J. 1988. Modelling the effects of weeds on crop production. *Weed Research*, 28: 465 471.

- Kudsk, P. 2008. Optimising herbicide dose: a straightforward approach to reduce the risk of side effects of herbicides. *The Environmentalist*, 28: 49–55.
- Kumar, V., Jha, P. 2016. Differences in germination, growth, and fecundity characteristics of dicamba-fluroxypyr-resistant and susceptible kochia scoparia. *PloS one*, 1(8), e0161533. doi:10.1371/journal.pone.0161533
- Kumar, V., Singh, S., Chhokar, R.S., Malik, R.K., Brainard, D.C., Ladha, J.K. 2013. Weed Management Strategies to Reduce Herbicide Use in Zero-Till Rice–Wheat Cropping Systems of the Indo-Gangetic Plains. *Weed Technology*, 27: 241-254.
- Lamego, F.P., Fleck, N.G., Bianchi, M.A., Vidal, R.A. 2005. Tolerância à interferência de plantas competidoras e habilidade de supressão por cultivares de soja - I. Resposta de variáveis de crescimento. *Planta Daninha*, 23: 405-414.
- Lamichhane, J.R., Devos, Y., Beckie, H.J., Owen, M.D.K., Tillie, P., Messéan, A., Kudsk, P. 2017. Integrated weed management systems with herbicide-tolerant crops in the European Union: lessons learnt from home and abroad. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37: 459-475.
- Lapointe, A.M., Deschenes, J.M., Gervai, P., Lemieux, C. 1984. Biologie du chenopode blanc (*Chenopodium album*): influence du travail du sol sur la levée et de la densité du peuplement sur la croissance. *Canadian Journal of Botany*, 62, 2587–93.
- Leach, G.E., Devine, M.D., Kirkwood, R.C., Marshall, G., 1995. Target enzyme-based resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in *Eleusine indica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 51: 129-136.
- Lee L.J., Ngim, J. 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science*, 56: 336-339.
- Lee, L.J., Ngim, J. 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) in Malaysia. *Pest Management Sciences*, 56:336-339.
- Lee, L.J.; Ngim, J.A. 2000. First report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science*, 56: 336-339.
- Lemerle, D. Gill, G. Murphy, E.C, Walker, R.S., Cousens, R., Mokhtari, S., Peltzer, S., Coleman, R., Luckett, D. 2001. Genetic improvement and agronomy for enhanced wheat competitiveness with weeds. *Crop and Pasture Science*, 52: 527-548.
- Leon, R.G., Owen, M.D.K. 2003. Regulation of weed seed dormancy through light and temperature interactions. *Weed Science*, 51: 752-758.
- Leon, R.G., Owen, M.D.K. 2004. Artificial and natural seed banks differ in seedling emergence patterns. *Weed Science*, 52: 531–537.

- Lewis, J. 1973. Longevity of crop and weed seeds survival after 20 years in soil. *Weed Research*, 13: 179-191.
- Liebman, M. 2001. Weed management: a need for ecological approaches. in M. Liebman, C.L. Mohler, and C.P. Staver, *Ecological Management of Agricultural Weeds*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 1-39
- Liebman, M., Mohler, C., Staver, C. 2001. *Ecological Management of Agricultural Weeds*. Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511541810
- Liebman, M., Mohler, C.L., Staver, C.P.. 2001. *Ecological Management of Agricultural Weeds*. Cambridge University Press, 19 - 532 pp..
- Lindquist, J. L., Maxwell, B.D., Buhler, D.D., Gunsolus, J. L. 1995. Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) recruitment, survival, seed production, and interference in soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 43: 226-32.
- Lonsdale, W.M. 1993. Losses from the seed bank of *Mimosa pigra*: soil micro-organisms vs. temperature fluctuations. *Journal of Applied Ecology*, 30: 654-660.
- Lueschen, W.E., Andersen, R.N., Hoverstad, T.R., Kanne, B.R. 1993. Seventeen years of cropping systems and tillage affect velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) seed longevity. *Weed Science*, 41: 82-86.
- MA, X., Wu H., Jiang, W., MA, Y., MA, Y. 2015. Goosegrass (*Eleusine indica*) density effects on cotton (*Gossypium hirsutum*) *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 1778–1785.
- Ma, X., Wu, H., Jiang, W., Ma, Y., Ma, Y. 2015. Goosegrass (*Eleusine indica*) density effects on cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 1778–1785.
- Ma, X., Wu, H., Jiang, W., Ma, Y., Ma, Y. 2015. Goosegrass (*Eleusine indica*) density effects on cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 1778-1785.
- Machado, A.F.L., Ferreira, L.R.; Ferreira, F.A.; Fialho, C.M.T.; Tuffi Santos, L.D. Machado, M.S. 2006. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. *Planta Daninha*: 641-647.
- Mack, R.N., Pyke, D. A. 1983. The demography of *Bromus tectorum*: variation in time and space. *Journal of Ecology*, 71: 69–93.
- Maillet J. 1991. Control of grassy weeds in tropical cereals. En: F.W.G. Baker and P.J. Terry (Eds.) *Tropical Grassy Weeds*, pp 112-143. C.A.B. International, Wallingford R.U.
- Malpassi, R. (2004). Efecto de la aplicación de herbicidas sobre la morfología y anatomía de *Eleusine indica* (L.) Gaertner Y *Portulaca oleracea* L. Tesis doctoral. UNRC. Argentina.
- Malpassi, R. (2005). Efectos de la aplicación de quizalofop sobre la arquitectura y anatomía foliar de *Eleusine indica*. *AgriScientia*, 22.

