

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
TESIS DOCTOR EN AGRONOMÍA

BIOECOLOGÍA DE LA MALEZA INVASORA *DIPSACUS FULLONUM* L. Y  
EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE CONTROL EN EL SUR DE LA PROVINCIA  
DE BUENOS AIRES

JUAN FACUNDO FABIAN DADDARIO



BAHÍA BLANCA ARGENTINA

2017

## PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el CERZOS- CCT CONICET Bahía Blanca durante el período comprendido entre el 28 de febrero del 2010 y el 17 del noviembre del 2016, bajo la dirección del Dr. Osvaldo Alberto Fernández y el Director Adjunto Dr. Diego Javier Bentivegna.

.....  
Ing. Agr. Juan Facundo Fabian Daddario



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el .... / .... / ..... , mereciendo la calificación de ..... (.....)

## AGRADECIMIENTOS

La presente tesis doctoral es el producto de un gran esfuerzo que no habría sido posible sin el apoyo de las siguientes personas a las cuales es mi deseo poder expresarles mi más sincero agradecimiento:

-Al Dr. Osvaldo A. Fernández, a quien considero un referente a seguir, de admirable trayectoria. Le agradezco haber asumido el rol de director de esta tesis, además de sus consejos, sus aportes académicos y por apoyar y alentar constantemente mi carrera profesional.

-Al Dr. Diego J. Bentivegna, por haber participado activamente en el desarrollo de esta tesis y por haber ayudado continuamente en el diseño de los experimentos y en la lectura crítica del manuscrito.

-A la Dra. Freda E. Anderson, a quien aprecio enormemente, por haberme impulsado a desarrollar el capítulo 6, transmitirme sus conocimientos, por sus consejos en varios aspectos de la vida, su ayuda en todo momento y especialmente por haberme enseñado una filosofía de trabajo diferente.

-Al Dr. Guillermo Tucatu, un gran amigo que me acompañó en esta larga carrera, por su compañerismo incondicional, su ayuda constante tanto en el trabajo a campo como en el laboratorio, además de sus aportes en la lectura del manuscrito.

-Al Ing. Agr. Marcos Molinari, por su permanente buena predisposición cuando he necesitado una ayuda en momentos de trabajo intenso.

-A los integrantes del Laboratorio de Micología y Control Biológico (Virginia, Romina, Belén, Gustavo, Cintia, Silvina), con quienes he compartido el quehacer diario, intercambiando experiencias y haciendo amena cada jornada.

-Al CONICET por haberme otorgado el financiamiento a través de sus becas, para la realización de este trabajo. Asimismo, al Departamento de Agronomía de la

### III

Universidad Nacional del Sur por haberme permitido realizar el doctorado y al CERZOS por brindarme el lugar de trabajo en el cual se llevó a cabo esta tesis.

-A los becarios, técnicos y docentes que forman parte del CERZOS-CONICET y del Departamento de Agronomía, que desinteresadamente me han brindado su compañerismo y su ayuda en momentos que la necesitaba, en especial a los integrantes de la cátedra de Fitopatología y Sistemática Vegetal, dos lugares en los que me he formado como docente.

-Al Dr. Gabriel Bernardello por permitir la utilización de la imagen que ilustra la especie en el Capítulo I.

-A mis amigos, por la compañía constante, apoyándome siempre, tanto en los buenos como en los malos momentos.

-A toda mi familia, en especial a mi Mamá, Papá y Hermanos, por darme la oportunidad de estudiar, por estar presente en todo momento, brindándome su cariño y enseñándome a trabajar con dedicación.

## RESUMEN

La “carda silvestre” (*Dipsacus fullonum*, Dipsacaceae) es una maleza invasora de abundancia creciente en la Provincia de Buenos Aires, fundamentalmente de áreas protegidas, pastizales y márgenes de caminos. Se indica que esta especie ha ocasionado impactos negativos de importancia, como por ejemplo disminución de la diversidad florística nativa, reducción de forraje disponible y que además se constituye como un hospedante alternativo de plagas de cultivos. La presente tesis tuvo como propósito estudiar las bases bioecológicas que explican la capacidad invasora de *D. fullonum* y evaluar la factibilidad de utilizar distintas prácticas de manejo para lograr el control de sus poblaciones. Para ello se efectuaron experimentos que involucraron investigaciones acerca de a) la producción de semillas, germinación y emergencia de plántulas, b) el crecimiento y desarrollo de la planta en condiciones locales, c) los mecanismos de interferencia provocados sobre especies deseables y en el suelo, d) la eficiencia del control mecánico y químico, y e) los patógenos que atacan a la maleza que puedan ser utilizados como agentes de control biológico. En primer lugar, plantas de *D. fullonum* creciendo solas fueron capaces de producir más de 15.000 semillas, las que a su vez presentaron una alta capacidad para germinar en condiciones óptimas (>90%). Asimismo, la germinación ocurrió en un rango amplio de pH (3-12) y temperaturas (8-34°C), moderado estrés hídrico ( $\leq -0,8$  MPa) y elevado estrés salino ( $\leq 320$  mM). Incluso se observó que mantienen una alta viabilidad por períodos de hasta un año, expuestas tanto a bajas como altas temperaturas y también sumergidas en agua. Por otra parte, en el suelo pueden permanecer viables hasta tres años. La emergencia de plántulas se concentró en mayor medida en otoño y no fue detectada más allá de los 5 cm de profundidad del suelo. En segundo lugar, *D. fullonum* cumplió su ciclo de crecimiento en el término de doce meses, en el cual se registró que las mayores tasas de crecimiento ocurrieron en estadios tempranos y en prefloración. Las rosetas almacenan reservas en la raíz axonomorfa y además presentan índices foliares más elevados que plantas en estado reproductivo. En tercer lugar, se observó que la carda presentó una habilidad intermedia-alta para competir con distintas gramíneas nativas y exóticas. Además, se registraron efectos fitotóxicos de extractos de tejidos de la maleza sobre la germinación de estas gramíneas. Al mismo tiempo, se determinó un aumento del contenido de nitratos y de la capacidad de intercambio catiónico de suelos invadidos por carda. En

cuarto lugar, entre las herramientas de manejo evaluadas se destacan, el herbicida glifosato aplicado en estadios tempranos y el corte mecánico, cuando se efectuó al momento que las plantas florecen. Finalmente, el patógeno fúngico *Cercospora elongata* se constituyó como el candidato más promisorio para su incorporación como agente de control biológico, debido a su especificidad inferida, su amplia distribución y facilidad de ser manipulado en el laboratorio. La información documentada en esta tesis resulta en un aporte al conocimiento acerca de las bases biológicas y ecológicas que le permiten a *D. fullonum* invadir áreas de esta región y contribuye con aspectos básicos para el planteo de un enfoque de manejo integrado para esta maleza.

**ABSTRACT**

Common teasel (*Dipsacus fullonum*, Dipsacaceae) is an invasive weed that is increasing in abundance in Buenos Aires province, especially in protected areas, grasslands and roadsides. This weed is known to have caused important negative impacts in infested sites, such as a decline of native species diversity, a reduction of available forage, and an increase in crop pathogens by acting as an alternate host. The aim of this dissertation was to investigate the bioecological bases that explain the invasive ability of *D. fullonum* and to assess the feasibility of incorporating different management practices to its control. To achieve these objectives, several experiments were carried out including the study of a) teasel seed production, seed germination and emergence of seedlings, b) plant growth and development under local conditions, c) the interference mechanisms which affect desirable species and the soil, d) the efficiency of mechanical and chemical control, and e) the pathogens that can be used as biological control agents. It was found that, in the first place, seed production reached 15,000 units in plants growing alone and that the germination of such seeds was greater than 90% in optimal conditions. Besides, germination occurs in a wide range of pH (3 to 12) and temperature (8 to 34°C). In addition, seeds showed a moderate tolerance to water stress ( $\leq -0.8$  MPa) and a high tolerance to salt stress conditions ( $\leq 320$  mM). Moreover, seeds were able to remain viable for over a one year period without germination changes, even when exposed to both low and high temperatures and flooding conditions. Furthermore, seeds continued to be viable for up to three years in the field. Teasel emergence was found to be concentrated in fall and no seedlings emerged when seed was beyond 5 cm of soil depth. Secondly, growth cycle was completed within 12 months. It was observed that the highest growth rates occurred during early stages of the cycle and before flowering. Rosettes stored resources in their taproot and also have higher leaf indices than flowering plants. Thirdly, teasel exhibited a greater competitive ability than both the native and exotic grasses evaluated. Phytotoxic effects of teasel tissue extracts on the germination of grasses were also recorded. Soil nitrate content and cation exchange capacity were both increased by teasel invasion at several sites. Glyphosate was highly efficient when it was applied during the early stages. Similarly, the development of seedheads was prevented only when flowering plants were cut. Finally, it was found that the most promising candidate to be used as a biological control agent was *Cercospora elongata* because of its inferred specificity, wide

distribution and easy manipulation in the laboratory. The information documented in this dissertation is a contribution to the knowledge of the biological and ecological traits that allow *D. fullonum* to invade areas in the region under study, and to the establishment of strategies towards an integrated management approach.

## ÍNDICE TEMÁTICO

PREFACIO.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIV
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	XIX
Capítulo I.....	1
Introducción General y Descripción del Problema.....	1
1.1. Problemática de las especies invasoras.....	2
1.1.1. <i>Concepto e impacto</i> .....	2
1.1.2. <i>Fases de la invasión</i> .....	4
1.1.3. <i>Factores que promueven la invasión</i> .....	5
1.1.4. <i>Claves y enfoques para el manejo integrado</i> .....	6
1.2. Invasión de <i>Dipsacus fullonum</i> L. en la Provincia de Buenos Aires.....	8
1.2.1. <i>Descripción del problema</i> .....	8
1.2.2. <i>Caracterización de Dipsacus fullonum L.</i> .....	11
1.3. Caracterización de la zona de estudio.....	20
1.3.1. <i>Vegetación</i> .....	20
1.4. Justificación de la investigación.....	22
2.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	22
1.5. Estructura de la tesis.....	24
Capítulo II.....	26
Producción de semillas, germinación y emergencia de <i>Dipsacus fullonum</i> bajo diferentes condiciones.....	26
2.1. Introducción.....	27
2.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	29
2.1.2. <i>Objetivos</i> .....	30
2.2. Materiales y Métodos.....	31
2.2.1. <i>Producción de semillas bajo dos situaciones de crecimiento.</i> .....	31
2.2.2. <i>Factores que afectan la germinación</i> .....	33
2.2.3. <i>Emergencia</i> .....	37
2.3. Resultados.....	40
2.3.1. <i>Producción de semillas bajo dos situaciones de crecimiento</i> .....	40
2.3.2. <i>Factores que afectan la germinación</i> .....	45
2.3.3. <i>Emergencia</i> .....	51

2.4. Discusión .....	54
2.4.1. <i>Producción de semillas bajo dos situaciones de competencia.</i> .....	54
2.4.2. <i>Factores que afectan la germinación</i> .....	56
2.4.3. <i>Emergencia</i> .....	58
2.5. Conclusiones .....	60
Capítulo III .....	62
Análisis del crecimiento y desarrollo de <i>Dipsacus fullonum</i> en ambientes del sur bonaerense .....	62
3.1. Introducción.....	63
3.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	65
3.1.2. <i>Objetivos</i> .....	66
3.2. Materiales y Métodos.....	67
3.2.1. <i>Establecimiento de los experimentos</i> .....	67
3.2.2. <i>Medición de los parámetros de crecimiento</i> .....	68
3.3. Resultados.....	70
3.3.1. <i>Diámetro de la roseta y biomasa total</i> .....	70
3.3.2. <i>Parte aérea</i> .....	72
3.3.3. <i>Raíces</i> .....	74
3.3.4. <i>Parámetros foliares</i> .....	77
3.3.5. <i>Tasas de crecimiento</i> .....	78
3.3.6. <i>Clorofila</i> .....	78
Capítulo IV .....	88
Interferencia de <i>Dipsacus fullonum</i> sobre especies deseables y suelos del sur de la Provincia de Buenos Aires .....	88
4.1. Introducción.....	89
4.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	90
4.1.2. <i>Objetivos</i> .....	91
4.2. Materiales y métodos.....	92
4.2.1. <i>Competencia</i> .....	92
4.2.2. <i>Potencial alelopático</i> .....	94
4.2.3. <i>Cambios en la composición química del suelo</i> .....	96
4.3. Resultados.....	97
4.3.1. <i>Competencia</i> .....	97
4.3.2. <i>Potencial alelopático</i> .....	103
4.3.3. <i>Efectos sobre el suelo</i> .....	109
4.4. Discusión .....	110
4.4.1. <i>Competencia</i> .....	110
4.4.2. <i>Potencial alelopático</i> .....	111

4.4.3. <i>Efectos sobre el suelo</i> .....	112
Capítulo V .....	115
Control químico y mecánico de <i>Dipsacus fullonum</i> .....	115
5.1. Introducción.....	116
5.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	117
5.1.2. <i>Objetivos</i> .....	118
5.2. Materiales y Métodos .....	119
5.2.1. <i>Control químico</i> .....	119
5.2.2. <i>Corte</i> .....	120
5.2.3. <i>Madurez de semillas</i> .....	121
5.3. Resultados.....	122
5.3.1. <i>Control químico</i> .....	122
5.3.2. <i>Corte</i> .....	128
5.3.3. <i>Madurez de semillas</i> .....	131
5.4. Discusión .....	132
5.5. Conclusiones.....	134
Capítulo VI.....	136
Estudios etiológicos y biogeográficos de las enfermedades encontradas afectando a <i>Dipsacus fullonum</i> en la provincia de Buenos Aires .....	136
6.1. Introducción.....	137
6.1.1. <i>Hipótesis</i> .....	139
<i>Sustento de la hipótesis</i> .....	140
6.1.2. <i>Objetivos</i> .....	140
6.2. Materiales y Métodos .....	140
6.2.1. <i>Viajes de exploración en la zona de estudio</i> .....	140
6.2.2. <i>Recolección del material</i> .....	142
6.2.3. <i>Descripción de los síntomas. Obtención y aislamiento de los patógenos</i> ..	142
6.2.3. <i>Identificación</i> .....	143
6.2.4. <i>Ensayos de inoculación</i> .....	144
6.2.5. <i>Análisis de los síntomas y signos desarrollados luego de la inoculación</i> ..	145
6.3. Resultados.....	146
6.3.1. <i>Clase Hyphomycetes</i> .....	146
6.3.2. <i>Clase Coelomycetes</i> .....	150
6.3.3. <i>Clase Dothideomycetes</i> .....	155
6.3.4. <i>Clase Agonomycetes</i> .....	157
6.4. Discusión .....	166
6.5. Conclusiones.....	170

Capítulo VII.....	172
Consideraciones generales y perspectivas a futuro .....	172
7.1. Consideraciones generales.....	173
7.2. Líneas futuras de investigación .....	177
Bibliografía.....	179
Apéndice 1 .....	197
Apéndice 2.....	199

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1.</b> Diversas nomenclaturas utilizadas en la literatura para la identificación de las especies del género <i>Dipsacus</i> presentes en Argentina.....	13
<b>Tabla 2.1.</b> Media, desvío estándar, mínima y máxima producción de capítulos, producción de semillas por planta y producción de semillas del capítulo central para las localidades de Bahía Blanca (BB), Necochea (N), Energía (EG) y Saldungaray (SR) en plantas “aisladas” (A, plantas distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y “en grupo” (G, plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm).....	43
<b>Tabla 3.1.</b> Medias del peso de la materia seca (MS) del tallo, altura de la planta, número y peso de los capítulos para <i>Dipsacus fullonum</i> en período reproductivo en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15*.....	84
<b>Tabla 3.2.</b> Medias del diámetro de roseta, características de la hoja (largo, ancho, número), área foliar, área foliar específica, relación masa foliar y relación área foliar para <i>Dipsacus fullonum</i> a lo largo del ciclo de crecimiento en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15*.....	85
<b>Tabla 3.3.</b> Tasa de crecimiento absoluto (TAC) en $\text{mg}\cdot\text{día}^{-1}$ y tasa de crecimiento relativo (TRC) en $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ del peso de la materia seca aérea, de la raíz y total en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15 (DDS: días después de siembra). .....	86
<b>Tabla 4.1.</b> Valores <i>F</i> y <i>p</i> de los ANOVA doble realizados para evaluar la competencia de gramíneas nativas ( <i>Nassella tenuis</i> + <i>N. clarazii</i> ) y exóticas ( <i>Festuca arundinacea</i> y <i>Thinopyrum ponticum</i> ) frente a <i>Dipsacus fullonum</i> . Los tratamientos involucraron densidades crecientes de <i>Dipsacus fullonum</i> . Los experimentos se realizaron en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. ....	97
<b>Tabla 4.2.</b> Índice relativo de competencia de las distintas especies frente a densidades crecientes de <i>Dipsacus fullonum</i> . Los experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. ....	98
<b>Tabla 4.3.</b> Rendimiento relativo total ( <b>a</b> ) e Índice de agresividad ( <b>b</b> ) de <i>Dipsacus fullonum</i> creciendo en competencia a densidades crecientes, con gramíneas nativas ( <i>Nassella tenuis</i> + <i>N. clarazii</i> ) y gramíneas exóticas ( <i>Festuca arundinacea</i> y <i>Thinopyrum ponticum</i> ), en experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Medias dentro de una columna, acompañadas de letras iguales en minúscula y cursiva, o de una misma fila, acompañadas de letras iguales en mayúscula, no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ....	101
<b>Tabla 4.4</b> Coeficiente de velocidad de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> ( <i>Rs</i> ), <i>Avena sativa</i> ( <i>As</i> ), <i>Festuca arundinacea</i> ( <i>Fa</i> ), <i>Thinopyrum ponticum</i> ( <i>Tp</i> ), <i>Nassella tenuis</i> ( <i>Nt</i> ) y <i>Nassella clarazii</i> ( <i>Nc</i> ) en condiciones de laboratorio tras ser irrigadas con agua destilada (testigo), o soluciones acuosas de raíz y parte aérea, de estadios vegetativo y reproductivo de <i>Dipsacus fullonum</i> en concentraciones de 5% (baja) y 10% (alta), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Medias de una misma columna acompañadas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ....	106
<b>Tabla 4.5.</b> Valores <i>F</i> y <i>p</i> de los ANOVA realizados para la evaluación de la inhibición de la germinación en <i>Festuca arundinacea</i> ( <i>Fa</i> ), <i>Thinopyrum ponticum</i> ( <i>Tp</i> ), <i>Nassella tenuis</i> ( <i>Nt</i> ) y <i>Nassella clarazii</i> ( <i>Nc</i> ) (factor especie) tras ser irrigadas con soluciones acuosas de raíz o parte aérea (factor tejido), de estadios vegetativo o reproductivo de <i>Dipsacus fullonum</i> (factor estadio), en concentraciones de 5% (baja) y 10% (alta) (factor concentración), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca; ( <b>a</b> )	

Valores para el análisis de los cuatro factores y <b>(b)</b> Valores para cada especie por separado luego de haber encontrado interacción triple entre los factores especie, tejido y estadio.....	108
<b>Tabla 4.6.</b> Inhibición de la germinación de semillas en condiciones de laboratorio de <i>Festuca arundinacea</i> ( <i>Fa</i> ), <i>Thinopyrum ponticum</i> ( <i>Tp</i> ), <i>Nassella tenuis</i> ( <i>Nt</i> ) y <i>Nassella clarazii</i> ( <i>Nc</i> ) tras ser irrigadas con soluciones acuosas de raíz o parte aérea, de estadios vegetativo o reproductivo de <i>Dipsacus fullonum</i> , realizadas a partir de plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Medias acompañadas por la misma letra dentro de cada columna no difieren entre sí según DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).....	109
<b>Tabla 4.7.</b> Medias de los parámetros del suelo cuantificados en áreas invadidas (I) y no invadidas (N) de sitios donde se encontraba presente <i>Dipsacus fullonum</i> , en las localidades Bahía Blanca, Guaminí, Chapadmalal y Tandil de la Provincia de Buenos Aires en noviembre del 2015.....	109
<b>Tabla 5.1.</b> Fechas en que se realizaron los distintos cortes y estadios fenológicos correspondientes de <i>D. fullonum</i> en esos momentos.....	121
<b>Tabla 5.2.</b> Características relativas a la calidad de las pulverizaciones realizadas sobre los distintos estadios fenológicos de <i>Dipsacus fullonum</i> . .....	122
<b>Tabla 5.3.</b> Caracterización de las plantas de <i>Dipsacus fullonum</i> correspondientes a los tres estados fenológicos al momento de las aplicaciones. EVT: estado vegetativo temprano; EVA: estado vegetativo avanzado y ER: estado reproductivo; para el año 2014/15 y 2015/2016.....	122
<b>Tabla 6.1.</b> Ubicación de las poblaciones de <i>Dipsacus fullonum</i> estudiadas y fechas en que fueron visitadas.....	141
<b>Tabla 6.2.</b> Cuadro sinóptico de la potencialidad de cada uno de los patógenos registrados sobre <i>Dipsacus fullonum</i> como agente de biocontrol. ....	165

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Partes constitutivas de <i>Dipsacus fullonum</i> . Imagen perteneciente a la iconoteca del Museo Botánico de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba.....	17
<b>Figura 2.1.</b> Regresión lineal entre el peso de las semillas de un capítulo individual y el número de semillas <b>(a)</b> y relación entre el largo del capítulo y número de semillas <b>(b)</b> realizado con 80 capítulos. Datos obtenidos a partir de cuatro poblaciones de <i>Dipsacus fullonum</i> (Bahía Blanca, Saldungaray, Necochea y Energía) y dos situaciones de crecimiento (“aisladas”, planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm, y “en grupo”, plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm) en la Provincia de Buenos Aires en los años 2013-2014.	42
<b>Figura 2.2.</b> Producción de capítulos de distintas poblaciones <i>Dipsacus fullonum</i> de distintos sitios de la Provincia de Buenos Aires y situaciones de crecimiento. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray; A, “aislada” (planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y G, “en grupo” (plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm). Los datos se presentan combinados por situación y por sitio, respectivamente. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	43
<b>Figura 2.3.</b> Producción de semillas por planta de poblaciones de <i>Dipsacus fullonum</i> de distintos sitios de la Provincia de Buenos Aires y situaciones de crecimiento. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray; A, “aislada” (planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y G, “en grupo” (plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm). Los datos se presentan combinados por hábito y por sitio, respectivamente. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	44
<b>Figura 2.4.</b> Número de semillas por capítulo en distintas poblaciones <i>Dipsacus fullonum</i> de la Provincia de Buenos Aires. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray. Los datos se presentan combinados por situaciones de crecimiento. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	44
<b>Figura 2.5.</b> Efecto del pH en el porcentaje <b>(a)</b> y velocidad <b>(b)</b> de germinación de semillas de <i>D. fullonum</i> incubadas a 24°C y total oscuridad. Los datos fueron combinados y corresponden al año 2010 y 2011. Las barras verticales representan el error estándar de la media.....	45
<b>Figura 2.6.</b> Efecto de la temperatura en el porcentaje <b>(a)</b> y velocidad <b>(b)</b> de germinación de semillas de <i>Dipsacus fullonum</i> incubadas en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	47
<b>Figura 2.7.</b> Efecto del potencial osmótico en el porcentaje <b>(a)</b> y velocidad <b>(b)</b> de germinación de semillas de <i>Dipsacus fullonum</i> incubadas a 24°C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	48
<b>Figura 2.8.</b> Efecto de la concentración salina en el porcentaje <b>(a)</b> y velocidad <b>(b)</b> de germinación de semillas de <i>Dipsacus fullonum</i> incubadas a 24 °C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media. ....	49

- Figura 2.9.** Efecto del almacenamiento en seco en el porcentaje **(a)** y velocidad **(b)** de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24°C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media. .... 50
- Figura 2.10.** Efecto del almacenamiento en condiciones de saturación hídrica sobre el porcentaje **(a)** y velocidad **(b)** de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24°C y total oscuridad. Los datos de porcentaje de germinación correspondientes a distintos años fueron combinados ya que no se encontró interacción entre las variables. Las barras verticales representan el error estándar de la media..... 51
- Figura 2.11.** Emergencia, viabilidad y semillas muertas o perdidas de *Dipsacus fullonum* en condiciones a campo, a lo largo de 3 años, en Bahía Blanca **(a)** y Patagones **(b)**. Porcentajes acompañados de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 52
- Figura 2.12.** Emergencia de *Dipsacus fullonum* en Bahía Blanca y Napostá desde 2012 a 2013 y desde 2013 a 2014, en condiciones a campo. Emergencias acompañadas de letras iguales en mayúscula no difieren entre sí para la localidad de Bahía Blanca, y emergencias acompañadas de letras iguales en minúscula no difieren entre sí para la localidad de Napostá según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 53
- Figura 2.13.** Efecto de la profundidad de entierro sobre la emergencia de plántulas de *Dipsacus fullonum* durante un mes en condiciones de invernáculo. Datos combinados para las tres texturas y ambos años de cosecha de semillas. Porcentajes de emergencia acompañados de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 54
- Figura 3.1.** Medias mensuales del diámetro de la roseta de plantas a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 71
- Figura 3.2.** Medias mensuales de la biomasa total (aérea y subterránea; g MS) de plantas a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 72
- Figura 3.3.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de la parte aérea, dividida en tallos, hojas y capítulos a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Bahía Blanca **(a)** y Napostá **(b)**, Buenos Aires, para los años 2014-15. 74
- Figura 3.4.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). ..... 76
- Figura 3.5.** Medias mensuales de diámetro de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañados con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS Fischer de ( $p < 0,05$ ). ..... 76
- Figura 3.6.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro

- de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 77
- Figura 3.7.** Contenido de clorofila total (dividido en clorofila a y b) de plantas de *D. fullonum* crecidas en condiciones de campo a lo largo del año, en las localidades de Bahía Blanca (a) y Napostá (b). Contenidos de clorofila total con una misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 87
- Figura 4.1.** Biomasa seca aérea de gramíneas nativas (*Nassella tenuis*+*N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 98
- Figura 4.2.** Número de macollos de gramíneas nativas (*Nassella tenuis*+*N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 99
- Figura 4.3.** Altura de plantas de gramíneas nativas (*Nassella tenuis*+*N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 100
- Figura 4.4.** Biomasa seca aérea de *Dipsacus fullonum* creciendo en monocultivo (testigo) y en condiciones de competencia con gramíneas nativas (*Nassella tenuis* y *N. clarazii*, Nt+Nc), con *Thinopyrum ponticum* (Tp) y con *Festuca arundinacea* (Fa) en los experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014, a distintas densidades: 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 plantas de carda por maceta (d). Barras acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 102
- Figura 4.5.** Porcentaje de germinación de semillas en condiciones de laboratorio de *Raphanus sativus* (a), *Avena sativa* (b), *Festuca arundinacea* (c), *Thinopyrum ponticum* (d), *Nassella tenuis* (e) y *Nassella clarazii* (f) tras ser irrigadas con agua destilada (testigo), o soluciones acuosas de raíz (R) y parte aérea (A) de estadios vegetativo (v) y reproductivo (r) de *Dipsacus fullonum* en concentraciones de 5% (↓) y 10% (↑), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Columnas acompañadas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ). ..... 105
- Figura 5.1.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo temprano en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada, glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra dentro de cada herbicida no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p<0,05$ ). ..... 123
- Figura 5.2.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo temprano en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada de glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p<0,05$ ). ..... 124

<b>Figura 5.3.</b> Control de <i>Dipsacus fullonum</i> en estado vegetativo avanzado en experimentos realizados otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha <sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha <sup>-1</sup> ). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	125
<b>Figura 5.4.</b> Control de <i>Dipsacus fullonum</i> en estado vegetativo avanzado en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha <sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha <sup>-1</sup> ). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	126
<b>Figura 5.5.</b> Control de <i>Dipsacus fullonum</i> en estado reproductivo en experimentos realizados en primavera, los años 2014 y 2015, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha <sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha <sup>-1</sup> ). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	127
<b>Figura 5.6.</b> Control de <i>Dipsacus fullonum</i> en estado reproductivo en experimentos realizados en los años 2014 y 2015 en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha <sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha <sup>-1</sup> ). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	128
<b>Figura 5.7.</b> Altura de plantas de <i>Dipsacus fullonum</i> al final del ciclo (Marzo del 2016) luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	129
<b>Figura 5.8.</b> Número de capítulos de plantas de <i>Dipsacus fullonum</i> al final del ciclo (Marzo del 2016) luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	130
<b>Figura 5.9.</b> Longitud media de capítulos producidos por plantas de <i>Dipsacus fullonum</i> al final del ciclo luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales dentro no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	131
<b>Figura 5.10.</b> Germinación de semillas de <i>Dipsacus fullonum</i> de capítulos principales cosechados cada 10 días a partir de la floración en el año 2015. Porcentajes de germinación con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). .....	132
<b>Figura 6.1.</b> Poblaciones de <i>Dipsacus fullonum</i> visitadas en los distintos viajes de colección. Puntos de un mismo color indican poblaciones que fueron visitadas en el mismo viaje. ....	142
<b>Figura 6.2.</b> Sitios donde fue encontrado el hongo <i>Cercospora elongata</i> . ....	148
<b>Figura 6.3.</b> Sitio donde fue encontrado el hongo <i>Alternaria aff. destruens</i> . ....	150
<b>Figura 6.4.</b> Sitios donde fue encontrado el hongo <i>Boeremia exigua</i> . ....	153
<b>Figura 6.5.</b> Sitio donde fue encontrado el hongo <i>Ascochyta dipsaci</i> . ....	155
<b>Figura 6.6.</b> Sitios donde fue encontrado el hongo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . ....	157
<b>Figura 6.7.</b> Sitios donde fue encontrado el hongo <i>Rhizoctonia sp.</i> .....	158

**Figura 7.1.** Resumen esquemático que relaciona los temas tratados en la tesis en referencia a los estudios biológicos de *Dipsacus fullonum* y herramientas de control propuestas. .... 177

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>Fotografía 1.1.</b> <i>Dipsacus fullonum</i> en estado vegetativo; a. Plántula; b. Rosetas.....	16
<b>Fotografía 1.2.</b> <i>Dipsacus fullonum</i> en estado reproductivo; a. Plantas previo a la emergencia de capítulos; b. Capítulo en plena floración.....	16
<b>Fotografía 1.3.</b> Poblaciones de <i>Dipsacus fullonum</i> en distintos sitios de Argentina; a. Pastizal del centro-oeste de la Provincia de Buenos Aires; b. Localidad de Bahía Blanca; c. Reserva Natural Costanera Sur, CABA; d. Margen de camino en las afueras de Bahía Blanca; e. Laguna de Gómez, Partido de Guaminí; f. Localidad de Chapadmalal a metros de la costa marítima.....	18
<b>Fotografía 2.1. a.</b> Sitio Bahía Blanca; <b>b.</b> Sitio Saldungaray; <b>c.</b> Sitio Necochea; <b>d.</b> Capítulo de carda cosechado y sus semillas (aquenios).....	33
<b>Fotografía 2.2. a.</b> Unidad experimental para los experimentos de factores que afectan la germinación; <b>b.</b> Semillas de carda germinando.....	35
<b>Fotografía 2.3. a.</b> Unidades experimentales del experimento para evaluar la longevidad de las semillas de <i>D. fullonum</i> ; <b>b.</b> Semillas de <i>D. fullonum</i> luego de ser tratadas con TTC (cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolium) para la determinación de la viabilidad.....	38
<b>Fotografía 2.4. a.</b> Parcelas experimentales en la localidad de Napostá para la determinación de la periodicidad de la emergencia en <i>D. fullonum</i> ; <b>b.</b> Plántulas de carda en plena emergencia.....	39
<b>Fotografía 2.5.</b> Unidad experimental donde se muestran las texturas de suelo utilizadas en el experimento de profundidad de entierro.....	40
<b>Fotografía 3.1.</b> Planta de <i>Dipsacus fullonum</i> en estado de roseta de la localidad Napostá, septiembre del 2014. La misma se encuentra creciendo en una bolsa enterrada, colocada en coincidencia con la superficie del suelo.....	68
<b>Fotografía 6.1.</b> <i>Cercospora elongata</i> ; a. síntomas encontrados en el campo; b. síntomas obtenidos experimentalmente; c. fascículo de conidióforos; d. conidios; e. colonia creciendo en APG (agar papa glucosado).....	159
<b>Fotografía 6.2.</b> <i>Alternaria</i> aff. <i>destruens</i> ; <b>a.</b> síntomas encontrados en el campo; <b>b.</b> conidios; <b>c.</b> colonia creciendo en APZ (agar papa zanahoria); <b>d.</b> síntomas obtenidos experimentalmente.....	160
<b>Fotografía 6.3.</b> <i>Boeremia exigua</i> ; <b>a.</b> síntomas encontrados en el campo; <b>b.</b> detalle de una mancha mostrando anillos de crecimiento concéntrico; <b>c.</b> picnidio; <b>d.</b> conidios; <b>e.</b> síntomas obtenidos experimentalmente.....	161
<b>Fotografía 6.4.</b> <i>Ascochyta dipsaci</i> ; <b>a.</b> síntomas encontrados en el campo; <b>b.</b> síntoma obtenidos experimentalmente a 20°C; <b>c.</b> síntomas obtenidos experimentalmente a 25°C; <b>d.</b> conidios.....	162
<b>Fotografía 6.5.</b> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ; <b>a-d</b> síntomas encontrados en el campo; <b>a.</b> vista general; <b>b.</b> detalle de síntomas en la base del tallo; <b>c.</b> necrosis avanzada; <b>d.</b> detalle de síntomas en raíz (izq.) y raíz sana (der.); <b>d.</b> esclerocios.....	163
<b>Fotografía 6.6.</b> <i>Rhizoctonia</i> sp.; <b>a-b</b> síntomas encontrados en el campo; <b>a.</b> en follaje; <b>b.</b> en raíz; <b>c.</b> micelio característico del hongo asociado a raíces afectadas; <b>d.</b> síntomas obtenidos experimentalmente.....	164

## **Capítulo I**

### **Introducción General y Descripción del Problema**

## **1.1. Problemática de las especies invasoras**

### ***1.1.1. Concepto e impacto***

Las invasiones biológicas se encuentran entre las más importantes alteraciones de ambientes naturales del mundo y están usualmente asociadas con impactos significativos en la economía, cultura y biodiversidad (Zalba y otros, 2008). El término “invasor” se refiere a aquellas especies que escapan de las barreras naturales a las cuales estaba circunscripta en su zona de origen, y ocupa nuevos espacios donde no se hallaba previamente. Como consecuencia, esto representa un peligro potencial para la salud humana o animal, la economía y/o ambientes naturales donde invade. Tales invasiones son originadas a partir de transporte intencional o accidental por parte del hombre (Mack y otros, 2000; Ziska y otros, 2011; Tan y otros, 2012).

Específicamente, las plantas invasoras se definen como especies exóticas, incluyendo sus semillas, esporas y cualquier otro material capaz de propagar a la especie en ambientes ecológicos naturales distintos de su área de origen y que después de su introducción se escapa, libera, disemina y se naturaliza en este nuevo territorio, compitiendo con la vegetación nativa y por ende causando daños en los nuevos ambientes (Beck y otros, 2008; Kew, 2016). Asimismo, en prerrogativa a su desmedido crecimiento en las áreas que se instalan, estas especies interaccionan negativamente con las actividades humanas. A partir de dicha circunstancia también denominamos a este tipo de plantas como “malezas” (Fernández y otros, 2014a).

Las malezas invasoras, a diferencia de las agrícolas, no necesitan de la asistencia del hombre para poder establecerse exitosamente y dispersarse hacia nuevos hábitats luego de su introducción. Una gran cantidad de estas especies no se comportan como competidores dominantes en su ambiente original, en cambio, en el nuevo ambiente tienen la capacidad de desplazar a las comunidades nativas existentes (Callaway y Aschengoug, 2000). Estas plantas amenazan con la integridad de los ecosistemas naturales pudiendo llegar a causar extinciones de especies locales gracias a que poseen mecanismos de supervivencia que les confieren una mayor ventaja competitiva (Callaway y Aschehoug, 2000; Fonseca y otros, 2013). La extensión espacial y temporal de los impactos que generan, podría ser expresada a distintas escalas desde locales a globales. Estos son mayores cuando agregan nuevos rasgos al ecosistema receptor y

cuando se revierten en dominantes en la comunidad, alterando las interacciones entre especies del sistema natural. Asimismo, la pérdida de especies autóctonas es más significativa cuando se trata de especies claves en el ecosistema. Los casos más graves en función de invasiones masivas se traducen frecuentemente en la homogeneización de la flora, es decir, cuando diferentes unidades fitogeográficas tienden a volverse similares (Hejda y otros, 2009).

El registro de Kew (2016) documenta 4.979 plantas vasculares invasoras en el mundo, entre las cuáles dominan las familias Asteraceae, Poaceae, Fabaceae y Rosaceae. Sus costos de manejo y control son muy elevados; por ejemplo, se estima que aproximadamente unas 700.000 hectáreas de áreas naturales son invadidas por año sólo en Estados Unidos, generando un costo de 34 mil millones de dólares (Herrera Reddy y otros, 2012) y para Gran Bretaña se indica 1,7 millones de libras (Kew, 2016).

Los trabajos de Radosевич y otros (2007), Ross y Lembi (2009) y Bentivegna y Zalba (2014) se ocupan de los impactos ecológicos causados por malezas invasoras, a saber:

- Reducción de la biodiversidad a través de interacciones tales como competencia y/o alelopatía.
- Cambios en las condiciones ecológicas que afectan gravemente a especies amenazadas o en peligro de extinción.
- Pérdida de hábitats y recursos alimenticios de animales nativos y otro tipo de vida silvestre.
- Cambios en procesos ecológicos naturales tales como la sucesión de comunidades de plantas.
- Alteración en la frecuencia e intensidad natural de fuegos, por ejemplo a través de aportes significativos de combustible fino que promueve la ocurrencia de incendios.
- Disrupción de las asociaciones nativas planta-animal, dispersión de semillas, relación planta-hospedante, etc.
- Cambios ambientales que inducen fenómenos de erosión, uso diferencial de recursos, etc. Ciertas plantas invasoras no poseen raíces con habilidad para estabilizar el suelo, en consecuencia se acentúa la posibilidad de procesos erosivos.

- Cambio climático, por ejemplo a través de la alteración en los patrones de liberación de carbono hacia la atmósfera.
- Reducción de la producción forrajera.
- Contaminación genética, por medio de la hibridación con especies nativas.
- Las plantas acuáticas interfieren en lagos y otros tipos de vías hídricas, afectando las fuentes públicas de agua, el riego agrícola, las actividades recreativas y la navegación, entre otros.

