



Universidad Nacional Del Sur
Departamento de Agronomía
Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.



Germinación de poblaciones de *Lolium perenne ssp. multiflorum* (Lam.) Husnot resistentes a herbicidas

Trabajo de Intensificación para obtener el título de Ingeniero Agrónomo

Santiago Carreño Salvador

Docente tutora:

Dra. María de las Mercedes Longás

Docentes consejeros:

Dr. Claudio Pandolfo

Dra. Selva Cuppari

Bahía Blanca, 12 de julio de 2024

ÍNDICE

ÍNDICE	1
INDICE DE FIGURAS	2
ABREVIATURAS	5
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
Las malezas	8
Manejo de malezas	9
Resistencia a herbicidas	11
<i>Lolium perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i>	12
Germinación	17
OBJETIVOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Obtención de las semillas de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i>	19
Peso de mil semillas	19
Diseño y procedimiento experimental	20
Ensayos de germinación	21
Experimento 1: evaluación de la germinación bajo un gradiente de temperaturas alternadas	21
Experimento 2: evaluación de la germinación bajo un gradiente de disponibilidad hídrica	21
Determinaciones	21
Análisis estadístico	21
RESULTADOS y DISCUSIÓN	22
Experimento 1: evaluación de la germinación bajo un gradiente de temperaturas alternadas	22
Experimento 2: evaluación de la germinación bajo un gradiente de disponibilidad hídrica ..	24
CONCLUSIONES	29
AGRADECIMIENTOS	30
BIBLIOGRAFÍA	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de las malezas resistentes a herbicidas en Argentina	12
Figura 2. Cantidad de departamentos en Argentina con presencia de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> resistente a distintos herbicidas	13
Figura 3. Distintos estadios fenológicos de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> . A) Plántula (estado de coleóptilo), B) macollaje y C) floración-fructificación	14
Figura 4. Dinámica de emergencia de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> expresado como porcentaje acumulado de plántulas/m ²	15
Figura 5. Lotes de trigo con alta infiltración de raigrás A) en macollaje y B) en madurez fisiológica, en el partido de Tres Arroyos-Bs As	16
Figura 6. Localización y características de resistencia de las poblaciones de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> utilizadas en el presente trabajo de tesis	19
Figura 7. A) Selección y conteo de semillas, B) semillas de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> y C) caja de Petri subdividida con las cuatro poblaciones testeadas	20
Figura 8. Germinación acumulada de las poblaciones de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 5/15°C. G _{max} : germinación máxima y TG ₅₀ : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)	22
Figura 9. Germinación acumulada de las poblaciones de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20°C. G _{max} : germinación máxima y TG ₅₀ : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)	23
Figura 10. Germinación acumulada de las poblaciones de <i>L. perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i> con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 15/25°C. G _{max} : germinación máxima y TG ₅₀ : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)	23

Figura 11. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de **A)** 20/30 °C y **B)** 25/35 °C. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)24

Figura 12. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=0$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)25

Figura 13. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,2$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)25

Figura 14. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,4$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)26

Figura 15. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,8$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)26

Figura 16. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-1,2$ MPa. G_{max} : germinación máxima y por TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$)27

Figura 17. Peso de mil semillas de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa). Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas ($p > 0,05$) según el test de LSD.....28

ABREVIATURAS

ACCasa: acetyl coenzyme A carboxylase

ALS: acetolactate synthase

G_{max}: Germination maximum

MIM: Integrated Weed Management

Pb1: Population of *L. perenne* ssp. *multiflorum* - susceptible to herbicides

Pb2: Population of *L. perenne* ssp. *multiflorum* - resistant to glyphosate

Pb3: Population of *L. perenne* ssp. *multiflorum* - resistant to ALS and ACCase inhibitors

Pb4: Population of *L. perenne* ssp. *multiflorum* - resistant to glyphosate and ALS and ACCase inhibitors

TG₅₀: germination rate of 50% of the population evaluated.

De la presente tesina se presentaron los siguientes trabajos a congreso:

- **Carreño Salvador, S.**, Chantre, G. R., Sabbatini, M. R., Gigón, R., Yannicari, M., Longás M. M. (2023). Germinación de poblaciones de *Lolium* sp. con diferentes resistencias a herbicidas. IV Congreso Argentino de Malezas (ASACIM). 14 y 15 de septiembre de 2023, Mar del Plata, Argentina. Pp. 130-131.
- **Carreño Salvador, S.**, Chantre, G. R., Sabbatini, M. R., Gigón, R., Yannicari, M., Longás M. M. (2023). Germinación de poblaciones de *Lolium* sp. resistentes a herbicidas bajo un gradiente hídrico. IV Congreso Argentino de Malezas (ASACIM). 14 y 15 de septiembre de 2023, Mar del Plata, Argentina. Pp. 132-133.

RESUMEN

Lolium perenne ssp. *multiflorum* (Lam) Husnot, conocido como raigrás (*ryegrass*) es una especie otoño-inverno-primaveral perteneciente a la familia de las Poáceas. Se encuentra distribuida en todo el mundo, ya sea como cultivada dado sus diversos usos (pastura, césped, etc.) o como maleza de cultivos de invierno. Actualmente, en Argentina es una de las malezas más difíciles de controlar por haber desarrollado diversas resistencias a herbicidas de diferentes modos de acción. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la germinación de poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistencias a herbicidas bajo un gradiente de condiciones hídricas y de temperatura. Para tal fin se realizaron dos experimentos en simultaneo utilizando cuatro poblaciones de raigrás: Pb1 (susceptible a herbicidas); Pb2 (resistente a glifosato); Pb3 (resistente a inhibidores de ALS y ACCasa) y Pb4 (resistente a glifosato y a inhibidores de ALS y ACCasa). En ambos ensayos se testearon semillas post maduras cosechadas en diciembre de 2022. En el primer ensayo, las semillas se sometieron a temperaturas alternas (5/15, 10/20, 15/25, 20/30 y 25/35 °C) y en el segundo a potenciales osmóticos de $\Psi=0$; -0,2; -0,4; -0,8 y -1,2 MPa a 10/20 °C, y se incubaron en ambos casos bajo un fotoperíodo de 12/12 h durante 15 días. La germinación se contabilizó diariamente y se calcularon luego los valores de germinación máxima y la tasa de germinación media. En ambos experimentos, los resultados indicaron que la población Pb4 mostró las diferencias más marcadas en comparación con las otras poblaciones estudiadas, manifestando valores más bajos en los parámetros de G_{max} y TG_{50} . Estos resultados plantean nuevos interrogantes acerca de si las diferencias observadas entre esta población y el resto se debe a un costo biológico vinculado con la resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de la ALS y de la ACCasa. Estas diferencias también podrían deberse a factores morfo-fisiológicos de la semilla como diferentes grosores de las cubiertas o a un efecto materno ligado a las condiciones ambientales donde se desarrollaron las plantas que les dieron origen.

INTRODUCCIÓN

Las malezas

Las arvenses son plantas sin valor económico que crecen en hábitats frecuentemente disturbados por la actividad humana sin que sean cultivadas con deliberación (Blanco & Leyva, 2007). Cuando crecen en lugares donde no se las desea se las denomina “maleza” (Salisbury, 1961). Por lo tanto, el hecho de que una planta sea considerada maleza depende estrictamente del enfoque de la actividad humana. En la naturaleza no existen plantas malezas y desde un punto de vista botánico o taxonómico, no es posible caracterizar a las especies vegetales como malas (Doll & Gómez, 1989; Labrada & Parker, 1996; Ziska *et al.*, 2011). Sin embargo, desde el punto de vista agronómico las malezas son perjudiciales por dificultar el crecimiento y desarrollo de los cultivos al competir por luz, agua y diversos nutrientes. A su vez, pueden albergar patógenos e insectos perjudiciales para los cultivos y muchas especies generan alelopatía, liberando compuestos químicos al medio inhibiendo el crecimiento y desarrollo de otras plantas. Consecuentemente, la presencia de malezas entre las especies cultivadas afecta la producción por reducir su calidad y/o cantidad e incrementar los costos de producción. Por ejemplo, el efecto de las malezas sobre diversos cultivos anuales puede generar pérdidas que varían entre 30 a más de un 60% en el rendimiento (Díaz Sánchez, 1992). Las malezas se caracterizan por presentar numerosos atributos que contribuyen a su supervivencia y reproducción en los agroecosistemas. Entre las estrategias adaptativas que han desarrollado, se encuentran (Baker, 1974):

- Las semillas pueden germinar en múltiples ambientes.
- La germinación ocurre de manera escalonada en el tiempo y las semillas poseen gran longevidad.
- Experimentan un crecimiento vegetativo rápido, favoreciendo la competencia por recursos y alcanzan el estado reproductivo en un corto período de tiempo.
- Suelen presentar un crecimiento indeterminado, por lo que la producción de semillas ocurre de manera continua mientras las condiciones ambientales lo permitan.

- Poseen un elevado porcentaje de autogamia, lo que implica multiplicar combinaciones hereditarias de probado valor adaptativo a las condiciones ecológicas particulares de un sitio (Fernández *et al.*, 2014).
- Cuando la polinización es alógama, no requieren de polinizadores específicos.
- Posibilidad de producir un gran número de semillas frente a condiciones favorables.
- Los propágulos poseen adaptaciones para su dispersión a corta y a larga distancia.
- Presentan doble modo de reproducción en las especies perennes. En la multiplicación asexual, las estructuras vegetativas que se fragmentan y originan nuevos individuos le otorgan a la especie una elevada capacidad de colonizar y expandirse rápidamente y un alto potencial de supervivencia (Fernández *et al.*, 2014).
- Presenta habilidades competitivas interespecíficas especiales (crecimiento en roseta, alelopatía, etc.).