- Marín, C., Weiner, J. 2014. Effects of density and sowing pattern on weed suppression and grain yield in three varieties of maize under high weed pressure. *Weed Research*. 54: 467-474.
- Martínez-Ghersa, M.A., Ghersa, C.M., Satorre, E. 2000. Coevolution of agricultural systems and their weed companions: Implications for research. *Field Crops Research*. 67: 181-190. Martínez-Ghersa, M.A., Ghersa, C.M., Benech-Arnold, R.L., Mac Donough, R., Sanchez, R.A. 2000. Adaptive traits regulating dormancy and germination of invasive species. *Plant Species Biology*, 15: 127-137.
- Masin, R., Loddo, D., Benvenuti, S., Otto, S., Zanin, G. 2012. Modeling weed emergence in Italian maize fields. *Weed Science*, 60: 254-259.
- McGilchrist, C.A., Trenbath. 1971. A revised analysis of plant competition experiments. *Biometrics*, 27: 659-671.
- McCullough, P.E., Yu, J.; Raymer, P.L., Chen, Z. 2016. First report of ACCase-resistant Goosegrass (*Eleusine indica*) in the United States. *Weed Science*, 64: 399–408.
- McWhorter, C.G., Ouzts, C. 1994. Leaf Surface Morphology of *Erythroxylum sp.* and Droplet Spread. *Weed science*, 42: 18–26.
- McWhorther, C. G., Paul, R. N. & Barrentine, W. L. 1990. Morphology, development and recrystallization of epicuticular waxes of Johnson grass (*Sorghum halepense*). *Weed Science*, 38: 22- 33.
- Mohammadi G.R. 2007. Growth parameters enhancing the competitive ability of corn (*Zea mays L.*) against weeds. *Weed Biology and Management*, 7: 232-236.
- Mohler, C.L., Callaway, M.B. 1992. Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weeds in sweet corn. *Journal of Applied Ecology*, 29: 21–34.
- Monquero, P., Christoffoleti, P., Osuna, M., De Prado, R. 2004a. Absorcao, translocacao e metabolismo do glyphosato por plantas tolerantes e suscetiveis a este herbicida. *Planta Daninha*, 22: 444-451.
- Monquero, P.; Christoffoleti, P.J.; Matas, J.A. y Heredia, A. 2004. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. *Planta Daninha* 22(2): 203-210.
- Hull, H., Morton, H., Warrie, J. 1975. Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration. *The Botanical Review*, 41: 421–452.
- Bukovac, M.J. 1976. Herbicide entry into plants. In: *Herbicides: Physiology, Biochemistry, Ecology*. Vol. I (ed. By Audus L.J.). Academic Press, New York, 335-364.
- Baker, E. A. & Procopiou, J. 1980. Effect of soil moisture status on leaf surface wax yield of some drought-resistant species. *Journal of Horticulture Science*, 55: 85-87
- Mayeux,

- H., Jordan, W., Meyer, R., Meola, S. 1981. Epicuticular wax on golden weed (*Isocoma* spp.) Leaves: Variation with Species and Season. *Weed Science*, 29: 389-393. doi:10.1017/S0043174500039862
- Moraes, P.V.D., Agostineto, D., Galon, L., Rigoli, L.P. 2009. Competitividade relativa de soja com arroz-vermelho. *Planta Daninha*, 27: 35-40.
- Mortensen, D.A., Bastiaans, L., Sattin, M. 2000. The role of ecology in the development of weed management systems: an outlook. *Weed Research*, 40: 49-62.
- Mortimer, A.M., McMahon, D.J., Manlove, R.J., Putwain, P.D. 1980. The prediction of weed infestations and cost of differing control strategies. En: *Proceedings 1980 British Weed Control Conference - Weeds*, Brighton, UK, 415-422.
- Mueller, T.C., Barnett, K.A., Brosnan, J.T., Steckel, L.E., 2011. Glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica*) confirmed in Tennessee. *Weed Science*, 59: 562-566. <http://wssajournals.org/doi/abs/10.1614/WS-D-11-00063.1>.
- Mulugeta, D., Stoltenberg, D.E. 1997. Seed bank characterization and emergence of a weed community in a moldboard plow system. *Weed Science*, 45: 54-60.
- Mulugeta, D., Stoltenberg, D.E. 1997. Weed and seedbank management with integrated methods as influenced by tillage. *Weed Science*, 45: 706-715.
- Myers, C.V., Anderson, R.C. 2003. Seasonal variation in photosynthetic rates influences success of an invasive plant, garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *American Midland Naturalist Journal*, 150: 231-245.
- Navas, M.L. 1991. Using plant population biology in weed research: a strategy to improve weed management. *Weed Research* 31, 171-179.
- Nazarko, O.M., Van Acker, R.C., Entz, M.H. 2005. Strategies and tactics for herbicide use reduction in field crops in Canada: a review. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 85: 457-479.
- Ngah, N. & Dzolkifli, O., Abdul, J., Hailmi M.S., Hailmi Sajili, M. (2011). Leaf surface characteristics of selected Malaysian weed species of oil palm. *Journal Agrobiotech*, 2: 53-65.
- Ni, H., Moody, K., Robles, R.P., Paller, E.C. Jr., Lales, J.S. 2000. *Oryza sativa* plant traits conferring competitive ability against weeds. *Weed Science*, 48: 200-204.
- Nisensohn, L., Tuesca, D., Puricelli, E., Faccini, D., Vitta, J. 2011. Factores biológicos que determinan la competencia de *Commelina erecta* L. con otras malezas en sistemas de cultivo. *Planta Daninha*, 29: 97-106.
- Norsworthy, J.K., Ward, S.M., Shaw, D.R. 2012. Reducing the risks of herbicide resistance: Best management practices and recommendations. *Weed Science*, 60: 31-62.