### ***1.1.2. Fases de la invasión***

Radosevich y otros (2007) distinguen tres fases principales que atraviesa una especie exótica cuando arriba a un nuevo ambiente:

Introducción: como resultado de la dispersión, los propágulos arriban a un nuevo sitio ecológico más allá de su rango geográfico nativo en el cual se encuentran poblaciones de plantas adultas establecidas.

Colonización: las plantas de la nueva población se reproducen e incrementan su número formando una colonia que se auto-perpetúa.

Naturalización: la especie establece nuevas poblaciones auto-perpetuantes, se dispersa ampliamente y se incorpora a la flora residente.

El proceso de invasión se describe como una serie de barreras en la cual las poblaciones deben interactuar con diversos factores, bióticos y abióticos, para poder pasar a la fase siguiente. Muchas de las especies introducidas no consiguen establecerse en el nuevo ambiente, incluso de las que llegan a la fase de naturalización, una gran proporción no logra alcanzar el *status* de “invasora”, caracterizadas por causar impactos significativos en el nuevo ambiente (Prinzing y otros, 2002; Lockwood y otros, 2007). Aunque no se considere que todas las especies exóticas causen daños severos, las especies que permanecen en la segunda y tercera fase, denominadas “colonizadoras” y “naturalizadas”, de todas maneras resultan ser transformadoras de paisajes, traduciéndose en daños estéticos, a la salud y alteraciones menores a la biodiversidad (Bezic, 2010). Según Williamson y Fitter (1996), en general entre el 1 y el 10 % de las especies introducidas se naturalizan y, de estas, a su vez, del 1 al 10% se consideran que son invasoras. A pesar de este bajo porcentaje, las consecuencias provocadas por las

invasoras exitosas son tan grandes que el fenómeno global de invasión merece especial atención, ya que se trata de un problema de baja frecuencia pero de alto impacto.

### ***1.1.3. Factores que promueven la invasión***

Aunque no existe una clara definición acerca de cuáles son los factores que promueven una invasión, se pueden sintetizar en dos grupos, los atributos de la especie y los atributos del hábitat a invadir. En cuanto al primero, Radosevich y otros (2007) sintetizan una serie de características biológicas responsables del potencial de invasión de una especie en asociación particularmente a la fase de colonización, más bien que en la de introducción, las cuales se enumeran a continuación:

- Capacidad homeostática, es decir el potencial de un individuo o de la población para mantener relativamente su aptitud biológica constante en una amplia gama de ambientes (por ej.: elevada producción de semillas aún en condiciones adversas).
- Tamaño pequeño de genoma, generalmente asociado con un corto tiempo de generación, corto período juvenil, pequeño tamaño de semilla, alta relación de área foliar y alta tasa de crecimiento relativo.
- Fácil dispersión a través de seres humanos y animales.
- Capacidad de propagación vegetativa. Esta es una característica especialmente importante en ambientes acuáticos y en altas latitudes.
- Plantas exóticas que pertenecen a géneros exóticos son más invasivas que especies exóticas con congéneres nativos. Esto puede ser debido en parte a una ausencia o número limitado de enemigos naturales residentes para esa especie.
- Generalmente no dependen de mutualistas específicos (simbiontes de raíz, polinizadores, dispersores de semillas, etc.)
- Banco de semillas del suelo persistentes en asociación con el fenómeno de dormición, y cohortes de picos de germinación a lo largo de su ciclo anual de desarrollo, que garantizan su supervivencia.

En cuanto a los atributos del hábitat, las invasiones vegetales se verían favorecidas en ambientes compatibles con los requerimientos de la nueva especie o

donde hayan ocurrido cambios que permitan su proliferación. Esto influye fundamentalmente en la fase de introducción de la maleza (Mashhadi y Radosevich, 2004). En general se observa que los procesos de invasión resultan ser más frecuentes, más intensos y más exitosos en áreas sujetas a disturbios exógenos (Bentivegna y Zalba, 2014). Por ejemplo, la expansión de agroecosistemas ha generado una partición de hábitats naturales y como consecuencia se forman fragmentos aislados remanentes, proceso conocido como “fragmentación” (Bilenca y Miñarro, 2004). Los ecosistemas fragmentados son más susceptibles a los procesos de invasión, debido a que sus bordes se vuelven más inestables, expuestos a cambios súbitos y marcados en las condiciones ambientales (Ross y Lembi, 2009). Además, se acepta ampliamente que una de las principales causas de éxito o fracaso de una maleza invasora son las interacciones bióticas en el sitio de invasión. Cuando una especie es transportada desde su sitio de origen hacia uno nuevo generalmente se “libera” de todos o la mayoría de los enemigos naturales que solían regular sus poblaciones. Aun cuando sea probable que la especie en cuestión resulte eventualmente susceptible a la acción de alguno de los enemigos naturales indígenas presentes en el sitio nuevo, es esperable que la incidencia de éstos sea mucho menor. Esta idea se conoce como “hipótesis de liberación de enemigos” y explicaría al menos en parte el mejor desempeño de la especie introducida y la gran capacidad para proliferar (Cabrera Walsh y otros, 2014). En los casos de especies exóticas que no se consideran invasoras, existe una idea asociada que asume que la interacción con las especies nativas y enemigos naturales nativos limitan los impactos de ciertas especies y se la conoce como “hipótesis de resistencia biótica”, lo cual afectaría negativamente al proceso de invasión y podría explicar en parte las bajas chances de ciertas especies para convertirse en una especie invasora (Mitchell y Power, 2003).

#### ***1.1.4. Claves y enfoques para el manejo integrado***

En el transcurso de las últimas décadas, los humanos han ponderado que la humanidad se beneficia grandemente por una serie de procesos y recursos que están provistos por los servicios de ecosistemas naturales, por ejemplo: bosques, sistemas terrestres de agua dulce, desiertos, praderas, costas, pantanos, estuarios y áreas ribereñas, que deber ser protegidos del disturbio a lo largo del tiempo, dado que no hay

sustitutos para algunos de los recursos que proveen. Estos ecosistemas proveen ciertos beneficios a la sociedad, El incremento de la actividad del hombre dentro y fuera de estos ecosistemas amenaza con los beneficios que otorgan, por ej.: constituyen reservas hídricas, alimento, biodiversidad, oportunidades para la recreación, turismo, fuentes de germoplasma, etc., por lo tanto su manejo ocupa una alta prioridad en la protección de ecosistemas naturales. Evitar la introducción de una especie exótica es probablemente la forma más efectiva para prevenir el acceso de una especie que puede convertirse en invasora, de allí la detallada legislación existente en los países sobre cuarentena y transporte de especies. Sin embargo, la prevención total es difícil o imposible, debido a que la acción del hombre con sus continuos viajes, el transporte de mercaderías y el comercio en un mundo globalizado, los cambios ambientales e incremento del uso de la tierra, favorecen el fenómeno de procesos invasivos (DiTomaso, 2000; Radosevich y otros, 2007).

Las plantas exóticas introducidas presentan diferentes niveles de agresividad e impacto, de allí la importancia de priorizar acciones de vigilancia y manejo de malezas (Bentivegna y Zalba, 2014). A la hora de abordar el manejo de especies invasoras se debería tener en cuenta la prevención, la detección temprana y/o el control o erradicación (Tan y otros, 2012). Se considera que a medida que un proceso de invasión avanza, las posibilidades de implementar medidas exitosas de control se reducen, al tiempo que los costos de manejo aumentan de manera considerable. El concepto de manejo integrado se basa en enfocar el problema, utilizando en forma compatible con la calidad ambiental, todas las técnicas adecuadas y conocimientos existentes para reducir una población de malezas a niveles tales que los perjuicios económicos que produzcan se hallen por debajo de un umbral económico aceptable (Fernández, 1982; Fernández y otros, 2014b).

Bentivegna (2008) señala que el manejo integrado de una especie invasora se basa en tres pilares fundamentales: el conocimiento de su bioecología, la detección precisa de las poblaciones y la evaluación de estrategias de control disponibles. El primer punto nos permite determinar los factores que promueven su expansión e identificar las etapas del ciclo que resultan más vulnerables a las metodologías de control. En segundo lugar, las acciones de monitoreo no sólo permiten identificar las especies presentes sino que también da a lugar a un seguimiento de su expansión y aplicación de técnicas de control en el sitio específico. Finalmente, una correcta elección de técnicas de control de plantas redundará en un incremento de los beneficios

económicos y una menor agresividad al ambiente. Un exitoso manejo a largo plazo, debería incluir combinaciones de tratamientos mecánicos, químicos, biológicos y culturales, que de manera integrada resulten más efectivos para lograr un control sustentable (DiTomaso, 2000). La carencia de información precisa en alguno de los tres objetivos fundamentales citados conlleva a la disminución de la eficiencia de manejo y en algunos casos al fracaso de las acciones emprendidas.

## **1.2. Invasión de *Dipsacus fullonum* L. en la Provincia de Buenos Aires**

### **1.2.1. Descripción del problema**

La Provincia de Buenos Aires constituye uno de los territorios que han sido sustancialmente modificados dentro de la Argentina. Durante los últimos siglos, los ecosistemas naturales originales han sido reemplazados en su gran mayoría por agroecosistemas, quedando sólo ciertos relictos de vegetación prístina aislados, provocando una gran fragmentación del hábitat (Cabrera, 1963). Las comunidades naturales se empobrecieron sensiblemente, en consecuencia se produjo una mayor homogenización del paisaje con pérdida de límites ecotonales (Bilenca y Miñarro, 2004). Además del proceso de agriculturización, otros factores perturbadores como la extracción de madera, el laboreo de tierras no cultivables, y el excesivo pastoreo de la vegetación del ecosistema natural han provocado importantes cambios en el paisaje (Busso y otros, 2013).

Dentro del territorio argentino, esta provincia se encuentra entre las que presentan altos niveles de degradación y es, a su vez, una de las que menor atención que ha recibido desde el punto de vista conservacionista (Zalba y Villamil, 2002). La superficie legalmente protegida está restringida a ambientes donde la frontera agropecuaria no ha podido avanzar, como sectores de pastizal serrano, humedales y dunas de la franja costera (Cuevas y Zalba, 2009). Estos ambientes, junto con la vegetación espontánea que se desarrolla en los denominados “corredores” (vías férreas, alambrados que rodean a los campos de cultivo, banquinas, terraplenes y los márgenes de cursos de agua), representan, a pesar del disturbio, los elementos del paisaje que más se asemejan a los ambientes que existían originalmente. Además, los corredores conservan una función muy importante, ya que conectan los fragmentos de pastizales y

montes naturales. De esta manera, contribuyen a incrementar las tasas de desplazamientos de plantas y animales, y con ello, a contrarrestar por medio de sucesivas recolonizaciones las extinciones locales que pudieran tener lugar en los fragmentos. Al mismo tiempo, proveen de sitios de refugios para la fauna autóctona (Bilenca y Miñarro, 2004).

En la provincia de Buenos Aires, el 60% de las especies exóticas provienen de Europa central (Prinzing y otros, 2002). Una gran cantidad de especies que resultaron invasoras fueron introducidas intencionalmente y constituyen un problema serio en los escasos ambientes naturales de esta zona como por ejemplo el ligustro (*Ligustrum lucidum*), el pino de Alepo (*Pinus halepensis*) en Sierra de la Ventana (Cuevas y Zalba, 2009), y diversos tamariscos (*Tamarix* spp.) sobre dunas costeras (Natale, 2008). Por otra parte, la semilla de numerosos cultivos introducidos ha estado contaminada con especies herbáceas exóticas pertenecientes a diversos géneros como *Avena*, *Lolium*, *Cynara*, *Silybum*, entre otros, que además de ser malezas agrícolas problemáticas también son un problema en ambientes no disturbados (Fernández y otros, 2014a).

Ciertas especies incluso han sido declaradas plagas nacionales en Argentina. Entre ellas, las que más daños han causado son *Acroptilon repens*, *Centaurea solstitialis*, *Medicago minima*, *Sorghum halepense*, etc. (Busso y otros, 2013). Una especie herbácea que ha colonizado los ambientes de esta región es *Dipsacus fullonum*, cuya denominación vulgar más ampliamente utilizada es “carda silvestre”. En las últimas décadas se ha observado un constante incremento en sus poblaciones, encontrándose en plena expansión e invadiendo comunidades naturales de áreas protegidas, pasturas, corredores, incluso praderas ya establecidas (Montero y Barberis, 2007; Busso y otros, 2013).

Se indica que *D. fullonum* es una especie que se caracteriza por presentar un elevado potencial competitivo y agresividad junto con una alta capacidad reproductiva. En consecuencia, puede rápidamente formar grandes y densos parches, constituyendo una amenaza a la escasa vegetación nativa de la región (Solecki, 1993; Chessman, 1998; Giolitti y otros, 2009). En diversos países del mundo ha sido catalogada como una especie invasora muy agresiva de hábitats no modificados. En EEUU se encuentra presente en 43 estados y se considera maleza nociva para cinco de ellos e invasiva para doce. En el caso de Canadá está presente en cinco provincias y se registra como perjudicial en una de ellas, Manitoba (Dugan y Rector, 2007; Harizanova y otros, 2012).

Las especies de *Dipsacus* presentan una alta densidad de hojas anchas con orientación horizontal. Se indica que puede alcanzar índices de área foliar entre 2 y 3 m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, hecho que está asociado a una elevada capacidad de intercepción de luz, lo que se traduce en un obstáculo para el desarrollo de otras especies (Werner, 1975b; Huenneke y Thomson, 1995). Además, se presume que pueden alterar los ciclos de nutrientes e hidrológicos y otras condiciones del medio, factores que provocarían la supresión de especies deseables (Bentivegna y Smeda, 2011a).

En Argentina la carda silvestre genera problemas en diversos ambientes, siendo actualmente considerada maleza invasora con el potencial de poner en riesgo el patrimonio florístico de los territorios que coloniza. Considerando la Provincia de Buenos Aires, está presente en áreas protegidas como: el “Parque Provincial Ernesto Tornquist” (Long y Grassini, 1997), la “Reserva Natural Punta Lara” (Campos y Fernández, 2011), la “Reserva Natural Costanera Sur” (Daddario, obs. pers.), entre otras. En la Reserva Natural Otamendi, Cordo (2004) destaca la abundancia de las poblaciones de carda en proceso de franca expansión, representando uno de los principales problemas de esta área protegida.

Otra problemática importante relacionada con la invasión de carda, está asociada con el pastoreo de especies nativas preferidas por el ganado, situación que frecuentemente libera espacios que son ocupados por la especie. La planta está fuertemente dotada de aguijones en las hojas y tallos que constituyen una defensa mecánica en contra del pastoreo (Solecki, 1993), hecho que incide de manera negativa en la disponibilidad de forraje en pastizales destinados a la producción ganadera.

Finalmente, *D. fullonum* es un hospedante alternativo de plagas de importancia. Entre ellas se menciona a la carda como vía de infección del nematodo cosmopolita *Ditylenchus dipsaci*, patógeno de importancia en cultivos de alfalfa, cebolla y ajo (Dugan y Rector, 2007). De hecho, el epíteto *dipsaci* se debe a que fue descubierto por primera vez en especies de *Dipsacus*. Además, se encontró que *D. fullonum* es hospedante del SuCMoV (*Sunflower Chlorotic Mottle Virus*), vulgarmente conocido como virus del mosaico clorótico del girasol. Esta virosis es la más ampliamente distribuida en Argentina y puede reducir significativamente los rendimientos de este cultivo. Se considera que *D. fullonum* se constituye epidemiológicamente como uno de los hospedantes alternativos más importantes debido a su largo ciclo de vida, con la capacidad de mantener la presencia del inóculo a lo largo de todo el año (Giolitti y otros, 2009).

En conclusión, *D. fullonum* representa un elevado problema ambiental generalizado, en diversas áreas utilizadas con múltiples propósitos, comparativamente con otros tipos de malezas que implican perjuicios claramente puntuales.

### 1.2.2. Caracterización de *Dipsacus fullonum* L.

#### Identificación Taxonómica

**Reino:** Plantae

**División:** Spermatophyta

**Subdivisión:** Angiospermae

**Clase:** Dicotyledoneae

**Orden:** Dipsacales

**Familia:** Dipsacaceae

**Género:** *Dipsacus*

**Especie:** *Dipsacus fullonum* L.

**Sinónimos:** *D. fullonum* L. var. *sylvestris* (Huds.) Huds.; *D. sylvestris* Mill.; *D. sylvestris* Huds.

**Nombres vulgares:** agua benditera, baño de Venus, carda (nominación más utilizada), carda silvestre, carda de cardadores, cardencha silvestre, cardo, cardón, cardoncha, dipsaco, escobilla, peines, raspasayos, vara de pastor. *Inglés:* fuller's teasel, teasel, wild teasel, common teasel (Hurrell y otros, 2007). En esta tesis se identifica la especie en estudio tanto por su denominación taxonómica científica como la vulgar de carda.

La familia Dipsacaceae es originaria del Viejo Mundo, incluyendo Europa central y meridional, Asia occidental y África boreal (Pontiroli, 1965), no existiendo especies nativas de esta familia fuera de este área (Sforza, 2004). Debido a la gran diversidad y número de especies endémicas se estima que el centro de origen del sub-género *Dipsacus* L., que incluye a las especies categorizadas como invasoras, se registra en el sur de Europa (Rector y otros, 2006). *D. fullonum* se encuentra naturalizada en varios países de África, Oceanía y América (USDA ARS, 2016).

En la Argentina, se citan dos especies pertenecientes al género *Dipsacus*: *D. fullonum* (Código EPPO: DIWSI) y *D. sativus* (Código EPPO: DIWSA) (Zuloaga y

Morrone, 1999). Ambas son muy similares entre sí y únicamente difieren en la forma de sus brácteas florales, las cuales son rectas en *D. fullonum* y curvas a modo de ganchos en *D. sativus*. Gracias a esta característica, *D. sativus* se cultivaba siglos atrás con el propósito de utilizar sus inflorescencias para hilar tejidos, y se presume que ha sido domesticada a partir de la forma silvestre, *D. fullonum* (Rector y otros, 2006). El nombre genérico *Dipsacus* debe su origen al vocablo griego, “dipsakos”, que deriva de “dipsa”, sed, y según Font Quer (1958) alude a sus hojas caulinares opuestas que forman una concavidad a modo de vaso en torno del tallo, en el cual se recoge el agua de lluvia. El epíteto específico “*fullonum*”, en latín, hace referencia a la persona que se dedica a cardar tejidos (Hurrell y otros, 2007). Históricamente, la sinonimia de estas especies ha sido un tema controversial. Fundamentalmente, en la literatura norteamericana, la forma silvestre ha sido frecuentemente denominada con el binomio *D. sylvestris* y se reservaba el nombre *D. fullonum* para la forma cultivada (Werner, 1975c). Por otro lado, se propuso nombrar a ambas especies con un único nombre científico denominado *D. fullonum* y tratar ambos biotipos como subespecies; sin embargo, esta categorización presumiblemente no ha trascendido. En otras revisiones, se vuelven a considerar como dos especies distintas, siendo así que el nombre científico más apropiado para la forma silvestre es *D. fullonum* y *D. sativus* para la antiguamente cultivada (Ferguson y Brizicky, 1965) (Tabla 1.1).

La carda de cardar se cultivaba en la era pre-industrial, hecho que ha sido documentado cerca del siglo XII en Francia y probablemente data desde el imperio romano. *D. sativus* fue un cultivo importante en Europa durante la colonización europea de otros continentes. Un hecho histórico interesante es que en el Papado de Avignon, Francia, se otorgaban premios a aquellos que realizaban el cultivo de esta especie (Sforza, 2004). Novara (2007) indica que aparentemente en la antigüedad, los capítulos de *D. sativus* se importaban desde Europa para el cardado de la lana, lo cual aparentemente haya favorecido también la introducción de *D. fullonum*. La fecha exacta de la llegada a la Argentina es incierta, aunque su existencia ya es citada por Hauman (1925) en su trabajo sobre fanerógamas adventicias de la flora argentina. En otros países como Canadá se introdujo con fines ornamentales o decorativos, tal como indica Werner (1975c). En EEUU, se sabe que fue introducida por John Bartram en Pennsylvania en 1728 como contaminante con semilla de *D. sativus* (Rector y otros, 2006).

**Tabla 1.1.** Diversas nomenclaturas utilizadas en la literatura para la identificación de las especies del género *Dipsacus* presentes en Argentina.

	Nombre científico		Citas
	Forma silvestre	Forma cultivada	
Cierta literatura norteamericana	<i>D. sylvestris</i> Huds.	<i>D. fullonum</i> L.	Werner (1975c) Glass (1991) Huenneke y Thomson (1995)
Escasos autores	<i>D. fullonum</i> L. ssp. <i>sylvestris</i> (Huds.) Claph.	<i>D. fullonum</i> L. ssp. <i>sativus</i> (L.) Thell.	Ryder (1998) Beaton y Dudley (2007)
En la actualidad en la mayor parte de la bibliografía, incluida la de Argentina	<i>D. fullonum</i> L.	<i>D. sativus</i> (L.) Honck.	Ferguson y Brizicky (1965) Chessman (1998) Zuloaga y Morrone (1999)

### Biología

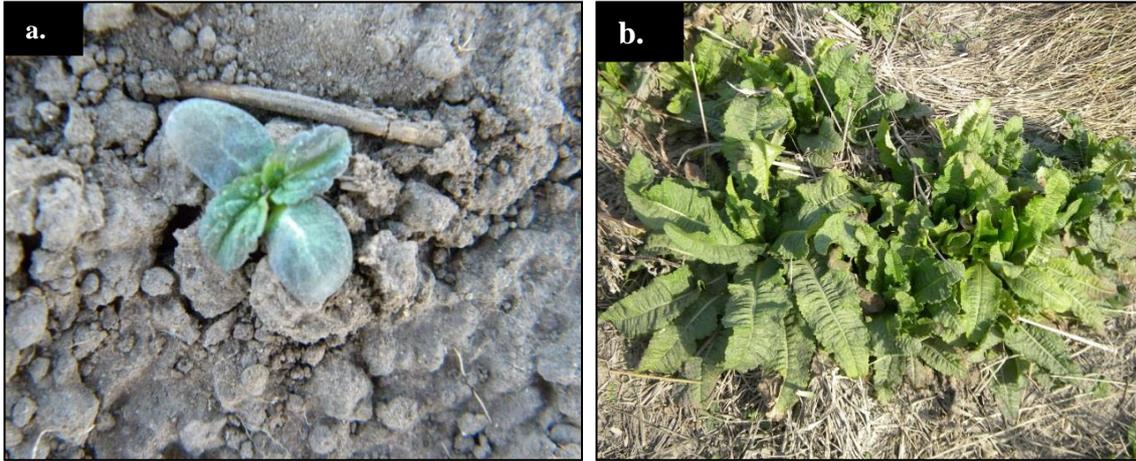
Se trata de una planta hemicriptófito, con un extenso sistema radical axonomorfo perenne, que puede alcanzar una profundidad de más de 60 cm y un diámetro de 2,5 cm, asociado a este exhibe un sistema de raíces secundarias fibrosas (Werner, 1975c). En estado vegetativo produce hojas dispuestas en roseta (Fot. 1.1), brevemente pecioladas, dentadas, glabras, luego éstas mueren y son reemplazadas por hojas caulinares sésiles, enteras o dentadas, connatas en la base, lo cual le da el aspecto de copa donde acumula el agua de la lluvia. Ambos tipos de hojas presentan aguijones rígidos sobre la nervadura media del envés y pequeños aguijones insertos sobre sus láminas. Las rosetas pueden alcanzar un diámetro de hasta 60 cm. Los tallos y sus ramificaciones son erectos, los cuales se producen cuando se induce la floración (Pontiroli, 1965; Werner, 1975c). Pueden alcanzar hasta 2,5 m de altura y se encuentran dotados de pequeños aguijones en toda su superficie. En el extremo de cada tallo se forman las flores agrupadas en capítulos ovoides a subcilíndricos, de 3-10 cm de largo, protegidos por brácteas rígidas linear-lanceoladas, normalmente más largas que el capítulo, de hasta 8 cm de longitud. Cada flor está a su vez protegida por una pálea recta, también linear-lanceolada (Fot. 1.2), siendo la principal diferencia con *D. sativus*, debido a que este último presenta páleas curvas y ganchosas (Pontiroli, 1965). Las flores presentan una corola gamopétala, violácea, atractiva para insectos y otros animales. El fruto es un aquenio, envuelto en un involucrelo grisáceo de unos 2,5 mm de longitud, con el cáliz persistente dispuesto en el ápice sobre una pequeña cúpula (Pontiroli, 1965).

*Dipsacus fullonum* crece vegetativamente como roseta y su raíz axonomorfa puede extenderse más profundamente que las raíces de la mayoría de las especies anuales y bianuales (Werner, 1975a). El ciclo de vida se define como monocárpico y es comúnmente clasificada como bienal. La planta acumula suficiente energía durante el primer año de crecimiento en la raíz, y en el segundo, normalmente, florece y fructifica. Sin embargo, bajo condiciones adversas ya sean bióticas o abióticas, puede necesitar un año adicional para florecer (Werner, 1975b), razón por la cual hay autores que consideran que es más apropiado considerar a *D. fullonum* como una especie perenne de vida corta (Rector y otros, 2006). Werner (1975b) demostró que la floración está altamente relacionada con el diámetro de la roseta, siendo 30 cm el diámetro mínimo para que ocurra. La época de floración más común de la carda es en primavera y la fructificación en verano (Villamil y Martínez, 2014). La fertilización alógama, facilitada por abejorros, macrolepidópteros y otros insectos, es el modo más común de fecundación, a pesar de ello, la autopolinización es posible y puede generar hasta un 4% de semillas viables (Werner, 1975c). La carda presenta un alto potencial de producción de semillas, siendo esta la única forma de reproducción (Solecki, 1993). Estas no poseen adaptaciones para la dispersión por el viento o animales, lo que provoca que el 99% de ellas caigan cerca de la planta parental, produciendo un crecimiento en densas comunidades monoespecíficas (Werner, 1975a) (Fig. 1.1). Werner (1975c) además indica que pueden ser dispersadas accidentalmente por actividades humanas (desmalezado de banquinas, vehículos), animales y a largas distancias mayormente por flotación en cursos de agua.

#### Distribución geográfica y hábitat

Además de la Provincia de Buenos Aires, Zuloaga y Morrone (1999) citan a *D. fullonum* en Córdoba, Entre Ríos, Río Negro, Salta y Santa Fe. Giolitti y otros (2009) destacan su gran abundancia en la región Pampeana. Esta especie suele encontrarse preferentemente en sitios con disturbios menores, por ejemplo márgenes de rutas, vías férreas, áreas serranas, campos abandonados, distritos protegidos, etc.; normalmente a una altitud que no supera los 500 msnm (Zuloaga y Morrone, 1999). Con respecto a las características de los hábitats en los que suele establecerse, comúnmente se tratan de espacios abiertos a parcialmente sombreados. Se desarrolla en forma óptima en climas cálidos y de tipo méxico, es decir, ambientes en los cuales se mantiene una moderada

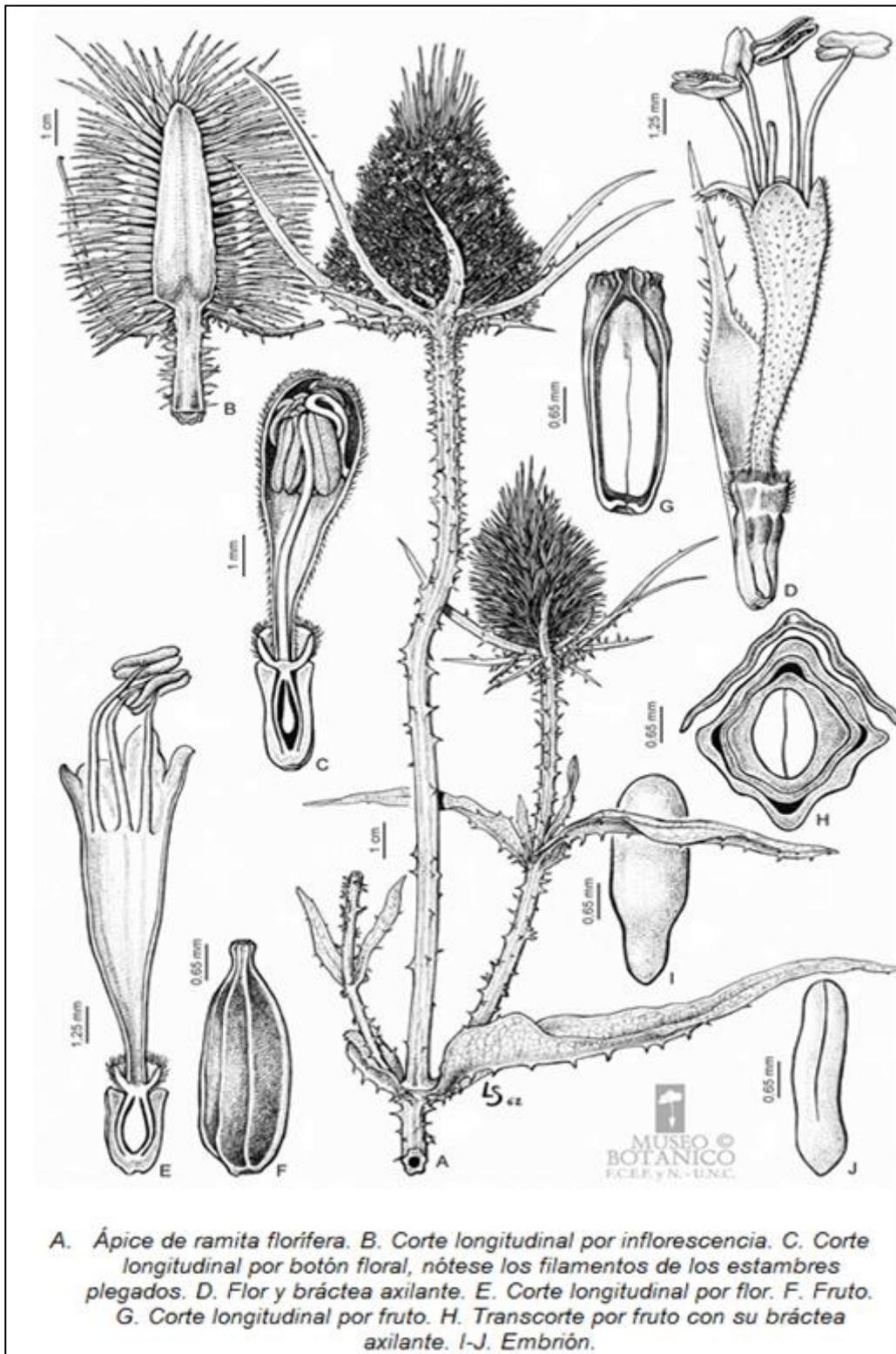
humedad en la estación de crecimiento, aunque ocasionalmente también puede invadir sitios secos (Werner, 1975c; Solecki, 1993). Werner (1975c) asocia la presencia de esta especie preferentemente a sitios recientemente disturbados y hábitats serales tempranos. Solecki (1993) señala que también se la suele encontrar en áreas con vegetación establecida, indicando que puede ser observada en comunidades de las últimas etapas de la sucesión de cultivos abandonados, así como también bosques húmedos. Debido a que la especie requiere dos o más años para completar su ciclo de vida, la existencia de disturbios anuales severos pueden no ser tolerados. Por otro lado, la ausencia de disturbios a largo plazo eventualmente se traduciría en el reemplazo de cada por especies típicas de la últimas etapas de la sucesión, normalmente perennes de lento crecimiento (Werner, 1976) (Fot. 1.3).



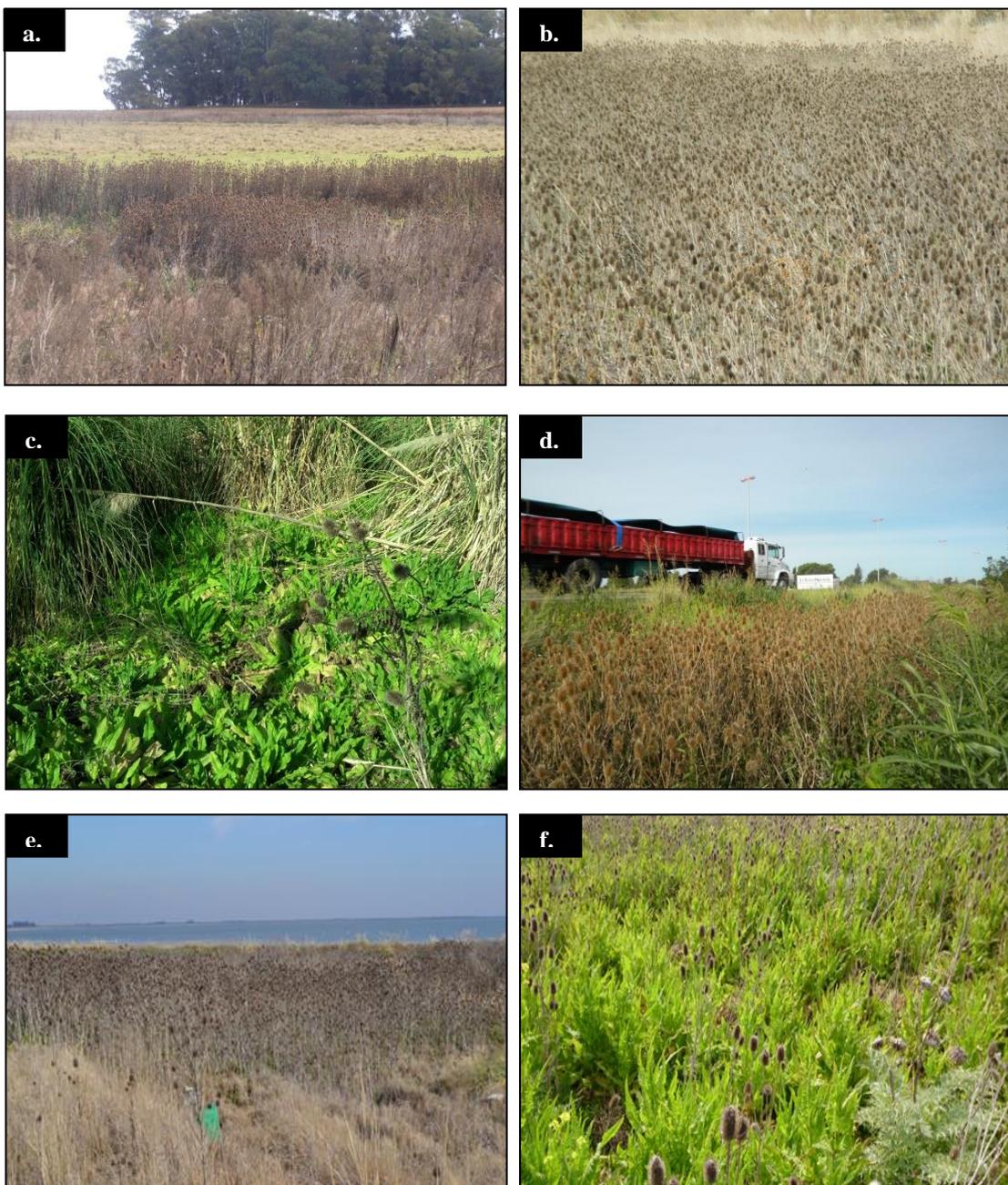
**Fotografía 1.1.** *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo; **a.** Plántula; **b.** Rosetas.



**Fotografía 1.2.** *Dipsacus fullonum* en estado reproductivo; **a.** Plantas previo a la emergencia de capítulos; **b.** Capítulo en plena floración.



**Figura 1.1.** Partes constitutivas de *Dipsacus fullonum*. Imagen perteneciente a la iconoteca del Museo Botánico de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba.



**Fotografía 1.3.** Poblaciones de *Dipsacus fullonum* en distintos sitios de Argentina; **a.** Pastizal del centro-oeste de la Provincia de Buenos Aires; **b.** Localidad de Bahía Blanca; **c.** Reserva Natural Costanera Sur, CABA; **d.** Márgen de camino en las afueras de Bahía Blanca; **e.** Laguna de Gómez, Partido de Guaminí; **f.** Localidad de Chapadmalal a metros de la costa marítima.

#### Manejo de *Dipsacus fullonum*

Debido a que la carda sólo se reproduce sexualmente, el control de la misma se debe basar, por un lado, en el agotamiento del banco de semillas del suelo, y por el otro en evitar la producción de nuevas semillas; en consecuencia, el entendimiento de su

ecofisiología de crecimiento y reproducción es una temática primaria en el desarrollo de un plan estratégico de manejo (Glass, 1991; Solecki, 1993).

*D. fullonum* ha demostrado ser una especie muy difícil de controlar (Lusher, 2006). La eliminación manual sólo puede realizarse en superficies pequeñas. El laboreo podría ser una opción ya que se indica que *D. fullonum* no tolera la remoción del suelo. Sin embargo, esta costosa práctica se restringe casi exclusivamente para su uso en áreas niveladas como las de uso agrícola, siendo una herramienta poco factible en la mayoría de los ambientes que invade la carda (áreas protegidas, pasturas naturales, márgenes de ruta, etc.) (Ditomaso, 2000; Masters y Sheley, 2001; Dudley y otros, 2009). Además aumenta los niveles de erosión eólica y promueve cambios drásticos en los parámetros del suelo, especialmente en aquellos más frágiles como los de la zona semiárida (Ditomaso y otros, 2007; Paoloni, 2010). En grandes infestaciones, el corte con maquinarias es la práctica más usada lográndose resultados dispares. Básicamente, mientras que un corte temprano en el ciclo de crecimiento produce el rebrote de la planta y futura producción de semillas, un corte tardío luego de floración favorece la dispersión de las semillas. La quema controlada no ha obtenido resultados alentadores en otras especies del género *Dipsacus*, ya que las rosetas verdes en estado vegetativo en la base de las plantas que están floreciendo, evitan el avance y reducen el efecto del fuego (Glass, 1991; Solecki, 1993). Bentivegna y Smeda (2008) ensayaron formulaciones de herbicidas reguladores de crecimiento e inhibidores de la acetolactatosintetasa en *D. laciniatus*, no registrándose resultados publicados en *D. fullonum*.

Lusher (2006) estimó que el control de un stand monoespecífico de *D. fullonum* tiene un costo aproximado de 99 U\$S.ha<sup>-1</sup> empleando únicamente labores mecánicas de corte. Sin embargo, este costo aumenta cuando se trabaja en pasturas o áreas naturales porque el control debe ser selectivo y localizado. De esta manera, los medios mecánicos de control no son viables por que dañan a especies deseables, y en muchas ocasiones se debe recurrir a labores adicionales como el uso de herbicidas y cortes manuales. El elevado costo de manejo citado en los párrafos anteriores, se asocia específicamente para *D. fullonum*, y no están incorporados los relacionados con acciones secundarias de reparación circunstanciales (suelo, diversidad biológica, forraje etc.), o bien el significado económico ante la imposibilidad de restauración del sistema ecológico.