De las casi 300.000 especies de plantas ubicadas en la Clase Angiospermae (división Tracheophyta, subdivisión Spermopsida) descritas mundialmente, se sabe que alrededor de unas 30.000 se catalogan como malezas y están comprendidas en su mayoría en las familias: Amarantáceas, Asteráceas, Convolvuláceas, Brasicáceas, Cyperáceas, Queenopodiáceas, Euforbiáceas, Poáceas Fabáceas, Malváceas, Marantháceas, Polygonáceae, y Solanáceas (Mazparrote & Delascio, 1998).

Manejo de malezas

Desde los inicios de la agricultura los problemas que generan las malezas sobre la producción de los cultivos han promovido diversas estrategias para manejarlas. Inicialmente el control de las mismas se llevaba a cabo mediante la remoción manual, posteriormente se comenzó con el uso de instrumentos de labranza tales como azadones primitivos (6000 a. C.) y también recurriendo a ayuda de los animales (1000 a. C.; Heap, 2016).

Con la invención de la maquinaria agrícola se comenzaron a utilizar implementos para la remoción de las malas hierbas, ya sea cortando o descalzando las plántulas emergidas

(Mohler, 2004; Chicouene, 2007). El momento en que se realizan las operaciones de control mecánico es crítico, ya que hay estadios del ciclo de vida en el que la especie de maleza resulta más susceptible, por lo que dicho control es más efectivo. Sin embargo, se debe tener en cuenta el estado en el que se encuentra el cultivo para que las operaciones no le provoquen daños. El uso de estas herramientas puede combinarse con otros métodos para aumentar su eficiencia (Mohler, 2004).

Después de la Segunda Guerra Mundial se comenzó con la producción y venta de herbicidas, es decir productos químicos utilizados para eliminar plantas indeseables (Heap, 2016). Luego de ingresar al vegetal, la molécula de herbicida se une con algún constituyente de la planta desencadenando una catarsa de eventos fisiológicos que, en el mejor de los casos, ocasiona la muerte del individuo. Al sitio donde ocurre este primer evento bioquímico o biofísico se denomina mecanismo de acción (Fernández *et al.*, 2014). Los herbicidas se pueden clasificar de muchas maneras, una de ellas es por su familia química, la cual se basa en la composición de los diferentes ingredientes activos usados como herbicidas. Consecuentemente, los herbicidas dentro de una familia química presentan propiedades químicas similares y generalmente el mismo modo de acción (Fernández *et al.*, 2014).

Hoy en día, en los sistemas de cultivo moderno, los herbicidas son el método más utilizado para el control de las malezas debiéndose, entre otras cosas, a las siguientes razones (Menéndez, 1997; Bastida & Menéndez, 2001):

- Eficacia y fiabilidad: por lo general, los herbicidas ofrecen un control casi completo sobre un amplio abanico de especies indeseadas, a la vez que resultan prácticamente inocuos para los cultivos que protegen.
- Facilidad y rapidez de manejo.
- Rentabilidad económica: si se realiza una buena elección y aplicación del producto químico, el costo por unidad de superficie es menor que cualquier otro método de control. Es menester recalcar que este ítem es dependiente del escenario económico en curso.
- Versatilidad: posibilitan la elección del momento de control de malezas dado que se pueden utilizar tanto en pre-emergencia como en post-emergencia del cultivo.

Resistencia a herbicidas

Si bien el control químico con herbicidas es muy efectivo, bajo un uso desmedido y reiterado, las poblaciones de malezas pueden desarrollar resistencia. El concepto de resistencia hace referencia a la habilidad hereditaria de un individuo a sobrevivir a la aplicación de un herbicida a la dosis agronómica, a la cual era originalmente susceptible (WSSA, 1998). Es un proceso evolutivo, una planta no cambia de ser susceptible a resistente, sino que la proporción de individuos resistentes dentro de la población aumenta a lo largo del tiempo por la presión de selección que ejerce el herbicida. Esto ocurre por la repetida aplicación de herbicidas que actúa como filtro: elimina a los individuos susceptibles de la población mientras que los resistentes sobreviven y con las subsiguientes generaciones van incrementando en número (Ríos, 2005).

El fenómeno de la resistencia puede complejizarse, como cuando es conferida por más de un mecanismo de acción, y pueden brindar insensibilidad a varios herbicidas. Es así, que surgen los conceptos de resistencia cruzada y resistencia múltiple (AAPRESID REM, 2014). La resistencia cruzada es cuando una población es resistente a dos o más herbicidas que actúan en el mismo sitio de acción. La resistencia múltiple ocurre cuando la población es resistente a dos o más herbicidas que actúan en diferente sitio de acción (Reisman-Berman *et al.*, 1991). Dependiendo del tipo de resistencia, la maleza presentará un patrón específico de tolerancia a herbicidas, el que podrá variar desde un alto grado de resistencia a compuestos de una misma familia química, a una moderada resistencia a un amplio espectro de herbicidas.

Los mecanismos que podrían explicar la resistencia a herbicidas de las malezas son dos:

- Resistencia del sitio de acción: el mecanismo de acción de un herbicida es generalmente una proteína específica (enzima) que cumple una función clave en algún proceso metabólico de la planta cuyo bloqueo resulta letal. Existen dos tipos de resistencias del sitio de acción: uno se genera cuando ocurre una mutación puntual en el gen que codifica a dicha proteína blanco modificándola. De esta manera el herbicida no se puede unir a ella y, por ende, no puede ejercer su efecto. El otro tipo de resistencia se da cuando se expresan en elevada cantidad los sitios de acción del herbicida, por lo que, para saturarlos y generar el efecto deletéreo en la planta, habría que incrementar notablemente la dosis de producto (Fischer, 2005).

- Resistencia fuera del sitio de acción: para que el herbicida pueda ejercer el efecto letal sobre las plantas, el mismo tiene que acumularse en una determinada concentración en su mecanismo de acción. Cualquier factor que disminuya el ingreso o el movimiento del herbicida en la planta provocará una disminución de la concentración del mismo en el sitio de acción, y por ende impedirá su efecto letal sobre la planta. Alteraciones en la absorción y translocación de herbicidas, detoxificación metabólica y secuestro de herbicidas en lugares específicos, son algunos ejemplos (De Prado & Cruz-Hipólito, 2005).

En el mundo existen alrededor de 500 biotipos de plantas resistentes a herbicidas en 270 especies de malezas diferentes (WordwideScience.org). En Argentina se conocen 22 especies de malezas diferentes resistentes, 11 poseen resistencia al glifosato, cuatro a graminicidas, cuatro a inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS), una a hormonales y dos presentan resistencias múltiples (AAPRESID REM, 2021; Fig. 1).

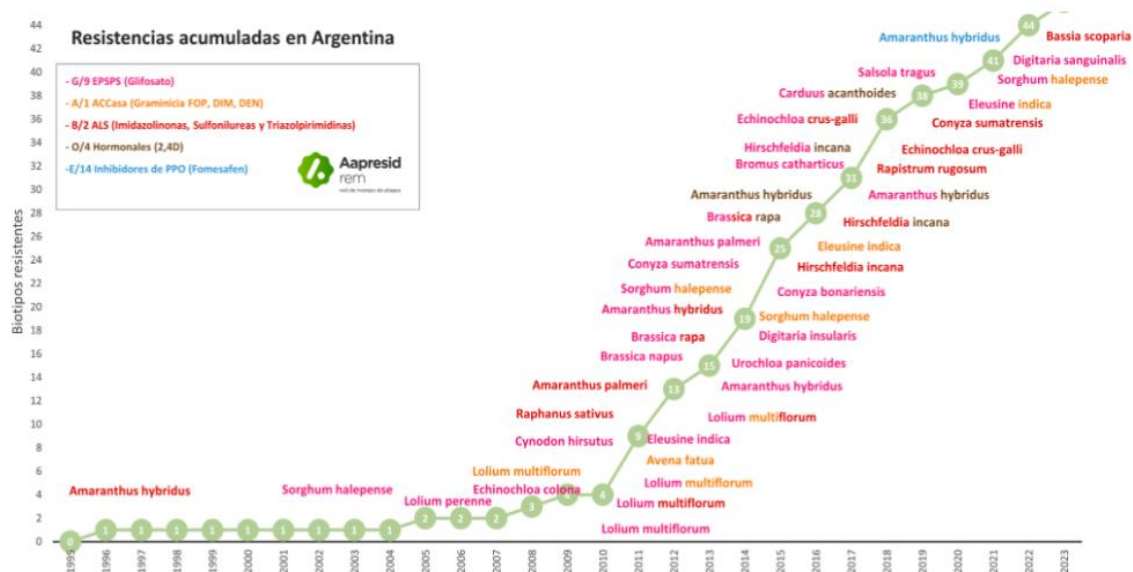


Figura 1. Evolución de las malezas resistentes a herbicidas en Argentina, AAPRESID REM 2021.