- Obrigawitch, T.T., Kenyon, W.H., Kuratle, H. 1990. Effect of application timing on rhizome Johnsongrass (*Sorghum halepense*) control with DPX-V9360. *Weed Science*, 38: 45–49.
- Oliveira, M.C., Feist, D., Eskelsen, S., Scott, J.E., Knezevic, S.Z. 2017. Weed control in soybean with preemergence- and postemergence-applied herbicides. *Crop, Forage & Turfgrass Management*, 3: 2016-05-0040
- Panigo, E.S., Dellaferrera, I.M., Acosta, J., Bender, M.A.G., Garetto, J.I., Perreta M.G. 2012. Glyphosate-induced structural variations in *Commelina erecta* L. (Commelinaceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76: 135–142.
- Pareja, M.R., Staniforth, D.W. 1985. Seed-soil microsite characteristics in relation to weed seed germination. *Weed Science*, 33: 190-195.
- Parker, R.G., York, A.C., Jordan, D.L. 2006. Weed control in glyphosate-resistant corn as affected by preemergence herbicide and timing of postemergence herbicide application. *Weed Technology*, 20: 64–570.
- Parodi, L.R. 1964. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol. II. Primera parte, Ed. Acme, Buenos Aires.
- Peart, D.R. 1989. Species interactions in a successional grassland. I. Seed rain and seedling recruitment. *Journal of Ecology*, 77: 236–251
- Perez-Jones, A., Park, K.W., Polge, N., Colquhoun, J., Mallory-Smith, C.A. 2007. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta* 226(2): 395–404.
- Perronne, R., Gaba, S., Cadet, E., Le Corre, V. 2014. The interspecific and intraspecific variation of functional traits in weeds: diversified ecological strategies within arable fields. *Acta Botanica Gallica*, 161: 243–252.
- Peters, N.C.B. 1984. Competition between Galium aparine and cereals. Abstracts of AAB Meeting Understanding Cleavers and their Control in Cereal and Oilseed Rape.
- Phillips S.M. 1972. A Survey of the Genus *Eleusine* Gaertn. (Gramineae) in Africa. *Kew Bulletin*. 27, No. 2, pp. 251-270.
- Poggio, S.L. 2012. Cambios florísticos en comunidades de malezas; un marco conceptual basado en reglas de ensamblaje. *Ecología Austral*, 22: 150-158.
- Poorter H., Niklas K.J., Reich P.B., Oleksyn J., Poot P., Mommer L. 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytology*, 193: 30-50.
- Poorter, H., Garnier, E. 1996. Plant growth analysis: an evaluation of experimental design and computational methods, *Journal of Experimental Botany*, 47: 1343-1351.

- Poorter, H., Garnier, E. 2007. Ecological Significance of inherent variation in relative growth rate and its components. En: Functional Plant Ecology. Boca Raton: CRC Press, p. 67-100.
- Prachand, S., Kalhapure, A., Kubde, K.J. 2015. Weed management in soybean with pre-and post-emergence herbicides, Indian Journal of Weed Science, 47: 60-62.
- Procópio, S.O., Ferreira, E.A., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N. 2003b. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil: III-*Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. Planta Daninha, 21: 1–9.
- Procópio, S.O., Ferreira, E.A., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N. 2003b. 2003a. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. V - *Leonurus sibiricus*, *Leonotis nepetaefolia*, *Plantago tomentosa* e *Sida glaziovii*. Planta Daninha, 21: 403–411.
- Puricelli, E., Faccini, D., Nisensohn, L., Tuesca, D. 2012. Weed cover, frequency and diversity in field plots and edges in the soybean central region of Argentina. Agricultural Sciences, 3: 631-639.
- Puricelli, E., Faccini, D., Nisensohn, L., Tuesca, D. 2012. Weed cover, frequency and diversity in field plots and edges in the soybean central region of Argentina. Agricultural Sciences, 3: 631-639.
- Puricelli, E., Arregui, C. (2018) Mecanismos de acción de plaguicidas, edición ampliada y corregida. Editorial Amalevi, Rosario, Argentina.
- Puricelli, E., Faccini, D. (2016) Herbicidas aplicados al suelo y al follaje. Capítulo I: Herbicidas aplicados al follaje. Editorial Amalevi, Rosario, Argentina.
- Puricelli, E., Faccini, D. 2009. Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo. Planta Daninha, 27: 303-307.
- Puricelli, E., Faccini, D. 2009. Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo. Planta Daninha, 27: 303-307.
- Puricelli, E., Faccini, D., Nisensohn, L., Torres, P. 2012. Competencia entre *Parietaria debilis* y *Lamium amplexicaule*, malezas de barbecho de la región sojera central de la Argentina. Agriscientia, 24: 109-113.
- Puricelli, E., Faccini, D., Nisensohn, L., Tuesca, D. 2012. Weed cover, frequency and diversity in field plots and edges in the soybean central region of Argentina. Agricultural Sciences, 3: 631-639. DOI: 10.4236/as.2012.35076.