### 1.3. Caracterización de la zona de estudio

La zona de estudio corresponde a la Provincia de Buenos Aires. Se sitúa en la porción este del centro de Argentina y limita con el océano Atlántico, entre los 33°S y 41°S y los 56°30' E y 63°30' E, y presenta una superficie de 307 653 km<sup>2</sup> (Söyrinki, 1991). Geomorfológicamente este territorio corresponde a la llanura pampeana, y su fisonomía plana sólo se ve interrumpida por los Sistemas Serranos de Ventania y Tandilia, el cual el primero de ellos alcanza unos 180 km de longitud en dirección NO a SE y unos 50 km de ancho en su parte central, y el segundo corre con un rumbo general NO-SE unos 350 km desde Olavarría hasta Mar del Plata. El cordón serrano es discontinuo y de relieve general bajo, y su zona central se ensancha hasta unos 60 km (Selles-Martínez, 2001; Dalla Salda y otros, 2006). La llanura es cruzada por algunos ríos lentos que fluyen y ciertos lagos y lagunas (Söyrinki, 1991).

Climatológicamente, la provincia pertenece a la zona templada sur. La temperatura media del mes más cálido, Enero, es 20-24°C y la del mes más frío, Julio, es 8-10°C. En la mayor parte de la provincia, la precipitación anual es de 700-900 mm; en la zona costera noreste alcanza los 1000 mm y en la zona sudoeste decae a los 400 mm (Söyrinki, 1991).

De forma generalizada, el suelo es pardo o negro, con subsuelo de loess o de limo; en la zona occidental predominan los suelos arenosos, mientras en el sudoeste, bajo un suelo muy delgado existen gruesas capas de calcáreo. En las sierras los suelos son inmaduros, con rocas cristalinas o de areniscas (Cabrera, 1963).

#### 1.3.1. Vegetación

Según la clasificación fitogeográfica propuesta por Cabrera (1971), gran parte de la provincia de Buenos Aires abarca sectores de la Provincia Pampeana y del Distrito del Caldén (Provincia del Espinal), lugares ampliamente infectados por carda. Sus composiciones florísticas se describen a continuación:

**Provincia Pampeana:** la mayor parte de la Provincia de Buenos Aires se corresponde con esta provincia fitogeográfica. La vegetación se compone por estepas o pseudo-estepas de gramíneas, donde el aspecto más sobresaliente es la ausencia de

especies arbóreas, a no ser cultivadas o bien en comunidades edáficas muy reducidas (Cabrera, 1971). Los pastos forman matas densas que se secan en la estación seca o la estación fría y las estructuras de renuevo quedan a nivel del suelo protegidas por el detritus de las plantas (Bilenca y Miñarro, 2004).

Se extiende sobre llanuras horizontales o muy poco onduladas, con algunas serranías de poca altura (hasta 1200 m) que emergen como islas. Hay ríos de cauce lento y ondulado, y numerosas lagunas de agua dulce o salobre. La comunidad clímax es la estepa de gramíneas, que localmente es denominada ‘flechillar’, existiendo también praderas, estepas sammófilas, estepas halófilas, bosques marginales y diversos tipos de vegetación hidrófila. Desde el punto de vista florístico, la Provincia Pampeana se caracteriza por la predominancia absoluta de gramíneas cespitosas, especialmente las tribus Stipeae, Aristideae, Meliceae, Poeae y Eragrosteae (Cabrera, 1971).

Las Poáceas son acompañadas por otras herbáceas y, ocasionalmente por sufrútices o pequeños arbustos. La mayor parte de las especies tienen características de xerofilia, que se tornan más frecuentes y acentuadas hacia el sur y hacia el oeste (Bilenca y Miñarro, 2004).

Con respecto a otras áreas de clima templado del mundo, esta área presenta una relativa pobreza en cuanto a la flora presente que en parte se adjudica a la invasión masiva de ganado doméstico entre los siglos XVI y XIX y a la invasión de plantas exóticas (Bilenca y Miñarro, 2004).

**Provincia del Espinal (Distrito del Caldén):** corresponde a este distrito el sur de Buenos Aires. El tipo de vegetación característico es el bosque xerófilo, pero también hay estepas gramíneas y matorrales de arbustos. La comunidad clímax es el bosque de caldén (*Prosopis caldenia*) que ha sido muy explotada para obtener postes o leña. La zona de la provincia contemplada por el presente estudio corresponde al Distrito fitogeográfico del Caldén. Sus suelos tienen importantes contenidos de arena, habitualmente con aptitud ganadera y eventualmente agrícola. En el estrato herbáceo predominan los pastos robustos y son frecuentes dos compuestas sufruticosas: *Baccharis artemisioides* y *Baccharis ulicina* (Cabrera, 1971).

## 1.4. Justificación de la investigación

El estudio de la ecofisiología de una especie vegetal introducida en una región, es un requerimiento primordial para evaluar o predecir su potencial como invasora, reconocer sus efectos negativos y establecer pautas de manejo que permitan limitar su propagación. Con la finalidad de probar que el éxito de la amplia expansión de *D. fullonum* como maleza invasora en ambiente del sur de la Provincia de Buenos Aires es el producto de la manifestación conjunta de diversas estrategias ecológicas de la especie, se expone la presente tesis acerca de la bioecología de esta especie en relación a su potencial invasivo, sus estrategias de supervivencia, la interacción con el medio ambiente y su capacidad de expansión. Además se tratan ciertos aspectos acerca del impacto ambiental producido por dicha expansión y alternativas de manejo para reducir sus poblaciones. Esta información permitirá la elaboración de programas eficientes de manejo de *D. fullonum*.

Por lo expuesto anteriormente se plantearon las siguientes hipótesis:

### 2.1.1. Hipótesis

**H1.** El éxito invasor de *D. fullonum* es explicado en parte gracias a que:

- a. La producción de semillas es mayor cuando las plantas de carda crecen aisladas que cuando crecen en cercanía con otras plantas de carda.
- b. Es capaz de germinar en un amplio rango de temperaturas y de pH, además de valores elevados de presión osmótica y concentración salina.
- c. Sus semillas germinan luego de un año de estar almacenadas, tanto sumergidas en agua (condiciones de saturación hídrica) como en seco, en este último caso además depende de la temperatura de almacenamiento.
- d. Sus semillas pueden persistir de manera viable en el suelo por períodos mayores a un año.
- e. Puede emerger a profundidades de suelo mayores a 3 cm y en diferentes tipos de suelo.
- f. La emergencia de plántulas ocurre de manera uniforme a lo largo del año.

**H2.** En las condiciones ambientales del sur bonaerense *D. fullonum*:

- a. Presenta un ciclo de vida de dos años de duración y florecen una vez alcanzado un tamaño crítico (30 cm de diámetro de la roseta).
- b. La partición de recursos asignados a distintos órganos (hojas, tallos y raíces) es diferente durante el transcurso de dicho ciclo.
- c. La mayor capacidad competitiva por recursos aéreos en el estadio de roseta que en el estado reproductivo se explica por índices foliares más elevados en el primero de ellos.

**H3.** La invasión de “carda” produce una alteración en los sistemas ecológicos que coloniza en función de:

- a. su alta capacidad competitiva por recursos, que afecta negativamente parámetros de crecimiento de especies deseables.
- b. la producción de sustancias alelopáticas, la cual varía en función del estadio fenológico y del órgano de la maleza involucrado.
- c. cambios en los niveles de pH, materia orgánica y diversos nutrientes del suelo.

**H4.** Es posible lograr un 90% de control mediante la aplicación de:

- a. herbicidas postemergentes.
- b. cortes mecánicos.

**H5.** En la provincia de Buenos Aires, existen únicamente especies fúngicas indígenas y generalistas capaces de causar enfermedad en plantas de carda.

Los objetivos de la presente tesis son:

### **Objetivo general**

Estudiar las bases ecofisiológicas que sustentan el potencial de *D. fullonum* como especie invasora de alta supervivencia e investigar sobre la eficacia y factibilidad de ciertas técnicas de control.

### **Objetivos específicos**

- a) Cuantificar la producción de semillas de *D. fullonum*, sus requerimientos para la germinación y los flujos de emergencia en el banco del suelo.
- b) Estudiar la dinámica del crecimiento de *D. fullonum* tanto aérea como radical a lo largo de su ciclo de desarrollo, determinando los momentos en que ocurren sus estadios fenológicos y cuantificando atributos morfológicos y fisiológicos.

- c) Evaluar la interacción competitiva, el potencial alelopático de *D. fullonum* y los cambios en las condiciones del suelo provocados por esta especie.
- d) Determinar el impacto de ciertas medidas de control (herbicidas y corte), con diferentes intensidades de aplicación y en diversos estadios de desarrollo.
- e) Confeccionar una lista de posibles patógenos de *D. fullonum* con el propósito de seleccionar potenciales agentes de control biológico.

## 1.5. Estructura de la tesis

Los capítulos que siguen dan cuenta del trabajo que ha sido realizado a fin de cumplir con los objetivos de esta investigación.

En el Capítulo I - “Introducción general y descripción del problema” se brinda información general del tema, se plantea la problemática y se caracterizan tanto la zona como la especie estudiada.

En el Capítulo II - “Producción de semillas, germinación y emergencia de *Dipsacus fullonum* bajo diferentes condiciones” se presentan una serie de ensayos que describen la producción de semillas, el comportamiento de la germinación de la especie en respuesta a diferentes factores ambientales y diversos estudios asociados a la emergencia de plántulas en distintas condiciones.

En el Capítulo III - “Análisis del crecimiento y desarrollo de *Dipsacus fullonum* en ambientes del sur bonaerense” se estudió el patrón de asignación de biomasa a cada constituyente de la planta a lo largo del ciclo de crecimiento en parcelas a campo.

En el Capítulo IV - “Interferencia de *Dipsacus fullonum* sobre especies deseables y suelos del sur de la Provincia de Buenos Aires”, se exploran los efectos de la carda sobre otras especies a través de procesos de competencia y alelopatía y sobre ciertas características químicas de distintos suelos.

En el Capítulo V - “Control químico y mecánico de *Dipsacus fullonum*”, se evalúan opciones de control de las poblaciones, abarcando métodos mecánicos (corte) y químicos (herbicidas).

En el capítulo VI – “Estudios etiológicos y biogeográficos de las enfermedades encontradas afectando a *Dipsacus fullonum* en la provincia de Buenos Aires” se

describe una lista de patógenos asociados a la maleza con el fin de evaluar la factibilidad de incorporar el control biológico en un plan de manejo integrado.

En el capítulo VII se presentan las consideraciones finales, donde se integran los conocimientos alcanzados en los capítulos antecedentes y las perspectivas de posibles estudios.

## Capítulo II

**Producción de semillas, germinación y emergencia de *Dipsacus  
fullonum* bajo diferentes condiciones**

## 2.1. Introducción

La producción de un suficiente número de semillas viables es uno de los factores cruciales para la supervivencia y dispersión en ciertas malezas, fundamentalmente en especies vegetales que no se reproducen vegetativamente, como el caso de especies anuales (Greene y Johnson, 1994). El conocimiento de este potencial, en distintas condiciones, da una idea de la capacidad de una planta para incrementar el número de individuos en un determinado sitio, y determinar sus posibilidades de colonización de nuevas áreas. Por lo tanto, evitar la producción de semillas de una maleza es clave para el desarrollo de medidas eficientes de manejo y así mitigar su expansión (Zimdahl, 1993).

Una vez que las semillas se dispersan desde la planta madre, las mismas pueden germinar inmediatamente, o bien incorporarse a lo que comúnmente se denomina “bancos de semillas del suelo”. Estos últimos juegan un rol importante en la regulación de la población de una maleza, dado que frecuentemente optimizan la dispersión de la emergencia de plántulas en el tiempo. Dependiendo de los atributos fisiológicos de una semilla, tales como dormición, se puede desencadenar: por un lado el proceso inmediato de germinación de la semilla madura, o bien puede permanecer viva en el reservorio del banco de acuerdo a su longevidad. Otras pérdidas son a través de la predación por aves, roedores e insectos y del decaimiento que se produce por efecto del consumo de las semillas por la macro y microfauna y la microflora del suelo (Cooper, 2012; Benech Arnold y otros, 2014).

La germinación es uno de los estadios más críticos en el ciclo de una planta y su éxito es esencial para el establecimiento de una maleza en el mismo o en un nuevo sitio (Ross y Lembi, 2009). Este proceso es el resultado de una serie de interacciones complejas entre numerosos factores intrínsecos (genotipo, edad) y extrínsecos (ambiente) (Bewley y Black, 1994; Acosta y otros, 2013). Las condiciones óptimas necesarias para la germinación varían considerablemente dependiendo de la especie (Egley y Duke, 1985). Una rápida germinación es un rasgo típico que caracteriza a muchas de las malezas ampliamente distribuidas. Por el contrario, especies de distribución restringida suelen exhibir una germinación más lenta (Forcella y otros, 1986). Diversos factores ambientales, tales como la temperatura, la disponibilidad de agua, el pH del suelo o el estrés hídrico influyen la germinación. La temperatura y la disponibilidad de agua en el suelo se consideran los parámetros más importantes para

retardarla, reducirla o evitarla (Norsworthy y Oliveira, 2006). Ciertamente, la habilidad que presentan frecuentemente de germinar bajo condiciones de estrés hídrico debido a la falta de agua, o bien, al elevado contenido de sales en el suelo, permite a la maleza tomar ventaja de estas condiciones que limitan el crecimiento de otras especies. Asimismo, el pH del suelo incide en el desarrollo y la competitividad de una especie debido a que afecta la disponibilidad de ciertos nutrientes, minerales esenciales, la solubilidad de elementos tóxicos y la microflora del suelo (Chauhan y Johnson, 2008).

La comprensión de los mecanismos que modifican el tamaño de una población, como por ejemplo la disponibilidad de semillas viables en el banco, ayuda en el diseño de modelos que permiten predecir la emergencia de plántulas y así poder aplicar técnicas de control en los momentos de mayor aparición de plántulas en el campo (Faccini y Nisensohn, 1994; van Mourik y otros, 2005; Cooper, 2012; Benech Arnold y otros, 2014). En este sentido, un aspecto necesario a conocer es la longevidad de una semilla, la cual también depende de numerosos factores, entre los cuales se menciona su estado fisiológico, las características químicas y físicas del ambiente donde reside y su posición en el perfil suelo (Figueroa y otros, 2007). Esta información nos indica por cuánto tiempo un banco de semillas continuará aportando nuevos individuos a la población, y en consecuencia, por cuánto tiempo se deberían realizar medidas de control hasta agotar las semillas del banco (Bentivegna y Smeda, 2011a; Cooper, 2012). Se dice que malezas más exitosas suelen presentar una persistencia elevada en el suelo (Davis y otros, 2005); y que en general, las especies anuales y bianuales presentan semillas más longevas que aquellas perennes relacionadas (Radosevich y otros, 2007).

Un factor muy importante que influye en la emergencia de plántulas es la profundidad de entierro de una semilla en el suelo. A medida que varía la profundidad de suelo difieren principalmente la disponibilidad de agua, la amplitud térmica diaria y la exposición a la luz, factores que a su vez pueden inhibir o facilitar la germinación (Koger, y otros, 2004; Chauhan y otros, 2006). La emergencia a distintas profundidades es proporcional a la cantidad de reservas que una semilla posea (Ebrahimi y Eslami, 2012). También depende de la tipología de tales reservas, dependiendo de la cantidad de oxígeno requerido para su utilización. Estas reservas energéticas son vitales para el crecimiento de la plántula previo a la emergencia, porque dada la ausencia de luz, el crecimiento es completamente autotrófico. Las malezas presentan diferente habilidad para emerger desde las distintas capas del suelo. Para la mayoría de las especies la

profundidad óptima de emergencia es 2 cm y la máxima profundidad dónde la emergencia puede ocurrir es 6 cm (Mohler y Galford, 1997).

El patrón de emergencia de plántulas es variable a lo largo del año para las diferentes especies (Mohler, 2001). Esta periodicidad también tiene un impacto relevante en la decisión de prácticas de manejo adecuadas, ya que se puede actuar en momentos donde se presente la máxima emergencia y permitir tempranamente la disrupción del ciclo de la maleza (Mohler, 2001; Figueroa y otros, 2007).

*Dipsacus fullonum* se reproduce únicamente a través de la producción de aquenios, que corrientemente se citan con la denominación de semillas. Estas poseen un tamaño de aproximadamente 1 x 4 mm y no presentan adaptaciones para dispersarse por el viento o animales. En consecuencia, el 99% de las mismas caen pasivamente al suelo dentro de un radio de 1,5 m de la planta madre generando densos parches (Werner, 1975a). Las actividades humanas y los cursos de agua son los agentes más probables de su dispersión a largas distancias.

Las semillas de especies del género *Dipsacus* no requieren de tratamientos de frío, escarificación o un fotoperíodo específico para germinar (Werner, 1975a, c). De acuerdo con Caswell y Werner (1978), las semillas maduras pueden germinar inmediatamente luego de un corto período de pos-maduración, por lo tanto no presentan mecanismos de dormición innata.

Se carece de estudios detallados en el sur bonaerense referentes a la cuantificación de la producción de las semillas en distintas condiciones, los factores que afectan la germinación y aspectos relacionados con la emergencia de plántulas. Experimentos de base conducirán a un mejor entendimiento de la bioecología de la semilla, evaluar su potencial de invasión. Esta información servirá para maximizar el efecto de futuras técnicas de manejo sobre *D. fullonum*.

### **2.1.1. Hipótesis**

El éxito invasor de *D. fullonum* es explicado en parte porque:

- a. La producción de semillas es mayor cuando las plantas de carda crecen aisladas que cuando crecen en cercanía de otros individuos de carda.
- b. Es capaz de germinar en un amplio rango de temperaturas y de pH, además de valores elevados de presión osmótica y concentración salina.

- c. Sus semillas germinan luego de un año de estar almacenadas, tanto sumergidas en agua (condiciones de saturación hídrica) como en seco, en este último caso además depende de la temperatura de almacenamiento.
- d. Sus semillas pueden persistir de manera viable en el suelo por períodos mayores a un año.
- d. Puede emerger a profundidades de suelo mayores a 3 cm y en diferentes tipos de suelo.
- e. La emergencia de plántulas ocurre de manera uniforme a lo largo del año.

### *Sustento de la hipótesis*

Werner (1975c) obtuvo 3.333 semillas por planta en *D. fullonum* en EEUU y señaló que su germinación alcanzó un 99,7% en condiciones de laboratorio, disminuyendo en la medida que las semillas eran más viejas. Bentivegna y Smeda (2011b) indican una menor producción de semillas de plantas de *D. laciniatus* creciendo en grupos. Además, en la misma especie se observó una persistencia de tres años bajo condiciones de campo en la región húmeda de Missouri como así también marcada germinación en dos meses del año (Bentivegna, 2011a). Huarte y otros (2016) encontraron que semillas de carda silvestre provenientes de una población del norte de la provincia de Buenos Aires emergen aún a 3 cm de profundidad en el orden de 7%.

### **2.1.2. Objetivos**

#### Objetivo general

Obtener información detallada acerca de aspectos relacionados con la producción de semillas en *D. fullonum*, su germinación y la emergencia de plántulas.

#### Objetivos específicos

- Cuantificar la producción de semillas de *D. fullonum* en diferentes ambientes y situaciones de crecimiento.
- Analizar factores que afectan la germinación de semillas de *D. fullonum* (pH, temperatura constante, potencial osmótico, concentración salina, almacenamiento en seco y almacenamiento en saturación hídrica).

- Evaluar la persistencia de semillas en el suelo en condiciones de campo.
- Evaluar el efecto de la profundidad de entierro y la textura del suelo en la emergencia de plántulas.
- Definir el patrón de emergencia de plántulas de *D. fullonum* a lo largo del año.

## **2.2. Materiales y Métodos**

### ***2.2.1. Producción de semillas bajo dos situaciones de crecimiento.***

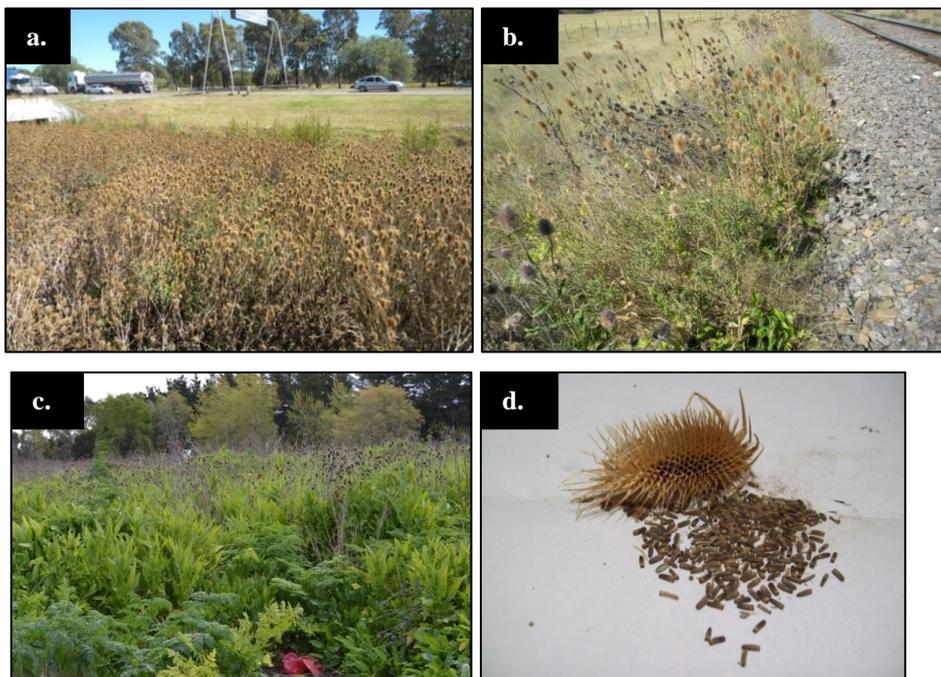
El estudio fue realizado entre los años 2013 y 2014 en cuatro sitios, el primero de ellos en una población de carda ubicada dentro de un curso de agua en la periferia de la ciudad de Bahía Blanca (BB; 38°42'1,05" S; 62°19'49,84" O); el segundo, en las márgenes de una vía férrea contigua a un camino vecinal que conduce desde la localidad de Cabildo a Saldungaray, a 20 Km del mismo (SR; 38°21'41,08"S; 61°48'16,84"O). El tercero, en una población ubicada sobre una vía férrea ubicada dentro del Partido de Necochea (NC; 38°31'12,1"S; 58°41'39,9"O) y el último en una población sobre un margen de la Ruta 228 cercana a la localidad de Energía (EG; 38°32'35,5"; 59°29'7,1") (Fot. 2.1a, b y c).

Inmediatamente al momento en que las semillas se observaron maduras y antes de su caída natural, fueron cosechados los capítulos de un total de 30 plantas en cada sitio. Este momento correspondió a las fechas 27/02/2013 (BB), 28/02/2013 (SR), 14/02/2014 (NC) y 15/02/2014 (EG). Las plantas evaluadas fueron seleccionadas teniendo en cuenta dos situaciones de crecimiento: 15 de ellas creciendo en competencia intraespecífica (de ahora en más “en grupos”) y las otras 15 creciendo en ausencia de competencia intraspecífica (de ahora en más “aisladas”). Las plantas fueron consideradas “aisladas” cuando no crecieron cerca de otra carda dentro de un radio de 60 cm, mientras que una planta fue considerada “en grupo” cuando la misma estaba creciendo cerca de por lo menos dos plantas de carda, dentro de ese mismo radio, de acuerdo a la metodología utilizada por Bentivegna y Smeda (2011b). Luego de cosechados los capítulos se contabilizaron sus semillas. Para determinar el número de semillas y su peso, se extrajeron cuidadosamente las semillas a mano de cada capítulo (Fot. 2.1d) y se realizó una limpieza utilizando una malla de 0,1 cm de luz. Para estimar la producción de semillas se realizó una regresión entre el número de semillas y el peso de las mismas,

tomando diez capítulos aleatoriamente, por cada localidad y situación de crecimiento (“aislada” o “en grupo”). También se hizo una regresión entre el número de semillas y el largo del capítulo. El capítulo principal se cuantificó separadamente debido a que es el primero que madura y frecuentemente escapa a las medidas de control. El peso total de las semillas de cada capítulo fue registrado a temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) y 50% de humedad.

### Análisis estadístico

Los datos fueron procesados a través de un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se realizó por medio del test DMS protegido de Fisher ( $p < 0,05$ ). Previamente se evaluó la normalidad (Shapiro-Wilks  $p < 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Levene  $p < 0,05$ ). Se ajustaron modelos lineales para el largo del receptáculo y peso de las semillas, ambos parámetros en relación al número de semillas. Los análisis se efectuaron utilizando el software InfoStat (Di Rienzo y otros, 2015) y los modelos ajustados utilizando el software CurveExpert 1.3 (Hyams, 2005). En los casos que no se cumplían los supuestos, los datos fueron transformados con la función  $\text{Ln}(x)$  (Snedecor y Cochran, 1956).



**Fotografía 2.1.** **a.** Sitio Bahía Blanca; **b.** Sitio Saldungaray; **c.** Sitio Necochea; **d.** Capítulo de carda cosechado y sus semillas (aquenios).

### 2.2.2. Factores que afectan la germinación

#### Material vegetal

Todos los experimentos fueron realizados con semillas cosechadas en el mes de marzo de los años 2010 y 2011, excepto para los de almacenamiento en seco y en saturación hídrica, para los cuales se utilizaron semillas del 2011 y 2012. Se obtuvieron a partir de población naturalizada de una extensión de cinco hectáreas ubicada en el partido de Bahía Blanca ( $38^{\circ}41'12,45''S$ ;  $62^{\circ}12'56,08''O$ ), en la cual *D. fullonum* era la especie dominante del área. El suelo presentaba un valor de 7,47 de pH y  $997 \mu S.cm^{-1}$  de salinidad. Se colectaron semillas de 200 plantas las cuales fueron limpiadas y almacenadas a bajas temperatura ( $4^{\circ}C$ ) y baja humedad ambiente ( $\leq 50\%$ ) en bolsas de papel madera.

La semilla fue considerada madura cuando la inflorescencia que la soportaba se encontraba en senescencia. El peso de 1000 semillas fue de 3,26 g, 2,62 g y 2,22 g para las cosechas 2010, 2011 y 2012, respectivamente. Mediante el test de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolium (Copeland, 1976) se determinó la viabilidad de las mismas y resultó en un 93,5%, 95,7% y 97,2% para cada año, respectivamente. Las semillas sanas fueron

esterilizadas con hipoclorito de sodio 1:3 durante un minuto, para prevenir ataques de patógenos. Los experimentos se realizaron luego de dos meses de cosechadas.

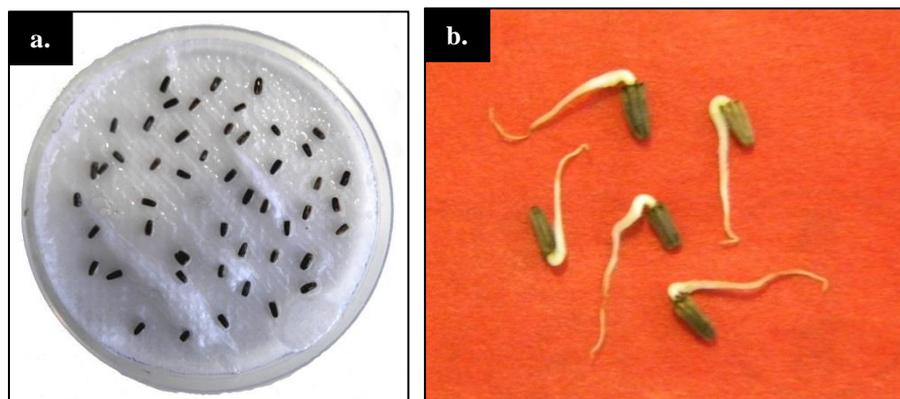
#### Protocolo general de las pruebas de germinación

Todos los experimentos consistieron en cinco réplicas de 50 semillas del correspondiente año, ubicadas sobre dos hojas de papel “tissue” en cajas de Petri plásticas de 9 cm de diámetro (Fot. 2.2a). El papel fue inicialmente humedecido con 5 ml de agua destilada (o la solución adecuada según el tratamiento) para mantener una humedad apropiada. Las semillas no necesitaron tratamiento lumínico (Caswell y Werner, 1978). Al momento de evaluar la germinación, todas las cajas fueron envueltas en bolsas de polietileno transparente para prevenir la desecación y se colocaron en cámara de germinación en condiciones de temperatura controlada (24°C). El número de semillas que germinaron se determinó diariamente durante 30 días. El criterio que se usó para la germinación fue aquella que presentaba su radícula con una longitud de 2 mm (Fot. 2.2b). Al momento de evaluar la germinación se controlaba la humedad del papel de germinación y se realizaba el asperjado con agua destilada (o la solución adecuada según el tratamiento) según su necesidad.

La evaluación de los efectos de los tratamientos se realizó mediante el porcentaje de germinación (proporción de semillas germinadas sobre el total de semillas) y el coeficiente de velocidad de germinación (Ranal y Santana, 2006):

$$CVG = \frac{\sum_{i=1}^k Fi}{\sum_{i=1}^k FiXi}$$

Donde Fi: número de semillas germinadas en el día i; Xi: número de días de incubación y k: último día de germinación. La máxima velocidad (CVG=1) indica que todas las semillas germinan un día después de incubadas. Un alto CVG representa que un alto número de semillas germinaron más rápido. Asimismo, podemos comparar los cambios en la rapidez para germinar bajo diferentes condiciones ambientales.



**Fotografía 2.2. a.** Unidad experimental para los experimentos de factores que afectan la germinación; **b.** Semillas de carda germinando.

### Efecto de la temperatura

Las semillas que se encontraban almacenadas fueron puestas a germinar, siguiendo el protocolo general, a diferentes niveles de temperatura constante dentro de cámaras de germinación y totalmente en oscuridad. Los niveles utilizados fueron: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 y 36°C. Este rango refleja las temperaturas medias, máximas y mínimas que ocurren fundamentalmente en otoño y primavera en la zona de estudio (Paoloni, 2010).

### Efecto del pH

Para examinar los efectos del pH en la germinación, se prepararon soluciones con pH crecientes entre 3 y 12 a intervalos de una unidad. Las mismas se ajustaron utilizando ácido clorhídrico 32% m/v e hidróxido de sodio 1N. El pH de la solución deseado fue confirmado utilizando un medidor de pH digital Hach EC10 modelo 50050. Las semillas fueron embebidas en cajas de Petri con 5 ml de cada solución en particular. Periódicamente, la solución fue extraída de la caja y reemplazada con el objeto de mantener el pH estable. Las semillas fueron puestas a germinar a 24°C en cámaras de germinación.

### Estrés osmótico

Se realizaron seis tratamientos para determinar el efecto del estrés osmótico en la germinación. Las semillas fueron puestas a germinar en soluciones acuosas con diferentes potenciales osmóticos de 0 (testigo agua destilada); -0,1; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 y -1 MPa. Las soluciones se obtuvieron disolviendo 56,5; 93,6; 148,8; 192,2; 229,2 y

262 gramos de Polietilen Glicol (PEG) 6000 en 1 litro de agua destilada, respectivamente. La cantidad requerida de PEG 6000 fue determinada de acuerdo a Michel y Kaufmann (1973).

#### Concentración salina

Se obtuvieron soluciones salinas disolviendo cloruro de sodio en agua destilada, obteniéndose siete concentraciones crecientes (10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640 mM), que se compararon con un testigo 0 mM (agua destilada). Se pusieron a germinar semillas, siguiendo el protocolo general, embebidas en las concentraciones de NaCl mencionadas, que reflejan el contenido salino de los suelos de la Provincia de Buenos Aires (Paoloni, 2010).

#### Almacenamiento en seco

Se colocaron 50 semillas en sobres de papel madera, los cuales se almacenaron en cámaras de crecimiento a diferentes temperaturas 0, 10, 20 y 30°C por períodos de 0, 30, 60, 90, 120, 240 y 360 días después de la cosecha, luego se pusieron a germinar siguiendo el protocolo general. En el tratamiento de cero días, las semillas fueron puestas a germinar inmediatamente después de la cosecha luego de realizada una limpieza de las mismas.

#### Almacenamiento en condiciones de saturación hídrica

Se colocaron 50 semillas cosechadas en el 2011 y 2012 en recipientes, embebidas en agua destilada (simulando una inundación) a una temperatura en la cual no promueva la germinación (menor a 6°C) por períodos de 0, 30, 60, 90, 120 y 240 días luego de la cosecha. En el tratamiento de cero días, las semillas fueron puestas a germinar inmediatamente después de la cosecha luego de realizada una limpieza y selección de las mismas. Terminado cada período de almacenamiento, las semillas se secaron con papel tissue y se pusieron a germinar siguiendo el protocolo general.

#### Análisis estadístico

Para los ensayos en laboratorio se utilizaron diseños experimentales completamente al azar, excepto para el experimento de almacenamiento en seco, en el cual un diseño de parcela dividida fue utilizado, con la temperatura como factor principal y el período como factor secundario. Los tratamientos de cada experimento

fueron replicados cinco veces. Cada réplica, de cada tratamiento, fue puesta al azar dentro de la cámara de germinación y se reordenaron las cajas diariamente. Los datos fueron procesados a través de un análisis de la varianza (ANOVA). Previamente se evaluó la normalidad (Shapiro-Wilks  $p < 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Levene  $p < 0,05$ ). Los datos fueron transformados con la función arcoseno raíz cuadrada para corregir la falta de supuestos (Snedecor y Cochran, 1956). La comparación de medias se realizó por medio del test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Los análisis se efectuaron utilizando el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y otros, 2015) y los modelos ajustados utilizando el software CurveExpert 1.3 (Hyams, 2005).

En el caso de los valores obtenidos a diferentes potenciales osmóticos, se ajustó un modelo logístico de tres parámetros de la forma:

$$G = G_{max} / (1 + \frac{x}{x_{50}})^{Grate}$$

Por otro lado, la germinación obtenida a distintas concentraciones salinas se ajustó mediante un modelo exponencial de tres parámetros de la forma:

$$G = G_{max} / (1 + \exp\left(-\frac{x - x_{50}}{G_{rate}}\right))$$

Donde G representa la germinación (%) a un potencial osmótico y/o concentración salina x,  $x_{50}$  es el potencial osmótico o la concentración salina para alcanzar el 50% de la germinación,  $G_{max}$  es la germinación máxima y  $G_{rate}$  determina la caída de la curva.

Los valores de velocidad de germinación obtenidos a diferentes potenciales osmóticos y concentraciones salinas fueron ajustados a los mismos modelos, respectivamente (Chauhan y otros, 2006).

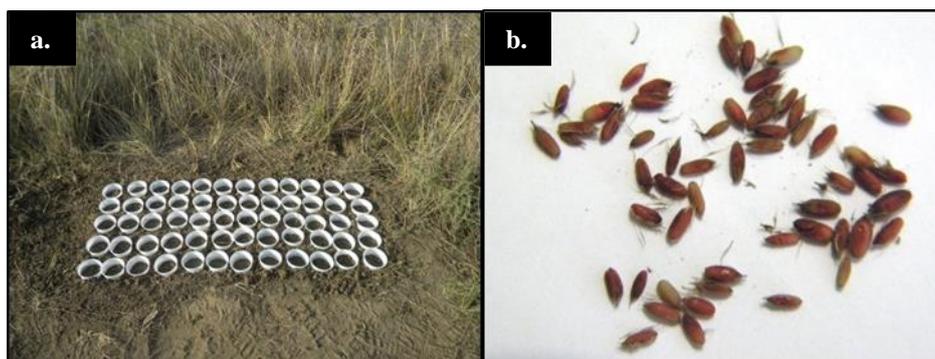
### **2.2.3. Emergencia**

#### Longevidad de semillas

El experimento comenzó en abril del 2011 y fue realizado en dos localidades. Uno de los sitios correspondió al predio del Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET, Bahía Blanca -BB-, 38°41'29,89"S; 62°14'41,92"O) y el otro a la Chacra Experimental del Ministerio de Asuntos Agrarios (Patagones -P-, 40°39'50,31"S; 62°53'8,73"O).

En condiciones de campo, fueron enterrados recipientes plásticos que previamente se llenaron con suelo tamizado proveniente de respectivos sitios (Fot.

2.3a). Los suelos presentaban un 64,3% de arena, 15,1% de limo y 20,6% de arcilla (*BB*) y 78,9% de arena, 10,5% de limo y 10,6% de arcilla (*P*). En cada recipiente se colocaron 50 semillas a 1 cm de profundidad con una viabilidad media de 95,7% y un porcentaje de germinación de 96%, lo que indica que las semillas utilizadas al momento de inicio del experimento no mostraron dormición. Las semillas provenían de una población de cinco hectáreas ubicada en la localidad de Bahía Blanca (38°41'12,45"S; 62°12'56,08"O). Mensualmente, se evaluó la emergencia de plántulas en todos los recipientes enterrados. A mediados de cada estación del año, fueron extraídos cinco recipientes al azar y se realizó el recuento de las semillas remanentes en el suelo, a las cuales se les determinó la viabilidad mediante el test de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolium (Fot. 2.3b; Copeland, 1976). El ensayo tuvo una duración de 36 meses. Los datos finales fueron divididos en tres categorías, semillas germinadas, viables y perdidas. En esta última categoría fueron consideradas las semillas no recuperadas y las que no se consideraron viables.

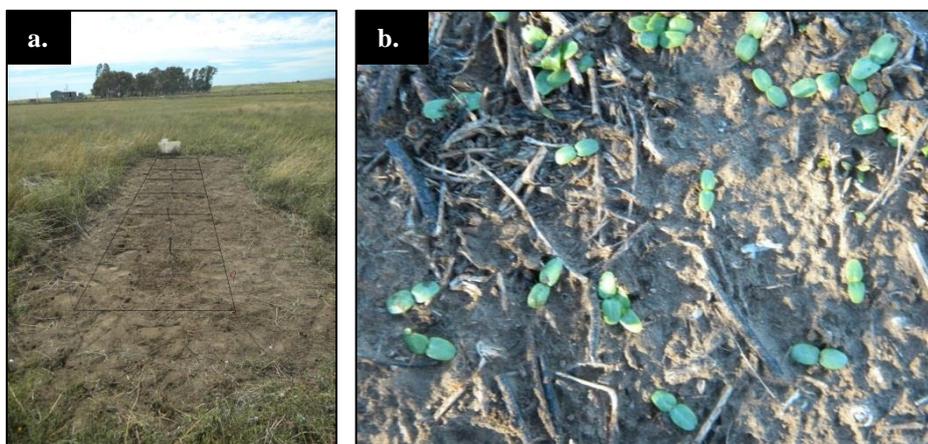


**Fotografía 2.3.** **a.** Unidades experimentales del experimento para evaluar la longevidad de las semillas de *D. fullonum*; **b.** Semillas de *D. fullonum* luego de ser tratadas con TTC (cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolium) para la determinación de la viabilidad.