Lolium perenne ssp. multiflorum

Una de las malezas más problemáticas en cuanto a su resistencia a herbicidas tanto a nivel mundial como en la Argentina es *L. perenne ssp. multiflorum* (Lam) Husnot. Esta especie se caracteriza por ser la que más mecanismos de resistencia a diferentes modos de acción de herbicidas posee en el mundo (AAPRESID REM, 2023; Fig. 2). En nuestro país es conocida como “raigrás” y se han citado biotipos resistentes a herbicidas inhibidores de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS-glifosato), de la

acetohidroxiácido sintasa también conocida como acetolactato sintasa (ALS-sulfonilureas) y de la acetilCoA carboxilasa (ACCase- FOP, DEN y DIM; AAPRESID REM, 2023). Dentro de los atributos que presenta *L. perenne* ssp. *multiflorum* que explican la rapidez con que evoluciona su resistencia a herbicidas se encuentra la alogamia, la alta producción de semillas y la baja longevidad de las semillas en el suelo (Gigón *et al.*, 2017).

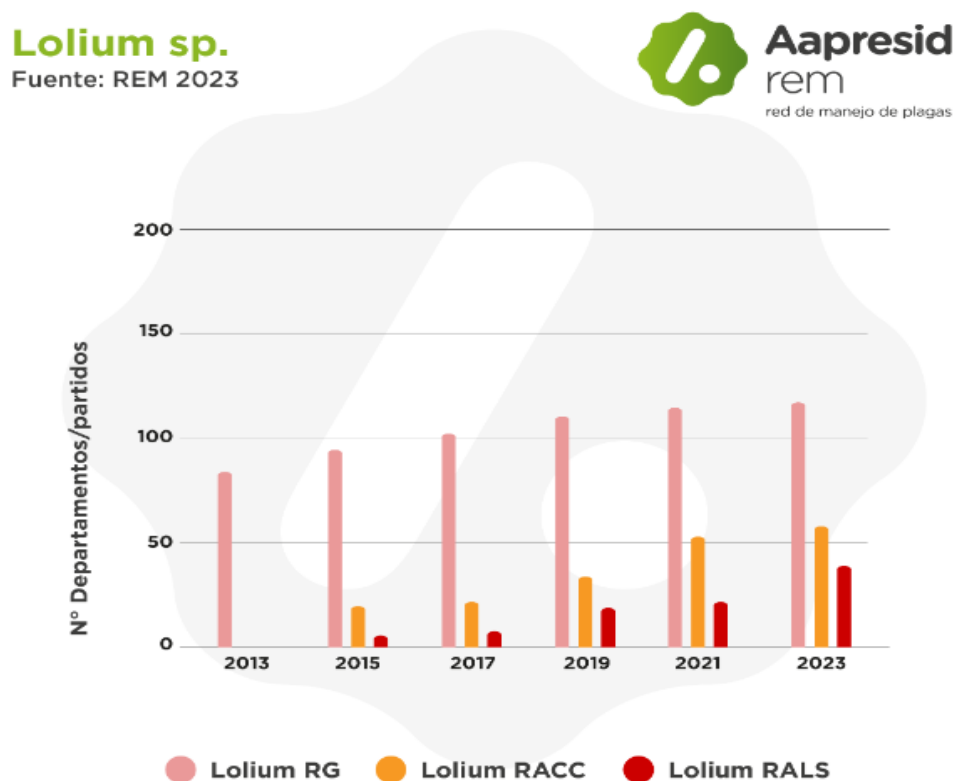


Figura 2. Cantidad de departamentos en Argentina con presencia de *L. perenne* ssp. *multiflorum* resistente a distintos herbicidas.

Lolium perenne ssp. *multiflorum* es una especie anual – perenne con un ciclo de producción Otoño-Inverno-Primaveral perteneciente a la familia de las Poáceas. Es alógama de polinización anemófila. Presenta un porte erecto o semirastrero según el estadio, la densidad y la competencia interespecífica (Vigna *et al.*, 2021). Su altura varía desde los 10 hasta los 80 cm, sus hojas poseen prefoliación convoluta, lígula membranosa y pequeñas aurículas. A campo, se distingue fácilmente por ser glabra, por su brillante cara abaxial y la base rojiza purpura de sus macollos (Fig. 3B). La inflorescencia de esta especie es una espiga dística terminal que puede portar de 20 a 30 espiguillas de diez flores o más cada una (Caro *et al.*, 1978; Inda Aramendía, 2005; Fig. 3C).



Figura 3. Distintos estadios fenológicos de *L. perenne* ssp. *multiflorum*. **A)** Plántula (estado de coleoptile), **B)** macollaje y **C)** floración-fructificación.

La perpetuación del raigrás depende casi exclusivamente de la producción de semillas. Dichas semillas presentan dormición fisiológica parcial al momento de la dispersión primaria despertando tras un periodo de post-maduración durante verano (Lodovichi & Yannicari, 2018). Posteriormente, emerge y transita su etapa vegetativa durante el otoño e invierno, florece durante la primavera y fructifica hasta el verano (Supiciche, 2017). Por ende, en el sur de la provincia de Buenos Aires las semillas del banco del suelo posmaduradas germinan con las primeras lluvias de febrero-marzo (Steadman *et al.*, 2003). Estudios realizados en el Sudoeste Bonaerense (SOB) indican que alrededor del 80% de los nacimientos totales en el año se alcanzan en el mes de mayo (Gigón *et al.*, 2017; Fig. 4). El resto de las semillas del banco permanecen viables conformando un banco de semillas transitorio (Gigón *et al.*, 2017). Al principio, si bien las plántulas poseen una tasa de crecimiento baja hasta que se expande la cuarta hoja, las condiciones de humedad y temperatura del suelo imperantes en otoño, suelen contribuir a un rápido crecimiento de las plántulas. Luego, al comenzar el macollaje aumenta el ritmo de crecimiento, pero durante el invierno las bajas temperaturas provocan su permanencia en este estado (Yannicari & Acciaresi, 2013). Como la tasa de crecimiento de las plantas es dependiente de las temperaturas, la misma aumenta gradualmente a medida que se acerca la primavera. En el SOB, el periodo de encañazón ocurre desde los meses de agosto y septiembre; posteriormente, a partir de mediados de la primavera, ocurre la floración (Gigón *et al.*, 2017). A fines de la primavera y comienzo del verano comienza la dispersión de semillas, habiéndose encontrado ejemplares de hasta 12000 semillas por planta (Pop *et al.*, 2010). Sin embargo, las producciones en la región pampeana son de 1500 a 7500 semillas por planta (Yannicari *et al.*, 2016). A partir de este momento se va conformando el banco de semillas en el suelo, el cual posee una muy baja

longevidad ya que las semillas no sobreviven más de dos años en el suelo (Vigna *et al.*, 2021).

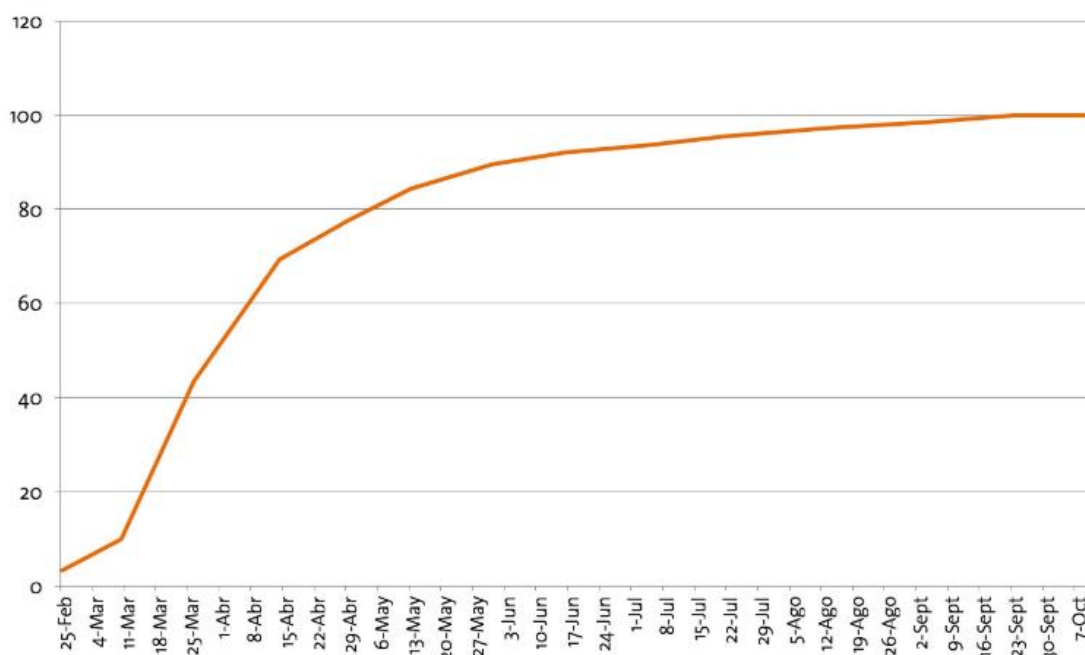


Figura 4. Dinámica de emergencia de *L. perenne* ssp. *multiflorum* expresado como, porcentaje acumulado de plántulas/m². Extraído de Gigón *et al.*, 2017.

De lo expuesto se evidencia porqué el raigrás es una maleza problemática que afecta principalmente el barbecho y el crecimiento de los cultivos de invierno. Aunque, también puede intervenir en los barbechos de siembras tempranas de cultivos de verano.