- Puricelli, E., Faccini, D., Orioli, G., Sabbatini, M. 2003. Spurred anoda (*Anoda cristata*) competition in narrow- and wide-row soyabean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 17: 446-451.
- Puricelli, E., Faccini, D., Sabattini, M.R., Orioli, G. 2003. Spurred anoda (*Anoda cristata*) competition in narrow- and wide-row soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 17: 446-451.
- Puricelli, E., Faccini, D., Sabattini, M.R., Orioli, G. 2003. Spurred anoda (*Anoda cristata*) competition in narrow- and wide-row soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 17: 446-451.
- Puricelli, E., Faccini, D., Sabbatini, M.R., Orioli, G. 2005. Seed survival and predation of *Anoda cristata* in soybean crops. *Weed Research*, 45: 477-488.
- Puricelli, E., Orioli, G., Sabbatini, M.R. 2002. Demography of *Anoda cristata* in wide- and narrow- row soyabean. *Weed Research*, 42: 456-464.
- Puricelli, E., Tuesca, D. 2005. Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection*, 24: 533-542.
- Puricelli, E., Tuesca, D. 2005a. Riqueza y diversidad de malezas en trigo y barbechos de secuencias de cultivos resistentes a glifosato. *Agriscientia*, 22: 69-78.
- Puricelli, E., Tuesca, D. 2005b. *Parietaria debilis* growth in fallow and undisturbed environments. *Weed Research*, 46: 1-9.
- Puricelli, E., Vitta, J.I., Sabbatini, M.R., Orioli, G. 2007. Modeling the integrated management of *Anoda cristata* in glyphosate-resistant soybean. *Agriscientia*, 24: 1-9.
- Putwain, P.D., Machin, D., Harper, J. 1968. Studies in the dynamics of plant populations. II. Components and regulation of a natural population of *Rumex acetosella* L. *Journal of Ecology*, 56: 421-431.
- R Development Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponible en URL: <http://www.R-project.org>. (último acceso 20 de diciembre de 2018).
- Radosevich, S., Holt, J., Ghersa, C. 1997. Implications for Management, segunda Edición. John Wiley and Sons, NY, USA. *Weed Ecology*, 589 pp.
- Radosevich, S.R., Holt, J., Ghersa, C. 1997. *Weed ecology: implications for management*. 2. ed. New York: Willey, 589 p.
- Radosevich, S.R.; Holt, J., Ghersa, C. 1997. *Weed ecology: implications for management*. 2. ed. New York: Willey, 589 pp.
- Rainero, H. 2013. Grama carraspera (*Eleusine indica*) resistente a glifosato confirmada en la provincia de Córdoba, Argentina. Cartilla Digital EEA INTA Manfredi.

- Rambakudzibga, A.M., Makanganise, A., Mangosho, E. 2002. Competitive influence of Eleusine Indica and other weeds on the performance of maize grown under controlled and open field conditions. African Crop Science Journal, 10: pp157-162.
- Randall RP, 2012. A Global Compendium of Weeds. Perth, Australia: Department of Agriculture and Food Western Australia, 1124 pp. <http://www.cabi.org/isc/FullTextPDF/2013/20133109119.pdf>
- Rao, V.S. 2000. Principles of Weed Science, 2nd Edn, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA
- Refsell, D.E., Hartzler, R.G. 2009: Effect of tillage on common waterhemp (*Amaranthus rudis*) emergence. Plant Protection Science, 52: 64–69.
- Regnier, E.E., Stoller, E.W. 1989. The effects of soybean (*Glycine max*) interference on the canopy architecture of common cocklebur (*Xanthium strumarium*), jimsonweed (*Datura stramonium*), and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). Weed Science, 37: 187-95.
- Regnier, E.E., Stoller, E.W., Nafziger, E.D. 1989. Common cocklebur (*Xanthium strumarium*) root and shoot interference in soybeans (*Glycine max*). Weed Science, 37: 308-13.
- Rehman, S., Park, I.H. 2000. Effect of scarification, GA and chilling on the germination of goldenrain-tree (*Koelreuteria paniculata* Laxm.) seeds. Scientia Horticulturae, 85, 319–324.
- Rezende, B.M.P., Tavares, C.J., Marangoni, R.E., Cunha, P.C.R., Jakelaitis A. 2012. Efeito do fomesafen + fluazifop-p-butil associados com inseticidas no controle das plantas daninhasna cultura da soja. Agrária, 7: 608-613
- Ricotta, J.A., Masiunas, J.B. 1992. Relationship of leaf surface characteristics to acifluorfen tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and related species. Weed science, 40: 402-407.
- Riederer, M., Schonherr, J. 1985. Accumulation and transport of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid in plant cuticles: II. Permeability of the cuticular membrane. Ecotoxicol. Environ. Safety 9:196-208.
- Riederer, M., Schreiber, L. 2001. Protecting against water loss: Analysis of the barrier properties of plant cuticles. Journal Experimental Botany, 52: 2023-2032.
- Ritz C., Streibig, J.C. 2005. Bioassay Analysis using R. Journal of Statistical Software, 12.
- Rizzardi, M.A., Fleck, N.G., Mundstock, C.M., Bianchi, M.A. 2003. Perdas de rendimento de grãos de soja causadas por interferência de picão-preto e guanxuma. Ciência Rural, 33: 621-627.
- Rizzardi, M.A., Roman, E.S., Vargas, L., Zanatta, F.S. (2004). Glyphosate herbicide resistance in ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam). VII World Soybean Research