#### Patrón anual de la emergencia

Se realizaron experimentos a campo en los años 2012 y 2013, en dos sitios, el primero en las instalaciones de CERZOS – CONICET, CCT Bahía Blanca (38°40'47''S 62°14'47''O) y el segundo en el establecimiento rural perteneciente a la Universidad Nacional del Sur ubicado en el paraje Napostá (N- 38°25'39,25"S; 62°17'9,28"O). En cada sitio, se establecieron seis parcelas de 1 m x 1 m (Fot. 2.4.a) y en cada una se distribuyeron 1500 semillas con 97,2% (2012) y 98,5% (2013) de viabilidad. Las semillas fueron recolectadas de una población ubicada en Bahía Blanca (38°41'12,45"S;

62°12'56,08"). Luego fueron distribuidas uniformemente e incorporadas al suelo en el primer centímetro de profundidad. Se sembró a principios de abril de cada año, momento donde se observó la máxima maduración y dispersión de las semillas en las poblaciones naturales. Previo a la incorporación de semillas de carda, se desmalezó dejando el suelo desnudo, y se niveló su superficie. Durante un año se registró la emergencia de plántulas sobre la superficie (Fot. 2.4.b). Al finalizar cada medición se aplicó herbicida Paraquat a una dosis equivalente a 1,17 Kg de i.a.Ha<sup>-1</sup>. La aplicación de este herbicida de contacto permitió eliminar las plántulas emergidas ya contabilizadas para evitar sobreestimaciones y controlar otras malezas. Una plántula fue considerada emergida cuando presentaba los cotiledones totalmente expandidos.

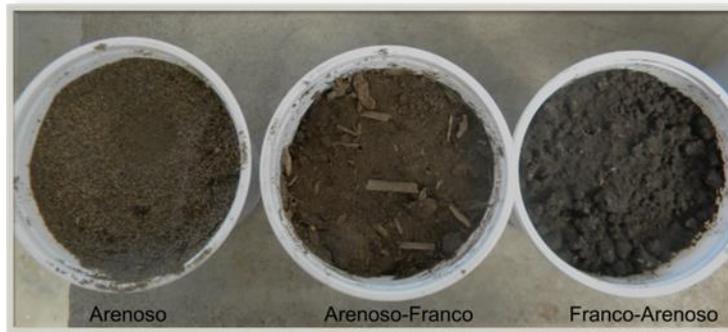


**Fotografía 2.4. a.** Parcelas experimentales en la localidad de Napostá para la determinación de la periodicidad de la emergencia en *D. fullonum*; **b.** Plántulas de carda en plena emergencia.

#### Profundidad de entierro

Se realizaron dos experimentos consecutivos en invernáculo utilizando semillas cosechadas en el año 2011 y 2012 en Bahía Blanca (38°41'12,45"S; 62°12'56,08"), respectivamente. Se utilizaron macetas de 7,5 cm de diámetro que fueron rellenas con tres texturas de suelo diferentes: arenoso-franco, franco-arenoso y franco-arcilloso (Fot. 2.5). En cada una se enterraron 25 semillas a ocho profundidades diferentes. Las mismas fueron: 0 (superficie); 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 y 5 cm. Se aseguró una condición óptima de humedad de suelo de las macetas y se mantuvieron a una temperatura de 16/25°C. Durante 30 días se realizó el recuento de plántulas emergidas diariamente, las cuales fueron definidas como tal cuando presentaban la expansión total de sus

cotiledones. Los datos se expresaron en porcentaje de plántulas emergidas en relación a las semillas enterradas.



**Fotografía 2.5.** Unidad experimental donde se muestran las texturas de suelo utilizadas en el experimento de profundidad de entierro.

### Análisis estadístico

Los datos fueron procesados a través de un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se realizó por medio del test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Previamente se evaluó la normalidad (Shapiro-Wilks  $p < 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Levene  $p < 0,05$ ). Los análisis se efectuaron utilizando el software InfoStat (Di Rienzo y otros, 2015) y los modelos ajustados utilizando el software CurveExpert 1.3 (Hyams, 2005). Los datos de periodicidad de emergencia y profundidad de entierro fueron transformados con la función arcoseno raíz cuadrada para corregir la falta de supuestos (Snedecor y Cochran, 1956).

## **2.3. Resultados**

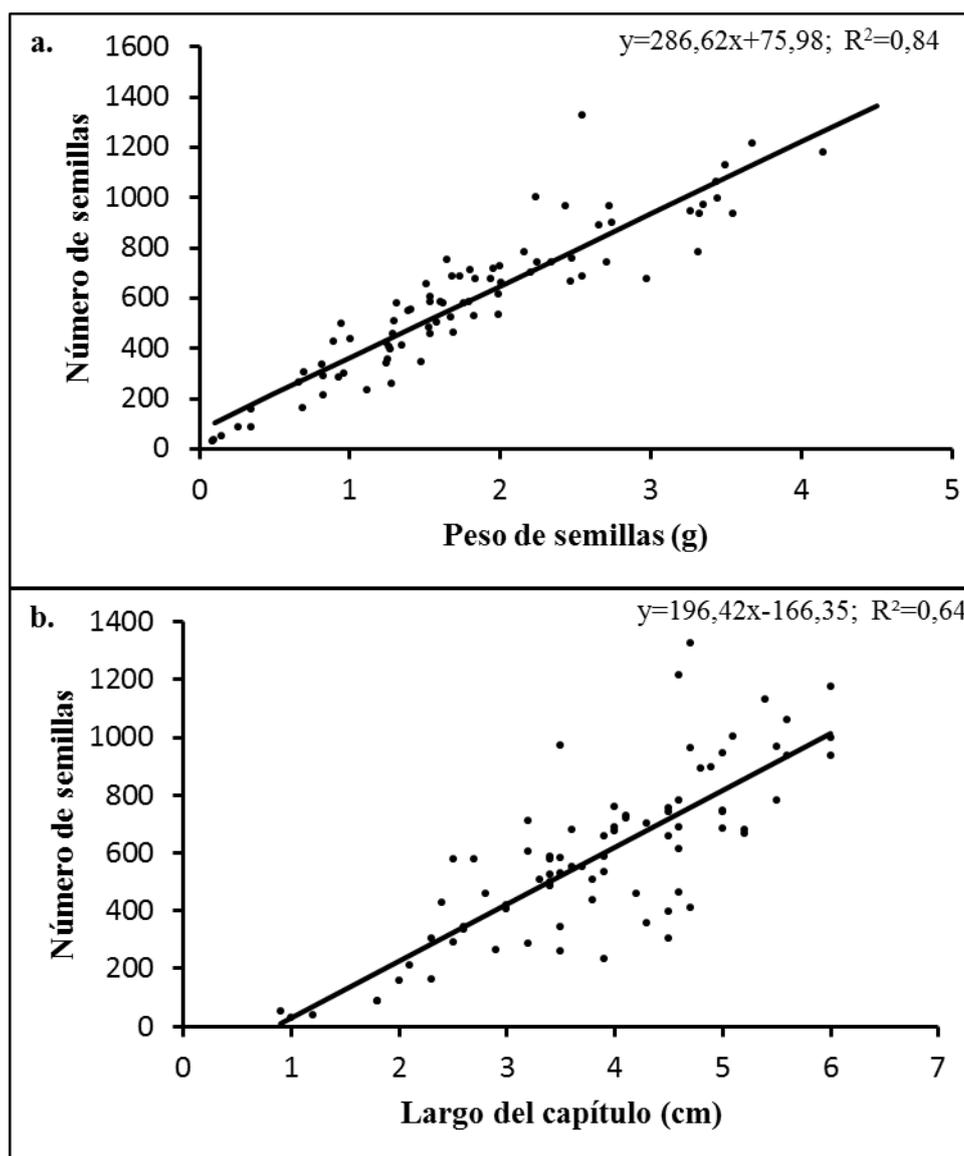
### ***2.3.1. Producción de semillas bajo dos situaciones de crecimiento***

Se ajustó un modelo lineal para cuantificar el número de semillas en relación al peso de las mismas y al largo del receptáculo dando como resultado un ajuste de  $R^2 = 0,84$  y  $R^2 = 0,64$ , respectivamente (Fig. 2.1a y b). En promedio, un gramo de semillas contiene 363 semillas. Los resultados de la producción de capítulos por planta, semillas totales por planta y semillas contenidas en el capítulo principal se sintetizan en la Tabla 2.1.

No se detectó interacción entre los distintos sitios (poblaciones) en donde fueron cosechadas las semillas y el hábito de competencia para la producción de capítulos ( $F=1,43$ ;  $p>0,24$ ). Para esta variable se encontraron diferencias significativas para entre las distintas poblaciones ( $F=25,78$ ;  $p<0,01$ ) y entre ambos hábitos de competencia ( $F=63,92$ ;  $p<0,01$ ). El número de capítulos varió entre 3 (EG) y 62 (BB). Las plantas “aisladas” presentaron una mayor producción de capítulos en todos los sitios, promediando un 46% más que las plantas “en grupo” (Fig. 2.2).

En cuanto a la producción total de semillas, no se detectó interacción entre el hábito de competencia y los sitios ( $F=1,64$ ;  $p>0,18$ ), pero se encontraron diferencias significativas entre los sitios ( $F=9,22$ ;  $p<0,01$ ) y entre los hábitos de competencia ( $F=68,28$ ;  $p<0,01$ ). La producción de semillas varió desde 1.485 (EG) a 15.551 (BB), y en promedio, fue un 48% mayor en plantas creciendo “aisladas” que en plantas creciendo “en grupo” (Fig. 2.3).

Finalmente para el número de semillas en el capítulo central, no se detectó interacción entre los sitios y los niveles de competencia ( $F=1,03$ ;  $p>0,38$ ) y no se encontró un efecto debido al nivel de competencia ( $F=0,12$ ;  $p<0,72$ ), aunque se detectaron diferencias entre las medias para los sitios ( $F=4,23$ ;  $p<0,01$ ). Los capítulos centrales del sitio BB presentaron en promedio 16% más de semilla que en EG, 12% más que en NC y 22% más que en SR (Fig. 2.4).

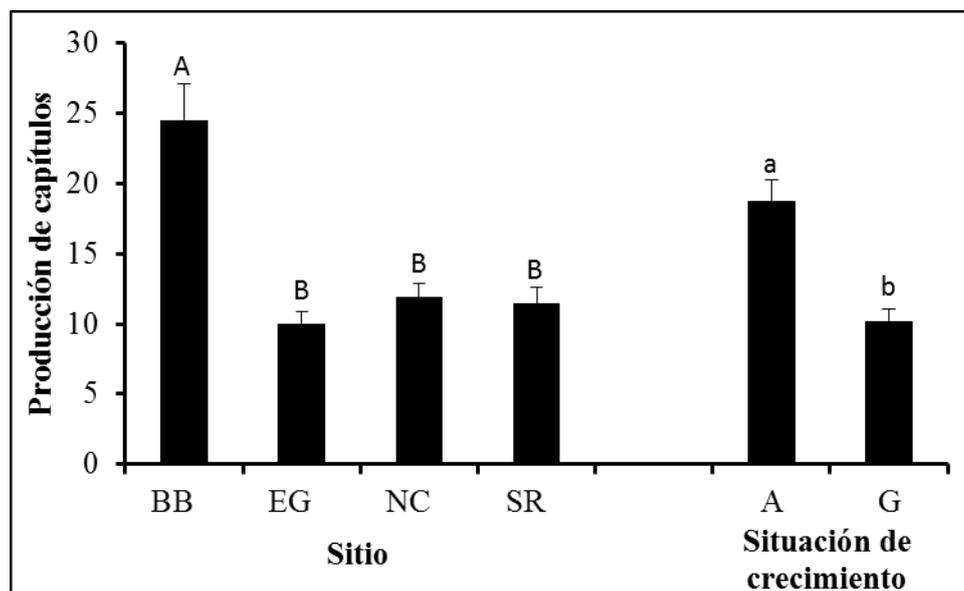


**Figura 2.1.** Regresión lineal entre el peso de las semillas de un capítulo individual y el número de semillas (a) y relación entre el largo del capítulo y número de semillas (b) realizado con 80 capítulos. Datos obtenidos a partir de cuatro poblaciones de *Dipsacus fullonum* (Bahía Blanca, Saldungaray, Necochea y Energía) y dos situaciones de crecimiento (“aisladas”, planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm, y “en grupo”, plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm) en la Provincia de Buenos Aires en los años 2013-2014.

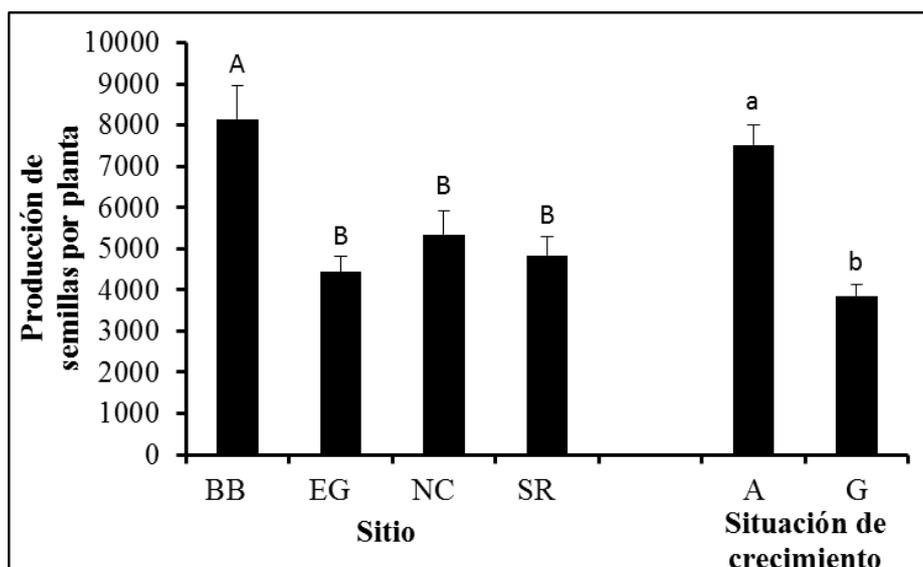
**Tabla 2.1.** Media, desvío estándar, mínima y máxima producción de capítulos, producción de semillas por planta y producción de semillas del capítulo central para las localidades de Bahía Blanca (BB), Necochea (N), Energía (EG) y Saldungaray (SR) en plantas “aisladas” (A, planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y “en grupo” (G, plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm).

	BB		EG		NC		SR	
	G	A	G	A	G	A	G	A
	<b>Producción de Capítulos</b>							
<b>Media</b>	16 B	33 A	7 C	13 B	8 C	15 B	10 C	13 B
<b>Desvío</b>	8,98	13,52	2,03	4,62	3,09	5,17	4,24	7,42
<b>Mínimo</b>	6	11	3	6	5	8	4	6
<b>Máximo</b>	43	62	10	23	16	27	20	36
	<b>Producción de Semillas por Planta</b>							
<b>Media</b>	4.918 cd	11.390 a	3.100 e	5.781 bc	3.527 e	7.151 b	3.890 de	5.773 bc
<b>Desvío</b>	2.585	3.57	979	2.144	2.017	3.008	1.937	2.788
<b>Mínimo</b>	2.087	3.56	1.668	2.922	1.485	2.089	1.53	2.893
<b>Máximo</b>	11.547	15.551	4.637	10.991	9.223	12.577	7.863	11.548
	<b>Número de Semillas Producidas en el Capítulo Central</b>							
<b>Media</b>	1.139 a	1.095 ab	922 bc	952 abc	898 bc	1.056 ab	905 bc	833 c
<b>Desvío</b>	180	316	262	143	192	482	238	267
<b>Mínimo</b>	849	425	476	714	642	550	550	475
<b>Máximo</b>	1.516	1.787	1.546	1.202	1.224	2.176	1321	1.336

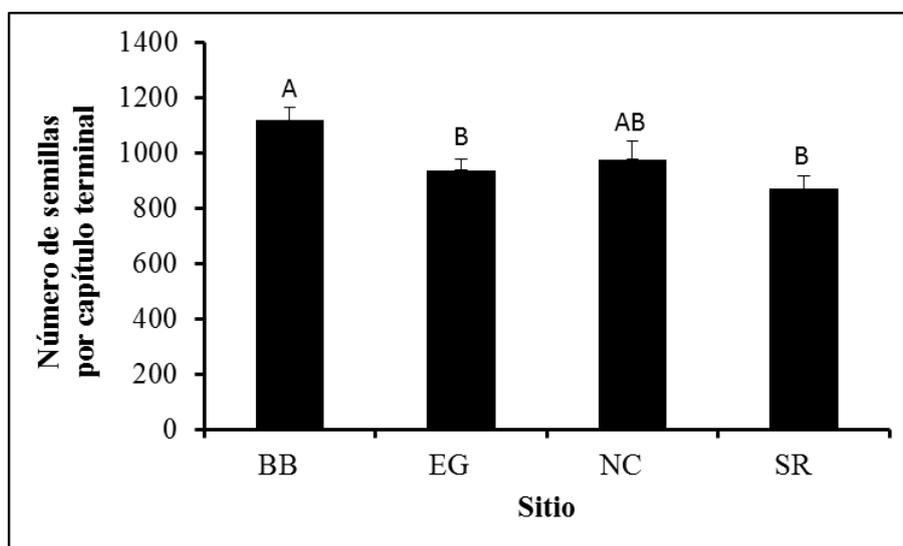
\*Medias dentro de una fila y para un mismo parámetro seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.2.** Producción de capítulos de distintas poblaciones *Dipsacus fullonum* de distintos sitios de la Provincia de Buenos Aires y situaciones de crecimiento. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray; A, “aislada” (planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y G, “en grupo” (plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm). Los datos se presentan combinados por situación y por sitio, respectivamente. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media.



**Figura 2.3.** Producción de semillas por planta de poblaciones de *Dipsacus fullonum* de distintos sitios de la Provincia de Buenos Aires y situaciones de crecimiento. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray; A, “aislada” (planta distanciadas de otras plantas de carda a una distancia mayor a 60 cm) y G, “en grupo” (plantas creciendo con al menos dos plantas de carda dentro de un radio de 60 cm). Los datos se presentan combinados por hábito y por sitio, respectivamente. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media.

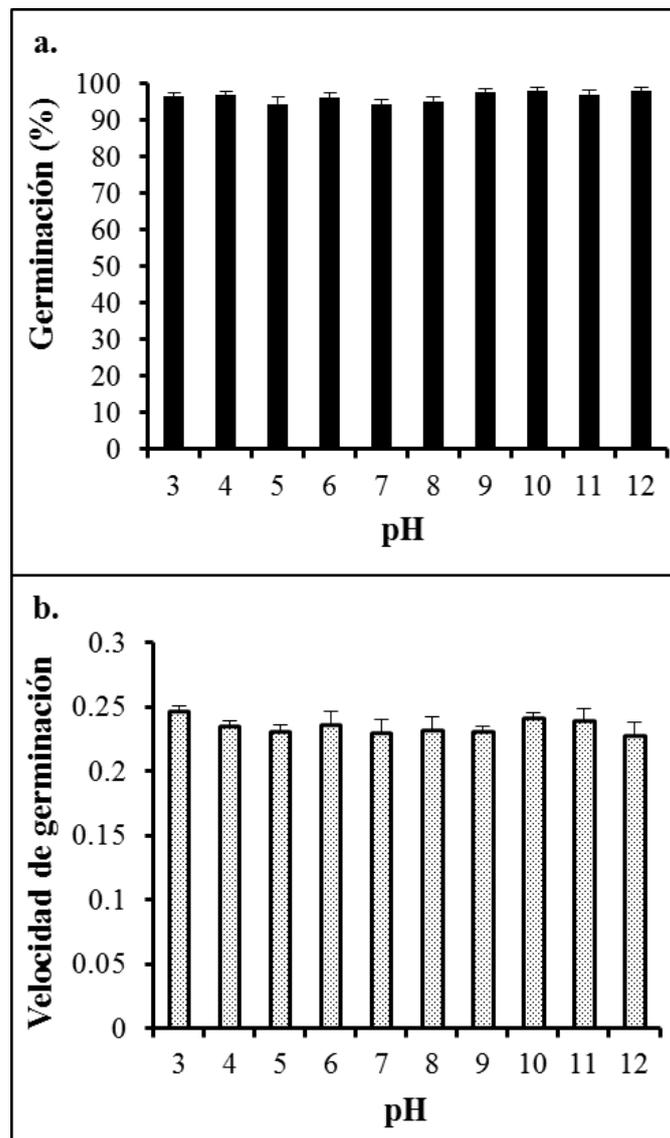


**Figura 2.4.** Número de semillas por capítulo en distintas poblaciones *Dipsacus fullonum* de la Provincia de Buenos Aires. Abreviaturas: BB, Bahía Blanca; EG, Energía; N, Necochea y SR, Saldungaray. Los datos se presentan combinados por situaciones de crecimiento. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). Las barras verticales representan el error estándar de la media.

### 2.3.2. Factores que afectan la germinación

#### Efecto del pH

Las semillas de *D. fullonum* germinaron en todo el rango de pH estudiado (Fig. 2.5). No se detectó interacción entre el año de cosecha y el nivel de pH así como tampoco se encontró un efecto del año de cosecha. De acuerdo con lo observado, el pH no afecta la germinación ( $F=1,03$ ;  $p>0,42$ ), así como tampoco la velocidad de germinación ( $F=0,84$ ;  $p>0,58$ ).



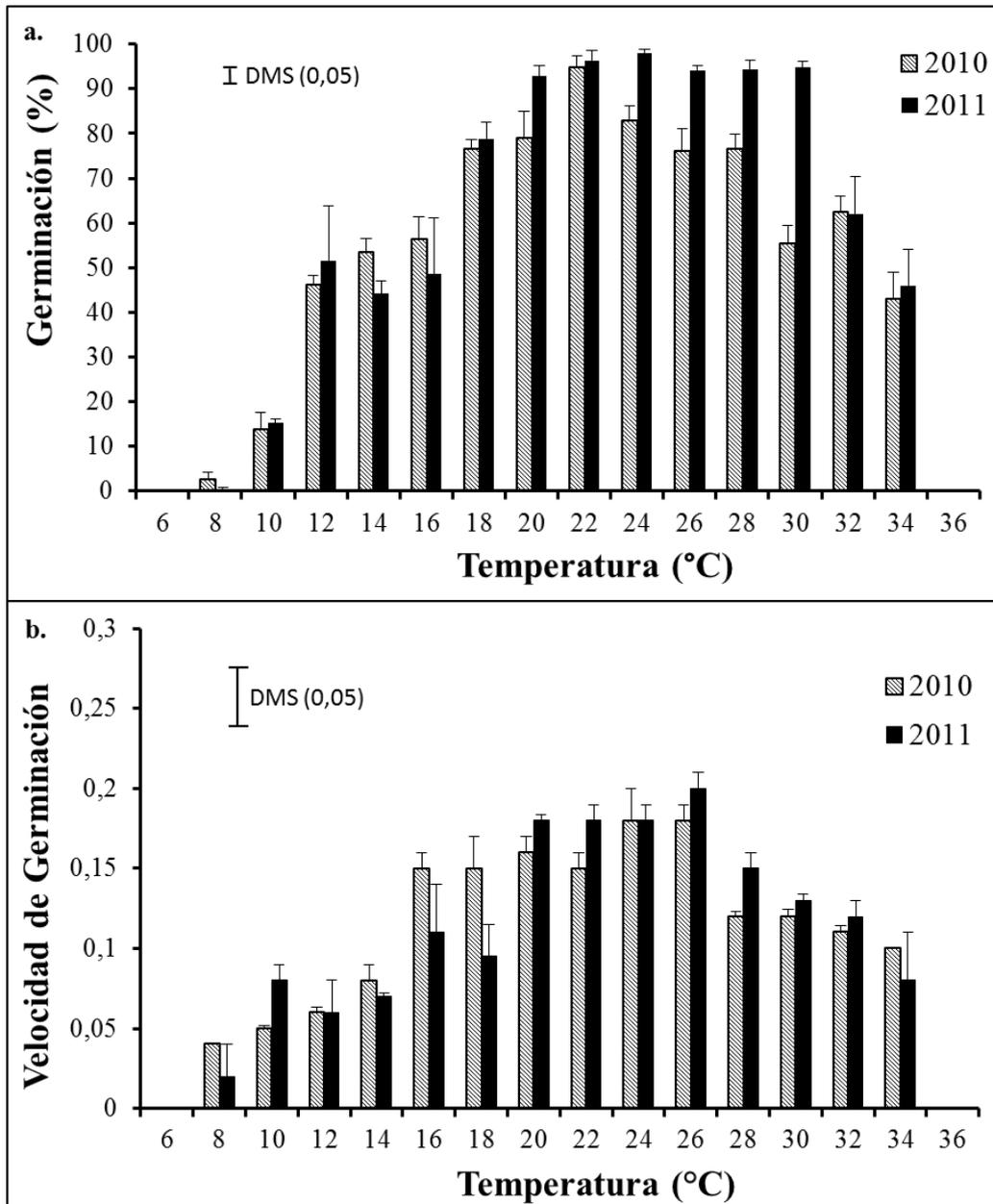
**Figura 2.5.** Efecto del pH en el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *D. fullonum* incubadas a 24°C y total oscuridad. Los datos fueron combinados y corresponden al año 2010 y 2011. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

### Efecto de la temperatura

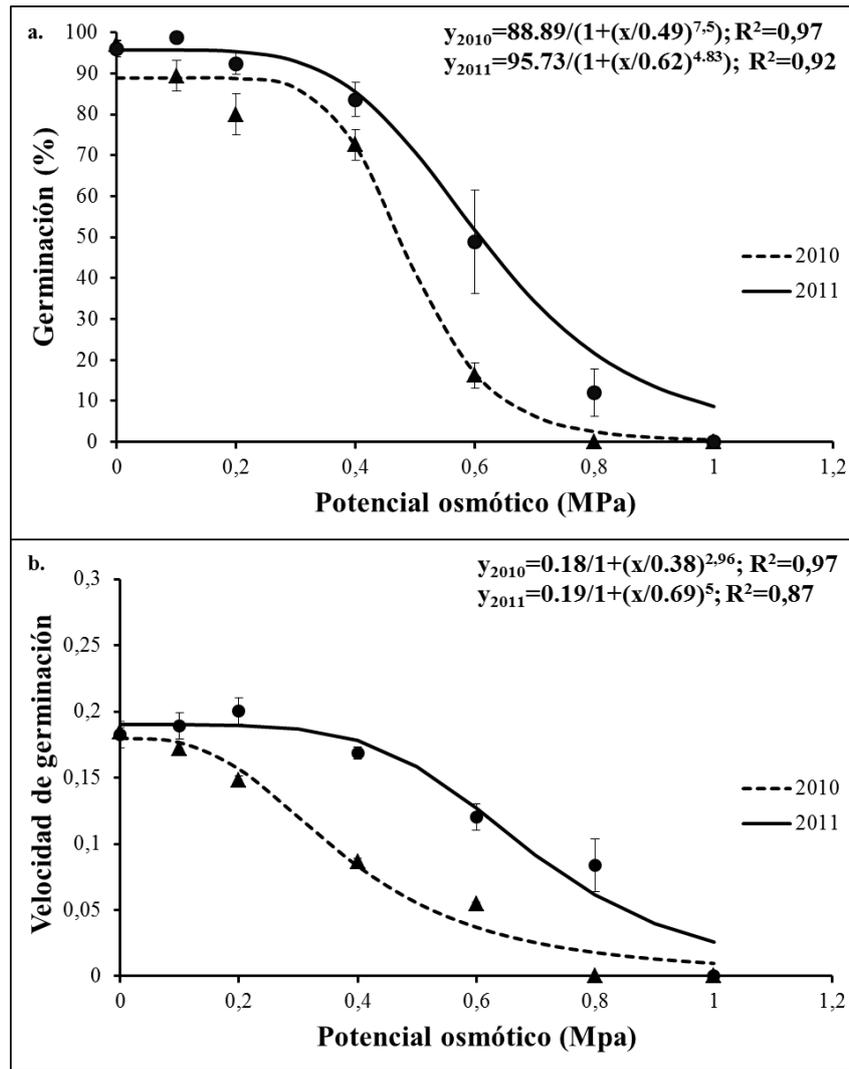
La temperatura afectó notablemente el porcentaje germinación de las semillas de *D. fullonum* ( $F_{2010}=77,14$ ;  $F_{2011}=51,78$ ;  $p<0,01$ ; Fig. 2.2). Se detectó interacción entre el año de cosecha y la temperatura para el porcentaje de germinación ( $F=3,66$ ;  $p<0,01$ ). A pesar de que el comportamiento fue ligeramente diferente para los dos años estudiados, según los porcentajes observados, se encontraron cuatro tipos de respuesta. Por un lado la inhibición de la germinación se registró por debajo de los 6°C y por encima de los 36°C, para ambos años. Se puede considerar que la máxima germinación de las semillas fue en el orden de los 22°C. La germinación fue elevada (>70%) en el rango de 18°C a 30°C e intermedia entre los rangos 12-16°C y los 32-34°C Fig. 2.6a). Se detectó interacción entre el año de cosecha y la temperatura para la velocidad de germinación ( $F=1,81$ ;  $p=0,05$ ). No se detectaron diferencias en la velocidad de germinación en el rango de 20-26°C, en el cual se registraron los máximos valores alcanzados (Fig. 2.6b).

### Efecto del potencial osmótico

El potencial osmótico afectó la germinación de *D. fullonum* ( $F_{2010}=231,65$ ;  $p<0,01$ ;  $F_{2011}=60,03$ ;  $p<0,01$ ; Fig. 2.3). Se detectó interacción entre el año de cosecha y los distintos niveles de potencial osmótico. Las medias de los porcentajes y velocidades de germinación para cada nivel fueron significativamente mayores en el 2011 que en el 2010 ( $p<0,05$ ), excepto en el testigo con agua destilada, donde no se encontraron diferencias ( $p>0,9$ ). En ambos casos se ajustó una curva correspondiente a un modelo logístico de tres parámetros, que es el que mejor describió la germinación de las semillas de esta especie bajo niveles crecientes de estrés hídrico. La germinación decrecía a medida que el potencial osmótico aumentaba y se consideró escasa (<15%) cuando el potencial osmótico fue -0.8 MPa. El potencial osmótico requerido para inhibir el 50% de la germinación máxima fue de -0,49 MPa (2010) y de -0,62 MPa (2011), ambos valores determinados por el modelo ajustado (Figura 2.7). La germinación de *D. fullonum* fue totalmente inhibida a un potencial osmótico igual a -1 MPa y se consideró elevada (>75%) hasta un potencial osmótico de -0,4 MPa (Fig. 2.7a). La velocidad de germinación disminuyó en un 63,3% (2010) y 58,2% (2011) desde -0,4 MPa a -0,6 MPa (Fig 2.7b).



**Figura 2.6.** Efecto de la temperatura en el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

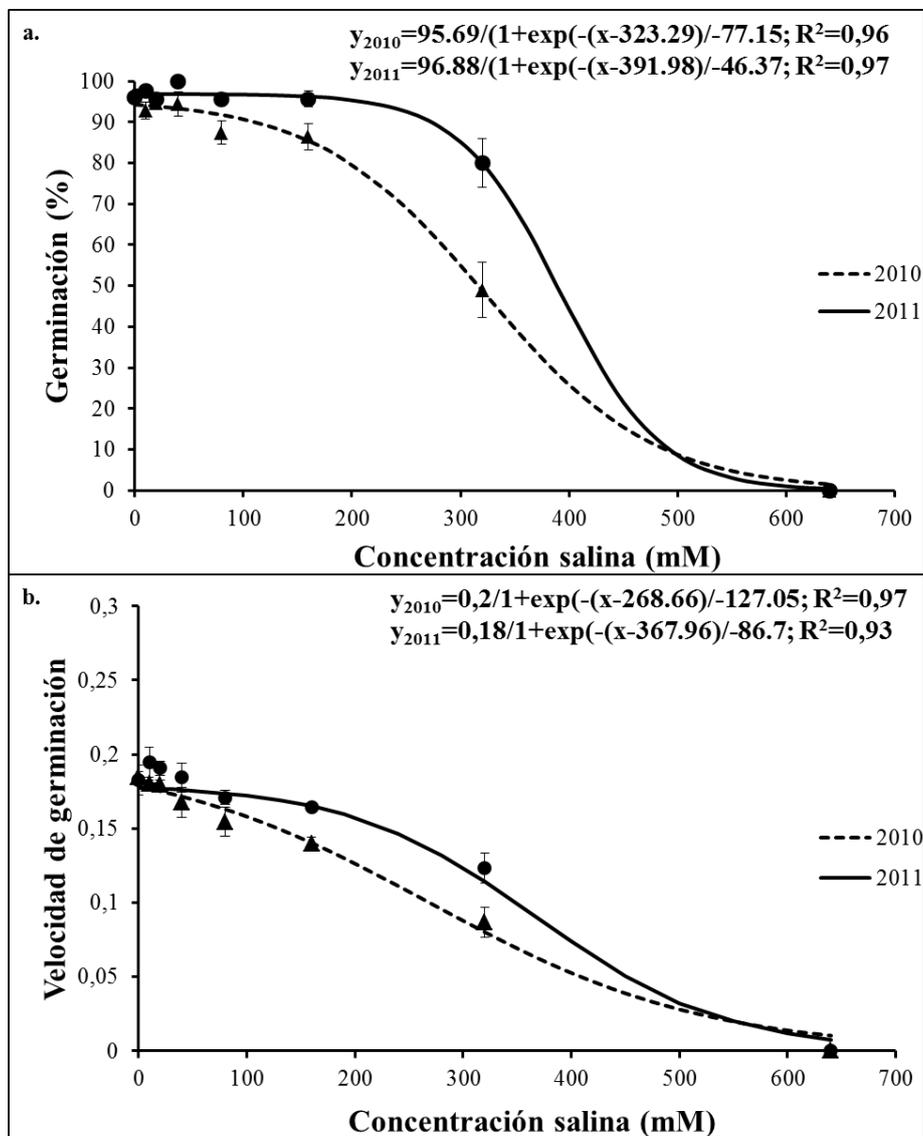


**Figura 2.7.** Efecto del potencial osmótico en el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24°C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

### Concentración salina

La germinación disminuyó significativamente a medida que la concentración salina aumentaba ( $F_{2010}=97,28; p<0,01; F_{2011}=138,61; p<0,01$ ; Fig 2.8). Se registró interacción entre el año de cosecha y la concentración salina tanto para el porcentaje como la velocidad de germinación. Un modelo exponencial de tres parámetros fue el que mejor describió la relación entre la germinación de la semillas con respecto a niveles crecientes de estrés salino (Fig. 2.8a). El mismo modelo se ajustó para describir la velocidad de germinación (Fig. 2.8b). La germinación alcanzó un valor medio de 96,5% con agua destilada disminuyendo significativamente a un 49% en el año 2010 ( $p<0,05$ ) y a un 80% en el 2011 ( $p<0,05$ ) a 320 mM. La misma fue completamente

inhibida a una concentración de 640 mM de NaCl. El máximo coeficiente de velocidad de germinación fue 0,18 (año 2010) y 0,19 (año 2011) a 10 mM, y decreció significativamente a 0,08 (año 2010) y 0,12 (año 2011) a 320 mM.

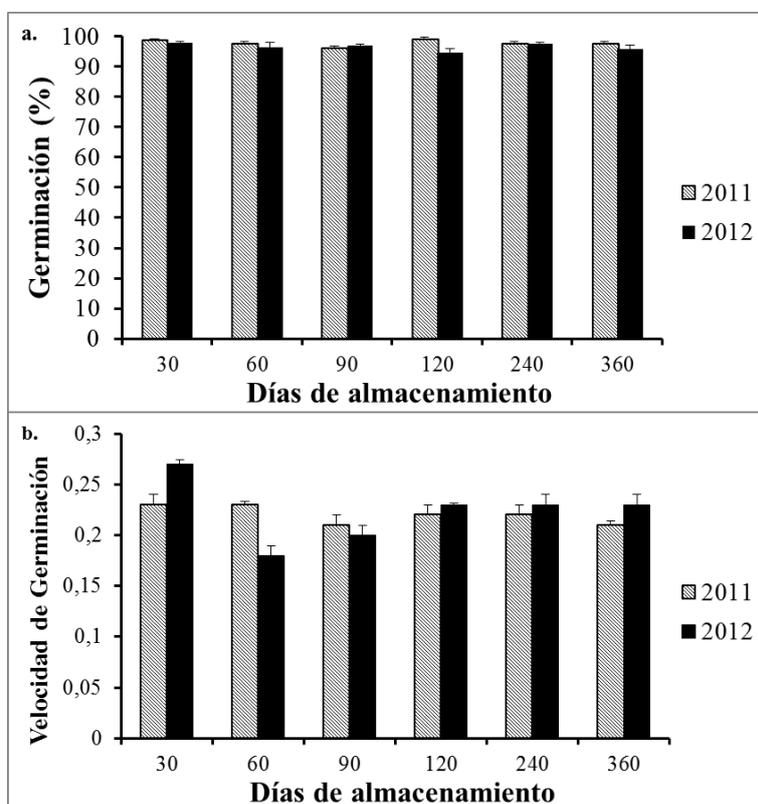


**Figura 2.8.** Efecto de la concentración salina en el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24 °C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

#### Almacenamiento en seco

Los valores de germinación no registraron interacción entre el año de cosecha y los tratamientos de almacenamiento en seco. No se detectó un efecto producido por la temperatura de exposición sobre la semilla almacenada en el porcentaje de germinación (Fig. 2.9a), como tampoco para los diferentes períodos de exposición. La germinación de semillas provenientes del año 2011 fue significativamente mayor ( $F=6,9$ ;  $p=0,01$ )

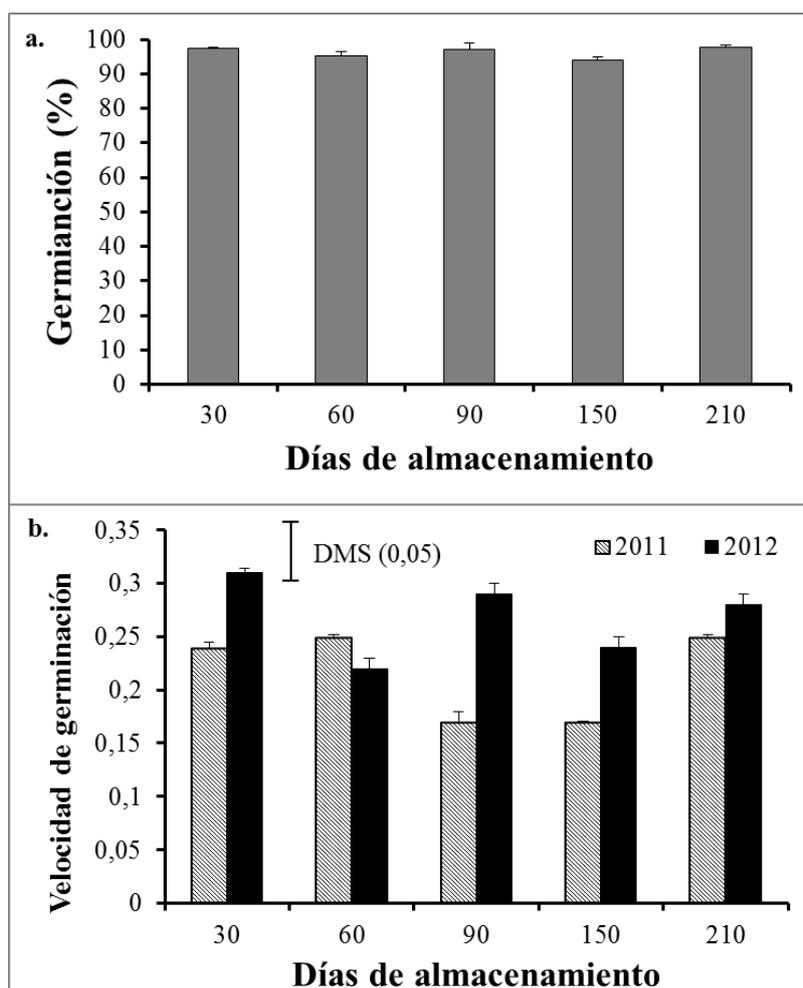
con respecto a las semillas del año 2010. La velocidad de germinación no fue influenciada por la temperatura de almacenamiento. Por otro lado, se detectó interacción entre el año de cosecha y los diferentes períodos de almacenaje en la velocidad de germinación ( $F=14,17$ ;  $p<0,01$ ) (Fig. 2.9b).