El raigrás compite eficientemente con los cultivos causando importantes disminuciones en los rendimientos. Esto se debe principalmente a sus características, las que incluyen una elevada adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Lodovichi, 2018). Estudios realizados por Liebl & Wors (1987) indican diferentes impactos sobre el cultivo de trigo y cebada, históricamente se habla de disminuciones del rendimiento de 4,2% cada 10 plantas de raigrás por metro cuadrado. En el SOB, el raigrás es un problema que fue creciendo en la última década (Gigón *et al.*, 2017). A partir del año 2008 los relevamientos confirman su importancia registrándose su presencia en casi el 40% de los lotes de trigo (Vigna *et al.*, 2021; Fig.5). En esta zona, se demostró que alrededor de cincuenta plantas de raigrás por metro cuadrado lograron disminuir el rendimiento del cultivo de trigo en un 25% y el de cebada en aproximadamente en un 50%, la disminución del rendimiento no fue por efecto del tamaño de los granos sino por la reducción en el número de estos (Yanniccari *et al.*, 2016).



Figura 5. Lotes de trigo con alta infiltración de raigrás **A)** en macollaje y **B)** en madurez fisiológica, ambos en el partido de Tres Arroyos, Buenos Aires. Foto cedida por el Ing. Agr. Claudio Rubione.

Por lo general, el principal método de control utilizado para erradicar esta maleza es la utilización de herbicidas. Debido a la capacidad del raigrás para formar biotipos resistentes a estos productos, cada vez se dificulta más su control en los sistemas productivos. Por esta razón surge la necesidad de combinar y complementar diferentes prácticas de manejo con el objetivo de disminuir los daños que provoca sobre el rinde de los cultivos. Este tipo de manejo, donde se busca integrar métodos de erradicación tanto mecánicos, como biológicos, culturales y químicos, se conoce como manejo integrado de malezas (MIM).

Dentro de los métodos mecánicos encontramos técnicas que involucran el uso de maquinarias como el arado y rastras livianas, quemadas, eliminación manual, destructores de semillas en las cosechadoras, etc. Las técnicas de control biológico consisten en la utilización de enemigos naturales como hongos, insectos y bacterias a fin de controlar, erradicar o prevenir la población de una maleza indeseable. En cuanto a los métodos químicos, es importante tener en cuenta, más allá de la elección del producto a aplicar, realizar las aplicaciones en los momentos ideales, utilizando la dosis adecuada siguiendo las especificaciones dadas por el fabricante. Otro factor por considerar es la rotación de herbicidas y de modos de acción ya que ésta es una práctica que retrasa la evolución de la resistencia. Por último, dentro de los métodos culturales podemos encontrar la rotación de cultivos, el atraso o adelantamiento de las fechas de siembra, la elección de variedades de cultivos con alta capacidad competitiva, la reducción del espacio entre hileras y los cultivos de cobertura (Cherlinka, 2021).

Para poder planificar una adecuada estrategia de manejo de una maleza problema, como es el raigrás, es necesario conocer ciertos atributos fisiológicos. Estos, junto con las condiciones ambientales imperantes determinan el momento de la ejecución de las diferentes prácticas, así como su éxito o fracaso. Una de estas características es la germinabilidad de las semillas. El momento de germinación y, por ende, de emergencia de una determinada fracción de las semillas presentes en el banco del suelo, son un proceso fundamental (Gardarin *et al.*, 2011).

Germinación

La comprensión de la dinámica poblacional de emergencia de las malezas es clave para optimizar su manejo dado que el estado de plántula es el de mayor vulnerabilidad y, por lo tanto, es cuando los controles son más efectivos. Por esta razón se hace necesario predecir su ocurrencia en tiempo y espacio (Benech-Arnold & Sánchez, 1995).

La emergencia depende de la dormición, la germinación y la elongación del coleóptilo hasta que aparece en la superficie del suelo. De esta manera, todos aquellos factores ambientales que afecten a estos procesos, como la temperatura y la disponibilidad hídrica, también condicionarán la emergencia de las plántulas (Forcella *et al.*, 2000).

Para que una semilla seca y quiescente germine deben ocurrir una serie de eventos que comienzan con la imbibición y finalizan con la elongación de los ejes embrionales. El proceso involucra reactivación de la actividad metabólica, rediferenciación de los tejidos embrionales para movilizar las reservas que almacenan y actividad meristemática que resultará en el crecimiento. Debido a que la terminación de la germinación resulta en la pérdida de tolerancia a la desecación, este paso constituye un compromiso con el origen de la siguiente generación (Finkelstein, 2005). El fenómeno de la germinación se hace visible cuando la radícula traspasa las estructuras que rodean al embrión y se inicia con la imbibición de la semilla. De hecho, para que una determinada semilla germine debe haber en el medio, entre otros factores ambientales, un potencial agua que iguale o supere el mínimo potencial osmótico que permite la germinación (Bradford, 1990). Este valor varía tanto entre especies como dentro de una misma especie. Análogamente, las semillas poseen una ventana de temperaturas donde la germinación es factible, y existe una temperatura base y una máxima por debajo y por encima de las cuales la

germinación no ocurre (García-Huidobro *et al.*, 1982). Estos valores también pueden variar entre y dentro de una misma especie.

Como se mencionó anteriormente, conocer las proporciones y los momentos de flujo de emergencia nos permite optimizar el empleo de ciertas prácticas que logren disminuir o contrarrestar dicha germinación y emergencia, como lo son la rotación de cultivos con distintos ciclos de vida, el ajuste de las fechas de siembra y la aplicación de un herbicida pre-emergente. A partir del conocimiento de estos atributos ecofisiológicos se ha empezado a trabajar con modelos de dinámica de emergencias de malezas, cuya función es identificar el momento más probable en el que una maleza comienza a emerger (Myers *et al.*, 2004).

Posteriormente a la salida de dormición los factores ambientales que más influyen en la germinación son la temperatura y el agua, es decir que los mismos nos determinarán cuándo las semillas germinarán, a qué tasa lo harán y cuál será su porcentaje final de germinación (Dürr *et al.*, 2015). Por esta razón resulta importante el conocer en que rango de temperaturas y con qué disponibilidad de agua se producirá la germinación.

Por lo expuesto, el tema central de estudio de este trabajo de intensificación se basa en alcanzar un mayor grado de conocimiento acerca de los atributos ecofisiológicos de distintas poblaciones de raigrás que presentan resistencia diferencial a herbicidas.

OBJETIVOS

1. Evaluar la germinación de poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con distintas resistencias a herbicidas, bajo un gradiente de temperaturas alternadas.
2. Evaluar la germinación de poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diversas resistencias a herbicidas, bajo un gradiente de condiciones hídricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de la cátedra de Protección Vegetal y Manejo de Malezas del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Obtención de las semillas de *L. perenne* ssp. *multiflorum*

El material para este estudio fue cedido por Ramón Gigón y Marcos Yannicari. Las semillas utilizadas corresponden a cuatro poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistencias a herbicidas: (Pb1) susceptible a herbicidas; (Pb2) resistente a glifosato, pero susceptible a inhibidores de la ALS y ACCasa; (Pb3) resistente a inhibidores de ALS y ACCasa, pero susceptible a glifosato y (Pb4) con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa. Las semillas fueron recolectadas de distintos establecimientos del SOB, en diciembre del 2022 y almacenadas en bolsas de papel en condiciones de laboratorio ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) hasta el mes de abril de 2023 que fue cuando se inició el ensayo.

La Pb1 proviene de un establecimiento del partido de Coronel Pringles, la Pb2 de un lote del partido de Tres Arroyos y las poblaciones Pb3 y Pb4 son oriundas de distintos establecimientos del partido de Coronel Dorrego (Fig. 6).



Figura 6. Localización y características de resistencia de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* utilizadas en el presente trabajo de tesis.

Peso de mil semillas (P_{1000})

Previo al inicio de los ensayos se tomaron cinco muestras de 50 semillas de cada población y se pesaron con balanza analítica, para luego realizar las estimaciones pertinentes.

Diseño y procedimiento experimental

Se realizaron dos experimentos donde se utilizaron un total de 1200 semillas por población. En ambos casos se siguió un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro réplicas de 30 semillas cada una. Cada replica o unidad experimental consistió en una caja de Petri de 90 mm de diámetro dividida en cuartos de manera que las cuatro poblaciones estuvieran incubadas en el mismo contenedor (Fig. 7C). Las semillas se colocaron sobre dos hojas de papel de filtro Whatman No.1 y se humedecieron con seis ml de agua destilada (Experimento 1) o la solución pertinente (Experimento 2) para finalmente ser selladas con Parafilm. La germinación fue contabilizada diariamente durante 15 días. Al finalizar los ensayos, aquellas semillas que no germinaron se sometieron a una solución de ácido giberélico a altas concentraciones (1000 μ M), donde se evaluó la germinación durante 10 días a 20/30°C. Luego de este tiempo las semillas que germinaron fueron consideradas viables y las que no fueron sometidas al *crush test* (*forceps*; Borza *et al.*, 2007). Aquellas semillas que luego del *crush test* exudaron su contenido interior se consideraron no viables, aquellas que permanecieron intactas se calificaron como viables dormidas (Maity *et al.*, 2021).



Figura 7. A) Selección y conteo de semillas, B) semillas de *L. perenne* ssp. *multiflorum* y C) caja de Petri subdividida con las cuatro poblaciones testeadas.

Ensayos de germinación

Experimento 1: evaluación de la germinación bajo un gradiente de temperaturas alternadas.

Las semillas fueron incubadas en varias cámaras de germinación bajo un gradiente de temperaturas alternas (5/15, 10/20, 15/25, 20/30 y 25/35 °C) y un fotoperíodo de 12/12 h ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), durante 15 días.