- Conference. IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Congresso Mundial de Soja. Ed: Flávio Moscardi (et al.) p. 94. Londrina: EMBRAPA Sao Carlos, Brasil.
- Roberts, H.A., Feast, P. 1973. Emergence and longevity of seeds of annual weeds in cultivated and undisturbed soil. *The Journal of Applied Ecology*, 10: 133-143.
- Rogers, W.E., Hartnett, D.C. 2001. Temporal vegetation dynamics and recolonization mechanisms of different-sized soil disturbances in tallgrass prairie. *American Journal of Botany*, 88: 1634-1542.
- Rosales-Robles, E., Chandler, J.M., Senseman, S.A., Prostko, E.P. 1999. Influence of growth stage and herbicide rate on postemergence Johnsongrass (*Sorghum halepense*) control. *Weed Technology*, 13: 525–529.
- Roush, M.L., Radosevich, S.R. 1985. Relationships between growth and competitiveness of four annual weeds. *Journal of Applied Ecology*, 22: 895-905.
- Rushing, D.W., Murray, D.S., Verhalen, L.M. 1985. Weed interference with cotton (*Gossypium hirsutum*). I. Buffalobur (*Solanum rostratum*). *Weed Science*, 33:810-814.
- Saatkamp, A., Affre, L., Dutoit, T., Poschlod, P. 2009. The seed bank longevity index revisited: limited reliability evident from a burial experiment and database analyses. *Annals of Botany*, 104: 715–724.
- Sagar, G.R., Mortimer, A.M. 1976. An approach to the study of the population dynamics of plants with special reference to weeds. *Applied Biology*, 1: 1–47.
- Sánchez, E. (1974). Anatomía foliar de las especies argentinas de los géneros *Eleusine* Gaertn. y *Dactyloctenium* Willd. Gramineae, subfamilia Eragrostoideae, tribu Eragrosteae. *Darwiniana*, 18: 526-538.
- Santier, S., Chamel, A. 1992. Penetration of glyphosate and diuron into and through isolated plant cuticles. *Weed Research*, 32: 337-347.
- Santier, S., Chamel, A. 1998. Reassessment of the role of cuticular waxes in the transfer of organic molecules cuticles. *Plant Physiology Biochemistry*, 36: 309-320.
- Sanyal, D., Bhowmik, P., & Reddy, K. 2006. Influence of leaf surface micromorphology, wax content, and surfactant on primisulfuron droplet spread on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Science*, 54: 627-633. doi:10.1614/WS-05-173R.1
- Sardana V., Mahajan, G., Jabran, K, Chauhan, BS. 2017. Role of competition in managing weeds: An introduction to the special issue. *Crop Protection*, 95: 1-7.

- Satchivi, N.M., Wax, L.M., Stoller, E.W., Briskin, D.P. 2000. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. *Weed Science* 48: 675–679.
- Satorre, E.H., 1988. The competitive ability of winter cereals. Ph.D. Thesis, Department of Agriculture, University of Reading, pp: 262.
- Schreiber, L. 1995. A mechanistic approach towards surfactant/wax interactions: effects of octaethylglycol monododecylether on sorption and diffusion of organic chemicals in reconstituted cuticular wax of barley leaves. *Pesticide Science*, 45: 1-11.
- Schreiber, L. 2002. Co-permeability of 3H-labelled water and 14C-labelled organic acids across isolated *Prunus laurocerasus* cuticles: effect of temperature on cuticular paths of diffusion. *Plant, Cell and Environment*, 25: 1087-1094.
- Schreiber, L., Kirsch, T., Riederer, M. 1996. Transport properties of cuticular waxes of *Fagus sylvatica* L. and *Picea abies* (L.) Karst: Estimation of size selectivity and tortuosity from diffusion coefficients of aliphatic molecules. *Planta*, 198: 104-109.
- Schreiber, L., Schönherr, J. 1992. Analysis of foliar uptake of pesticides in barley leaves: role of epicuticular waxes and compartmentation. *Pesticide Science*, 36: 213-221.
- Schreiber, L., Schönherr, J. 1993. Mobilities of organic compounds in reconstituted cuticular wax of barley leaves: determination of diffusion coefficients. *Pesticide Science*, 38: 353-361.
- Schreiber, L., Skrabs, M., Hartmann, K., Diamantopoulos, P., Simanova, E., Santrucek, J. 2001. Effect of humidity on cuticular water permeability of isolated cuticular membranes and leaf disks. *Planta*, 214: 274-282.
- Seefeldt, S.S., Jensen, J.E., Fuerst, E.P. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9: 218–227.
- Seibert, A.C., Pearce, R.B. 1993. Growth analysis of weed and crop species with reference to seed weight. *Weed Science*, 41: 52-56
- Sester, M., Dürr, C., Darmency, H., Colbach, N. 2006. Evolution of weed beet (*Beta vulgaris* L.) seed bank: Quantification of seed survival, dormancy, germination and pre-emergence growth. *European Journal of Agronomy*, 24: 19-25.
- Shaner, D. 2009. The role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science*, 57: 118-123.
- Shaner, D.L. 2014. *Herbicide handbook* (10th ed.) Weed Science Society of America Editor, Champaign, IL. 513 pp.
- Shrestha, A., Hembree K.J., Va N. 2007. Growth stage influences level of resistance in glyphosate-resistant horseweed. *California Agriculture*, 61: 67–70.