**Figura 2.9.** Efecto del almacenamiento en seco en el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24°C en total oscuridad. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

#### Almacenamiento en condiciones de saturación hídrica

No se registró interacción en el porcentaje de germinación entre el año de cosecha y los tratamientos de tiempo de almacenamiento en saturación hídrica. Además, no se revelaron cambios significativos en el porcentaje de germinación en los distintos períodos de almacenaje ( $F=2,26$ ;  $p=0,07$ ). Por lo tanto, los datos fueron agrupados y se muestran en la figura 2.10a. También, se observó interacción entre el año de cosecha y los tratamientos de saturación hídrica para la velocidad de germinación, la misma fue ligeramente mayor en el año 2012 que en el 2011 (Fig. 2.10a y b).



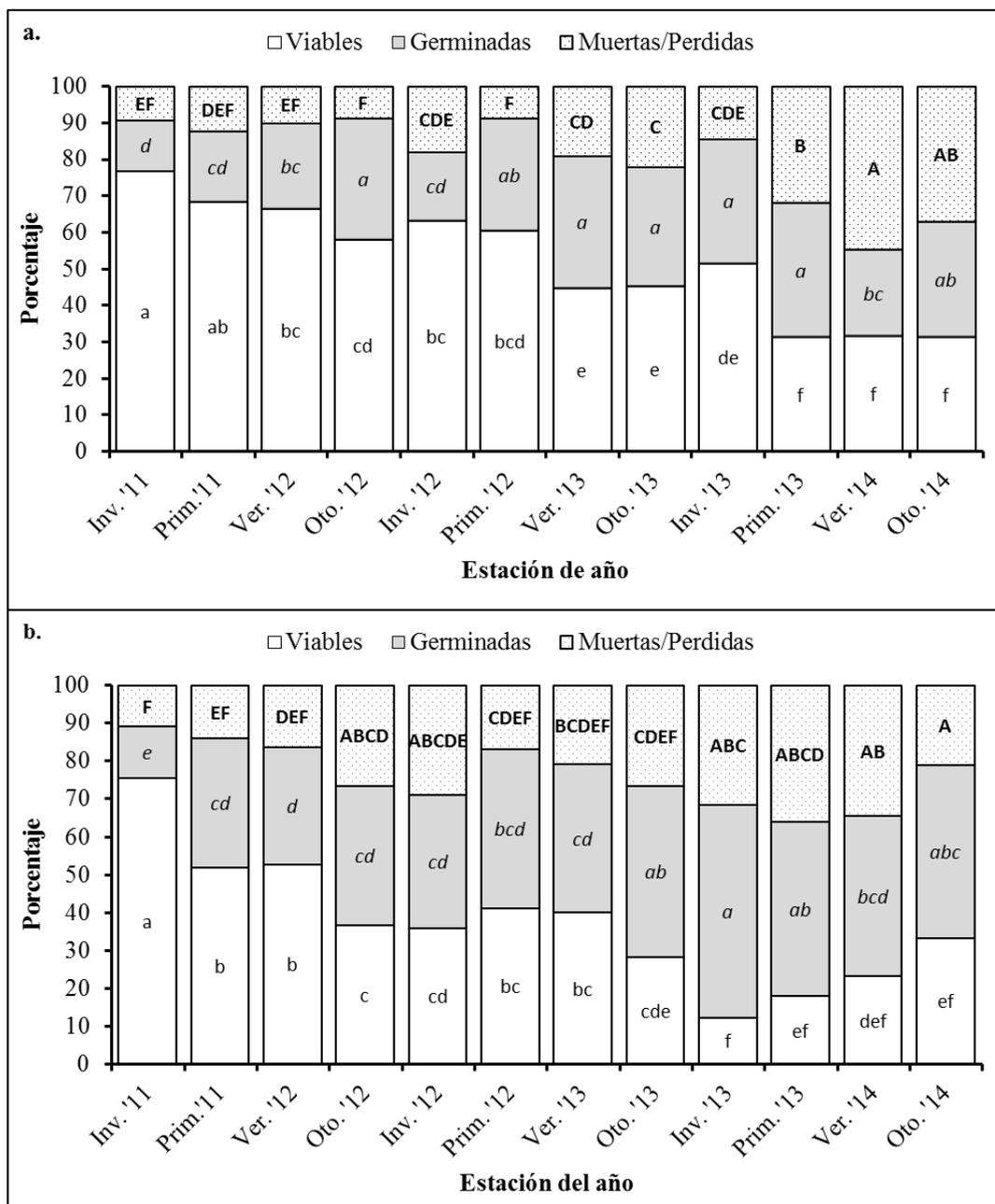
**Figura 2.10.** Efecto del almacenamiento en condiciones de saturación hídrica sobre el porcentaje (a) y velocidad (b) de germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* incubadas a 24°C y total oscuridad. Los datos de porcentaje de germinación correspondientes a distintos años fueron combinados ya que no se encontró interacción entre las variables. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

### 2.3.3. Emergencia

#### Longevidad de semillas

Se detectó interacción altamente significativa entre la estación del año y la localidad para la longevidad de las semillas, por lo tanto se analizó cada localidad por separado ( $F=3,17$ ;  $p<0,01$ ). En ambos sitios el porcentaje de semillas viables disminuyó significativamente desde un 95,7% a un 31,2% (BB) y 17,2% (PG) luego de tres años, respectivamente. Luego de dos años y medio en el sitio BB (primavera 2013), se registró un máximo de 36% de plántulas emergidas. En cambio, en el sitio P, luego de dos años (invierno de 2013) se reveló un máximo porcentaje de emergencia del 56%.

Al finalizar el ensayo, se registró un total de semillas muertas y pérdidas de 37,2% en BB y un 21% en PG (Fig. 2.11).

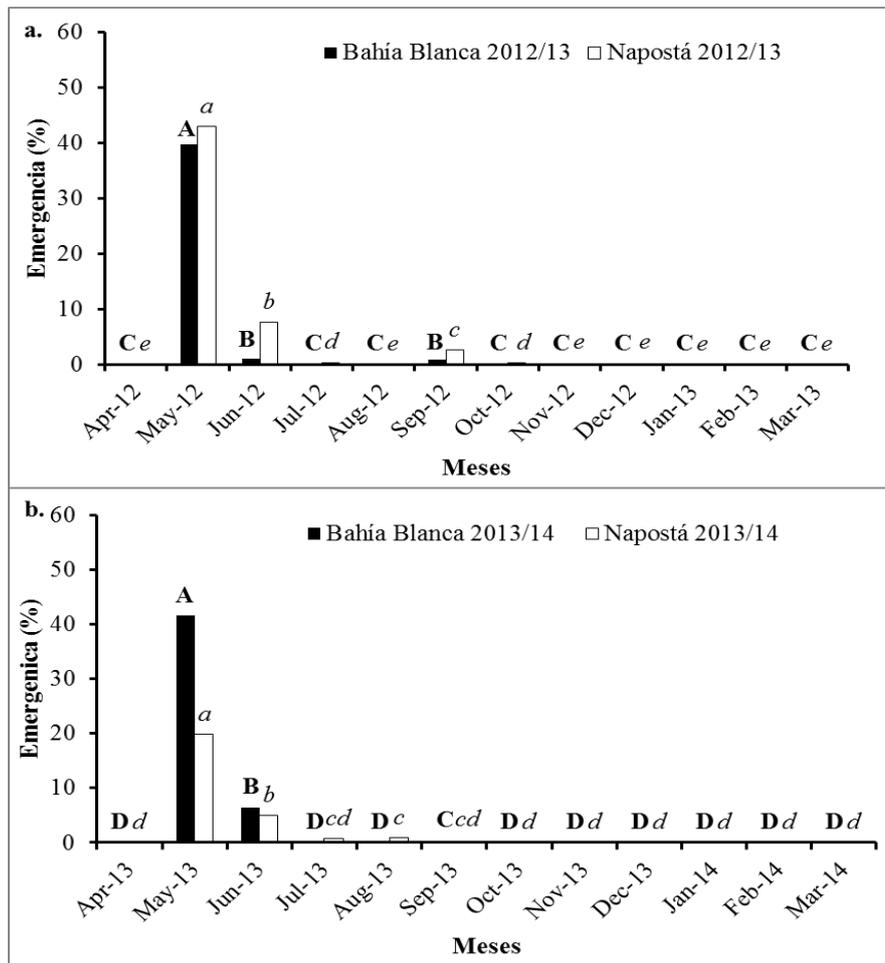


**Figura 2.11.** Emergencia, viabilidad y semillas muertas o pérdidas de *Dipsacus fullonum* en condiciones a campo, a lo largo de 3 años, en Bahía Blanca (a) y Patagones (b). Porcentajes acompañados de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

### Patrón anual de la emergencia

Se registró interacción triple entre la localidad, el año y los distintos meses del año ( $F=16,44$ ;  $p<0,01$ ). Debido a ello se analizó cada factor por separado. Se hallaron diferencias significativas en la emergencia ocurrida en los distintos meses del año en ambos años de estudio, tanto en las localidad de Bahía Blanca ( $F_{2012}=121,78$ ;  $p<0,01$ ;  $F_{2013}=241,89$ ;  $p<0,01$ ) como de Napostá ( $F_{2012}=39,33$ ;  $p<0,01$ ;  $F_{2013}=167,39$ ;  $p<0,01$ ).

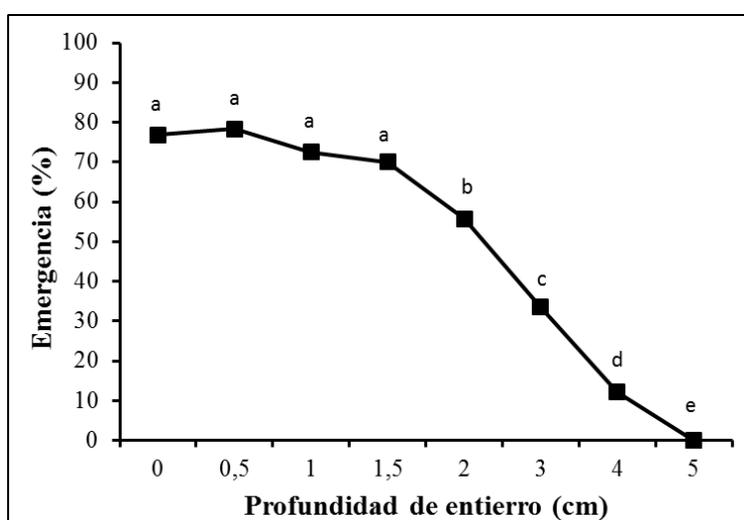
El pico de emergencia, en todas las localidades y para ambos años, fue un mes después de la dispersión, correspondiente al mes de mayo. Fuera de este mes se registraron valores de emergencia de plántulas menores al 10% de total. La máxima emergencia observada ocurrió en el sitio N en mayo del 2012 con un 53,83% y en el sitio BB, para el mismo momento, se registró una emergencia del 39,8% (Fig. 2.12).



**Figura 2.12.** Emergencia de *Dipsacus fullonum* en Bahía Blanca y Napostá desde 2012 a 2013 y desde 2013 a 2014, en condiciones a campo. Emergencias acompañadas de letras iguales en mayúscula no difieren entre sí para la localidad de Bahía Blanca, y emergencias acompañadas de letras iguales en minúscula no difieren entre sí para la localidad de Napostá según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ).

### Profundidad de entierro

No se encontró interacción triple entre la textura, el año de cosecha de la semilla y la profundidad de siembra ( $F=1,09$ ;  $p>0,37$ ). Tampoco se encontró interacción doble en ninguno de los parámetros citados. Además no se mostró un efecto del año ( $F=3,74$ ;  $p>0,05$ ) y de la textura ( $F=0,71$ ;  $p>0,49$ ). Por tal motivo los datos fueron combinados para cada profundidad, en la cual sí se detectaron diferencias significativas ( $F=73,32$ ;  $p<0,01$ ). La máxima emergencia (78,3%) se obtuvo a los 0,5 cm de profundidad, decayendo significativamente a 55,75% a los 2 cm de profundidad. A los 5 cm no se registró emergencia (Fig. 2.13).



**Figura 2.13.** Efecto de la profundidad de entierro sobre la emergencia de plántulas de *Dipsacus fullonum* durante un mes en condiciones de invernáculo. Datos combinados para las tres texturas y ambos años de cosecha de semillas. Porcentajes de emergencia acompañados de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ).

## 2.4. Discusión

### 2.4.1. Producción de semillas bajo dos situaciones de competencia.

Los resultados de este estudio para las poblaciones de carda del sur de la provincia de Buenos Aires registraron plantas que produjeron hasta 60 capítulos. Por el contrario, Werner (1975c) indicó que las mismas producían cantidades menores, como máximo 35 capítulos, al igual que Chessman (1998) quien menciona una producción de capítulos entre 1 y 40. Similarmente a los resultados obtenidos en este estudio, Bentivegna y Smeda (2011b) encontraron un máximo de 56 capítulos en *Dipsacus*

*laciniatus*, una especie invasora en EEUU. En cambio, Mullins (1951) indica valores muchos mayores para *D. sativus*, teniendo el potencial de producir hasta 100 y del mismo modo, Chuko y Hanyu (1990) reportan valores entre 60 y 100 capítulos en experimentos realizados para *D. fullonum* en una población japonesa. Los capítulos plantas de carda de los sitios de la provincia de Buenos Aires produjeron distinta cantidad de semillas de acuerdo al tamaño de los mismos. Según Chuko y Hanyu (1990) esto se debe a que se forman en distintos momentos durante la floración, los últimos en diferenciarse tienden a general a ser mas pequeños, sumado a que suelen producir semillas no viables. En segundo lugar, se encontró que cada planta de carda en promedio produjo 5.692 semillas, con un mínimo de 1.485 y un máximo de 15.551. Este valor es mayor al indicado por Werner (1975c), 3.333 semillas, para plantas de una población de Michigan (EEUU) y a los que reporta Glass (1991) en plantas de *Dipsacus laciniatus*, cuya producción alcanzó las 3000 semillas en Illinois, EEUU. En Canadá se obtuvieron valores promedio cercanos a las 2.500 semillas por planta (Caswell y Werner, 1978). Por otro lado, Bentivegna y Smeda (2011b) indican en *D. laciniatus* un promedio mayor a la de la presente investigación, aproximadamente 8000 semillas, reportando valores máximos de 33.527. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el potencial reproductivo de *D. fullonum* es mayor a los previamente reportados para la misma especie, lo cual llevaría a explicar una de las razones que contribuyeron a la gran expansión que ha tenido como maleza en el país.

La producción total de semillas fue mayor en plantas creciendo “aisladas” para todas las poblaciones testeadas. Esto coincide con resultados obtenidos por Bentivegna y Smeda (2011b) para *D. laciniatus* en Missouri, EEUU. Sin embargo, el capítulo central, considerado el que más semillas produce (en este estudio entre 426 y 1.788) y el primero que madura (Werner, 1975a; Chuko y Hanyu 1990; Bentivegna y Smeda 2011b;), no mostró diferencias entre las plantas “en grupo” y aquellas “aisladas”. De manera contraria, Bentivegna y Smeda (2011b) encontraron los capítulos centrales de plantas de *D. laciniatus* “aisladas” produjeron más semillas que aquellas creciendo “en grupo”. En el caso de las poblaciones locales probablemente las plantas “en grupo” dirigieron gran parte de los recursos para producir capítulos centrales con una cantidad de semillas similar a plantas creciendo “aisladas”, lo cual limitó la producción total de semillas.

Los resultados de este estudio proponen que la carda como maleza invasora, cuando invade un sitio, tiene el potencial de producir una gran cantidad de semillas

comparada con plantas de carda que se encuentran en parches densos. La mayor producción de semillas en plantas “aisladas” favorecería la colonización de nuevos sitios. Debido a que carecen de dormición, sus valores de germinación inmediata son altos, hecho que se traduciría en el establecimiento rápido de una gran cantidad de plántulas que favorecen una expeditiva formación de de densos parches.

#### **2.4.2. Factores que afectan la germinación**

*D. fullonum* germina en un amplio rango de pH. Esta característica es similar a lo que ocurre con *Urena lobata* (“cadillo”) (Wang y otros, 2009) y *Sonchus oleraceus* (Chauhan y otros, 2006), que muestran altos porcentajes de germinación tanto a pH ácido como básico. Por el contrario, en otras especies como por ejemplo *Ipomoea purpurea* (Singh y otros, 2012), la germinación en pH extremos se ve fuertemente inhibida. La habilidad para germinar en un amplio rango de pH indica que el mismo no es un factor limitante para *D. fullonum* en la mayoría de los suelos en Argentina, pudiendo invadir un amplio rango de áreas.

La carda germina en un amplio rango de temperaturas constantes por lo tanto este factor no afecta la germinación en los ambientes del sur de la Provincia de Buenos Aires. La germinación más alta y más rápida de *D. fullonum* ocurrió a temperaturas intermedias que corresponden con otoño y primavera en la región de estudio. Además, la habilidad para germinar a bajas temperaturas, posibilita el establecimiento de plántulas más temprano que otras especies con regímenes de germinación más elevados. El patrón de germinación de carda frente a un rango de temperaturas constantes es similar a lo que ocurre con otras especies, por ejemplo *Crassocephalum crepidioides* y *Sylibum marianum* (Montemurro y otros, 2007; Nakamura y Hossain, 2009), las cuales germinan en un amplio rango de temperaturas, entre los 5 y 35°C, siendo óptima cerca de los 20°C.

Los resultados obtenidos en los tratamientos a niveles crecientes de potencial osmótico sugieren que la carda es moderadamente tolerante al estrés hídrico, considerando que una pequeña proporción de semillas germinaron a potencial osmótico -0,8 MPa. De acuerdo con la ecuación ajustada, se calculó una reducción del 26,3% de 0 a -0,5 MPa. Beaton y Dudley (2013) obtuvieron una disminución del 7,2% de 0 a -0,5 MPa. Estos resultados apoyan la idea de que la germinación varía de acuerdo con el

ecotipo de la maleza y el hábitat ecológico (Chauhan y otros, 2006; Wang y otros, 2009). Malezas presentes en el sur bonaerense como *Cynara cardunculus* exhiben valores similares de germinación a  $-0,6$  MPa (32-46%). (Raccuia y otros, 2004). Contrariamente, *Diploaxis tenuifolia* presentó una escasa germinación (menor al 20%) a  $-0,6$  MPa (Kleemann y otros, 2007), y Nandula y otros (2006) indican para *Conyza canadensis* un 2% de germinación a este mismo valor de potencial osmótico. Asimismo, otras especies son mucho más sensibles a la falta de agua en el suelo para germinar, como en el caso de *Campsis radicans*, en la cual la germinación se ve profundamente inhibida a  $-0.2$  MPa (Chachalis y Reddy, 2000) y *S. marianum* prácticamente no germina a  $-0.6$  MPa. Esto indica que bajo condiciones de estrés hídrico las semillas de carda aún pueden germinar en suelos normalmente secos, mientras que la germinación es sumamente alta en la época de lluvia, la cual corresponde a marzo y octubre en la zona de estudio donde la precipitación media en estos meses ronda entre los 70-100 mm (Paoloni, 2010). La habilidad para germinar con bajos niveles hídrico en el perfil del suelo puede ser una ventaja competitiva con otras especies sensibles en suelos normalmente secos, por ejemplo los de la región semiárida pampeana.

El incremento de la concentración salina disminuye el porcentaje y la velocidad de germinación en las semillas de carda. Sin embargo, se registró germinación a niveles de 320 mM, demostrando que pueden tolerar un alto nivel de contenidos de sales en el suelo. Los suelos en esta zona normalmente pueden alcanzar  $8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  (Paoloni, 2010) aunque de acuerdo con los resultados de este estudio las semillas aún pueden germinar a una salinidad aproximada de  $30 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ . Aunque *D. fullonum* es considerada una especie glicófita, otros estudios conducidos en poblaciones de Canadá también mostraron una alta tolerancia al estrés salino; como consecuencia, la carda podría ser considerada una especie halófito (Beaton y Dudley, 2004). Zia y Khan (2002) indicaron que *Limonium stocksii*, una especie considerada halófito, ha germinado a concentraciones mayores a 300 mM NaCl. Por el contrario, otras especies no pueden tolerar ese nivel de concentraciones, por ejemplo *Sonchus oleraceus*, la cual mostró una gran inhibición a 320 mM (Chauhan y otros, 2006) y *Conyza canadensis* demostró sólo un 4% de germinación a 160 mM (Nandula y otros, 2006). En conclusión, se sugiere que *D. fullonum* presenta comportamiento halófito y puede germinar e invadir hábitats donde se desarrolla naturalmente vegetación halófito.

El poder germinativo de las semillas de *D. fullonum* fue elevado cuando se mantuvo almacenada a diferentes temperaturas por un período igual a un año, lo que

indica que las semillas de carda no son recalcitrantes. La respuesta a este factor en otras especies es variada. En el caso de *Onopordon acanthium*, una planta bianual de similares características morfológicas a la carda, fue almacenada a largos períodos en seco y como consecuencia se redujo la dormición y por lo tanto aumentó su poder germinativo y su velocidad de germinación (Qaderi y otros, 2005). Para *Gomphrena perennis*, largos períodos de almacenamiento en seco reducen la dormición y por lo tanto muestran un mayor porcentaje y velocidad de germinación luego de 720 días (Acosta y otros, 2013). De manera similar, Susko y Hussein (2008) observaron que las semillas de *Hesperis matronalis* expuestas a almacenamiento en seco a temperatura ambiente presentan mayor germinación que las recién cosechadas. Contrariamente, en otras especies la germinación se reduce luego de un largo período de almacenamiento a temperatura ambiente, como en el caso de *Crassocephalum crepidioides* (Nakamura y Hossain, 2009) así como de *Eryngium horridum*, maleza que ocupa sitios similares en Argentina a *D. fullonum*, la cual disminuyó la germinación en un 17,2% luego de 210 días de almacenamiento (Elizalde y otros, 2007). En síntesis, las semillas de *D. fullonum* son capaces de soportar largos períodos, expuestas tanto a bajas como altas temperaturas, posibilitando una alta persistencia en el banco de semillas y también la posibilidad de establecerse en distintas latitudes.

Al igual que en el caso anterior, semillas almacenadas en saturación hídrica muestran distintas respuestas en las diferentes especies. Por ejemplo, Singh y otros (2012) demostraron que *Ipomoea purpurea* no soporta períodos prolongados de saturación hídrica, reduciéndose drásticamente la germinación. En el caso de *Morrenia odorata*, la germinación no fue afectada (Singh & Achhireddy, 1984). En síntesis, gracias a que las semillas de carda mantienen un alto poder germinativo luego de largos períodos de inundación, situación que ocurre frecuentemente en ambientes del sur de Buenos Aires, se favorecería la dispersión de carda por este medio, lo que explicaría en parte la infestación generalizada de la misma.

### **2.4.3. Emergencia**

Las semillas de *D. fullonum* provenientes de la población en estudio mostraron una alta longevidad (>30% luego de 3 años) en condiciones naturales. El hecho de que las semillas de *Dipsacus* no germinaron en condiciones de campo, a lo largo del

experimento, probablemente sea porque esa fracción no encontró el conjunto de condiciones óptimas para germinar, aunque no se descarta que también que sea causado por procesos de inducción de dormición secundaria (Benech Arnold y otros, 2014). En otros estudios una menor proporción de semillas logran persistir en el suelo. Roberts (1986) determinó que para poblaciones de carda de Warwickshire (Inglaterra), se reportan un 4,8% de semillas capaces de germinar luego de 3 años. Similarmente, Bentivegna y Smeda (2011a) observaron que en *D. laciniatus* un 6% de las semillas logran mantenerse viables luego de tres años. Figueroa y otros (2007) determinaron que para *Senecio vulgaris* luego de 2 años lograba persistir viables menos del 10% de las semillas. Por otro lado, Navie y otros (1998) consideran una alta persistencia de semillas de *Parthenium hysterophorus*, siendo que luego 24 meses más del 50% permanecieron viables en el suelo. Los resultados que se muestran para carda en este estudio indican que si se desean realizar prácticas de manejo para agotar el banco de semillas del suelo, las mismas deberían continuar como mínimo por cuatro años para lograr una reducción efectiva mayor al 70%.

La emergencia de plántulas de carda decayó con el incremento de la profundidad de entierro, indicando que este fenómeno depende casi exclusivamente de las reservas de nutrientes con que cuenta la semilla, que sirven hasta que la plántula pueda crecer hasta la superficie (Benvenuti y otros, 2001). De manera similar, esto ocurre con *Ceratocarpus arenarius* donde este factor depende íntimamente del tamaño de la semilla (Ebrahimi y Eslami, 2012). Mohler (1993) indica que una gran diversidad de malezas tiene emergencias óptimas superficiales (cerca de 1 cm). Esto ha sido reportado en diversas especies, como *Sylibum marianum* (Montemurro y otros, 2007). De manera similar a la carda, en *Sonchus oleraceus*, la emergencia decreció con aumento de la profundidad y no ocurrió a los 5 cm (Chauhan y otros, 2006). Chen y Maun (1999) encontraron que plántulas de *Cirsium pitcheri* prácticamente no logran emerger a una profundidad de 6 cm. Finalmente, los resultados sugieren que el uso de labores mecánicas a una profundidad menor a los 5 cm puede no ser efectivo para reducir el establecimiento de plantas.

Los valores máximos de emergencia en la carda se producen luego que la semillas caen al suelo y corresponden a la estación otoñal donde se dan los picos de precipitaciones y temperaturas óptimas para la germinación (Paoloni, 2010). Similarmente, se observó en Warwickshire, Inglaterra, que las plántulas de *D. fullonum* empiezan a aparecer temprano luego de la caída de semillas y continúan a lo largo del

invierno (Roberts, 1986). De manera opuesta, de acuerdo con Hubbel y Werner (1979) que citan una máxima emergencia para carda en primavera luego de la dispersión de semillas. Similarmente, Roberts y Chancellor (1979) determinaron para diversos cardos que la mayor parte emerge en primavera. A diferencia de la carda en esta zona, Bentivegna y Smeda (2011a) encontraron 2 picos de emergencia para *D. laciniatus* en Missouri, EEUU, uno mayoritario en otoño y un pico menor en primavera. De esta forma, ya que la emergencia de plántulas de carda se concentra en otoño, las técnicas de control deberían ser aplicadas en esta época o posteriormente para impedir su establecimiento.

## 2.5. Conclusiones

En la evaluación de la producción de semillas de carda, se confirmó la hipótesis que en distintos ambientes de la provincia de Buenos Aires, esta especie puede producir en promedio valores mayores a las 2500 semillas. Del mismo modo, se confirma que la carda produce más semillas cuando crece aislada que cuando lo hace con otros individuos de carda cerca, favoreciendo su capacidad de colonizar rápidamente nuevos hábitats.

En segundo lugar, la germinación de semillas de *D. fullonum* fue afectada por varios factores y ocurrió en un amplio rango de condiciones ambientales, esto explica en parte el porqué de su amplia distribución en la provincia de Buenos Aires, y sugiere que la carda podría ser capaz de invadir incluso una mayor diversidad de hábitats. En este caso, se aceptó la hipótesis acerca de la capacidad de carda para germinar a niveles de pH entre 3 y 12, registrándose valores máximos a lo largo de todo este rango (>90%). Del mismo modo, se confirma que la carda germina en un rango >10°C, superándolo ampliamente debido a que se registró germinación tanto a los 8°C como a los 34°C. También se acepta la hipótesis que postulaba que la carda germina en condiciones de estrés hídrico y salino, pudiendo germinar a un potencial osmótico de -0,8 MPa y concentración salina de 320 mM. Asimismo, se confirma que las semillas de carda pueden estar almacenada tanto en seco como en saturación hídrica al no haberse detectados efectos de estos factores sobre la germinación. Por el contrario se rechaza la predicción que la germinación depende de la temperatura del almacenaje, ya que tampoco hubo un efecto sobre la misma.

En cuanto a la dinámica de las semillas en el banco del suelo, en primer lugar, la hipótesis que sostiene que las semillas presentan una elevada persistencia fue aceptada, detectándose semillas viables aún luego de 3 años. En segundo lugar, se confirma la hipótesis que las plántulas pueden emerger a profundidades de entierro mayores a 3 cm, registrándose emergencias aún a 4 cm. Además, se acepta la hipótesis que la misma no depende del tipo de suelo, ya que este factor no afectó la emergencia observada. Finalmente, se rechaza la hipótesis que las plántulas emergen de manera uniforme a lo largo del año, debido a que se observó un pico anual de emergencia marcado, por lo cual ésta no sería una estrategia de dispersión en el tiempo para *D. fullonum*. La información relativa a los aspectos asociados a la emergencia obtenida es sumamente importante, ya que incide en el tipo, la forma y/o los momentos en que se deberían aplicar las técnicas de manejo, para reducir de manera eficiente la infestación de carda.

## Capítulo III

**Análisis del crecimiento y desarrollo de *Dipsacus fullonum* en  
ambientes del sur bonaerense**

### 3.1. Introducción

Los estudios cualitativos y cuantitativos relacionados al crecimiento y desarrollo de las plantas permiten conocer en detalle diferentes aspectos que sirven para entender ciertos procesos fisiológicos involucrados, y sobre esta base proponer racionalmente prácticas de manejo (Bezic, 2010). El éxito de cualquier maleza depende en gran parte de características relacionadas al crecimiento, como por ejemplo velocidad en la acumulación de biomasa, aumento en altura de sus plántulas, alta eficiencia fotosintética, rápido desarrollo de raíces y follaje, rápida transición de estadios vegetativos a reproductivos, entre otras (Mohler, 2001; Radosevich y otros, 2007).

Las distintas especies de malezas presentan diferencias biológicas en cuanto a la asignación de recursos fotosintetizados, la duración del ciclo y los requerimientos para el cumplimiento de sus fases fenológicas (Sellers y otros, 2003; Bond y Oliver, 2006; Taiz y Zeiger, 2010; Poorter y otros, 2012). Estos factores inciden principalmente en la competencia por recursos aéreos con otras especies, siendo esperable que aquellas especies que crecen con más velocidad y producen una mayor biomasa y/o área foliar, resulten tener mayor habilidad competitiva que especies de lento y bajo crecimiento (Horak y Loughin, 2000). En general, muchas malezas con características de invasoras, presentan altas tasas de crecimiento en comparación con las especies nativas, lo que en parte podría explicar su éxito en el desplazamiento de estas últimas (Zimdahl, 1993).

La asignación de biomasa hacia los diferentes órganos de las plantas no sólo depende de la especie sino también de la ontogenia, el biotipo y el ambiente (Sellers y otros, 2003; Poorter y otros, 2012). En primer lugar, a lo largo del ciclo de una planta, el crecimiento de la raíz o parte aérea pueden asignarse de manera diferente; por ejemplo, en *Artemisia biennis*, se indica que los fotoasimilados y/o nutrientes fueron transportados preferencialmente al crecimiento del tallo cuando las plantas pasaron de roseta a planta madura (Mahoney y Kegode, 2004). Además, existen diferencias en el crecimiento y desarrollo de distintos biotipos en distintas malezas (Diarra y otros, 1985; Bond y Oliver, 2006). Finalmente, para una misma especie, cabría esperar un modelo de partición de biomasa distinto en sitios de crecimiento diferentes (Bradshaw, 1965). Sin embargo, esto último puede no ocurrir cuando la plasticidad frente a ciertos factores ambientales juega un rol significativo. Este es un punto clave a tener en cuenta, dado que se trata de uno de los atributos importantes que caracteriza a las plantas invasoras (Feng y otros, 2007; Davison y Nicotra, 2012).

Un detallado entendimiento del crecimiento es importante cuando se considera al control químico o mecánico como estrategias de manejo (Horak y Loughin, 2000). El primero de ellos es una de las técnicas más usadas en el control de malezas (DiTomaso, 2000). Dentro de las opciones disponibles que pueden ser utilizadas en comunidades naturales se incluyen los herbicidas postemergentes (Mangold y otros, 2013). El marbete del herbicida especifica el máximo tamaño de maleza para un control efectivo. Un momento incorrecto de aplicación puede resultar en un pobre control de malezas y necesita de tratamientos extras para remediarlo (Horak y Loughin, 2000; Sellers y otros, 2003). Además, en el caso de los herbicidas sistémicos, se transportan hacia zonas de alta actividad fisiológica (crecimiento y desarrollo) y por ende, su eficacia en el control dependerá de saber los estadios de máxima tasa de crecimiento de determinados órganos (Orioli y otros, 2014). Por otra parte, dentro del control mecánico, en ecosistemas naturales la práctica más adecuada y frecuentemente utilizada es el uso del corte (Ditomaso, 2000). Sin embargo, los equipos de corte, cuando son utilizados en momentos inadecuados, pueden promover la dispersión de semillas de plantas maduras o bien, en el caso de especies que rebrotan, sólo demorar el ciclo de la maleza (Bentivegna y Smeda, 2008). En síntesis, previo a la implementación de un plan de manejo es sumamente necesario un conocimiento coherente del crecimiento y desarrollo de una maleza.

*Dipsacus fullonum* es una especie hemicriptófita, crece vegetativamente como roseta y su raíz axonomorfa puede extenderse más profundamente que las raíces de la mayoría de las especies anuales y bienales (Werner, 1975c). Las especies de *Dipsacus* invasoras son a menudo consideradas bienales, porque necesitan acumular suficiente energía para reproducirse y se indica que normalmente este proceso se da en el segundo año de crecimiento (Glass, 1991; Solecki, 1993). Sin embargo, bajo condiciones de estrés, las plantas pueden necesitar años adicionales para florecer. Debido a ello y dado que en *Dipsacus* spp. la reproducción ocurre sólo una vez, estas especies deberían ser más apropiadamente reconocidas como monocárpicas de ciclo perenne corto (Werner, 1975b, c; Solecki, 1993). Según se ha observado, la época de floración más común de carda es en primavera y la fructificación en verano (Villamil y Martínez, 2014). Las hojas de la roseta a menudo mueren durante el invierno y rebrotan a partir de los tejidos meristemáticos, los cuales están protegidos por las bases de dichas hojas. Werner (1975c) indica que cuando la roseta alcanza un tamaño crítico mayor a 30 cm de

diámetro, la planta forma el tallo floral, sobre el cual a su vez se desarrollan los capítulos.

El crecimiento de las especies de plantas o biotipos se puede analizar con diferentes medidas y cálculos. La materia seca total y el área foliar son reconocidos como procesos básicos en el crecimiento vegetativo. Estos indicadores y otros tales como la altura de plantas, biomasa seca de los distintos órganos, etc., muestran el tamaño relativo, la productividad y la capacidad fotosintética de la planta, las cuales inciden a su vez en su habilidad competitiva (Radosevich y otros, 2007). A partir de estas mediciones básicas, parámetros como el área foliar específica, relación área foliar y relación masa foliar, entre otros, pueden ser calculados para demostrar el área fotosintética por unidad de materia seca. Estos coeficientes de partición de materia seca también revelan la capacidad de la planta para adquirir recursos y competir con plantas adyacentes (Horak y Loughin, 2000; Feng y otros, 2007).

Además, en el crecimiento de las plantas, la clorofila cumple un rol clave ya que es el pigmento que permite la fotosíntesis (Arjenaki y otros, 2012). Específicamente, convierte la energía solar en energía química. Existen dos tipos de clorofilas (a y b) que se diferencian en su composición química. De este modo, la cuantificación de la clorofila también permite obtener una estimación indirecta de la capacidad fotosintética de una planta, y por lo tanto de su crecimiento (Wright y otros, 1994; Nageswara y otros, 2001).

La gran expansión de carda puede estar relacionada con características biológicas que favorecen la competencia con otras especies. El desarrollo de estrategias de manejo depende de identificar estas características. Hasta el momento, sólo algunos estudios han caracterizado ciertos aspectos del crecimiento de carda (Werner, 1975b; Gross, 1984; Chuko y Hanyu, 1990), aunque ninguno de ellos en las condiciones ambientales del sur de la provincia de Buenos Aires.

### ***3.1.1 .Hipótesis***

En las condiciones ambientales del sur bonaerense *D. fullonum*:

- Presenta un ciclo de vida de dos años de duración y florecen una vez alcanzado un tamaño crítico (30 cm de diámetro de la roseta).

- La partición de recursos asignados a distintos órganos (hojas, tallos y raíces) es diferente durante el transcurso de dicho ciclo.
- La mayor capacidad competitiva por recursos aéreos en el estadio de roseta que en el estado reproductivo se explica mediante índices foliares más elevados en el primero de ellos.

### *Sustento de la hipótesis*

Algunos autores señalan un crecimiento bianual (Werner, 1975a) o de ciclo perenne corto para especies del género *Dipsacus* (Solecky, 1993). Según Werner (1975b) el tamaño de la roseta es fundamental para la entrada a la fase reproductiva. Cuando la roseta tiene 30 cm de diámetro la planta desarrollará el tallo floral. Bentivegna (2006) demostró que plantas de *D. laciniatus* florecieron todas al segundo año, luego de su implantación bajo condiciones de baja competencia y alta humedad. Además los elevados parámetros foliares en el estadio de roseta para *D. laciniatus* indican un rol clave en la ocupación de nuevos hábitats.