Experimento 2: evaluación de la germinación bajo un gradiente de disponibilidad hídrica.

Para representar el gradiente de disponibilidad hídrica, las semillas se embebieron con soluciones de polietilenglicol (PEG 6000, CAS:5322-68-3; Sigma-Aldrich, *member of Merck KGaA*). El mismo se mezcló con agua destilada hasta alcanzar potenciales agua de $\Psi=0$ (agua pura, testigo); -0,2; -0,4; -0,8 y -1,2 MPa según Michel & Kaufmann, (1973), incubándose a 10/20 °C con un fotoperíodo de 12 h ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Las semillas incubadas en PEG se transfirieron a soluciones nuevas después de las primeras 24 h y, a partir de entonces, semanalmente (Ni & Bradford, 1992).

Determinaciones

Con los valores obtenidos en cada ensayo se estimó la germinación máxima alcanzada (G_{max} ; relación entre el número de semillas germinadas y las viables multiplicado por 100) y la tasa de germinación media (TG_{50} ; cantidad de días que tardaron en germinar el 50% de las semillas; Bradford, 1990). Ambos parámetros fueron calculados en función de las semillas viables.

Análisis estadístico

Los resultados de cada medición se expresaron como el promedio +/- el desvío estándar. Para las comparaciones de los parámetros estimados (P_{100} , G_{max} y TG_{50}) se utilizó la prueba de ANOVA seguido, en los casos donde los resultados fueron significativos ($p < 0,05$), de la prueba de comparación de medias LSD utilizando el software estadístico INFOSTAT®.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Experimento 1: evaluación de la germinación bajo un gradiente de temperaturas alternadas.

El rango térmico más bajo evaluado fue de 5/15°C y se observaron las germinaciones acumuladas para las diferentes poblaciones testeadas en la Fig.8. La Pb1 y la Pb2 presentaron los mayores valores de G_{max} (alrededor del 80%, sin diferencias significativas entre ambas, $p>0,05$). Estas poblaciones se diferenciaron de las restantes (Pb3 y Pb4, sin diferencias significativas entre ambas) quienes mostraron valores de G_{max} cercanos al 50% ($p=0,015$). Dado que los bajos valores de G_{max} de Pb3 y Pb4 no fue posible calcular para éstas el TG_{50} (Fig. 8).

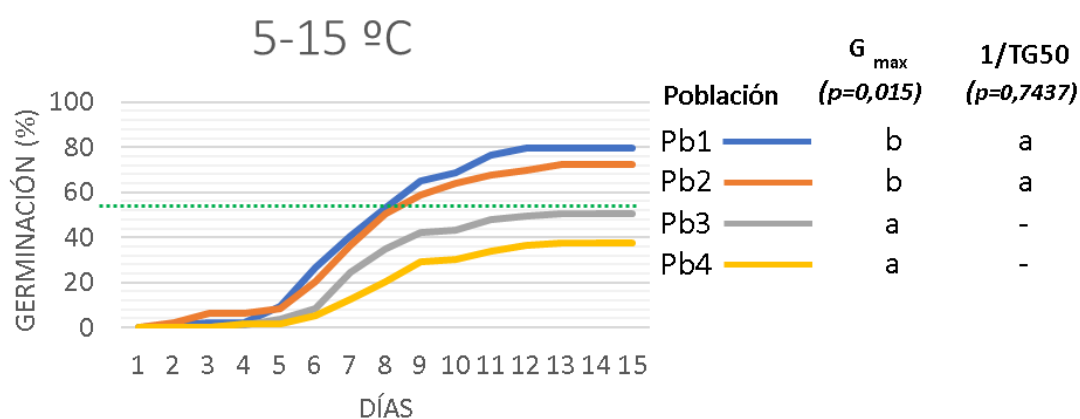


Figura 8. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistencias a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 5/15 °C. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de (LSD $p>0,05$).

Los siguientes valores de temperatura en el rango evaluado fueron 10/20 °C. En estas condiciones se pudo observar en G_{max} una diferencia significativa entre la Pb1 y la Pb4 ($p<0,05$; Fig. 9). La población susceptible alcanzó valores de G_{max} cercanos al 90% mientras que la variante con resistencia múltiple (ALS, ACCasa, Glifosato) rondó el 80%. Sin embargo, Pb2 y Pb3 no presentaron diferencias significativas entre ellas, ni tampoco con Pb1 y Pb4 ($p>0,05$). Con respecto a TG_{50} , no se observaron diferencias significativas entre las cuatro poblaciones ($p>0,05$).

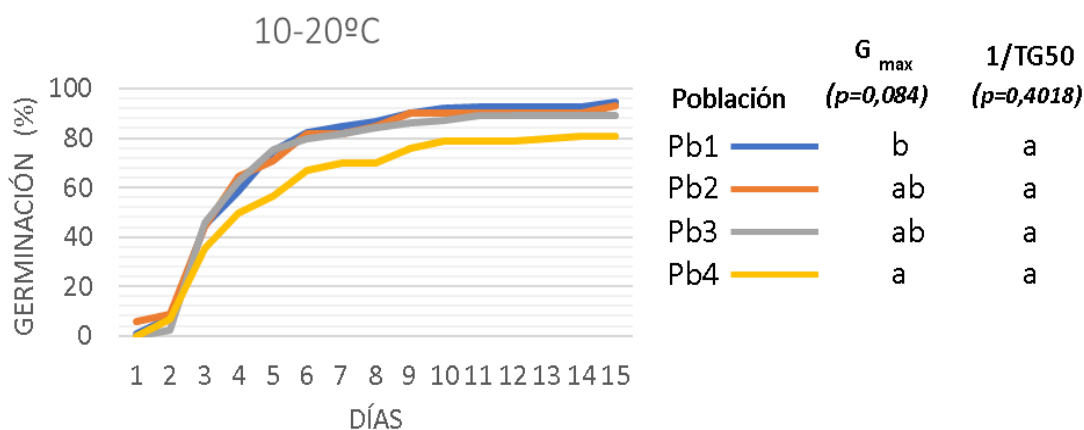


Figura 9. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p>0,05$).

Estos dos primeros sets de temperaturas podrían interpretarse como subóptimos. Las diferencias observadas en la germinación entre poblaciones son consistentes con las descritas por Vila-Aiub *et al.* (2005) para *Lolium rigidum*, donde las poblaciones resistentes a la ACCasa mostraron una dormición más profunda en comparación a las susceptibles (Fig. 8 y 9).

En las temperaturas de incubación de 15/25°C Pb1 y Pb2 mostraron diferencias significativas en la germinación máxima con respecto a Pb3 y Pb4 ($p<0,05$). Pb1 y Pb2 igualaron sus valores de G_{max} , pero se diferenciaron de las otras dos poblaciones, acercándose al 100%. Las otras poblaciones presentaron valores entre el 70 y 80% para Pb4 y Pb3, respectivamente, diferenciándose también entre ellas ($p<0,001$; Fig. 10). Sin embargo, TG_{50} solamente fue inferior para la Pb4 ($p>0,05$).

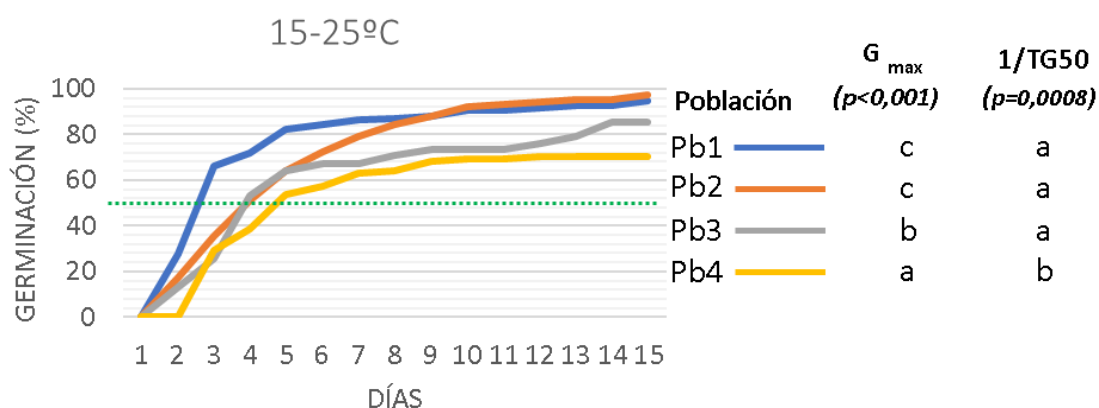


Figura 10. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 15/25 °C. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p>0,05$).

Finalmente, bajo los dos sets de temperaturas superiores que se utilizaron en este ensayo (20/30 °C y 25/35 °C), no se evidenciaron diferencias entre G_{max} o TG_{50} de las cuatro poblaciones evaluadas ($p>0,05$; Fig. 11 A, B). Salvo bajo 25/35 °C, donde la Pb1 presentó un menor TG_{50} .