- Shuma J.M., Quick W.A., Raju M.S., Hsiao A.I. 1995. Germination of seeds from plants of *Avena fatua* L. treated with glyphosate. *Weed Research*, 35: 249–255.
- Shuma, J.M., Raju, M.V.S. 1993. A histological study of the effect of glyphosate on seed development in the wild oat (*Avenafatua* L.). *Weed Research*, 33: 43–51.
- Sikkema, P.H., Soltani, N. 2007. Herbicide-resistant crops in eastern Canada. In: *The First Decade of Herbicide-Resistant Crops in Canada*. Vol. 4. (eds Gulden R.H. and Swanton, C.J.), *Weed Science*, Sainte Anne de Bellevue, Quebec.
- Silva A.A., Jakelaitis A., Ferreira L.R. 2004. Manejo de plantas daninhas no sistema integrado agricultura-pecuária. In: Zambolim L., Silva A.A., Agnes E.L. (Eds.) *Manejo integrado: integração lavoura-pecuária*. Viçosa, UFV. pp. 117-170.
- Silva, D.R.O., Agostinetto, D., Vargas, L., Langaro, A.C., Duarte, T.V. 2014. Habilidade competitiva, alterações no metabolismo secundário e danos celulares de soja competindo com *Conyza bonariensis* resistente e suscetível a glyphosate. *Planta Daninha*, 32: 579-589.
- Sinclair, T.R., Salado-Navarro L., Morandi E.N., Martignone, R.A. 1992. Soybean yield in Argentina in response to weather variation among cropping seasons. *Field Crop Research*, 30: 1–11.
- Singh, S., Singh, M. 2004. Effect of growth stage on trifloxysulfuron and glyphosate efficacy in twelve weed species of citrus groves. *Weed Technology*, 18: 1031–1036.
- Smeda R.J., Snipes C.E., Barrentine W.L. 1997. Identification of graminicide-resistant johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Science*, 45: 132-137.
- Snaydon, R.W., Satorre, E.H. 1989. Bivariate diagrams for plant competition data: modifications and interpretation. *Journal of Applied Ecology*, 26: 1043-1057.
- Soltani, N., Nurse, R.E., Sikkema, P.H. 2016. Biologically effective dose of glyphosate as influenced by weed size in corn. *Canadian Journal of Plant Science*, 96: 455–460.
- Steckel, L., Defelice, M., Sims, B. 1990. Integrating reduced rates of postemergence herbicides and cultivation for broadleaf weed control in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*, 38: 541-545.
- Steinmann, H.H., Klingebiel, L. 2004. Secondary dispersal, spatial dynamics and effects of herbicides on reproductive capacity of a recently introduced population of *Bromus sterilis* in an arable field. *Weed Research* 44:388-396.
- Stoller, E.W., Wax, L.M. 1973. Periodicity of germination and emergence of some annual weeds. *Weed Science*, 21: 574–580.
- Stoller, E.W., Woolley, J.T. 1985. Competition for light by broadleaf weeds in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*, 33: 199-202.

- Storey, R., Price, W.E. 1999. Microstructure of the skin of d' Angen plums. *Scientia Horticulturae*, 81: 279-286.
- Storkey, J. 2004. Modelling seedling growth rates of 18 temperate arable weed species as a function of the environment and plant traits. *Annals of Botany*, 93: 681–689.
- Swanton, C.J., Nkoa, R., Blackshaw, R.E., 2015. Experimental methods for crop weed competition studies. *Weed Science*, 63: 2-11.
- Takano, H.K., Oliveira, R.S. JR., Constantin, J., Braz, G.B.P., Padovese, J.C. 2016. Growth, development and seed production of goosegrass. *Planta Daninha*, 34: 249-258.
- Takano, H.K., Olivera R.S. Jr., Constantin, J., Braz, G.B.P., Padovese, J.C. 2016. Growth, Development and seed production of goosegrass. *Planta Daninha*, 34: 249-258.
- Takano, H.K., Olivera, R.S. Jr, Constantin, J., Silva, V.F.V., Mendes, R.R. 2018. Chemical control of glyphosate-resistant goosegrass. *Planta Daninha*, 36, e018176124.
- Taylor, S.E., Oliver, L.R. 1997. Sicklepod (*Senna obtusifolia*) seed production and viability as influenced by late-season postemergence herbicide Applications. *Weed Science*, 45: 497-501.
- Teasdale, J.R., Beste, C.E., Potts, W.E. 1991. Response of weeds to tillage and cover crop residue. *WeedScience*, 39: 195–199.
- Ter Heerdt, G.N.J., Verweij, G.L., Bekker R.M., Bakker J.P. 1996. An improved method for seed-bank analysis: Seedling emergence after removing the soil by sieving. *Functional Ecology*, 10: 144-151
- Traggiay, M., Dellaferrera, I., De Prado, R., Perreta, M.G. 2009. Influencia de la edad de la planta y la temperatura de crecimiento de *Commelina erecta* sobre la cantidad y distribución de ceras epicuticulares y la tolerancia a glifosato. En Resúmenes del XIX Congresso ALAM. Lisbon, Portugal.
- Trigo, E. 2016. Veinte Años de Cultivos Genéticamente Modificados en la Agricultura Argentina. Fuente: https://www.argenbio.org/adc/uploads/20GM_2016/Informe_20GM_web.pdf
- Troiani, H. 2008. Reconocimiento de malezas: región subhúmeda y semiárida pampeana Colegio de Ingenieros Agrónomos de La Pampa. Argentina. Disponible en: http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/rdata/libro/html/l_trorec001/l_trorec001.htm
- Tuesca, D., Puricelli, E. 2007. Effect of tillage systems and herbicide treatments on weed abundance and diversity in a glyphosate resistant crop rotation. *Crop Protection*, 26: 1765-1770.
- Tuesca, D., Puricelli, E. 2007. Effect of tillage systems and herbicide treatments on weed abundance and diversity in a glyphosate resistant crop rotation. *Crop Protection*, 26:

1765-1770.

- Tuesca, D., Puricelli, E., Papa, J.C. 2001. A long-term study of weed flora shifts in different tillage systems. *Weed Research*, 41: 369-382.
- Tuffi Santos, L.D., Meira, R.M.S., Santos, I.C., Ferreira, F.A. 2004. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. *Planta Daninha*, 22: 101-107.
- Tuffi Santos, L.D., Sant'Anna-Santos, B.F., Meira, R., Ferreira, F.A., Tiburcio, R.A.S., Machado, A.F.L. 2009. Leaf anatomy and morphometry in three eucalypt clones treated with glyphosate. *Brazilian Journal of Biology*, 69: 129-136.
- Ulguim, A., Vargas, L., Agostinetto, D., Dal Magro, T., Westendorff, N., Holz, M. T. 2013. Manejo de capim pé-de-galinha em lavouras de soja transgênica resistente ao glifosato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 17-24.
- Ulguim, A., Vargas, L., Agostinetto, D., Magro, T. D., Westendorff, N., Holz, M.T. 2013. Manejo de capim pé-de-galinha em lavouras de soja transgênica resistente ao glifosato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 17-24.
- Valverde, B.E., Chaves, L., Gonzáles, J, Garita, I., 1993. Field evolved imazapyr resistance in *Ixophorus unisetus* and *Eleusine indica* in Costa Rica. Brighton crop protection conference, weeds. Proceedings of an international conference, Brighton, UK, 22-25 November 1993 Farnham, UK; British Crop Protection Council (BCPC), 3: 1189-1194.
- Van Acker, R.C. 2009. Weed biology serves practical weed management. *Weed Research*, 49: 1-5.
- Van Mourik, T.A., Stomph, T.J., Murdoch, A.J. 2005. Why high seed densities within buried mesh bags may overestimate depletion rates of soil seed banks. *Journal of Applied Ecology*, 42: 299-305.
- Vander Wall, S., Kuhn, K.M., Beck, M.J. 2005. Seed removal, seed predation, and secondary dispersal. *Ecology*, 86: 801-806.
- Vargas, L., Ulguim, A., Agostinetto, D., Magro, T., Thürmer, L. 2013. Low level resistance of goosegrass (*Eleusine indica*) to glyphosate in Rio Grande do Sul. Brazil. *Planta Daninha*, 3: 677-686.
- Vargas, L., Ulguim, A.R., Agostinetto, D., Magro, T.D., Thürmer, L. 2013. Low level resistance of goosegrass (*Eleusine indica*) to glyphosate in Rio Grande do Sul-Brazil. *Planta Daninha*, 31: 677-686.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-83582013000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

- Vaughn, K., Vaughan, M. 1991. Dinitroaniline resistance in *Eleusine indica* may be due to hyper-stabilized microtubules. En: *Herbicide Resistance in Weeds and Crops*, J.C. Caseley, G. Cussans W., Atkin, R.K. editors. Elsevier Ltd. p. 177–186,
- Vaughn, K.C., Vaughan, M.A., Gossett, B.J. 1990. A biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) with an intermediate level of dinitroaniline herbicide resistance. *Weed Technology*, 4: 157-162.
- Velini, E.D., Alves, E., Godoy, M.C., Meschede, D.K., Souza, R.T., Duke, S.O. 2008. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. *Pest Management Science*, 64: 489–496.
- Vidrine, P.R. 1989. Johnsongrass (*Sorghum halepense*) control in soybeans (*Glycine max*) with postemergence herbicides. *Weed Technology*, 3: 455-458.
- Vidrine, P.R., Reynolds, D.B., Blouin, D.C. 1995. Grass control in soybean (*Glycine max*) with graminicides applied alone and in mixtures. *Weed Technology*, 9: 68-72.
- Vila-Aiub, M., Balbi, M., Distéfano, A., Fernández, L., Hopp, E., Yu, Q., Powles, S. 2012. Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense* (Johnsongrass) endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. *Pest Management Science*, 68: 430-436.
- Vila-Aiub, M., Balbi, Maria C., Gundel, P., Ghersa, C., Powles, S. 2007. Evolution of Glyphosate-Resistant Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in Glyphosate-Resistant Soybean. *Weed Science*, 55: 566-571.
- Vitta, J, Tuesca, D, Puricelli, E. 2004. Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environments*, 103: 621-624.
- Vitta, J.I., Satorre, E.H. 1999. Validation of a Weed-Crop Competition Model. *Weed Research*, 39: 259-269.
- Vleeshouwers L.M., Bouwmeester H.J., Karssen C.M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology*, 83: 1031–1037.
- Wakelin, A.M., Lorraine-Colwill, D.F., Preston, C. 2004. Glyphosate resistance in four different populations of *Lolium rigidum* is associated with reduced translocation of glyphosate to meristematic zones. *Weed Research* 44: 453–459.
- Walker, E.R., Oliver, L.R. 2008. Weed seed production as influenced by glyphosate applications at flowering across a weed complex. *Weed Technology*, 22: 318-325.
- Wall, D.A., Smith, M.A.H. 2000. Quackgrass (*Elytrigia repens*) management in flax (*Linum usitatissimum*). *Canadian Journal of Plant Science*, 80: 411-417.
- Wanamarta, G., Penner, D. 1989. Foliar absorption of herbicides. *Weed Science*, 4: 215-231.