### **3.1.2. Objetivos**

#### Objetivo general

Caracterizar parámetros de crecimiento de *D. fullonum* en sus distintos estadios fenológicos y describir los cambios que ocurren en la asignación de biomasa, información que contribuiría al desarrollo de futuras estrategias exitosas de control.

#### Objetivos específicos

1. Cuantificar el crecimiento de los distintos órganos pertenecientes a plantas de *D. fullonum* durante todo el ciclo de crecimiento.
2. Comparar la distribución de los recursos asignados a cada constituyente de la planta en cada momento del año.
3. Analizar diferencias en la capacidad fotosintética de acuerdo al contenido de clorofila entre localidades y momentos del año.

## 3.2. Materiales y Métodos

### 3.2.1. Establecimiento de los experimentos

Los experimentos comenzaron en el año 2014 en dos sitios. Uno de ellos se realizó en el predio del CERZOS - CCT CONICET de Bahía Blanca (38°39'52,29''S; 62°13'55,53''O) y el otro en el establecimiento rural perteneciente a la Universidad Nacional del Sur ubicado en el paraje Napostá (N- 38°25'39.25"S; 62°17'9.28"O).

En cada sitio se establecieron parcelas en las cuales se realizaron 200 hoyos mediante el uso de un motocultivador Gravelli y finalizados manualmente con una pala. Se realizaron 6 hileras de hoyos, cada uno separado del siguiente por una distancia de 1 m y el espacio entre hileras también fue de 1 m para permitir el libre crecimiento de cada planta. En cada hoyo se enterró una bolsa de polietileno de 60 cm de alto por 30 cm de diámetro, de suficiente grosor para que las raíces no pudiesen perforarlo, las cuales fueron rellenas con tierra hasta el borde superior, con el mismo suelo que anteriormente estaba en el hoyo. Las bolsas se enterraron unos meses antes de la siembra para permitir el asentamiento del suelo. Además, fueron enterradas de manera que coincidiera la superficie superior de la misma con la superficie del terreno. Para favorecer el libre drenaje del agua de lluvia en el suelo, se realizaron microperforaciones en la base de las bolsas.

Las malezas fueron removidas a mano dentro de las bolsas y utilizando una motoguadaña cuando se encontraban creciendo entre las bolsas. A fines de febrero de 2014 se sembraron semillas en cada bolsa en ambos sitios, en coincidencia con la abscisión natural de las semillas de *D. fullonum*. Las plantas permanecieron siempre en condiciones de secano en ambas localidades. Estas se ralearon de manera de dejar un sólo individuo por unidad de muestreo.

A mediados de cada mes y hasta el momento que se detectó la senescencia de las plantas, se desenterraron siete bolsas en cada localidad de manera completamente aleatoria, que se trasladaron al Laboratorio de Ecofisiología de Malezas de CERZOS para su procesamiento y análisis (Fot. 3.1).



**Fotografía 3.1.** Planta de *Dipsacus fullonum* en estado de roseta de la localidad Napostá, septiembre del 2014. La misma se encuentra creciendo en una bolsa enterrada, colocada en coincidencia con la superficie del suelo.

### 3.2.2. *Medición de los parámetros de crecimiento*

Se registró el diámetro de la roseta, la altura de la planta, el número de hojas y el número de capítulos. Las hojas fueron extraídas y escaneadas por medio de un escáner HP Deskjet 3050 y se calculó el área foliar a través del software Image J (Abràmoff y otros, 2004).

Las raíces fueron separadas manualmente del suelo con la ayuda de tamices cuya malla presentaba orificios de 0,5 x 0,5 cm y posteriormente fueron lavadas cuidadosamente. Luego, se midió el largo y el diámetro a 1 cm de la superficie del suelo de la raíz principal.

A continuación, todas las partes de la planta fueron colocadas en sobres de papel madera y secados en estufa a 60°C durante 96 horas hasta peso constante. Finalmente, el peso de la materia seca (MS) se registró a través del uso de una balanza analítica.

#### Cálculo de los índices y tasas de crecimiento

Para caracterizar el crecimiento de la parte aérea, a partir de los datos tomados se calcularon los siguientes índices (Horak y Loughin, 2000):

- *Área foliar específica (AFE)*: definida como la relación entre el área foliar por planta y la materia seca de la misma.
- *Relación masa foliar (RMF)*: relación entre la masa foliar y la masa total aérea de la planta.

- *Relación área foliar (RAF)*: relación entre el área foliar y la masa total aérea de la planta.

Además, en base a los datos de MS total y de hojas, tallos y raíces obtenidos en cada fecha de muestreo se calcularon las siguientes tasas (Radosevich y otros, 2007):

- *Tasa de Crecimiento Absoluto*:

$$TCA = \frac{W_1 - W_0}{T_1 - T_0}$$

Donde  $W_1 - W_0$  es la diferencia en el peso de la MS entre dos cosechas sucesivas y  $T_1 - T_0$  es el intervalo de tiempo entre dos cosechas sucesivas; por lo tanto, esta tasa indica la cantidad de MS que acumula una planta por día.

- *Tasa de crecimiento relativo*:

Esta tasa relaciona el concepto anterior de crecimiento de una variable con el valor que poseía dicha variable al comienzo del período considerado. De esta forma, es posible comparar el crecimiento de plantas de diferente tamaño y determinar el esfuerzo realizado por las mismas. Considerando  $W_2$  como el peso de la MS de una determinada fecha,  $W_1$  el peso de la MS en la fecha inmediatamente anterior y un período de tiempo  $T_2 - T_1$ , es posible obtener la TCR media de la siguiente manera:

$$TCR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{T_2 - T_1}$$

(mg de crecimiento de la variable por mg inicial de la misma por día =  $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )

#### Cuantificación de la concentración de clorofila

La concentración de clorofila se determinó siguiendo la metodología propuesta de Wintermans y De Mots (1965). En cada fecha de muestreo, se extrajeron discos de 0,3 g de tejido foliar fresco de cada una de las plantas extraídas. Cada disco fue cortado con tijera en finas fracciones y se colocaron en un mortero de porcelana. Primero, se agregaron 3 mL de etanol 96% y se maceró por un minuto. El contenido del mortero se vertió en un tubo de ensayo y luego se adicionaron nuevamente 2 ml de etanol 96% dentro del mortero con el fin de desplazar los restos vegetales remanentes. Nuevamente, el contenido se volcó en el tubo de ensayo de la correspondiente muestra. Posteriormente, se llevó el volumen de la solución en el tubo de ensayo a 10 mL. Los

tubos fueron agitados durante unos segundos, se sellaron con papel film para evitar la evaporación del alcohol y se dejaron en reposo en condiciones de oscuridad.

Luego de 24 h, se filtró el contenido de los tubos utilizando papel Whatman N°1. Para cada muestra filtrada se midió la absorbancia mediante un espectrómetro Shimadzu UV 21.000 a 3 longitudes de onda: 649 nm, 665 nm y 750 nm, para la determinación de clorofila a y b. Se utilizó como blanco de referencia una celda conteniendo únicamente etanol 96%.

Con las absorbancias registradas, se estimó el contenido de clorofila total a través de la determinación de clorofila a y b por medio de las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 13,70(A_{665}-A_{750})-5,76(A_{649}-A_{750})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 25,80(A_{649}-A_{750})-7,60(A_{665}-A_{750})$$

### Análisis estadístico

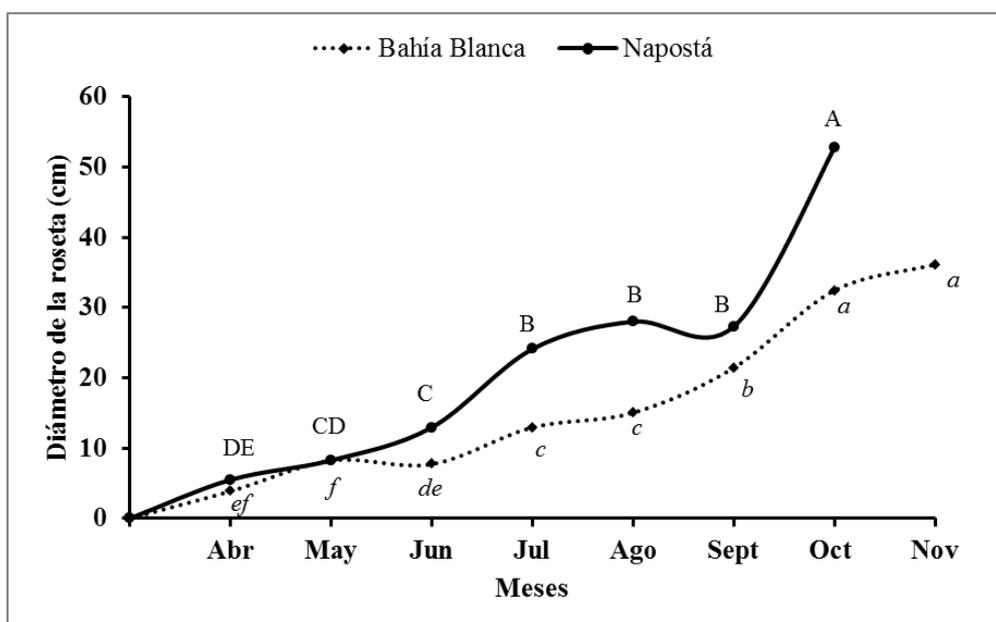
La totalidad de los datos fueron analizados mediante el software estadístico Infostat (Di Rienzo y otros, 2015). Los datos de las variables fueron sometidos a ANOVA, y posteriormente se diferenciaron las medias a través del test de DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ). En ciertos casos, los datos se transformaron utilizando la función logaritmo natural cuando no se cumplía el supuesto de homocedasticidad. Es habitual utilizar este tipo de transformación en el análisis de crecimiento, ya que a medida que un organismo crece, no sólo aumentan las medias de las variables, sino también la varianza (Snedecor y Cochran, 1956).

## **3.3. Resultados**

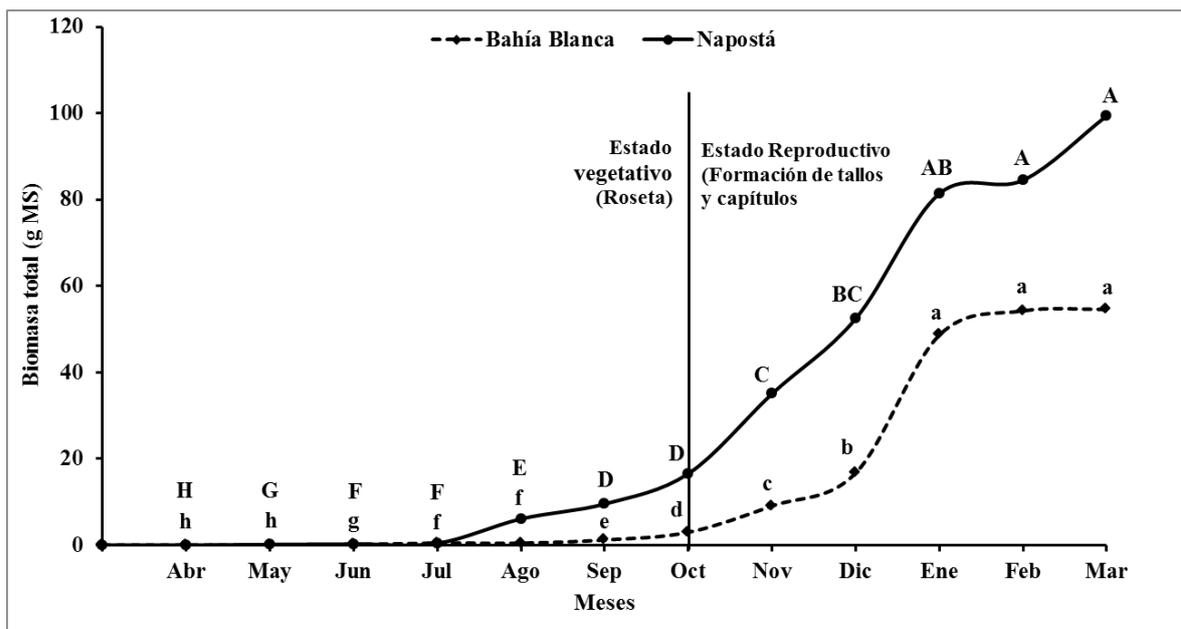
### ***3.3.1. Diámetro de la roseta y biomasa total***

Las plantas de *D. fullonum* fueron sembradas a fines de febrero del 2014 y completaron su ciclo de vida en marzo del 2015 (12 meses). Se detectó interacción entre la localidad y los distintos meses del año para el diámetro de la roseta ( $F=7,78$ ;  $p < 0,01$ ; Fig. 3.1). Las rosetas alcanzaron un diámetro mínimo de 52,71 cm para el mes de octubre en Napostá y 36,14 cm para el mes de noviembre en Bahía Blanca, momentos en los cuales se observó la aparición de tallos florales.

En cuanto a la biomasa total (aérea más subterránea), se detectó interacción entre los sitios evaluados y los meses de cosecha ( $F=8,82$ ;  $p<0,01$ ; Fig. 3.2). En ambas localidades la MS total de plantas de *D. fullonum* aumentó gradualmente hasta agosto [150 días después de la siembra (DDS)]. A partir de ese momento, ambas localidades demostraron un importante incremento alcanzando un máximo de 99,39 g MS al final del ciclo (360 DDS) en Napostá; mientras que, en aquellas que lo hicieron en Bahía Blanca fue de sólo 54,6 g MS.



**Figura 3.1.** Medias mensuales del diámetro de la roseta de plantas a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p<0,05$ ).



**Figura 3.2.** Medias mensuales de la biomasa total (aérea y subterránea; g MS) de plantas a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.2. Parte aérea

Se registró interacción entre las localidades y los meses del año para el crecimiento de la parte aérea ( $F=7,14$ ;  $p < 0,01$ ), de hojas ( $F=8,11$ ;  $p < 0,01$ ) y tallos ( $F=3,45$ ;  $p < 0,05$ ). Para el caso del peso y número de capítulos no se reveló interacción entre ambos factores ( $F=0,10$ ;  $p > 0,95$ ), pero sí un efecto de la localidad ( $F=39,81$ ;  $p < 0,01$ ) y de los distintos meses del año ( $F=12,18$ ;  $p < 0,05$ ) (Fig. 3.3a y b; Tabla 3.1).

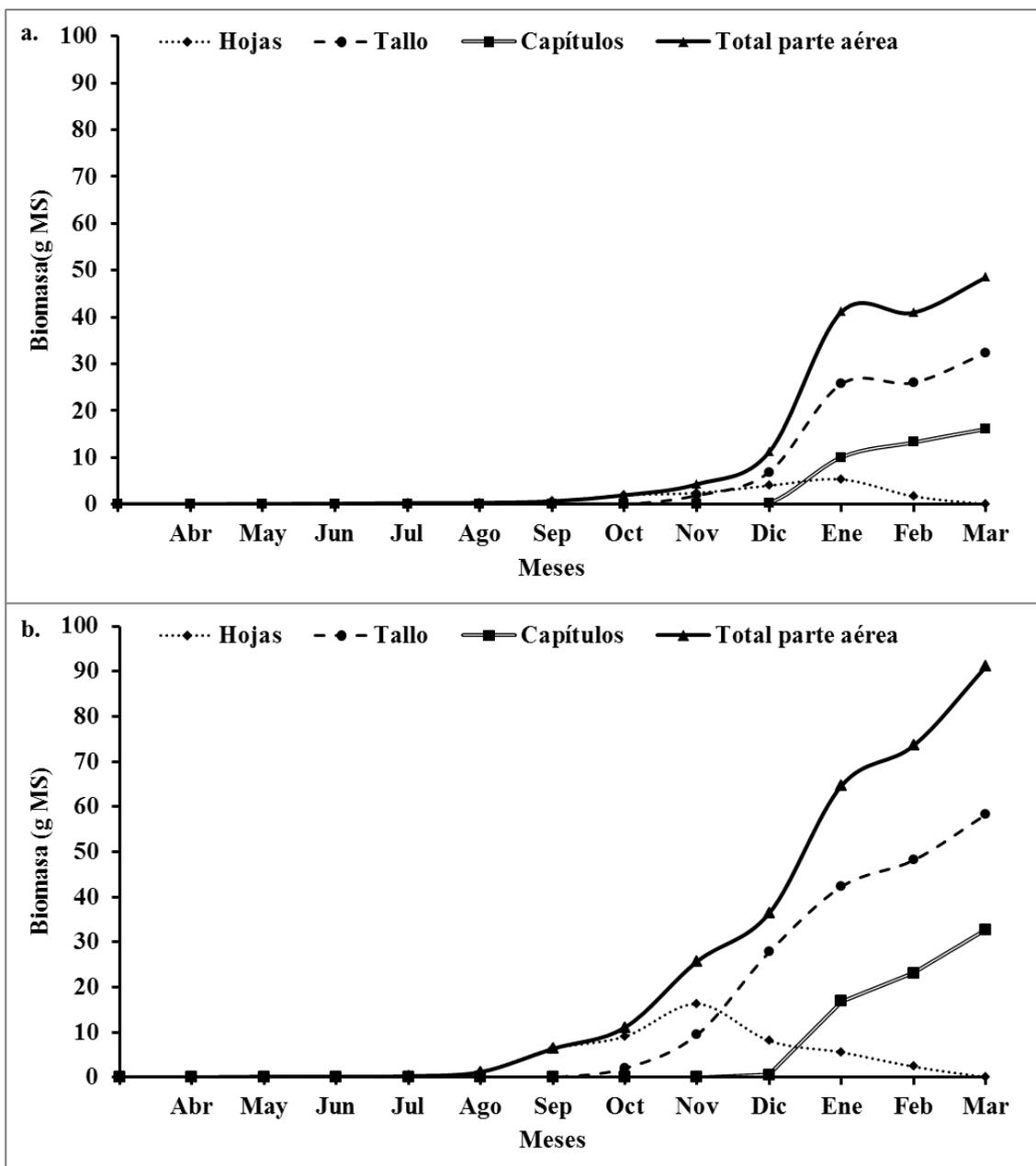
En estadio de roseta, el crecimiento de la parte aérea fue incrementando gradualmente hasta noviembre, alcanzado 25,7 g MS en Napostá y 1,95 g MS en Bahía Blanca. Luego, llegada la primavera, en ambas localidades se registró un incremento significativo en los valores de MS correspondiente en mayor medida a la formación de tallos, y se observó que ocurrió más temprano y en mayor proporción en la localidad de Napostá que en Bahía Blanca.

En los meses de diferenciación de estado vegetativo a reproductivo, correspondientes a la estación primaveral, hubo un aumento considerable de la MS de hojas de un 40,8% y 61,3% medio mensual en BB y N, respectivamente. El peso de la materia seca media de hojas demostró un valor máximo de 16,27 g en Napostá

registrado en noviembre (240 DDS), mientras que fue de 5,32 g en Bahía Blanca en enero (300 DDS). (Figura 3.3).

El estado reproductivo se caracterizó por un incremento de la MS de tallos y capítulos (Tabla 3.1). Los primeros alcanzaron cifras mucho mayores que las hojas generando paulatinamente una amplia brecha entre ambos componentes. Este comportamiento se observó en las dos localidades de estudio, alcanzando diferencias entre la MS de tallos y la MS de hojas de 20,38 g y 36,76 g a los 300 DDS (enero) en Bahía Blanca y Napostá, respectivamente. Por un lado, los tallos tuvieron un incremento significativo en los meses primaverales en su materia seca, hasta observarse un pico en enero del 2015 de 35,71 g (BB) y 42,28 g (N). De ese momento en adelante, no se registraron diferencias significativas en este parámetro para ambas localidades. Por otro lado, la altura media máxima registrada fue 113 cm. *D. fullonum* alcanzó la altura máxima en diciembre en Napostá y en enero en Bahía Blanca. En cuanto a los capítulos, la formación de los mismos se detectó en diciembre del 2014 para ambas localidades. Su MS se incrementó en promedio 40% mensual.

La MS de tallos dejó de diferenciarse estadísticamente dentro de cada localidad a partir del mes de enero (300 DDS). Al finalizar el estudio, los valores de MS de tallos y total de capítulos de las plantas crecidas en Napostá fueron 80% y 104% más elevados que los correspondientes a las plantas crecidas en la localidad de Bahía Blanca, respectivamente (Fig. 3.3; Tabla 3.1).



**Figura 3.3.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de la parte aérea, dividida en tallos, hojas y capítulos a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Bahía Blanca (a) y Napostá (b), Buenos Aires, para los años 2014-15.

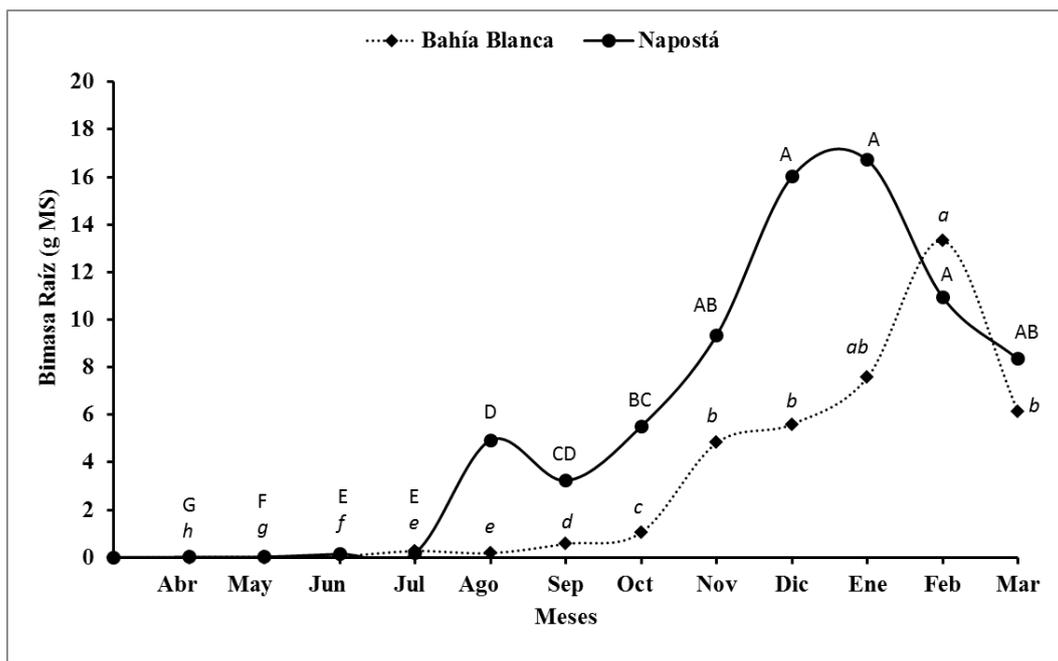
### 3.3.3. Raíces

Se registró interacción entre las localidades y los meses del año tanto para la biomasa de raíces ( $F=6,52$ ;  $p<0,01$ ), como para el diámetro ( $F=4,29$ ;  $p<0,01$ ) y el largo de la raíz axonomorfa ( $F=2,21$ ;  $p<0,05$ ). La MS de raíces fue aumentando paulatinamente durante los meses de otoño y principios de invierno, hasta fin del estadio de roseta, momento en el cual se registraron 3,23 g y 1,05 g en N y BB,

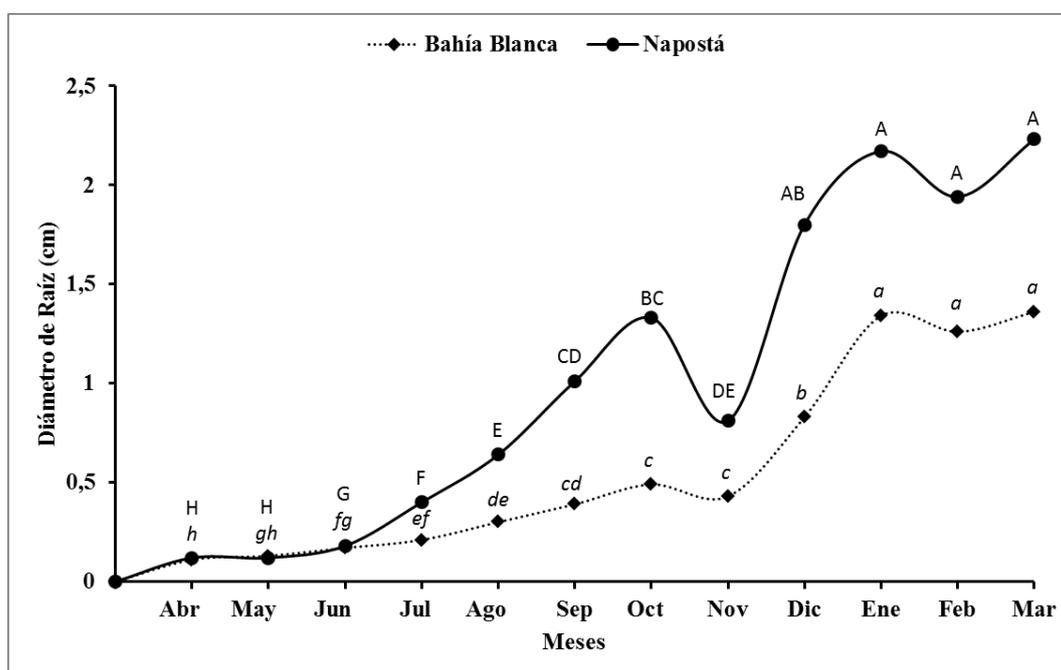
respectivamente. Comenzado el período de elongación del tallo, la biomasa fue aumentando de manera exponencial detectándose 13,32 g en BB a los 330 DDS (febrero) y 16,71 g en N a los 300 DDS (enero). Luego fue disminuyendo hasta el final del ciclo, registrándose una MS de 6,13 g en BB y de 8,34 g en N (Fig. 3.4). Durante el estadio de roseta, la raíz incrementó su diámetro alcanzando los 1,33 cm para octubre y 0,81 cm para noviembre, en Napostá y Bahía Blanca, respectivamente. El pico máximo de diámetro registrado ocurrió a los 300 DDS (enero) alcanzando 1,34 cm (BB) y 2,17 cm (N). A partir de diciembre en N y enero en BB, momento en que florece y fructifica la planta, no se detectaron diferencias significativas para el diámetro de la raíz principal (Fig. 3.5).

En cuanto a largo de la raíz axonomorfa, la misma incrementó su desarrollo durante la formación de la roseta y presentó una longitud media de 47,71 cm para N y 26,43 cm para BB en el mes de octubre (210 DDS). Luego, se registró el largo máximo en febrero (330 DDS) para BB alcanzando los 54 cm y en diciembre en N (270 DDS), con 53 cm. (Fig. 3.6).

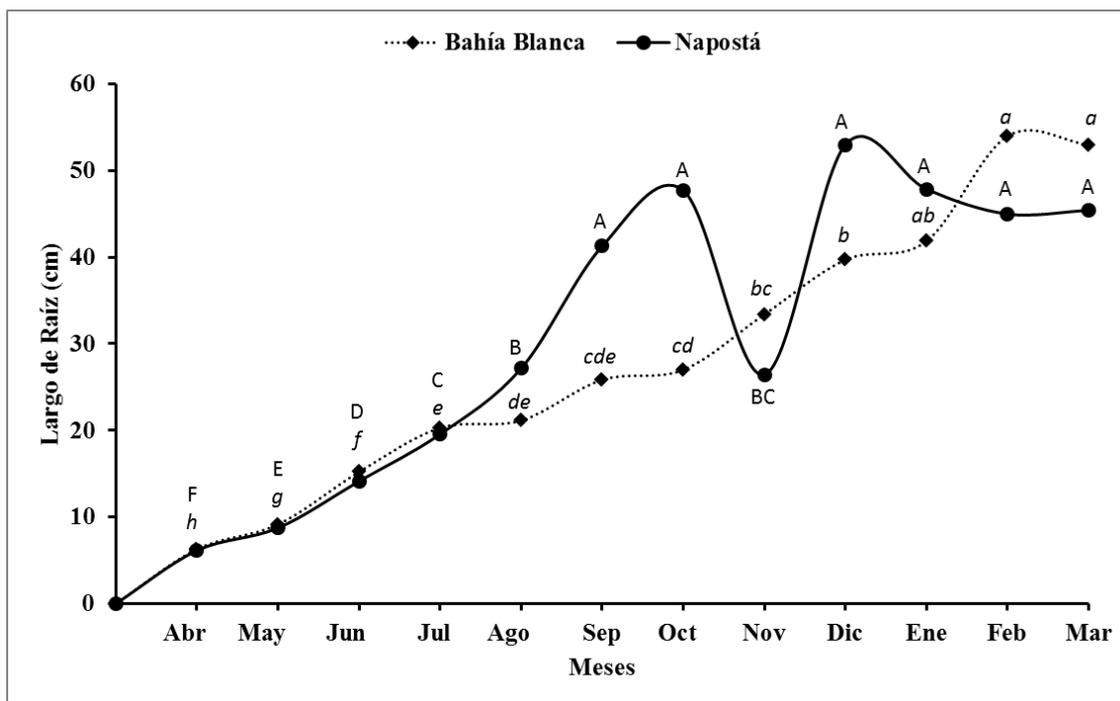
Se observó que para el caso de *D. fullonum* en las poblaciones locales, las plantas denotaron un incremento tanto de la biomasa, largo y diámetro de la raíz en los meses invernales.



**Figura 3.4.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.5.** Medias mensuales de diámetro de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañados con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS Fischer de ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.6.** Medias mensuales de la biomasa (g MS) de raíz a lo largo del ciclo de crecimiento de *Dipsacus fullonum* en las localidades de Napostá y Bahía Blanca, Buenos Aires, para los años 2014-15. Medias acompañadas con una misma letra dentro de la misma localidad (letras mayúsculas=Napostá, letras en minúscula y cursiva=Bahía Blanca), no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.4. Parámetros foliares

Se evidenció interacción entre las localidades y los meses del año para el número de hojas ( $F=2,57$ ;  $p < 0,01$ ), área foliar ( $F=5,46$ ;  $p < 0,01$ ), ancho ( $F=9,78$ ;  $p < 0,01$ ) y largo de hojas ( $F=7,80$ ;  $p < 0,01$ ). Los resultados obtenidos en el análisis de los parámetros foliares se presentan en la tabla 3.2. El área foliar se acrecentó durante el estadio de roseta gradualmente hasta alcanzar en prefloración  $1044,52 \text{ cm}^2$  en el mes de noviembre para Napostá y  $509,64 \text{ cm}^2$  en enero en Bahía Blanca. A partir de ese momento, este parámetro disminuyó marcadamente en los meses de verano cuando la planta entró en maduración de semillas, en correspondencia con el proceso de senescencia.

Desde la emergencia de las plántulas, el área foliar específica (AFE) varió entre  $80$  y  $280 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , registrándose los mayores valores en el estadio de roseta, alcanzando su máximo en agosto (150 DDS) para ambas localidades. *D. fullonum* mostró una máxima relación masa foliar (RMF) desde el inicio del experimento, que comenzó a disminuir en ambas localidades gradualmente a partir de la inducción a la formación de tallos

florales, destinando un mayor proporción los órganos reproductivos y frutos. *D. fullonum* presentó sus mayores valores de RAF ( $271,6 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  en BB y  $223,7 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  en N) en estadio de roseta siendo esta máxima en agosto (Tabla 3.2)

En cuanto a la morfología de las hojas, las mismas fueron creciendo en largo y ancho en el estadio de roseta hasta octubre del 2014 alcanzado un pico medio de 15,93 cm de largo y 3,65 cm de ancho para BB; en el caso de N, fueron 26,6 cm de largo y 5,84 cm de ancho. A partir de ese momento ambos parámetros disminuyeron significativamente, denotando un cambio en la morfología de la hoja.

### **3.3.5. Tasas de crecimiento**

En ambas localidades, se observó que la TAC aérea prácticamente no presentó valores negativos durante el ciclo de crecimiento, indicando un crecimiento sostenido durante el mismo. La misma se incrementó notablemente durante la formación de los tallos florales. Además, se observó que la TAC de raíces fue negativa durante el invierno (Julio-Agosto) y luego de que la planta haya florecido (Enero-Febrero) para ambas localidades, siendo que la TAC aérea fue positiva en esos mismos momentos. Los más altos valores de TRC se dieron durante el estadio de roseta y prefloración, disminuyendo marcadamente en floración y formación de los frutos. Los valores de TRC de raíces, también fueron negativos en los mismos momentos que la TAC (Tabla 3.3).

### **3.3.6. Clorofila**

Se detectó interacción entre las localidades y los distintos meses del año para el contenido de clorofila ( $F=4,01$ ;  $p<0,01$ ). Se observó que los mayores valores para ambos sitios se presentaron en otoño y primavera, teniendo picos en los meses de junio y octubre (Fig. 3.7).

### 3.4. Discusión

#### 3.4.1. *Diametro de la roseta y biomasa total*

Las plantas de *D. fullonum* lograron florecer dentro de un período de un año en las localidades evaluadas. A pesar de que esta especie es a veces catalogada como una especie de ciclo bienal, Werner (1975b) indica que la inducción a la floración en carda está mucho más correlacionada con el tamaño de la roseta que con la edad de la planta. Cuando la roseta tiene 30 cm de diámetro, la planta estaría dotada de los recursos necesarios para desarrollar el tallo floral. Si su tamaño es menor, raramente florece ese año y puede hacerlo al siguiente cuando haya alcanzado una biomasa suficiente (Werner, 1975b). Incluso, situaciones de estrés que causan la remoción de la parte aérea demoran el crecimiento de la roseta persistiendo por más de un año (Glass, 1991; Solecki, 1993; Chessman, 1998). Se sugiere entonces que, según los resultados obtenidos en este trabajo, en los ambientes locales y en condiciones de baja competencia y alta humedad, la inducción a la floración en *D. fullonum* dependería del tamaño de la roseta que presenta la planta comenzada la primavera. Se estima que de no alcanzarlo la planta florecerá al año siguiente, teniendo tiempo suficiente para generar una mayor biomasa. De modo similar lo ocurrido en los experimentos locales, Chuko y Hanyu (1990) para una población japonesa observaron para plantas sembradas en marzo florecieron en febrero del año siguiente. En cambio, Bentivegna (2006) demostró que para *D. laciniatus* en Missouri (EEUU), las plantas florecieron todas al segundo año cuando sus rosetas alcanzaron un tamaño suficiente (96 cm de diámetro medio).

En este estudio se observó que la materia seca total fue mayor y los estadios fenológicos ocurrieron más tempranamente en Napostá que en Bahía Blanca. Del mismo modo, en *D. laciniatus*, diferentes parámetros de crecimiento difirieron entre dos poblaciones del centro de Missouri, EEUU (Bentivegna, 2006). Asimismo, Werner (1975c) indicó que los estadios fenológicos de poblaciones de *D. fullonum* en Ontario (Canadá), ocurrían más tempranamente que poblaciones de Michigan, EEUU, con una diferencia aproximada de 2 semanas.

### 3.4.2. *Parte aérea*

En *D. fullonum* se observó una gran diferencia en los incrementos de materia seca aérea para cada estadio. A partir del momento en que se observó la formación de tallos, el crecimiento de hojas decayó significativamente, especialmente, a medida que se formaban los capítulos, debido a la senescencia de las mismas. Del mismo modo, otros autores indican que los recursos invertidos entre órganos vegetativos y reproductivos pueden variar temporalmente en diversas especies (Elmqvist y otros, 1991; Cipollini y Whigham, 1994; Mahoney y Kegode, 2004). La altura de plantas alcanzada coincide con lo reportado por otros autores (Jurica, 1921; Werner, 1975c; Chessman, 1998), y el incremento de la MS de capítulos (40% mensual) presentó un valor similar al registrado para *D. laciniatus* en Missouri, EEUU (Bentivegna, 2006).

### 3.4.3. *Raíces*

Los valores de largo de raíz se encuentran dentro de lo que indica Werner (1975c) y Solecki (1993), donde la misma puede crecer hasta alcanzar un máximo de 75 cm. Sin embargo, el diámetro de raíz alcanzó valores muchos menores que en *D. laciniatus*, cuya raíz principal en estado reproductivo y al segundo año de crecimiento alcanzó una media de 6,37 cm de diámetro (Bentivegna, 2006).

La raíz pivotante de *D. fullonum* incrementó su biomasa fundamentalmente en estado vegetativo, según indican otros autores esto ocurre con el fin de actuar como órgano de almacenamiento de agua y carbohidratos que sirvan para la producción de semillas y el rebrote (Werner, 1977; Solecki, 1993). En este estudio, la raíz denotó crecimiento en los meses invernales. Contrariamente, Bentivegna (2006) no indica aumentos significativos durante esa misma estación en Missouri, EEUU, probablemente por la rigurosidad de las temperaturas invernales de ese sitio.

### 3.4.4. *Parámetros foliares*

Los datos obtenidos en carda para AFE son similares a los reportados en otras malezas de importancia como *Amaranthus* spp. (Horak y Loughin, 2000), *Abutilon*

*theophrasti* y *Xanthium strumarium* (Seibert y Brent Pearce, 1993). Mayores valores de AFE indican más superficie foliar por unidad de biomasa y por lo tanto mayor área disponible para fotosíntesis y para sombrear competidores (Horak y Loughin, 2000).

La máxima RMF se presenta durante todo el estadio de roseta en el cual destina únicamente sus fotoasimilados a la producción de hojas. Luego, la RMF disminuye sostenidamente a partir de la inducción floral. Esta característica junto con el tamaño de sus hojas y disposición horizontal confieren una ventaja competitiva a esta especie, especialmente durante el estadio de roseta (Werner, 1975b; Huenneke y Thomson, 1995; Horak y Loughin, 2000).

La relación área foliar (RAF) es un índice de densidad de hojas y además un índice morfológico de forma de la planta (Radosevich y otros, 2007). Se esperaría que en el estadio de roseta al haberse observado mayores valores de RAF, mayor sería la capacidad fotosintética de la planta lo cual conferiría a su vez una mayor habilidad competitiva por recursos aéreos, en función de la plasticidad de la especie (Horak y Loughin, 2000).

Las hojas en estado de roseta y prefloración al ser más grandes y estar más juntas favorecería la intercepción de luz y por ende la competencia (Werner, 1975b). En cambio la distribución de hojas más pequeñas alrededor del tallo contribuiría a una mayor tasa fotosintética en la etapa reproductiva, pero no a la competencia. Werner (1977) indica que una mayor área foliar en floración incrementó la producción total de biomasa en una determinada área, pero no redujo el desarrollo de otras especies.

### **3.4.5. Tasas de crecimiento**

Los valores obtenidos respecto a las tasas absolutas y relativas demostraron la relación en la dinámica parte aérea-parte subterránea. Dichas tasas sugieren que la planta dirige sus recursos almacenados en la raíz hacia el tallo en floración, probablemente para sustentar la formación de estructuras reproductivas y tolerar situaciones de estrés (Werner 1975c; Chessman, 1998).

Los valores de TRC del peso de la materia seca total en el establecimiento de la planta son similares a los registrados por Gross (1984) en poblaciones experimentales de Michigan y Ohio, EEUU.