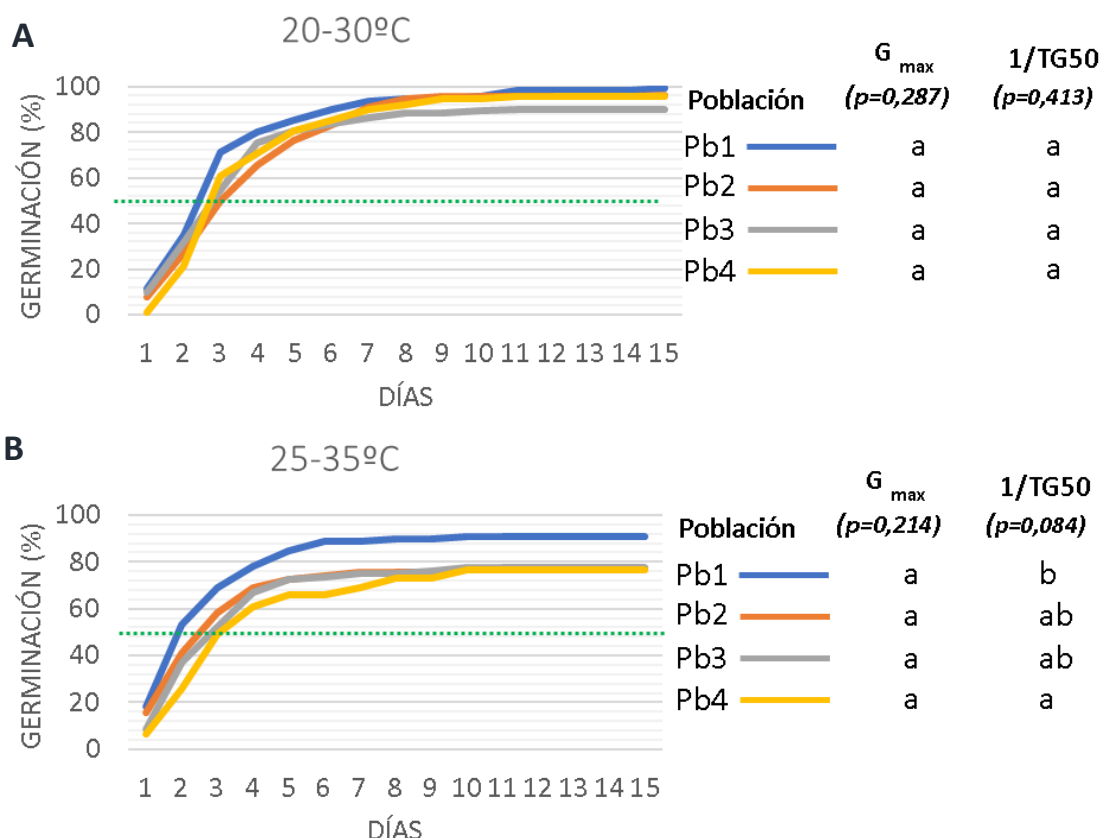


Figura 11. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de **A)** 20/30 °C y **B)** 25/35 °C. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media, letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p>0,05$).

Dados los resultados expuestos, el régimen óptimo de temperatura fluctuante para la germinación de todas las poblaciones testeadas fue de 20/30 °C (Fig. 11A).

Experimento 2: evaluación de la germinación bajo un gradiente de disponibilidad hídrica.

En la Fig. 12 se puede observar el comportamiento germinativo de las poblaciones evaluadas en condiciones ideales en cuanto a la disponibilidad hídrica ($\psi=0$ MPa). Tanto Pb1, como Pb2 y Pb3 mostraron una G_{max} cercana al 90% sin mostrar diferencias significativas entre ellas ($p>0,05$). En cuanto a Pb4, se observó una germinación máxima cercana al 80% que resultó ser estadísticamente significativa solamente en comparación

a Pb1. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en TG₅₀ entre las poblaciones evaluadas en esta condición de máxima disponibilidad hídrica ($p > 0,05$).

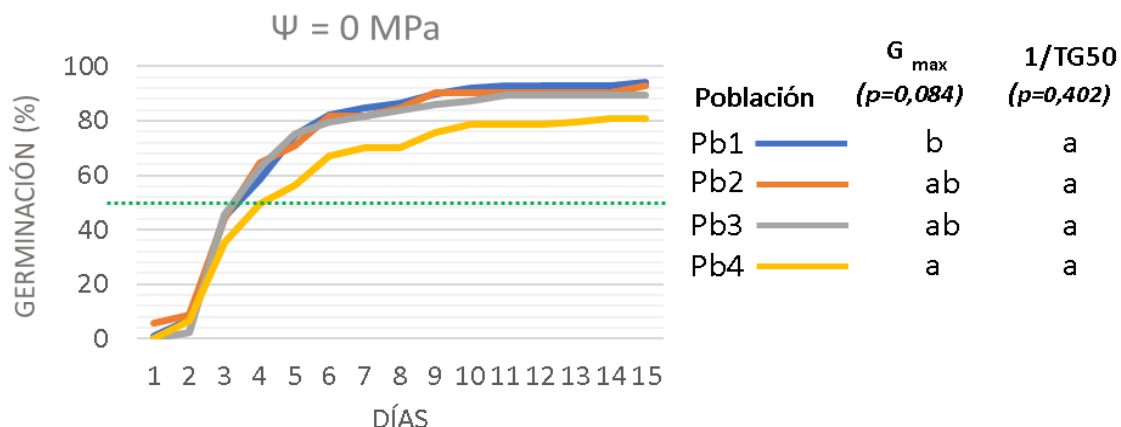


Figura 12. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=0$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG₅₀: tasa de germinación media. letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p > 0,05$).

Cuando el potencial hídrico utilizado para embeber a las semillas fue de $\psi=-0,2$ MPa, la población con múltiple resistencia (Pb4) presentó una G_{max} del 70%, que al igual que TG₅₀, fue significativamente menor que los valores alcanzados por las otras tres poblaciones que no presentaron diferencias entre sí ni en G_{max} (80%), ni para TG₅₀ (Fig. 13).

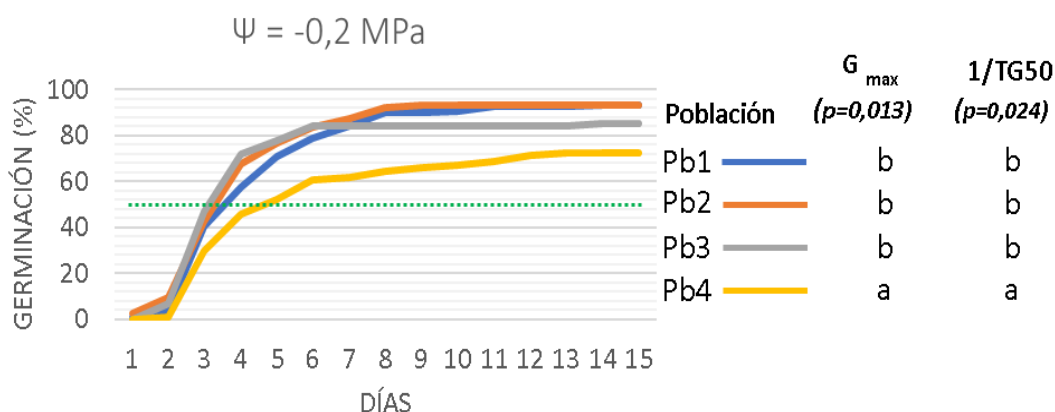


Figura 13. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,2$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG₅₀: tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p > 0,05$).

Bajo un $\psi=-0,4$ MPa se observó que Pb1 y Pb3 expresaron exactamente el mismo comportamiento germinativo presentando los mayores valores de G_{max} superando el 80% (Fig. 14). Por su lado, Pb2 y Pb4 presentaron valores menores de G_{max} , entre 70-80%

respectivamente, que fueron estadísticamente significativos entre sí y también con respecto a Pb1 y Pb3 ($p=0,001$; Fig. 14). Los valores de TG_{50} observados son similares para Pb1 y Pb3, menores para Pb2 mientras que Pb4 no presentó diferencias significativas respecto a las otras tres poblaciones estudiadas (Fig. 15).

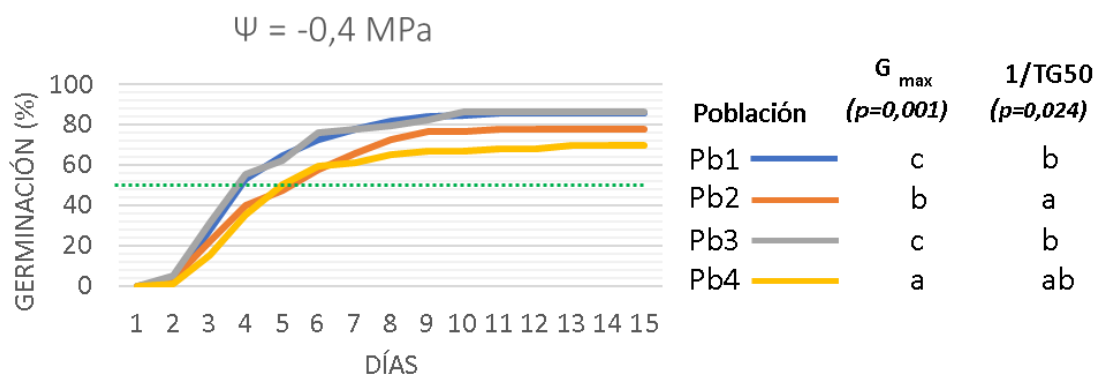


Figura 14. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,4 \text{ MPa}$. G_{\max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p>0,05$).

Cuando se evaluó la germinación bajo un potencial hídrico de $\psi=-0,8 \text{ MPa}$ se observó un comportamiento similar entre todas las poblaciones con una G_{\max} alrededor del 50%, y no pudo calcularse el valor de TG_{50} ($p>0,05$; Fig. 15).