- Wandscheer A.C.D, Rizzardi M.A., Reichert M. 2013. Competitive ability of corn in coexistence with goosegrass. *Planta Daninha*, 31: 281-289.
- Wang, C.J., Liu, Z.Q. 2007. Foliar uptake of pesticides—Present status and future challenge. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 1–8.
- Washitani, I., Takenaka, A. 1987. Gap-detecting mechanism in the seed germination of *Mallotus japonicus* (Thunb.) Muell. Arg., a common pioneer tree of secondary succession in temperate Japan. *Ecological Research*, 2: 191-201.
- Waterhouse D.F. (Editor), 1994. Biological control of weeds: Southeast Asian prospects. Canberra, Australia; Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), v + 302 pp.
- Weaver, S.E., Tan, C.S, Brain, P. 1988. Effect of temperature and soil moisture on time of emergence of tomatoes and four weed species. *Canadian Journal of Plant Science*, 68: 877-886.
- Webster, T.M., Cardina, J., White, A.D. 2003. Weed seed rain, soil seedbanks, and seedling recruitment in no-tillage crop rotations. *Weed Science*, 51: 569-575.
- Weiss, P.W. 1981. Spatial distribution and dynamics of populations of the introduced annual *Emex australis* in south-eastern Australia. *Journal of Applied Ecology*, 18: 849–64.
- Welbank, P.J. 1963. A comparison of competitive effects of some common weed species. *Annals of Applied Biology*, 51: 107-125.
- Wen, M., Buschhaus, Jetter, C.R. 2006. Nanotubules on plant surfaces: chemical composition of epicuticular wax crystals on needles of *Taxus baccata* L. *Phytochemistry*, 67: 1808–1817.
- Werle, R., Sandell, L., Buhler, D., Hartzler, R., Lindquist, J. 2014. Predicting Emergence of 23 Summer Annual Weed Species. *Weed Science*, 62: 267-279.
- Werth, J., Keenan, M., Thornby, D., Bell, K., Walker, S. 2017. Emergence of four weed species in response to rainfall and temperature. *Weed Biology Management*, 17: 29-35.
- Westwood, J., Yerkes, C., De Gennaro, E., Weller, S. 1997. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.). *Weed Science*, 45: 658-663.
- Wiles, L.J., Wilkerson, G.G., 1991. Modeling competition for light between soybean and broadleaf weeds. *Agricultural Systems*, 35: 37-51.
- Willis, J.C. 1973. A dictionary of the flowering plants and ferns. Cambridge University Press. 409 p.
- Wilson, B.J. 1986. Yield responses of winter cereals to the control of broad leaf weeds. Proceedings of the EWRS Symposia on Economic Weed Control, (EWRSSWC'86),

- Wageningen, Netherland, pp: 75-82.
- Wilson, B.J., Wright, K.J. 1987. Variability in the growth of cleavers (*Galium aparine*) and their effects on wheat yield. Proceedings of the British Crop Protect Conference Weeds, (BCPCW'87), UK., pp: 1051-1058.
- Wilson, B.J., Wright, K.J. 1990. Predicting the growth and competitive effects of annual weeds in wheat. *Weed Research*, 30: 201-211.
- Xu, X., Wang, G.Q., Chen, S.L., Fan, C.Q., Li, B.H. 2010. Confirmation of Flixweed (*Descurainia sophia*) resistance to tribenuron-methyl using three different assay methods. *Weed Science*, 58: 56–60.
doi:<http://dx.doi.org/10.31047/1668.298x.v22.n2.2680>
- Young, F. L. 1986. Russian thistle (*Salsola iberica*) growth and development in wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science*, 34: 901-905.
- Yukari, S., Shinjiro, S., Narong, W., Hiroshi, M. 2010. Sensitivity and physiological responses of *Eleusine indica* and *Digitaria adscendens* to herbicide quinclorac and 2,4-D. *Environmental and Experimental Botany*, 68: 157–164.
- Zanine A.M., Santos E.M. 2004. Competição entre espécies de plantas – uma revisão. *Revista da FZVA*, 11:10-30.
- Zhang, J., Drummond, F.A., Liebman, M., Hartke, A. 1997. Insect Predation of Seeds and Plant Population Dynamics. *Maine Agricultural and Forest Experiment Station Technical Bulletin*, 163: 32.
- Zorner, P.S., Zimdahl, R., Schweizer, E. 1984. Effect of depth and duration of seed burial on Kochia (*Kochia scoparia*). *Weed Science*, 32: 602-607.