Se asume que el crecimiento de raíces en etapa vegetativa es de importancia central para una mayor producción de semillas (Werner, 1975a). Caswell y Werner (1978)

indicaron que los recursos deben ser almacenados en la raíz, antes de la floración, y además que el nivel de producción de semillas disminuye a medida que decrece la proporción del total de energía disponible. Además, los recursos reservados en el sistema radical facilitan el rebrote luego que el tallo es cortado. Como resultado, la planta puede florecer tarde en la temporada o bien al siguiente año (Glass 1991; Cheesman 1998).

#### **3.4.6. Clorofila**

La distribución del contenido de clorofila a lo largo del año siguió un patrón similar que las precipitaciones de la zona (Paoloni, 2010). Lessani y Mojtahedi (2002) indican que en condiciones propicias de humedad las plantas sintetizan mayor cantidad de clorofila, y ante situaciones de estrés hídrico dicho compuesto sufre importantes degradaciones. En este sentido, existen investigaciones que reportan disminución en el nivel de los pigmentos como resultado del estrés hídrico (Nilsen y Orcutt, 1996; Montagu y Woo, 1999; Arjenaki y otros, 2012). Bajo estas condiciones se producen formas reactivas de oxígeno, que conducen la peroxidación de lípidos, y consecuentemente a la destrucción de la clorofila (Foyer y otros, 1994).

Diversos autores indican para otras especies una cercana relación entre el área foliar específica (AFE) y el contenido de clorofila en distintas condiciones hídricas (Nageswara y otros, 2001; Upadhyaya, 2005; Nigam y Aruna, 2008; Songsri y otros 2009) indicando que plantas que mantienen altos valores de contenido de clorofila y menores valores de AFE mantienen una mayor eficiencia fotosintética. De los resultados observados, las plantas de Napostá en roseta presentaron valores menores de AFE comparativamente con los de Bahía Blanca. Al mismo tiempo, en el sitio N se registró una mayor concentración de clorofila en los distintos meses del año; en consecuencia, estas características en conjunto demostrarían una variación en la capacidad fotosintética de acuerdo a las condiciones ambientales en que se desarrolle la planta, siendo mayor en el sitio N, en el cual a su vez se registraron mayores valores en los parámetros de crecimiento medidos.

### 3.5. Conclusiones

Las plantas de *D. fullonum* completaron su ciclo de crecimiento en un año y florecieron luego de que la roseta alcanzó un tamaño mayor 30 cm de diámetro. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis que la carda necesita un tiempo de desarrollo de dos años para inducir la floración y esto en cambio depende del tamaño de la planta alcanzado al final del invierno, independientemente de la edad. La hipótesis de estudio que *D. fullonum* presenta crecimiento diferencial de sus órganos en distintos momentos del año fue aceptada. Las poblaciones en las localidades evaluadas presentaron una tendencia similar en el crecimiento, pero en términos generales las plantas ubicadas en la localidad de Bahía Blanca demostraron un menor crecimiento con respecto a aquellas que lo hicieron en Napostá y los distintos estadios ocurrieron más temprano en este último sitio. Finalmente, en ambas localidades carda demostró tener altos índices de área foliar y alta tasas de crecimiento relativo en estado vegetativo y en prefloración, momento en el cual se favorecería la competencia por recursos aéreos con otras especies nativas del lugar que invade. En la floración y fructificación, la planta moviliza sus recursos desde la raíz hacia la parte aérea, con la finalidad principal de sustentar las estructuras reproductivas.

**Tabla 3.1.** Medias del peso de la materia seca (MS) del tallo, altura de la planta, número y peso de los capítulos para *Dipsacus fullonum* en período reproductivo en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15\*.

Fecha	Bahía Blanca				Napostá			
	Peso MS Tallo (g)	Altura de Planta (cm)	Número de capítulos	Peso de los capítulos (g)	Peso MS Tallo (g)	Altura de Planta (cm)	Número de capítulos	Peso de los capítulos (g)
<b>Octubre 2014</b>	-	-	-	-	3,51 d	11,13 c	-	-
<b>Noviembre 2014</b>	4,33 b	4,28 c	-	-	8,72 c	25,57 b	-	-
<b>Diciembre 2014</b>	6,34 b	64,29 b	1 c	0,68 c	30,38 b	83,29 a	2 c	0,55 c
<b>Enero 2015</b>	25,71 a	101,14 a	5,29 b	10,05 b	42,29 ab	106,57 a	7,57 b	16,86 b
<b>Febrero 2015</b>	26 a	113,57 a	7 a	13,23 ab	48,14 ab	107,86 a	16,29 ab	23,06 ab
<b>Marzo 2015</b>	32,39 a	112,57 a	7,14 a	16,09 a	58,29 a	109,57 a	21,86 a	32,77 a

\*Medias dentro de una columna seguidas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 3.2.** Medias del diámetro de roseta, características de la hoja (largo, ancho, número), área foliar, área foliar específica, relación masa foliar y relación área foliar para *Dipsacus fullonum* a lo largo del ciclo de crecimiento en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15\*.

Fecha	Bahía Blanca						
	Largo de Hojas (cm)	Ancho de Hojas (cm)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Número de hojas	Área foliar específica (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Relación masa foliar (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Relación área foliar (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )
Abril 2014	1,93 f	1,02 e	3,48 g	2 f	233,8 b	1 a	233,8 b
Mayo 2014	2,77 e	1,09 e	13,16 f	2,29 f	212,1 bc	1 a	212,1 bc
Junio 2014	3,7 d	1,55 d	20,83 e	4 e	175,9 cd	1 a	175,9 cd
Julio 2014	6,36 c	2,15 c	42,48 e	6 d	168,9 cd	1 a	168,9 cd
Agosto 2014	8,69 b	2,8 ab	80,90 d	7,71 cd	271,6 a	1 a	271,6 a
Septiembre 2014	10,31 b	2,69 bc	117,01 d	7,71 cd	180,8 bcd	1 a	180,8 bcd
Octubre 2014	15,93 a	3,65 a	277,21 cd	8 c	146,7 de	1 a	146,7 de
Noviembre 2014	18,76 a	3,68 a	452,45 bc	10,86 b	210,3 bc	0,63 b	118,8 e
Diciembre 2014	19,41 a	3,61 a	469,69 ab	13,14 ab	115,2 ef	0,38 c	43,5 f
Enero 2015	18,02 a	3,55 a	509,64 a	15,14 a	95,63 f	0,13 d	12,33 g
Febrero 2015	9,85 b	1,27 e	178,57 a	4,29 e	99,5 f	0,04 e	4,16 h
Marzo 2015	0 g	0 f	0 h	0 g	0 g	0 f	0 i

Fecha	Napostá						
	Largo de Hojas (cm)	Ancho de Hojas (cm)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Número de hojas	Área foliar específica (cm <sup>2</sup> .g <sup>-2</sup> )	Relación masa foliar (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Relación área foliar (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )
Abril 2014	1,62 h	0,73 f	2,03 g	2 f	183,2 a	1 a	183,2 a
Mayo 2014	2,99 g	1,24 e	15,04 f	3,14 e	103,1 b	1 a	103,1 b
Junio 2014	2,65 g	1,32 e	13,7 f	5,14 d	97,24 b	1 a	97,24 b
Julio 2014	6,8 f	2,15 d	41,15 e	6 cd	179,4 a	1 a	179,4 a
Agosto 2014	13,73 cd	3,57 c	199,89 d	7,43 bc	223,7 a	1 a	223,7 a
Septiembre 2014	18,67 bc	4,06 bc	412,29 c	8,29 bc	85,84 bc	1 a	85,84 b
Octubre 2014	26,6 a	5,84 a	994,86 a	9,14 b	108,3 b	0,84 a	90,61 b
Noviembre 2014	22,51 ab	5,21 ab	1.044,52 a	10 b	66,65 c	0,64 b	42,31 c
Diciembre 2014	17,28 bc	3,49 c	814,43 ab	19 a	102,2 b	0,26 c	26,58 d
Enero 2015	10,46 de	2,53 d	501 bc	15,43 a	107,7 b	0,09 d	8,38 e
Febrero 2015	8,87 ef	1,58 e	184,43 d	9,43 b	84,37 bc	0,03 e	2,46 f
Marzo 2015	0 i	0 g	0 h	0 g	0 d	0 f	0 g

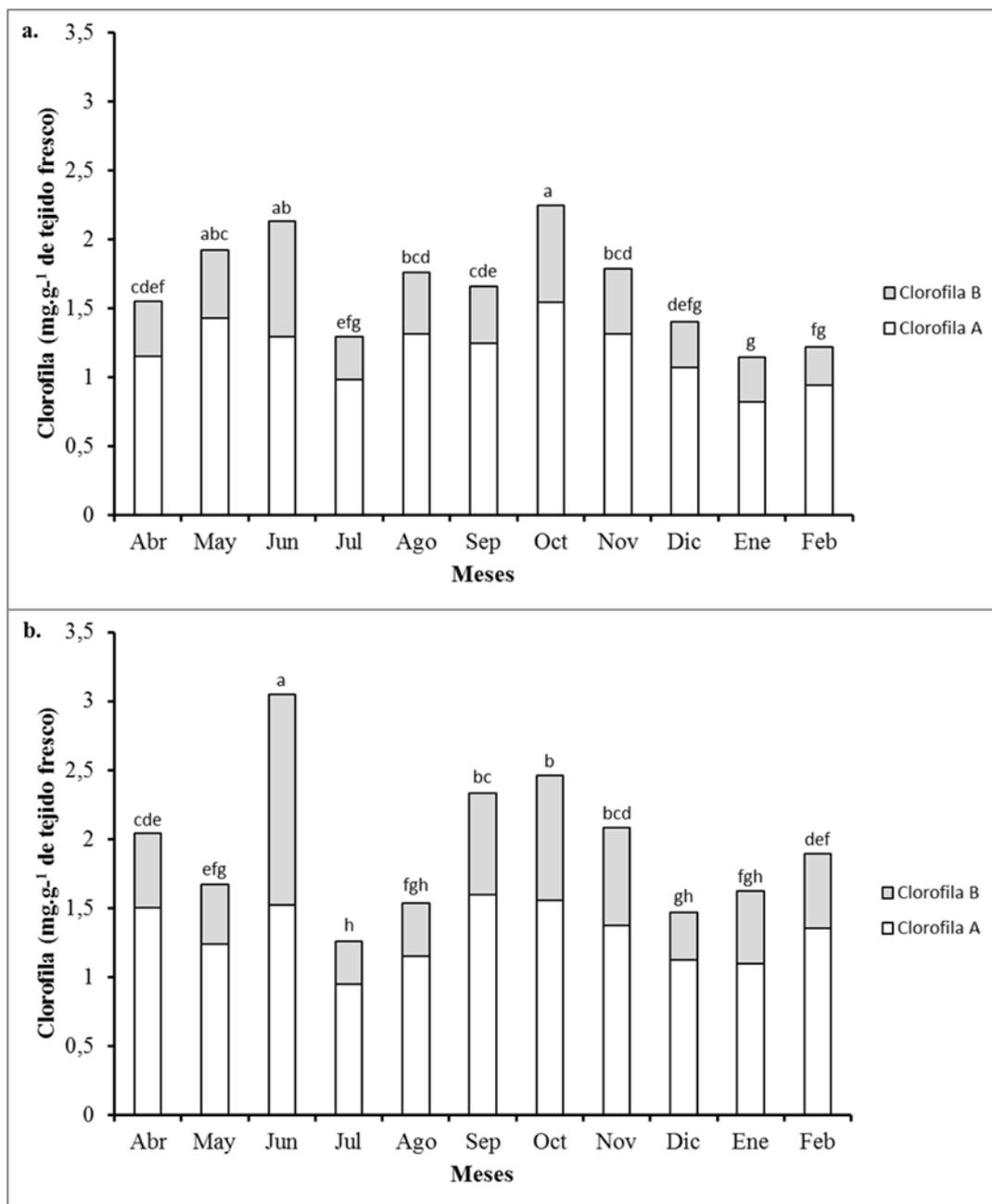
\*Medias dentro de una columna seguidas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 3.3.** Tasa de crecimiento absoluto (TAC) en  $\text{mg}\cdot\text{día}^{-1}$  y tasa de crecimiento relativo (TRC) en  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$  del peso de la materia seca aérea, de la raíz y total en las localidades de Bahía Blanca y Napostá, Buenos Aires, en los años 2014-15 (DDS: días después de siembra).

		<b>Bahía Blanca</b>					
<b>Fecha</b>	<b>DDS</b>	<b>TAC</b>			<b>TRC</b>		
		<b>Aérea</b>	<b>Raíz</b>	<b>Total</b>	<b>Aérea</b>	<b>Raíz</b>	<b>Total</b>
Marzo-Abril 2014	0-30	0,52	0,25	0,77	0,09	0,07	0,10
Abril-Mayo 2014	30-60	0,01	0,37	0,38	0,00	0,03	0,01
Mayo-Junio 2014	60-90	3,92	0,97	4,89	0,07	0,03	0,06
Junio-Julio 2014	90-120	3,77	7,30	11,07	0,02	0,06	0,03
Julio-Agosto 2014	120-150	2,06	-2,83	-0,78	0,01	-0,01	0,00
Agosto-Septiembre 2014	150-180	11,33	12,90	24,22	0,02	0,04	0,03
Septiembre-Octubre 2014	180-210	43,42	16,05	59,48	0,04	0,02	0,03
Octubre-Noviembre 2014	210-240	77,54	125,69	203,22	0,03	0,05	0,04
Noviembre-Diciembre 2014	240-270	227,82	26,07	253,89	0,03	0,01	0,02
Diciembre-Enero 2015	270-300	999,24	65,44	1064,68	0,04	0,01	0,04
Enero-Febrero 2015	300-330	-27,10	191,94	164,84	0,00	0,02	0,00
Febrero-Marzo 2015	330-360	273,43	-239,86	33,57	0,01	-0,03	0,00

		<b>Napostá</b>					
<b>Fecha</b>	<b>DDS</b>	<b>TAC</b>			<b>TRC</b>		
		<b>Aérea</b>	<b>Raíz</b>	<b>Total</b>	<b>Aérea</b>	<b>Raíz</b>	<b>Total</b>
Marzo-Abril 2014	0-30	0,39	0,21	0,60	0,08	0,06	0,10
Abril-Mayo 2014	30-60	4,00	0,54	4,54	0,08	0,04	0,07
Mayo-Junio 2014	60-90	0,21	3,89	4,09	0,00	0,06	0,02
Junio-Julio 2014	90-120	3,67	2,05	5,72	0,02	0,01	0,02
Julio-Agosto 2014	120-150	30,84	157,63	188,47	0,05	0,11	0,09
Agosto-Septiembre 2014	150-180	171,75	-56,76	114,99	0,06	-0,01	0,01
Septiembre-Octubre 2014	180-210	157,71	76,38	234,09	0,02	0,02	0,02
Octubre-Noviembre 2014	210-240	464,14	127,86	592,00	0,03	0,02	0,02
Noviembre-Diciembre 2014	240-270	467,48	222,01	689,49	0,01	0,02	0,02
Diciembre-Enero 2015	270-300	855,76	23,34	879,10	0,02	0,00	0,01
Enero-Febrero 2015	300-330	257,53	-192,63	64,91	0,00	-0,01	0,00
Febrero-Marzo 2015	330-360	621,75	-86,67	535,0873	0,01	-0,01	0,01



**Figura 3.7.** Contenido de clorofila total (dividido en clorofila a y b) de plantas de *D. fullonum* crecidas en condiciones de campo a lo largo del año, en las localidades de Bahía Blanca (a) y Napostá (b). Contenidos de clorofila total con una misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

## **Capítulo IV**

**Interferencia de *Dipsacus fullonum* sobre especies deseables y suelos  
del sur de la Provincia de Buenos Aires**

## 4.1. Introducción

Se denomina con el término de “interferencia” a aquellas interacciones en la cual una determinada planta o población influye en el desarrollo de plantas o poblaciones vecinas (Radosevich y otros, 2007). Uno de los tipos de interferencia incluye la competencia entre especies, y ésta se define como el efecto recíprocamente adverso producido entre plantas que utilizan un mismo recurso de escasa disponibilidad en el ambiente. Como consecuencia, en por lo menos uno de los organismos participantes se reduce su probabilidad de subsistir o de dejar descendencia (Acciaresi y otros, 2014). Este fenómeno se constituye como uno de los factores más importantes que definen la estructura de las comunidades vegetales. Además, determina en gran parte el éxito de una planta invasora, es por eso que la habilidad competitiva de una planta es usualmente utilizada para predecir su abundancia en una comunidad (Goldberg, 1996; Fraser y Keddy, 2005). Grime (1973) describió cuatro características consistentes de una especie competitiva, entre ellas: un porte elevado, una forma de crecimiento que permita una intensa y extensa explotación del ambiente tanto aéreo como subterráneo, una alta tasa máxima potencial de crecimiento relativo, y una tendencia a depositar una capa densa de residuos en superficie. La plasticidad fenotípica también se indica como una característica clave de una planta invasora (Burns y Winn, 2006).

Otro tipo de interferencia se produce cuando determinadas plantas liberan compuestos químicos al ambiente y a través de ellos pueden inhibir o afectar la germinación, el crecimiento y/o el desarrollo de plantas vecinas. Este proceso se denomina alelopatía (He y otros, 2012). Los mecanismos de acción de los compuestos alelopáticos son similares a los que poseen los herbicidas, aunque a diferencia de estos últimos normalmente se tratan de procesos más complejos ya que pueden afectar más de una función. Entre estos se destacan cambios en las funciones hormonales, asimilación de nutrientes, fotosíntesis, actividad enzimática, respiración, permeabilidad de la membrana celular, etc. (Sobrero y Acciaresi, 2014). Estos compuestos se pueden producir tanto en las hojas, flores, frutos, tallos, raíces, rizomas, semillas y/o pólen (Zeng y otros, 2008) y entre los más estudiados se destacan los glicósidos cianogénicos, ácidos orgánicos, alcoholes y aldehídos, compuestos aromáticos, ácido benzoico y derivados, ácido cinámico y derivados, quinonas y derivados, cumarinas, flavonoides, taninos, terpenoides, alcaloides, lípidos y ácidos grasos, y fenoles simples, entre otros (Sobrero y Acciaresi, 2014). Entre las formas que se indican como estrategias de

liberación de las sustancias alelopáticas una de ellas es por lixiviación, es decir, su remoción de las plantas, vivas o muertas por efecto de la lluvia, nieve, niebla o rocío. También puede hacerlo por volatilización y por degradación de los restos de tejidos vegetales (Fujii y otros, 2003).

Asimismo, la alteración de la composición florística de una comunidad causada por una invasión a menudo conduce a marcados cambios en los ciclos de nutrientes (Ehrenfeld, 2003). Estas modificaciones pueden tener efectos negativos en las comunidades, afectando no sólo la diversidad florística sino también en la microbiana (Novoa y otros, 2013). Una especie dada puede generar distintos cambios en diferentes ambientes, sugiriendo que la composición de la comunidad invadida y/o factores ambientales, como el tipo de suelo influyen la dirección y magnitud del impacto (Ehrenfeld y otros, 2001). Eventualmente, especies exóticas con una gran producción de hojarasca y que presentan nuevos compuestos en sus tejidos, tienen el potencial de alterar la flora microbiana, predisponiendo en mayor medida cambios en las propiedades del suelo. La caracterización de los cambios en un suelo invadido es un parámetro de importancia en términos de calidad del mismo (Liao y Boutton, 2008; Novoa y otros, 2013).

Existe escasa información hasta el momento para *Dipsacus fullonum* (carda), en cuanto a las estrategias ecológicas de interferencia que promueven su invasión en nuevos sitios (Huenneke y Thomson, 1995; Palacios y otros, 2010). Asimismo, no existen estudios acerca de la capacidad competitiva de *D. fullonum*, su potencial alelopático y la alteración de las propiedades edáficas del suelo en los ecosistemas de la Provincia de Buenos Aires. La caracterización de los cambios en el ambiente permite identificar especies problemáticas que deberían ser controladas, seleccionar especies que sirvan en la revegetación de un sitio, además de aportar con información acerca de dónde deberían dirigirse los esfuerzos para poder restaurar los componentes bióticos y abióticos del ecosistema (D'Antonio y Meyerson, 2002; Corbin y D'Antonio, 2004).

#### **4.1.1. Hipótesis**

La invasión de “carda” produce una alteración en los sistemas ecológicos que coloniza en función de:

a) su alta capacidad competitiva por recursos, que afecta negativamente parámetros de crecimiento de especies deseables.

b) la producción de sustancias alelopáticas, la cual varía en función del estadio fenológico y del órgano de la maleza involucrado.

c) cambios en los niveles de pH, materia orgánica y diversos nutrientes del suelo.

#### *Sustento de las hipótesis*

*D. fullonum* crece formando densos parches que reduciría la posibilidad de establecimiento de otras especies. Rosetas de *D. laciniatus* mostraron un elevado índice de área foliar (>3) lo que se traduce en una elevada capacidad competitiva por radiación solar (Bentivegna, 2006). Asimismo, Palacios y otros (2010) encontraron una inhibición en la germinación de *Raphanus sativus* y *Avena sativa* utilizando extractos etanólicos de plantas enteras de *D. fullonum*. Por otra parte, diversos autores demuestran que la mayoría de las especies invasoras tienen una alta productividad primaria neta comparada con especies nativas, hecho que se traduce en un incremento de los valores de materia orgánica y nutrientes intercambiables (Ehrenfeld, 2003; Lindsay y French, 2005; Liao y Boutton, 2008; Vilà y otros, 2011). Del mismo modo, la colonización de especies correspondientes al género *Dipsacus* en un nuevo entorno tendría el potencial de producir cambios ecológicos microambientales en ambientes locales.

#### **4.1.2. Objetivos**

##### Objetivo general

Obtener información acerca de los posibles mecanismos de interferencia en el ambiente por parte de *D. fullonum*.

##### Objetivos específicos

- Evaluar la competencia por recursos aéreos entre gramíneas deseables y la maleza *D. fullonum*.
- Examinar factores que afectan el potencial alelopático de *D. fullonum* sobre especies indicadoras y deseables.
- Evaluar los cambios en las propiedades químicas del suelo en ambientes invadidos por *D. fullonum*.

## 4.2. Materiales y métodos

### 4.2.1. Competencia

Se evaluó la habilidad competitiva de *D. fullonum* frente a las gramíneas nativas *Nassella tenuis* (Phil.) Barkworth (flechilla fina) y *Nassella clarazii* (Ball) Barkworth (flechilla grande) y frente a las gramíneas exóticas *Festuca arundinacea* Schreb. (festuca alta) y *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D.R. Dewey (agropiro alargado).

Se realizaron dos experimentos consecutivos en condiciones de invernáculo de cuatro meses de duración en los años 2013 y 2014, respectivamente. El invernáculo se encuentra ubicado en las instalaciones del Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Bahía Blanca, Argentina (38°41'12,45"S; 62°12'56,08"). En primer lugar, se obtuvieron plántulas a partir de semillas en laboratorio colocándolas en cajas de Petri sobre papel de filtro en condiciones de alta humedad y expuestas a oscuridad para el caso de carda, agropiro y festuca, y a un fotoperíodo de 12 hs para las especies del género *Nassella* (Distel y otros, 1992). Luego, las plántulas jóvenes se colocaron en macetas a 1 cm de profundidad. Las macetas contenían un volumen de 7,85 dm<sup>3</sup> con suelo de textura franco-arenosa representativo del sur de la Provincia de Buenos Aires, las cuales fueron regadas periódicamente durante todo el experimento para mantener una humedad adecuada. El diseño experimental que se utilizó fue el método aditivo simple, el cual se basa en que la densidad de una especie o grupo de especies (“stand”) objetivo es mantenida constante en todos los tratamientos y la densidad de la maleza es incrementada (Gibson y otros, 1999). En el presente estudio, el “stand” objetivo estuvo constituido por 6 gramíneas (G) formando un círculo en la periferia de la maceta, en forma alternada y equidistante. En el centro se incluyeron individuos de *D. fullonum* (Df) con 5 densidades: 0 (Testigo), 1, 2, 3 y 4 plantas por maceta. Por un lado, se evaluó la competencia de carda frente a un stand de especies nativas conformado por tres plantas de *N. tenuis* (Nt) y tres de *N. clarazii* (Nc). Por el otro, se utilizaron monocultivos de gramíneas exóticas, en este caso fueron seis plantas de *T. ponticum* (Tp) o *F. arundinacea* (Fa). Además, se sumaron 5 tratamientos donde se hicieron crecer plantas de *D. fullonum* en ausencia de gramíneas, con las mismas densidades utilizadas. Se obtuvieron finalmente nueve tratamientos repetidos en 5 macetas aleatorizadas en el invernáculo: Testigo (6G: 0Df), T1 (6G: 1Df), T2 (6G: 2Df), T3 (6G: 3Df), T4 (6G:

4Df), T5 (0G: 1Df), T6 (0G: 2Df), T7 (0G: 3Df) y T8 (0G: 4Df). Al finalizar el experimento todas las especies fueron cosechadas. El material fue secado en estufa a 60°C hasta peso constante y luego fue pesado en balanza analítica. Previamente se midió la altura final y el número de macollos alcanzado por todas las gramíneas.

A partir de la biomasa seca aérea de gramíneas se calculó el índice relativo de competencia que expresa la reducción de la performance de la especie objetivo (Weigelt y Jolliffe, 2003):

$$IRC = (G_{mono} - G_{mix})/G_{mono}$$

Donde  $G_{mono}$  es la biomasa seca aérea total de las gramíneas creciendo en cada maceta sin la presencia de carda y  $G_{mix}$  compitiendo con carda.

Adicionalmente se calculó el rendimiento relativo total (RRT) teniendo en cuenta los datos de biomasa seca aérea de todas las especies:

$$RRT = (D_{mix}/D_{mono}) + (G_{mix}/G_{mono})$$

Un valor de  $RRT = 1$  indica que la competencia es plena (es decir, que las especies son mutuamente excluyentes). En cambio, en los casos en que el RRT es mayor que 1, existe complementariedad en el uso de los recursos y las especies compiten sólo parcialmente, mientras que un valor de  $RRT = 2$  implica ausencia de competencia (Snaydon, 1991).

Del mismo modo se efectuó el cálculo del índice de agresividad de la maleza (A):

$$A = (D_{mix}/D_{mono}) - (G_{mix}/G_{mono})$$

Valores negativos del índice de agresividad indicarían que las gramíneas son más competitivas, mientras que valores positivos indicarían que carda es más agresiva (Weigelt y Jolliffe, 2003).

En ambos índices ( $RRT$  y  $A$ )  $D_{mix}$  y  $G_{mix}$  son los valores de biomasa total alcanzado por *D. fullonum* y las gramíneas, respectivamente creciendo en competencia, mientras que  $D_{mono}$  y  $G_{mono}$ , son aquellos creciendo sin competencia.

### Análisis estadístico

Los datos fueron procesados a través de un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, con los distintos tratamientos evaluados como factor fijo y el año en que se realizaron los experimentos como factor aleatorio. La comparación de medias se realizó por medio del test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Los datos de biomasa seca fueron transformados con la función  $\text{Log}_{10}(x)$  y los datos de números de macollos con la función  $\text{Ln}(x)$  para cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianzas y

normalidad (Snedecor y Cochran, 1956). La totalidad de los análisis se efectuaron utilizando el software estadístico InfoStat (Di Rienzo y otros, 2015).

#### **4.2.2. Potencial alelopático**

Se cosecharon plantas enteras de *D. fullonum* en enero del 2013, a partir de distintas poblaciones situadas en la localidad de Bahía Blanca (38°39'S, 62°14'O). Las mismas fueron seleccionadas discriminado dos estadios diferentes, vegetativo (v) y reproductivo (r). Estas se llevaron al Laboratorio de Ecofisiología de Malezas (CERZOS-CONICET), donde fueron cuidadosamente lavadas y luego se fraccionaron separando la raíz (R) y la parte aérea (A) de cada estadio. A continuación, cada material fue cortado con tijera hasta lograr un tamaño menor a un centímetro. Los tejidos procesados se colocaron en agua destilada a 24°C y a las 24 horas la solución fue filtrada. Para cada tipo de tejido se realizaron extractos acuosos a dos concentraciones: alta (↑) de 100 g tejido/L agua (10% masa: volumen) y baja (↓) de 50 g tejido/L agua (5% masa: volumen). Valores similares de concentración de extractos acuosos se indican en la literatura para otras especies (Femina y otros, 2012; Nandi y Dalal, 2012). De esta forma se obtuvieron ocho tratamientos (soluciones) los cuales se denominaron Rv↓, Rv↑, Rr↓, Rr↑, Av↓, Av↑, Ar↓ y Ar↑, y además un testigo con agua destilada. Las ocho soluciones fueron conservadas en cámara de frío a 5° C hasta su inmediato uso en las evaluaciones.

Se evaluó el efecto fitotóxico de las soluciones en la germinación de distintas especies blanco. Por un lado se utilizaron las especies nativas *Nassella clarazii* (Nc) y *Nassella tenuis* (Nt), y por el otro las gramíneas exóticas *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp). Adicionalmente, se usaron dos especies consideradas indicadoras por su sensibilidad conocida a una gran variedad de aleloquímicos (Palacios y otros, 2010). Estas fueron *Raphanus sativus* “rabanito” (Rs) y *Avena sativa* “avena cultivada” (As).

Las semillas sanas fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio 1:3 durante un minuto, para prevenir el desarrollo de patógenos y posteriormente se lavaron con agua destilada durante tres minutos. Para cada especie y tratamiento fueron utilizadas cuatro réplicas de 25 semillas colocadas en cajas de Petri sobre papel tissue. Al inicio del ensayo se colocaron 5 mL de la solución correspondiente en cada una de las cajas de Petri y se sellaron con papel film luego de cada registro de germinación, con el fin de

evitar la evaporación de la solución. Durante los días que duró el experimento, las cajas de Petri se incubaron a 24°C y fueron aleatorizadas dentro de las cámaras de crecimiento. Las especies cultivadas se mantuvieron en oscuridad, mientras que, las especies nativas permanecieron con un fotoperíodo de 12 hs. Se registró la germinación los 3, 7 y 14 días, considerando como semilla germinada a aquella cuya radícula alcanzaba una longitud mayor a 2 mm.

La evaluación de los efectos fitotóxicos de los tratamientos se realizó mediante los siguientes índices:

- *Porcentaje de germinación (%G)*: proporción de semillas germinadas sobre el total de semillas.
- *Coefficiente de velocidad de germinación (CVG)*: para ello se utilizó la fórmula de velocidad de germinación propuesta por González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996):

$$CVG = \frac{G_3 + (0,5 \cdot G_7) + (0,1 \cdot G_{14})}{Gt}$$

Donde  $G_3$ ,  $G_7$  y  $G_{14}$ , corresponden al número de semillas germinadas a los 3, 7 y 14 días de comenzado el experimento, respectivamente.  $Gt$ : cantidad total de semillas germinadas. La velocidad de germinación es máxima ( $CVG=1$ ) cuando la totalidad de las semillas germinan antes de la primera evaluación (día 3).

- *Inhibición de la germinación (%IG)*:

$$\%IG = \left( \frac{\%G_{trat}}{\%G_{test}} \right)$$

Donde  $\%G_{trat}$  y  $\%G_{test}$ , son los porcentajes de germinación de un tratamiento y del testigo en una misma especie, respectivamente.

### Análisis estadístico

Para determinar si hubo un efecto fitotóxico de una solución dada, los resultados obtenidos a partir de %G y CVG fueron sometidos a ANOVA simple empleando como variable las distintas soluciones evaluadas. Para comparar la influencia de los factores evaluados en la germinación de las especies de interés, los datos de %IG se sometieron a un ANOVA de cuatro factores, los cuales fueron la concentración, el estadio fenológico, el tipo de tejido y la especie. Las medias fueron separadas a través del test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). La totalidad de los análisis se realizó utilizando el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y otros, 2015). En los casos que fue necesario, se transformaron

los datos con la función arco seno raíz cuadrada cuando no se cumplían los supuestos (Snedecor y Cochran, 1956).

#### **4.2.3. Cambios en la composición química del suelo**

Se colectaron muestras de suelo en cuatro sitios de la Provincia de Buenos Aires en los cuales se encontraron extensas y densas poblaciones de *D. fullonum*. Los sitios elegidos se ubicaban en la localidad de Bahía Blanca (38°43'4,5"; 62°17'2,8"), Guaminí (36°55'12,1"; 62°21'55,6"), Tandil (37°20'59,9"; 59°7'33,6") y Chapadmalal (38°13'39,7"; 57°43'46,5"). En cada uno de ellos, se discriminaron dos tipos de parches, uno invadido por una alta densidad poblacional de carda y el otro un área adyacente no invadida por la misma. Para cada parche, se eligieron diez puntos al azar y en cada punto de ellos se colectó una muestra de suelo con barreno a 40 cm de profundidad. Luego las muestras correspondientes a cada parche se combinaron realizando una muestra compuesta (Larenas Parada y otros, 2004; Novoa y otros, 2013). De cada muestra compuesta se seleccionaron cuatro sub-muestras y fueron enviadas para ser analizadas al LANAIS N-15, CONICET-UNS. Se determinó el pH de una solución suelo-agua (relación 1:2,5) utilizando un peachímetro digital Hach EC10 modelo 50050 y la conductividad eléctrica, en el extracto de saturación del suelo, por medio de un conductímetro digital Hach CO150 modelo 50150. El porcentaje de materia orgánica se determinó a partir de la fracción de carbono orgánico con un analizador automático de carbono por combustión seca Leco modelo CR12 previo lavado del suelo con HCl al 50% para eliminación de carbono inorgánico. Las fracciones de nitrógeno (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se determinaron por el método semimicro Kjeldahl-Buchi en el suelo. Dichos valores fueron sumados para obtener el nitrógeno total inorgánico en el suelo. El fósforo disponible se extrajo por el método de Bray y Kurtz, y luego se cuantificó por espectrofotometría ultravioleta-visible. En el caso del calcio, potasio y magnesio, la extracción se realizó con acetato de amonio a pH 7. Estos elementos junto con el sodio se cuantificaron por espectrometría de emisión atómica por plasma inducido (ICPS Shimadzu modelo 1000 III). A partir del contenido de calcio, sodio y magnesio se cuantificó el RAS (relación adsorción de sodio). Finalmente, la CIC (capacidad de intercambio catiónico) se determinó mediante saturación con acetato de sodio, lavado con alcohol etílico y desplazamiento con acetato de amonio. Los distintos análisis se

realizaron siguiendo las metodologías propuestas por USDA (1985), Mulvaney y otros (1996) y Sparks y otros (1996).

### Análisis estadístico

En cada sitio, las medias obtenidas de cada parámetro de suelo de áreas no invadidas e invadidas por carda, se compararon mediante la prueba t de Student para muestras apareadas ( $p < 0,05$ ) (Snedecor y Cochran, 1956). Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y otros, 2015).

## 4.3. Resultados

### 4.3.1. Competencia

Los experimentos en los cuales se evaluó la respuesta de gramíneas compitiendo con *D. fullonum*, realizados en el año 2013 y 2014, revelaron diferencias significativas entre tratamientos para ciertos parámetros evaluados. En algunos casos, se detectaron componentes aditivos de varianza debida al año en que se realizaron los experimentos y a la interacción año por tratamiento. Dichos resultados provenientes de estos análisis estadísticos se sintetizan en la tabla 4.1.

**Tabla 4.1.** Valores *F* y *p* de los ANOVA doble realizados para evaluar la competencia de gramíneas nativas (*Nassella tenuis*+*N. clarazii*) y exóticas (*Festuca arundinacea* y *Thinopyrum ponticum*) frente a *Dipsacus fullonum*. Los tratamientos involucraron densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos se realizaron en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014.

Especie/s evaluada/s	Fuente de variación	Biomasa seca aérea		Número de macollos		Altura	
		<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Nassella tenuis</i> + <i>N. clarazii</i>	Año	15,86	<0,01	219,07	<0,01	0,19	0,67
	Tratamiento	43,57	<0,01	13,25	<0,05	0,32	0,85
	Tratamiento*Año	0,90	0,47	2,2	0,09	2,71	<0,05
<i>Thinopyrum ponticum</i>	Año	8,30	<0,01	11,57	<0,01	2,96	0,09
	Tratamiento	2,03	0,26	4,17	0,10	1,57	0,34
	Tratamiento*Año	6,38	<0,01	0,83	0,51	3,02	<0,05
<i>Festuca arundinacea</i>	Año	11,19	<0,01	2,06	0,16	14,75	<0,01
	Tratamiento	10,15	<0,05	2,17	0,24	0,22	0,91
	Tratamiento*Año	4,01	<0,01	3,65	<0,05	3,08	<0,05

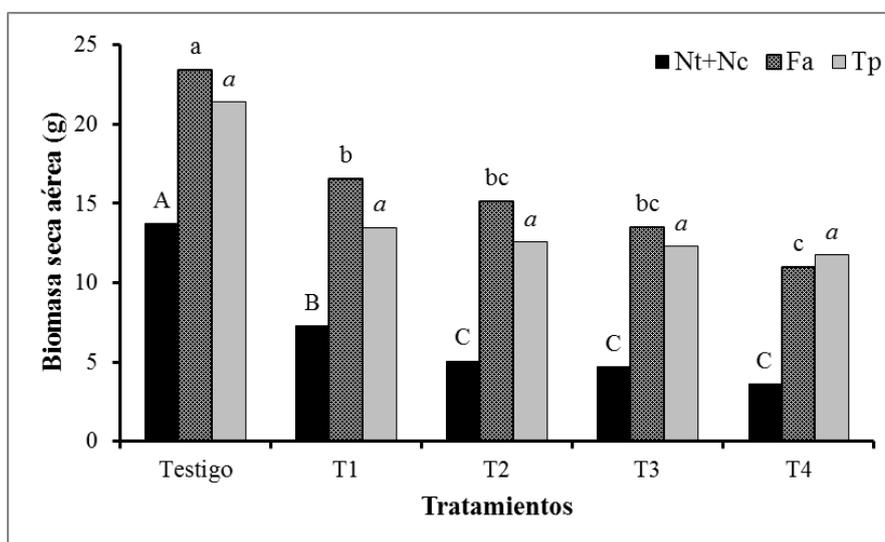
### Biomasa seca aérea

En el caso de la evaluación de gramíneas nativas, se registró una reducción significativa de la biomasa aérea debido a la competencia con *D. fullonum*. Un incremento de la presencia de carda, produjo en el tratamiento 4 una reducción de la materia seca en el orden de 76%.

En cuanto a las gramíneas exóticas, existió una disminución significativa en la biomasa aérea de *F. arundinacea* en el orden de 27% en el T1 y de 53% para T4, con respecto al testigo. En cambio, en *T. ponticum*, no se detectaron diferencias significativas en la biomasa aérea entre los distintos tratamientos (Tabla 4.2; Fig. 4.1).