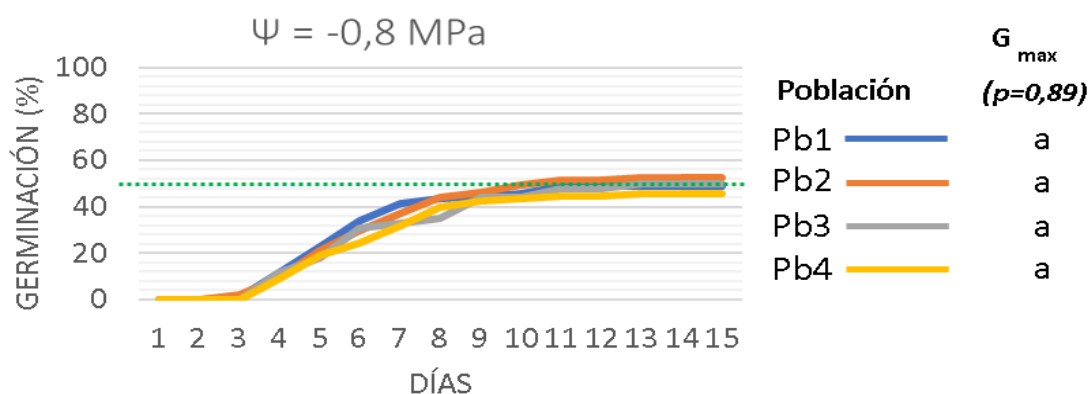


Figura 15. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-0,8 \text{ MPa}$. G_{\max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según la prueba de LSD ($p>0,05$).

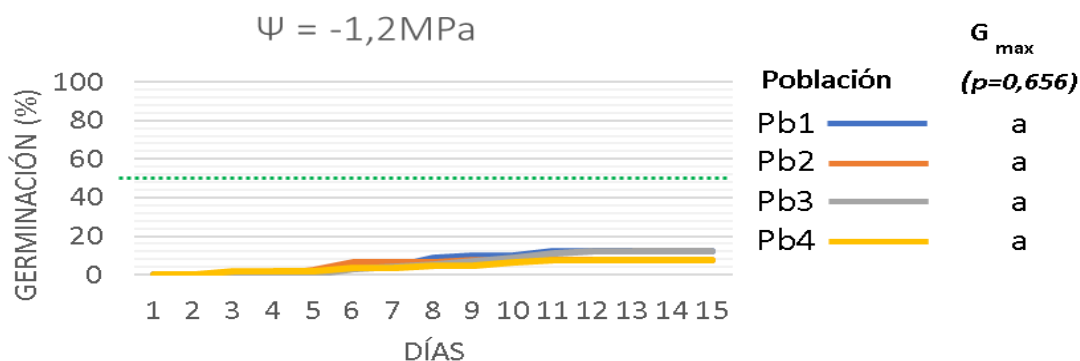


Figura 16. Germinación acumulada de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa) incubadas a una temperatura de 10/20 °C y un $\psi=-1,2$ MPa. G_{max} : germinación máxima y TG_{50} : tasa de germinación media. Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas según el test de LSD ($p>0,05$).

El P_{1000} varió en función de la población: Pb1: 1,96 g (a); Pb2: 2,05 g (ab); Pb3: 2,18 g (b) y Pb4: 2,49 g (c) ($p<0,01$; Fig. 17). En líneas generales pudo observarse que a medida que se presentó más resistencia aumentó el peso de las semillas. Este resultado concuerda con estudios previos que mostraron una correlación positiva entre el peso señal de *L. perenne* y la supervivencia a herbicidas, individualmente al pinoxaden (ACCasa-inhibidor) o al glifosato (EPSPS-inhibidor; Supiciche, 2020 Maity *et al.*, 2021).

Muchos pueden ser los factores a los que se pueden atribuir estas diferencias en el peso de las semillas. Esta característica del P_{1000} de Pb4 con respecto a las otras poblaciones podría ser una consecuencia ligada con la resistencia a herbicidas. Sin embargo, esta hipótesis no se puede verificar con la información con la que se cuenta hasta el momento. Otra posibilidad es que las diferencias observadas en el P_{1000} podrían estar relacionadas a cuestiones morfo-fisiológicas de la semilla como diferentes grosores de las cubiertas o a un efecto materno ligado a las condiciones ambientales donde las plantas que les dieron origen se desarrollaron.

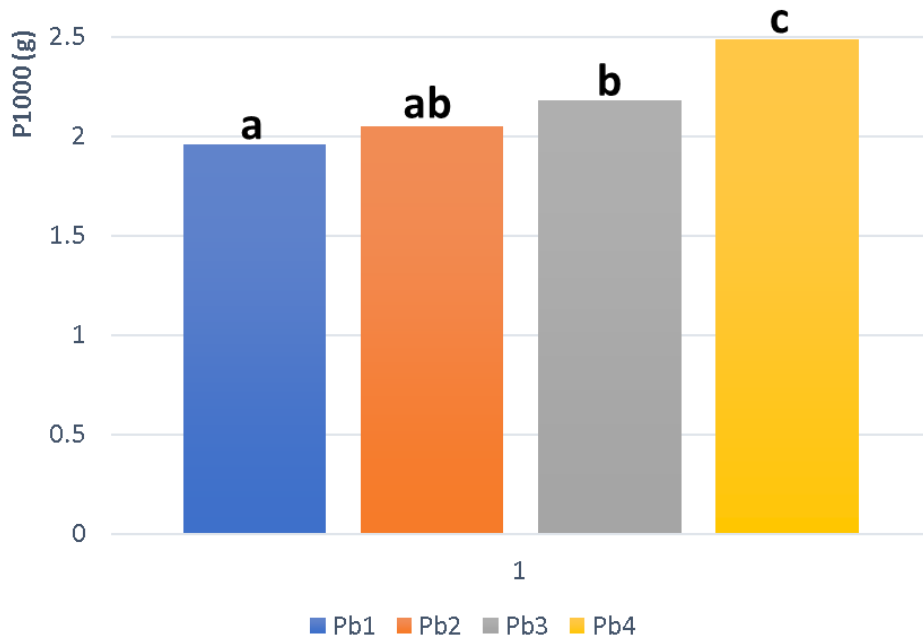


Figura 17. Peso de mil semillas de las poblaciones de *L. perenne* ssp. *multiflorum* con diferentes resistentes a herbicidas (Pb1: susceptible a herbicidas, Pb2: resistente a glifosato, Pb3: resistente a inhibidores de ALS y ACCasa y Pb4: con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de las ALS y ACCasa). Letras iguales entre poblaciones no manifiestan diferencias significativas ($p > 0,05$) según el test de LSD.

CONCLUSIONES

En líneas generales, se pudo observar que mientras la Pb1 presentó los mayores valores de G_{max} y TG_{50} , la Pb4 mostró valores menores para los mismos parámetros en ambos experimentos. Estas características notorias observadas en Pb4 en respuesta al estrés hídrico y al gradiente de temperaturas con respecto a las otras poblaciones plantean un nuevo interrogante acerca de si las diferencias observadas están asociadas a un costo biológico vinculado con la resistencia múltiple.

Para responder estos nuevos interrogantes son necesarios futuros ensayos que impliquen cultivar a las poblaciones bajo las mismas condiciones ambientales a fin de disminuir las variables de cada experimento.

Dado que el comportamiento de germinación y, por lo tanto, los patrones de emergencia de las distintas poblaciones de la misma especie están influidos por una amplia gama de factores internos, tanto de las plantas madres como de las semillas, y ambientales, es difícil generalizar y, por ende, predecir las características del proceso germinativo. Sin embargo, el conocimiento de las similitudes y diferencias de las características morfo-fisiológicas tempranas de las poblaciones problemáticas de malezas en una región determinada, considerando la resistencia a herbicidas, es una ayuda vital para optimizar las estrategias de manejo y reducir el uso de productos agroquímicos.

AGRADECIMIENTOS

En esta etapa tan importante y culmina quisiera agradecer:

A la Dra Maria De Las Mercedes Longas “mer” por guiarme en este trabajo de intensificación, por ser mi directora de beca de estímulo al estudio y por brindar siempre su apoyo.

A Selva y a Claudio, por ser mis tutores y por su apoyo en este trabajo de intensificación.

A la Universidad Nacional Del Sur y al Departamento De Agronomía y a todos los docentes que brindaron su conocimiento y tiempo para mi formación.

A mis compañeros de docencia que me enseñaron y acompañaron en esta etapa.

A mi Mama y a mi Papa por apoyarme, ayudarme y brindarme la posibilidad de estudiar.

A mi hermana por ser una compañera indispensable en esta etapa.

A mis amigos tanto los que encontré durante la carrera como los que me acompañan desde la secundaria y antes, que siempre me apoyaron y fueron un pilar muy importante durante esta etapa.

BIBLIOGRAFÍA

- AAPRESID REM (2014). [https://www.aapresid.org.ar/blog/conceptos-basicos-de-resistencia-a-herbicidas#:~:text=El%20t%C3%A9rmino%20resistencia%20cruzada%20hace,modo%20de%20acci%C3%B3n%20\(9\).](https://www.aapresid.org.ar/blog/conceptos-basicos-de-resistencia-a-herbicidas#:~:text=El%20t%C3%A9rmino%20resistencia%20cruzada%20hace,modo%20de%20acci%C3%B3n%20(9).)
- AAPRESID REM (2021) <https://www.aapresid.org.ar/blog/malezas-continua-avance-resistencias>
- AAPRESID REM. (2023). Mapa de malezas. https://www.aapresid.org.ar/rem-malezas/mapamalezas/#tipo_mapa=abundancia_maleza&maleza%5B%5D=nabosrg&anosMapaAbundancia%5B%5D=2019&anosMapaAbundancia%5B%5D=
- AAPRESID. (2023). Resultados encuesta a socios campaña 22-23. <https://www.aapresid.org.ar/source/REM/resultadosencuesta.pdf>
- Baker, H.G. (1974). The Evolution of Weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5: 1-24. DOI:10.1146/annurev.es.05.110174.000245
- Bastida, F. & Menéndez, J. (2001). Producción integrada y manejo integrado de malas hierbas. En: *Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI*.
- Blanco, Y. & Leiva, A. (2007). Las arvenses en el agroecosistema y sus beneficios agroecológicos como hospederas de enemigos naturales. *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no. 2, p. 21-28.
- Benech-Arnold, R.L. & Sánchez, R.A. (1995). Modeling Weed Seed Germination. En: *Seed development and germination* (eds. KIGEL J & GALILI G), 545-566. CRC press, 270 Madison Avenue, New York, United States.
- Bradford, K. J. (1990). A water relations analysis of seed germination rates. *Plant physiology* 94(2): 840-849. DOI: 10.1104/pp.94.2.840
- Borza, J.K.; Westerman P.R. & Liebman, M. (2007). Comparing estimates of seed viability in three foxtail (*Setaria*) species using the imbibed seed crush test with and without additional tetrazolium testing. *Weed Technology* 21 (2), 518-522. DOI: 10.1614/WT-06-110

Caro, J.; Sánchez, E. & Elisetch, M. (1978). Las especies de *Lolium* (Gramineae) de la flora argentina. *Dominguezia* 1:1-23.

Cherlinka, V. (2021). Agricultura Intensiva: Propiedades e impacto ambiental. <https://eos.com/es/blog/agricultura-intensiva/>

Chicouene, D. (2007). Mechanical destruction of weeds. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 27: 19-27.

De Prado R. & Cruz-Hipólito, H. (2005). Mecanismos de resistencia de las plantas a los herbicidas.

www.inia.org.uy/estaciones/la_estanzuela/webseminariomalezas/articulos/depradorafael.pdf

Díaz Sánchez, J. (1992). Efectos de las malezas en los cultivos y su control. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/31983/NR19594.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Doll, J. D. & Gómez, C. (1989). Principios básicos para el manejo y control de las malezas en los cultivos. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali. 59 pp

Dürr, C.; Dickie, J.B.; Yang, X.-Y. & Pritchard, H.W. (2015). Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: Contribution to a seed trait database. *Agricultural and Forest Meteorology*, 200: 222-232. DOI: 10.1016/j.agrformet.2014.09.024

Fernández, O.; Leguizamón, E.S.; Acciaresi, H.A.; Troiani, H.O. & Villamil, C.B. (2014). Malezas e Invasoras de la Argentina. Tomo I: Ecología y manejo. Bahía Blanca: Ediuns.

Fischer, G.; Shah, M.; Tubiello, F.N. & van Velhuizen, H. (2005). Socio-economic and climate change impacts on agriculture: an integrated assessment, 1990-2080. *Phil. Trans. Roy. Soc. B*, 360: 2067-2073. DOI:10.1098/rstb.2005.1744

Forcella, F.; Benech-Arnold, R.L.; Sanchez, R. & Ghersa, C.M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67: 123-139. DOI: 10.1016/S0378-4290(00)00088-5

García-Huidobro, J.; Monteith, J.L. & Squire, G. R. (1982). Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.) I. Constant temperature. *Journal of experimental botany* 33(2): 288-296. DOI: 10.1093/jxb/33.2.288

Gardarin, A. & Colbach N. (2011). How much of seed dormancy in weeds can be related to seed traits? *Weed Research* 55: 14-25. DOI:10.1111/wre.12121

Gigón, R.; Vigna, M. & Yannicari M. (2017). Raigrás. *L. perenne* ssp. *multiflorum*. Bases para su manejo en sistemas de producción. Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa Manejo de Malezas Problema; VII; 12-2017; 1-27.

Heap, I. 2016. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponible en: <http://www.weedscience.com>.

Inda-Aramendía, L. (2005). El género *Lolium*. Claves dicotómicas. *Revista de la Real Academia de Ciencias de Zaragoza*. 60: 143 - 155.

Labrada, R.; Casseley, C. & Parker, R. (1996). Manejo de malezas en países en desarrollo. FAO.1-378.

https://ia801306.us.archive.org/9/items/bub_gb_i7inikglZZEC/bub_gb_i7inikglZZEC.pdf

Liebl, R. & Worsham, A.D. (1987). Interference of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science* 35: 819-823.

Lodovichi, M. (2018). Modelado poblacional del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) en cultivos de trigo de la región semiárida. Tesis doctoral.

<https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/4432>

Lodovichi, M.V. & Yannicari, M. (2018). *Lolium perenne* L. En: Malezas e invasoras de la Argentina. Tomo III: historia y biología (Ed. Fernández, O.; Leguizamón, E. & Acciaresi, A.). 1ra ed. Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Ediuns. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Maity, A.; Singh, V.; Jessup, R. & Bagavathiannan, M. (2021). Seed traits correlate with herbicide resistance in Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*). *Pest Management Science* 77(6): 2756-2765. DOI 10.1002/ps.6304.

Mazparrote, S. & Delascio, F. (1998). Botánica. Editorial Biosfera, C. A. Caracas, Venezuela. 559 p.

Menéndez, J. (1997). Mecanismos de resistencia a herbicidas en biotipos de *Alopecurus myosuroides* Huds. Tesis Doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba.

Michel, B. E. & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glicol 6000. *Plant physiology* 51(5): 914-916. DOI: [10.1104/pp.51.5.914](https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914) Mohler, C. (2004). Mechanical management of weeds. En: *Ecological Management of Agricultural Weeds* (eds. Liebman, M; Mohler, CL y Staver, CP), 139-209. Cambridge University Press, Cambridge (UK).

Myers, M.; Curran, W.; Van Gessel, M.; Calvin, D.; Mortensen, D.; Majek, B.; Karsten, H. & Roth, G. (2004). Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science* 52: 913–919. DOI: [10.1614/WS-04-025R](https://doi.org/10.1614/WS-04-025R)

Ni, B.R. & Bradford, K.J. (1992). Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. *Plant Physiology* 98(3): 1057-1068. DOI: [10.1104/pp.98.3.1057](https://doi.org/10.1104/pp.98.3.1057).

Pop, M.; Sand, C.; Barbu, H.; Balan, M.; Grusea, A.; Boeriu, H.; Popa, A. (2010). Correlations between productivity elements in *Lolium perenne* L. species for new varieties resistant to drought. *Analele Universității din Oradea-Fascicula Biologie* 27: 183-185.

Reisman-Berman, O.; Kigel, J. & Rubin, B. (1991). Dormancy patterns in buried seed of *Datura ferox* L. *Can. J. Bot.* 69: 173-179. DOI: [10.1139/b91-025](https://doi.org/10.1139/b91-025).

Salisbury, E. (1961). *Weeds and Aliens*. Collins, Ed. College London.

Sánchez Díaz, Y. (1992). Efecto de rotación de cultivos y control de malezas sobre la dinámica de las malezas, crecimiento y rendimiento del cultivo del sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench). Ingeniería thesis, Universidad Nacional Agraria, UNA.

Steadman, K. J.; Crawford, A. D. & Gallagher, R. S. (2003). Dormancy release in *Lolium rigidum* seeds is a function of thermal after-ripening time and seed water content. *Functional Plant Biology* 30: 345-352. DOI: [10.1071/FP02175](https://doi.org/10.1071/FP02175)

Supiciche, M. (2017). Germinabilidad de biotipos de *Lolium perenne* Lp. susceptibles y resistentes a glifosato.

https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/5298/SUPICICHE%20M.L._Tesis%20parcial.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vigna, M.; Rubione, C. & Wojszko, A. (2021). Raigrás. *Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum* (Lam.) Husnot. Maleza en foco.

Vila-Aiub, M.M.; Neve, P.; Steadman, K.J. & Powles, S.B. (2005). Ecological fitness of a multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum* population: dynamics of seed germination and seedling emergence of resistant and susceptible phenotypes. *Journal of Applied Ecology* 42: 288-298. DOI: [10.1111/j.1365-2664.2005.01017.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01017.x)

WSSA (Weed Science Society of America) (1998). Herbicide Resistance and Herbicide Tolerance Defined. *Weed Technology* 12: 789. DOI: [10.1017/S0890037X00044766](https://doi.org/10.1017/S0890037X00044766)

Yannicari, M.; Vila-Aiub, M.; Istilart, C.; Acciaresi, H. & Castro, A. (2016). Glyphosate Resistance in Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) is Associated with a Fitness Penalty. *Weed Science* 64: 71-79. DOI: [10.1614/WS-D-15-00065.1](https://doi.org/10.1614/WS-D-15-00065.1)

Yannicari, M & Acciaresi, H. (2013). Perennial weeds in Argentinean cropsystems: biological and ecological characteristics and basis for a rational weed management. En: "Agricultural Research Updates Vol. 5." Gorawala, P.; Mandhatri, S. (Eds.). Nueva York. Nova Science Publishers. 176 pp.

Ziska, L. & Jaffrey D. (2011). Weed biology and climate change. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.