**Tabla 4.2.** Índice relativo de competencia de las distintas especies frente a densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014.

	<i>Nassella tenuis+N. clarazii</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Thinopyrum ponticum</i>
<b>T1</b>	0,54	0,27	0,06
<b>T2</b>	0,67	0,34	0,22
<b>T3</b>	0,72	0,41	0,30
<b>T4</b>	0,78	0,53	0,35



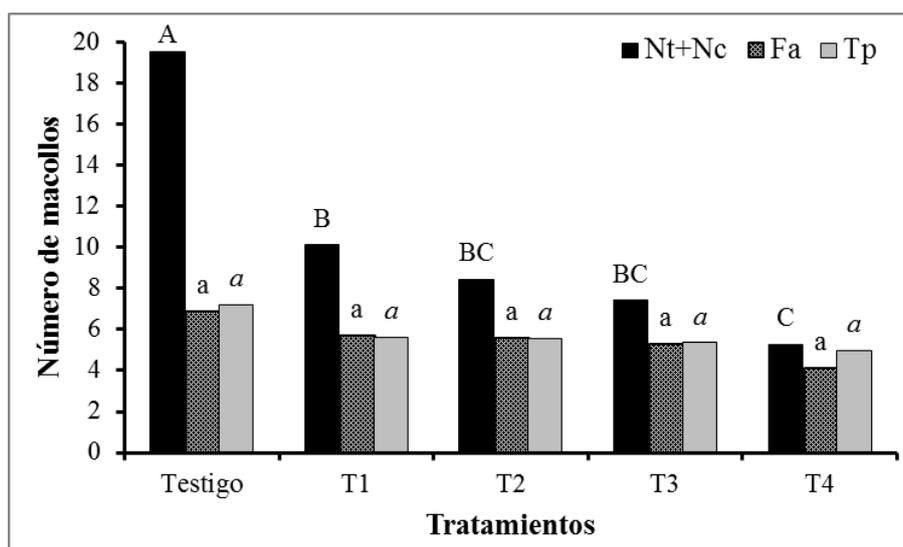
**Figura 4.1.** Biomasa seca aérea de gramíneas nativas (*Nassella tenuis+N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

### Número de macollos

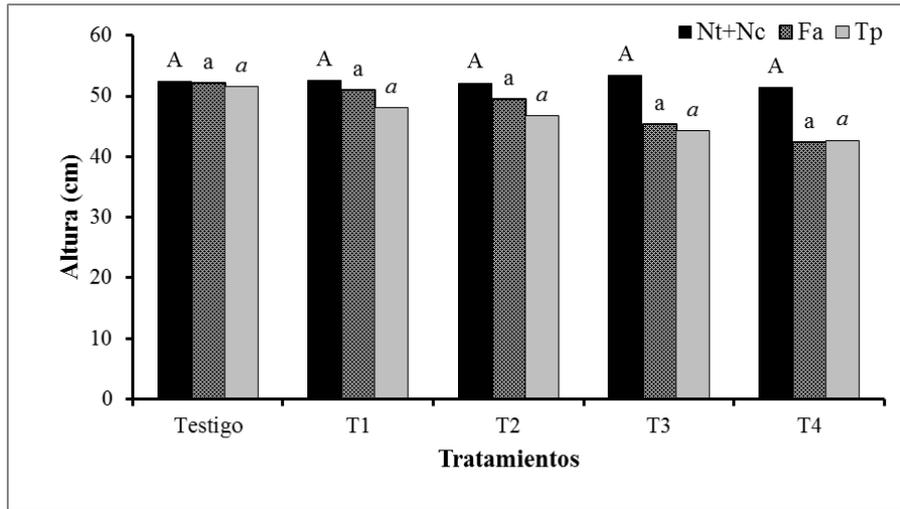
Este parámetro sufrió una reducción significativa en las gramíneas nativas a medida que aumentaba la densidad de carda. En el T1 se redujo en un 48% con respecto al testigo. En cambio, en T4 la disminución fue de 72%. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para el número de macollos de las gramíneas exóticas compitiendo con *D. fullonum* (Fig. 4.2).

### Altura media

No se detectaron diferencias significativas en la altura media de plantas entre tratamientos en ninguna de las gramíneas evaluadas (Fig. 4.3).



**Figura 4.2.** Número de macollos de gramíneas nativas (*Nasella tenuis*+*N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.3.** Altura de plantas de gramíneas nativas (*Nasella tenuis*+*N. clarazii*, Nt+Nc), *Festuca arundinacea* (Fa) y *Thinopyrum ponticum* (Tp) compitiendo con densidades crecientes de *Dipsacus fullonum*. Los experimentos fueron realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Barras dentro de una misma especie, acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

#### Rendimiento relativo total

El rendimiento relativo total en todos los casos fue mayor a 1, indicando que la competencia fue parcial, manifestándose complementariedad de recursos entre los componentes de la mezcla. Sin embargo, se destaca que en el tratamiento con 1 planta de carda por maceta, hubo una complementariedad de recursos significativamente menor cuando competía con agropiro que con las gramíneas nativas (Tabla 4.3a).

#### Biomasa seca aérea y agresividad de *D. fullonum*

En el caso de *D. fullonum*, se observó que para la mayor parte de los tratamientos realizados, las gramíneas no redujeron la biomasa de carda significativamente con respecto a su correspondiente control sin gramíneas (Fig. 4.4). Sólo se detectaron diferencias significativas en el caso de los tratamientos con 2 plantas de carda por maceta, en la cual hubo una mayor reducción de la biomasa de la maleza en presencia de gramíneas exóticas comparada con las nativas.

Asimismo, el índice de agresividad reveló que la carda fue más agresiva frente a las gramíneas nativas que frente a las exóticas. Además, la capacidad competitiva de la

carda fue mayor a altas densidades. Por otro lado, se destaca que, compitiendo con agropiro y festuca, los índices de agresividad fueron negativos en los tratamientos de carda a baja densidad (T1 y T2; Tabla 4.3b).

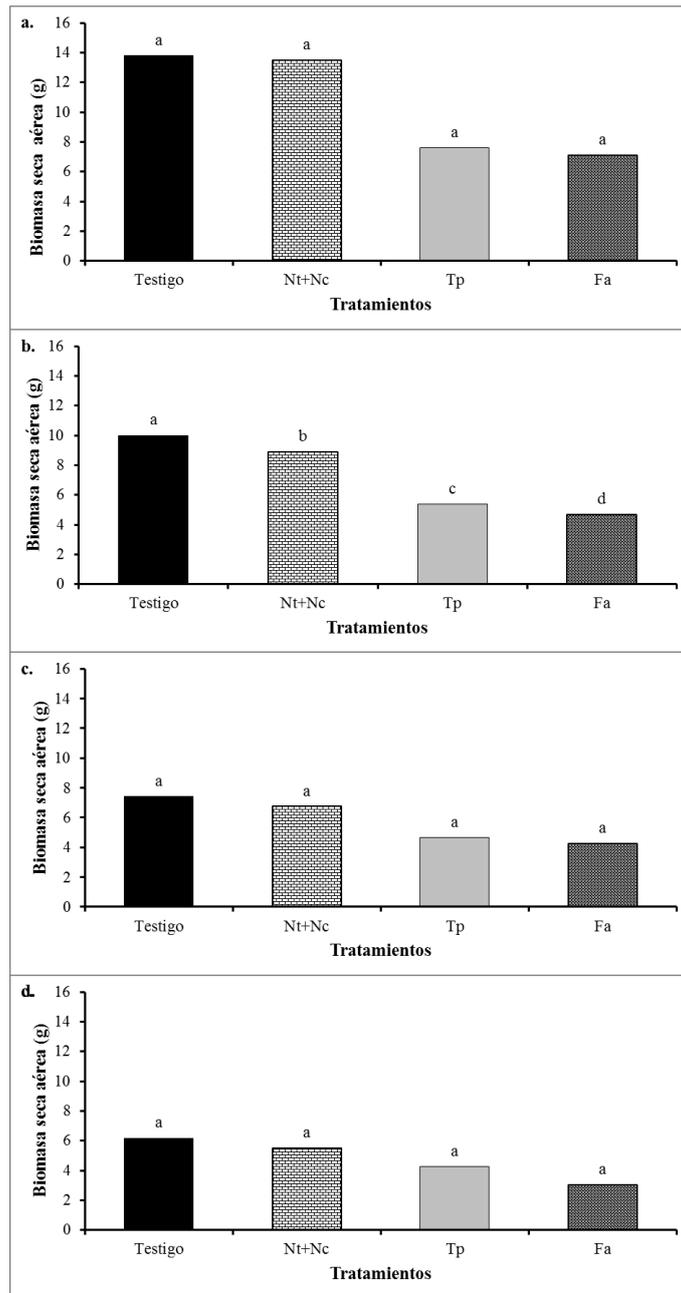
**Tabla 4.3.** Rendimiento relativo total (a) e Índice de agresividad (b) de *Dipsacus fullonum* creciendo en competencia a densidades crecientes, con gramíneas nativas (*Nassella tenuis*+*N. clarazii*) y gramíneas exóticas (*Festuca arundinacea* y *Thynopirum ponticum*), en experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014. Medias dentro de una columna, acompañadas de letras iguales en minúscula y cursiva, o de una misma fila, acompañadas de letras iguales en mayúscula, no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

a.

Densidad <i>D. fullonum</i> (pl./maceta)	Rendimiento Relativo Total					
	<i>Nassella tenuis</i> + <i>N. clarazii</i>		<i>Festuca arundinacea</i>		<i>Thynopirum ponticum</i>	
1	1,58	a A	1,36	a AB	1,27	a B
2	1,29	a A	1,16	a A	1,17	a A
3	1,49	a A	1,32	a A	1,34	a A
4	1,5	a A	1,42	a A	1,28	a A

b.

Densidad <i>D. fullonum</i> (pl./maceta)	Agresividad de <i>D. fullonum</i> frente a gramíneas					
	<i>Nassella tenuis</i> + <i>N. clarazii</i>		<i>Festuca arundinacea</i>		<i>Thynopirum ponticum</i>	
1	0,45	b A	-0,12	b B	-0,02	a B
2	0,53	b A	-0,2	b B	-0,09	a B
3	0,76	ab A	0,11	ab B	0,07	a B
4	0,94	a A	0,34	a B	0,11	a B



**Figura 4.4.** Biomasa seca aérea de *Dipsacus fullonum* creciendo en monocultivo (testigo) y en condiciones de competencia con gramíneas nativas (*Nassella tenuis* y *N. clarazii*, Nt+Nc), con *Thinopyrum ponticum* (Tp) y con *Festuca arundinacea* (Fa) en los experimentos realizados en condiciones de invernáculo, los años 2013 y 2014, a distintas densidades: 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 plantas de carda por maceta (d). Barras acompañadas de letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

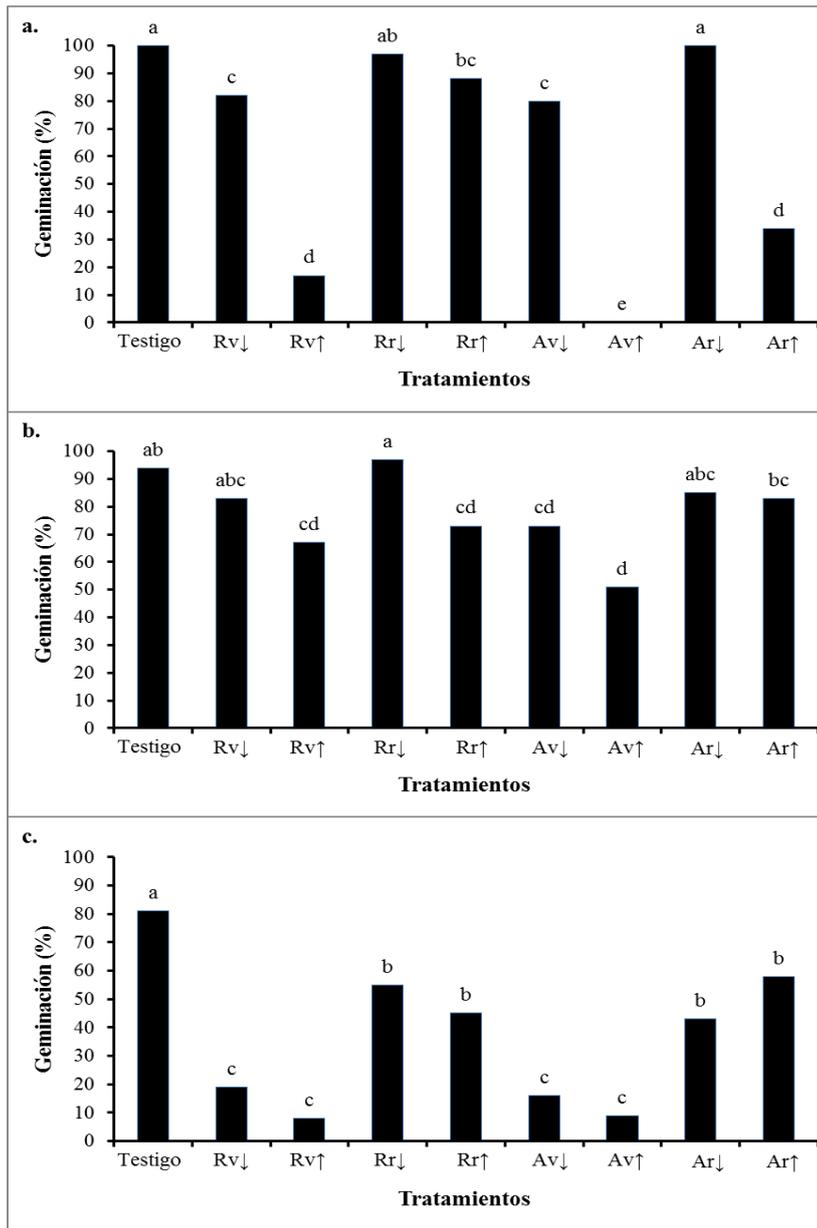
### ***4.3.2. Potencial alelopático***

#### Efecto fitotóxico de las distintas soluciones sobre el porcentaje y velocidad de germinación

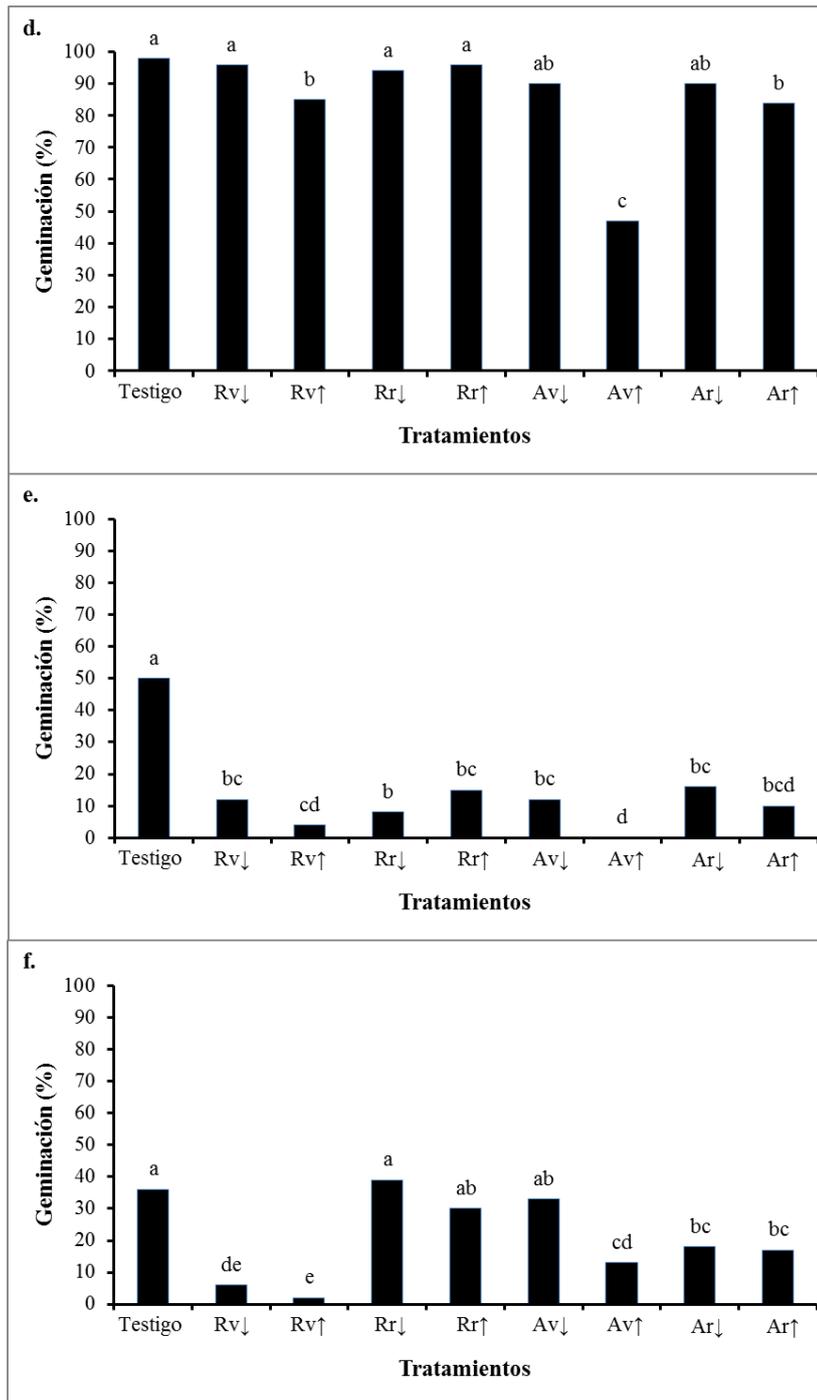
##### *Especies indicadoras*

Se observó un efecto negativo de las distintas soluciones evaluadas sobre la germinación de *R. sativus* ( $F=46,34$ ;  $p<0,01$ ) y también sobre su velocidad de germinación ( $F=52,62$ ;  $p<0,01$ ). Las semillas tratadas con las soluciones Rv↓, Rv↑, Av↓, Av↑ y Ar↑, presentaron un porcentaje de germinación significativamente menor con respecto al testigo (Fig. 4.5a). Incluso, tanto en los mismos tratamientos mencionados como en Rr↑, Ar↓ y Ar↑, se registró una disminución significativa de la velocidad de germinación (Tabla 4.4).

Los distintos tratamientos provocaron un efecto fitotóxico sobre la germinación de *A. sativa* ( $F=4,96$ ;  $p<0,01$ ). Se produjo una mayor disminución del porcentaje de germinación utilizando la solución Av↑, en el cual se observó un valor medio de 51%, mientras que el testigo fue superior a 90%. Luego le siguieron Rv↑, Rr↑ y Av↓ con 67%, 73% y 73%, respectivamente (Fig. 4.5b). En cuanto a la velocidad de germinación, se determinaron reducciones en todos los tratamientos ( $F=9,78$ ;  $p<0,01$ ), a excepción de Rr↓ (Tabla 4.4).



(Continúa figura en página siguiente)



**Figura 4.5.** Porcentaje de germinación de semillas en condiciones de laboratorio de *Raphanus sativus* (a), *Avena sativa* (b), *Festuca arundinacea* (c), *Thinopyrum ponticum* (d), *Nassella tenuis* (e) y *Nassella clarazii* (f) tras ser irrigadas con agua destilada (testigo), o soluciones acuosas de raíz (R) y parte aérea (A) de estadios vegetativo (v) y reproductivo (r) de *Dipsacus fullonum* en concentraciones de 5% (↓) y 10% (↑), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Columnas acompañadas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.4** Coeficiente de velocidad de germinación de semillas de *Raphanus sativus* (*Rs*), *Avena sativa* (*As*), *Festuca arundinacea* (*Fa*), *Thinopyrum ponticum* (*Tp*), *Nassella tenuis* (*Nt*) y *Nassella clarazii* (*Nc*) en condiciones de laboratorio tras ser irrigadas con agua destilada (testigo), o soluciones acuosas de raíz y parte aérea, de estadios vegetativo y reproductivo de *Dipsacus fullonum* en concentraciones de 5% (baja) y 10% (alta), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Medias de una misma columna acompañadas por la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento		Coeficiente de velocidad de germinación						
		<i>Rs</i>	<i>As</i>	<i>Fa</i>	<i>Tp</i>	<i>Nt</i>	<i>Nc</i>	
Testigo		0,91 A	0,87 A	0,38 A	0,93 A	0,59 A	0,32 ABC	
Raíz	Vegetativo	Baja	0,23 CD	0,61 C	0,1 CD	0,61 C	0,45 AB	0,18 BC
		Alta	0,11 DE	0,44 D	0,08 D	0,46 D	0,1 CD	0,13 C
	Reproductivo	Baja	0,94 A	0,75 AB	0,17 BC	0,85 AB	0,28 BC	0,36 AB
		Alta	0,26 C	0,62 C	0,19 B	0,63 C	0,61 A	0,39 A
Parte aérea	Vegetativo	Baja	0,33 C	0,69 BC	0,1 CD	0,77 B	0,47 AB	0,4 A
		Alta	0 E	0,46 D	0,08 D	0,31 E	0 D	0,15 C
	Reproductivo	Baja	0,55 B	0,61 C	0,24 B	0,75 B	0,37 B	0,38 AB
		Alta	0,09 DE	0,6 C	0,21 B	0,61 C	0,03 D	0,44 A

#### Gramíneas exóticas

En *F. arundinacea*, las semillas tratadas con las distintas soluciones mostraron un menor porcentaje ( $F=16,75$ ;  $p < 0,01$ ) y velocidad de germinación ( $F=7,79$ ;  $p < 0,01$ ) comparado con el testigo. En este caso, se destacan los tratamientos Rv↓, Rv↑, Av↓ y Av↑ con reducciones mayores de la germinación al 75% (Fig. 4.5c). Se registró una disminución del CVG desde 0,38 (testigo) a 0,08 correspondiente a los tratamientos Rv↑ y Av↑ (Tabla 4.4).

Para el caso de *T. ponticum*, se detectó que la solución que provocó una disminución considerable del porcentaje de germinación fue el tratamiento Av↑, alcanzando un 52% ( $F=7,79$ ;  $p < 0,01$ ; Fig. 4.5d). Se registró una alta velocidad de germinación en el testigo (CVG=0,93) y, a excepción de Rr↑, todas las soluciones redujeron este parámetro en distinto grado ( $F=21,89$ ;  $p < 0,01$ ), siendo Rv↑ la que mayor efecto tuvo (CVG=0,46) (Tabla 4.4).

#### Gramíneas nativas

En *N. tenuis* se registraron efectos negativos altamente significativos producido por las distintas soluciones tanto para el porcentaje ( $F=6,47$ ;  $p < 0,01$ ) como la velocidad de germinación ( $F=11,69$ ;  $p < 0,01$ ). Los menores valores de porcentaje de germinación se registraron en los tratamientos Av↑ y Rv↑, y en el primero de ellos se provocó

inhibición total de la germinación (Fig. 4.5e). Los mismos tratamientos redujeron en mayor medida el CVG junto con  $Rr\uparrow$  (Tabla 4.4).

En *N. clarazii* se observaron reducciones altamente significativas en la germinación de las semillas tratadas ( $F=8,74$ ;  $p<0,01$ ), pero no se registraron diferencias en cuanto a la velocidad ( $F=3,03$ ;  $p>0,05$ ). Se registró un efecto fitotóxico en la germinación cuando se utilizaron las soluciones  $Rv\downarrow$ ,  $Rv\uparrow$ ,  $Av\uparrow$ ,  $Rr\downarrow$  y  $Rr\uparrow$ .

#### Influencia de los distintos factores evaluados sobre la inhibición de la germinación en las especies de interés

Los distintos factores evaluados revelaron una influencia sobre la inhibición de la germinación en las diferentes especies. Los resultados de los análisis correspondientes se sintetizan en la tabla 4.5. No se encontró interacción entre la concentración y el resto de los factores para la inhibición de la germinación. Sin embargo, se registraron diferencias significativas entre las dos concentraciones evaluadas para todas las especies, donde la alta concentración provocó una mayor inhibición de la germinación que la baja concentración, en todas las especies. En segundo lugar, se encontró interacción triple entre la especie tratada, el tipo de tejido y el estadio de *D. fullonum* en la inhibición de la germinación. Analizando cada especie por separado, en el caso de *N. clarazii* se detectó interacción doble entre el estadio y el tipo de tejido, por lo cual no se logró observar una clara respuesta en cuanto a la influencia de estos factores. Por el contrario, en *N. tenuis* no se detectó un efecto de ninguno de los factores. En cambio, soluciones a partir de tejidos en estado reproductivo provocaron una menor inhibición de la germinación que a partir de estado vegetativo en *T. ponticum* y *F. arundinacea*. En tercer lugar, sólo se registró una menor germinación en semillas de *T. ponticum* tratadas con extractos de tejido de la parte aérea comparado con los de raíz.

**Tabla 4.5.** Valores  $F$  y  $p$  de los ANOVA realizados para la evaluación de la inhibición de la germinación en *Festuca arundinacea* ( $Fa$ ), *Thinopyrum ponticum* ( $Tp$ ), *Nassella tenuis* ( $Nt$ ) y *Nassella clarazii* ( $Nc$ ) (factor especie) tras ser irrigadas con soluciones acuosas de raíz o parte aérea (factor tejido), de estadios vegetativo o reproductivo de *Dipsacus fullonum* (factor estadio), en concentraciones de 5% (baja) y 10% (alta) (factor concentración), realizadas con plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca; **(a)** Valores para el análisis de los cuatro factores y **(b)** Valores para cada especie por separado luego de haber encontrado interacción triple entre los factores especie, tejido y estadio.

**a.**

Fuente de Variación	$F$	$p$
Especie	82,08	<0,01
Tejido	1,11	0,29
Estadio	66,37	<0,01
Concentración	29,11	<0,01
Especie*Tejido	1,65	0,18
Especie*Estadio	7,67	<0,01
Especie*Concentración	0,52	0,6671
Tejido*Estadio	9,25	<0,01
Tejido*Concentración	1,93	0,16
Estadio*Concentración	3,55	0,07
Especie*Tejido*Estadio	18,33	<0,01
Especie*Tejido*Concentración	0,5	0,68
Especie*Estadio*Concentración	1,1	0,35
Tejido*Estadio*Concentración	3,17	0,08
Especie*Tejido*Estadio*Concentración	1,69	0,17

**b.**

Fuente de variación	$Fa$		$Tp$		$Nt$		$Nc$	
	$F$	$p$	$F$	$p$	$F$	$p$	$F$	$p$
Tejido	0,0003	0,95	9,22	<0,01	0,01	0,94	0,07	0,78
Estadio	80,07	<0,01	5,42	<0,05	2,21	0,14	11,44	<0,01
Estadio*Tejido	0,03	0,85	2,01	0,16	0,25	0,62	23,72	<0,01

**Tabla 4.6.** Inhibición de la germinación de semillas en condiciones de laboratorio de *Festuca arundinacea* (*Fa*), *Thinopyrum ponticum* (*Tp*), *Nassella tenuis* (*Nt*) y *Nassella clarazii* (*Nc*) tras ser irrigadas con soluciones acuosas de raíz o parte aérea, de estadios vegetativo o reproductivo de *Dipsacus fullonum*, realizadas a partir de plantas cosechadas en 2013 en Bahía Blanca. Medias acompañadas por la misma letra dentro de cada columna no difieren entre sí según DMS de Fischer ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento		Inhibición de la germinación (%)			
		<i>Fa</i>	<i>Tp</i>	<i>Nt</i>	<i>Nc</i>
Raíz	Vegetativo	83 a	8 e	84 a	89 a
	Reproductivo	38 bc	3 e	77 a	4 e
Parte aérea	Vegetativo	85 a	30 cd	88 a	36 bc
	Reproductivo	39 bc	11 de	74 a	51 b

#### 4.3.3. Efectos sobre el suelo

Los datos obtenidos a partir de los análisis de suelos indicaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en ciertos parámetros cuantificados, entre áreas invadidas y no invadidas por *D. fullonum* (Tabla 4.7). Se detectó que el área ocupada por carda se caracterizaba por presentar un incremento de la CIC (25,8%) y un mayor contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  (29,6%).

**Tabla 4.7.** Medias de los parámetros del suelo cuantificados en áreas invadidas (I) y no invadidas (N) de sitios donde se encontraba presente *Dipsacus fullonum*, en las localidades Bahía Blanca, Guaminí, Chapadmalal y Tandil de la Provincia de Buenos Aires en noviembre del 2015.

Parámetro evaluado	Área evaluada	
	No invadida	Invadida
pH	7,66	7,48
MO (%)	3,9	5,08
P (ppm)	6,37	5,85
K (ppm)	496,87	494
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	7,2	10,23*
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (ppm)	12,95	11,36
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (ppm)	0,45	0,18
N total (ppm)	20,6	21,52
CE (mmhos/cm)	3,32	0,93
Na (meq/L)	675,37	611,8
Mg (meq/L)	75,14	20,45
Ca (meq/L)	149,33	72,73
RAS	37,39	13,92
CIC (meq/100g)	9,85	13,28*

\*Indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre medias de áreas invadidas y no invadidas para un mismo parámetro.

## 4.4. Discusión

### 4.4.1. Competencia

De acuerdo a los resultados obtenidos, *D. fullonum* presentó una gran habilidad para competir frente a las gramíneas nativas y habilidad intermedia frente a las especies exóticas. En un estudio similar, el crecimiento de *Cirsium vinaceum*, una especie nativa de EEUU, fue reducido por la presencia de *D. fullonum*, pero la planta invasora no fue afectada por el cardo (Huenneke y Thomson, 1995). La reducción en el vigor de las especies deseables estaría asociada a un incremento de la densidad de la maleza, así como indican ciertos autores para otros estudios de competencia (Mamolos y Karburtji, 2001; Puricelli y otros, 2003).

El hecho por el cual la altura no fue afectada se debió probablemente a una respuesta competitiva por calidad de luz e intensidad (Puliafico y otros, 2011). Del mismo modo, gramíneas nativas y exóticas compitiendo interespecíficamente con la invasora *Cardaria draba*, tuvieron una disminución de la biomasa aérea, pero la maleza no tuvo impacto sobre la altura (Puliafico y otros, 2011). Además, ya que el número de macollos no fue afectado en el caso de las gramíneas exóticas, podrían haber destinado una mayor cantidad de fotoasimilados a la producción de biomasa aérea comparado con las gramíneas nativas y así tolerar en mayor medida los efectos provocados por carda. Similarmente, White y Holt (2005) encontraron que la gramínea exótica *Bromus diandrus* y otras dicotiledóneas exóticas fueron más competitivas que la nativa *Nassella pulchra* en relación a *Cynara cardunculus*. Asimismo, McKenney y otros (2007) indicaron que especies de *Festuca* nativas fueron competidores más débiles que especies de *Festuca* exóticas, compitiendo con *Cardaria draba*. Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan entonces con el supuesto que las malezas y especies invasoras normalmente muestran una mejor respuesta a la competencia que las especies nativas (Baker, 1986; Sakai y otros, 2001). Una mayor capacidad de supresión del crecimiento de una maleza invasora, como la carda, por parte de otras especies exóticas ya presentes en un ambiente, sugeriría que estas potencialmente provocan una mayor resistencia biótica que las especies nativas y uno de los mecanismos más probables relacionado con la competencia directa sería la radiación solar (Puliafico y otros, 2011).

La práctica de restauración y revegetación de un área invadida requiere el uso de especies con buena habilidad competitiva frente a una maleza invasora. Según D'Antonio y Meyerson (2002), este enfoque se debería realizar en mayor medida con especies nativas y únicamente utilizar exóticas cuando se tienen ciertos fines específicos de manejo. Se ha demostrado que una reimplantación de festuca alta en sitios invadidos por *Dipsacus laciniatus*, posterior a una aplicación de herbicidas, redujo el establecimiento de dicha maleza (Bentivegna y Smeda, 2012). Por otra parte, Werner (1975b, c) indica que los residuos vegetales *Thinopyrum ponticum* se trata del principal competidor de *D. fullonum* en muchos campos abandonados de EEUU, y que además sus residuos inhiben la germinación de las semillas de esta última especie. Experimentos en condiciones a campo serían necesarios para evaluar la factibilidad de utilizar festuca y agropiro como potenciales candidatos de siembra en sitios invadidos, estas forrajeras podrían ser utilizadas para pastoreo como primera estrategia y luego paulatinamente ser reemplazadas por gramíneas nativas, como una estrategia de restauración de territorios invadidos.

#### **4.4.2. Potencial alelopático**

Los extractos acuosos de *D. fullonum* provocaron una reducción en la germinación de las especies indicadoras. Palacios y otros (2010) encontraron una inhibición del 70% en la germinación de *R. sativus* y del 30% en la germinación de *A. sativa* utilizando extractos etanólicos de plantas completas de *D. fullonum*. Esto indicaría que además de la presencia de aleloquímicos de naturaleza etanólica, también existirían otros solubles en agua y que, de acuerdo a los resultados obtenidos, provocarían un mayor efecto fitotóxico que los primeros.

Los efectos potencialmente alelopáticos de *D. fullonum* dependerían en gran medida de la concentración en que la sustancia o sustancias alelopáticas que estén presentes en los extractos, así como es indicado por distintos autores para otros casos evaluados (Jefferson y Pennacchio, 2003; Sobrero y otros, 2003; Shanee y otros, 2011).

Tejidos originarios en distintos estadios fenológicos pueden producir un efecto diferencial, por ejemplo se determinó para *Senecio jacobaea* una mayor fitotoxicidad de partes de plantas al momento de la floración (Ahmed y Wardle, 1994), y en *Carduus nutans* se observó un mayor efecto inhibitorio sobre la germinación de gramíneas con

soluciones provenientes de tejidos en floración temprana (cuando las hojas de rosetas más grandes se encuentran descomponiéndose) y de plantas en proceso de senescencia (Wardle y otros, 1991).

De manera similar a lo ocurrido en los experimentos realizados en este trabajo, extractos acuosos de parte aérea de *Cirsium arvense* fueron más inhibidores de la germinación de gramíneas que los de parte subterránea (Ravlić y otros, 2013). Además, se indica que extractos de hoja y tallo de la maleza *Conium maculatum* inhibieron completamente la germinación en la especie nativa *Nassella pulchra* (Hillman, 1997).

De acuerdo a los resultados observados, la germinación de *T. ponticum* fue la especie que demostró una mayor tolerancia a la presencia de las distintas soluciones ensayadas, seguida por *F. arundinacea*, luego por *N. clarazii* y finalmente *N. tenuis* (Tabla 4.6). Similarmente, Tucac y otros (2013) encontraron que *N. clarazii* no presentó inhibición de la germinación y sí se observó en *N. tenuis*, frente a extractos de *Baccharis ulicina*. Del mismo modo, extractos de *Conium maculatum* inhibieron la germinación de gramíneas nativas en mayor medida que en las gramíneas exóticas (Hillman, 1997).

#### **4.4.3. Efectos sobre el suelo**

Según los resultados de este estudio, *Dipsacus fullonum* produjo un aumento de la CIC y del contenido de  $\text{NO}_3^-$  en los suelos del sur bonaerense. Está demostrado que la mayoría de las especies invasoras, entre ellas *Carpobrotus edulis* y *Arundo donax*, promueven el aumento del contenido de nitrógeno inorgánico disponible y además de otras mejoras en las propiedades del suelo (Ehrenfeld, 2003; Novoa y otros, 2013). Vanderhoeven y otros (2006) registraron un incremento en la CIC provocado por *Fallopia japonica* junto con una mayor disponibilidad de fósforo y potasio. De manera contraria, suelos invadidos por *Centaurea melitensis* presentaron menor capacidad de intercambio catiónico (Moroney y Rundel, 2013). Seybold y otros (2015) indican que la CIC es afectada por varios factores pero directamente asociada al contenido de materia orgánica, en el presente estudio se encontró que en general sitios con carda tendieron a presentar un mayor porcentaje de MO (23%), pero dicho incremento no alcanzó a tener un valor estadísticamente significativo.

Estudios previos de varios autores (Ehrenfeld, 2003; Lindsay y French, 2005; Liao y Boutton, 2008; Vilà y otros, 2011) han demostrado que la mayoría de las especies invasoras tienen una alta productividad primaria neta comparada con especies nativas, hecho que se traduce en un incremento de los valores de materia orgánica y nutrientes intercambiables. Existen también factores asociados a estos cambios, como son la naturaleza de los residuos de la maleza o el tipo de la microflora del suelo, que pueden tener un efecto en la velocidad de descomposición de residuos vegetales (Rimer y Evans, 2006). Los cambios en las propiedades del suelo por la presencia de *D. fullonum* podrían estar asociados por alguno de los factores previamente citados o tal vez por una combinación de todos ellos.

#### 4.5. Conclusiones

*D. fullonum* resultó ser una especie con una mayor habilidad competitiva que algunas gramíneas nativas y con un potencial intermedio para competir con gramíneas exóticas presentes en la Provincia de Buenos Aires; por lo tanto se confirma la hipótesis que esta maleza es capaz de colonizar nuevos hábitats reduciendo el vigor de las especies presentes a través de la competencia por determinados recursos, siendo la radiación solar probablemente el recurso más limitante.

En segundo lugar, el porcentaje y la velocidad de germinación de todas las especies evaluadas resultaron afectados por diferentes soluciones acuosas provenientes de tejidos de *D. fullonum*. Este efecto fitotóxico ocurrió tanto en tejidos de parte aérea como subterránea, y tanto de estadio vegetativo como de reproductivo, aunque el mayor efecto inhibitorio ocurrió utilizando soluciones a partir de hojas de la roseta. En consecuencia, se acepta la hipótesis de estudio donde se postulaba que *D. fullonum* presenta potencial alelopático es afectado por el momento del ciclo de planta.

Finalmente, se acepta la hipótesis que sostiene que *D. fullonum* produce cambios en las propiedades del suelo. La dirección y magnitud de esos cambios dependen del tipo de ambiente invadido, pero de manera general la carda produjo un aumento del contenido de nitratos en el suelo y un incremento en la capacidad de intercambio catiónico.

Estos aspectos deberían ser estudiados a una escala mayor con el fin poder corroborar los resultados obtenidos y así explicar en profundidad el proceso invasivo,

además de ser utilizados para el planeamiento de acciones de restauración de ecosistemas invadidos.

## Capítulo V

**Control químico y mecánico de *Dipsacus fullonum***

## 5.1. Introducción

El manejo de especies invasoras es una práctica común que comprende distintos enfoques, entre los que se destacan la prevención, la erradicación y el control (Rejmánek, 2000). El primero engloba procedimientos que inhiben o retardan la introducción de malezas en áreas que aún no están invadidas, de modo que se restringe la introducción, propagación y dispersión de especies invasoras a nivel local o regional (DiTomaso y otros, 2007). Asimismo, incluye el uso de cuarentenas, sistemas de evaluación y análisis de especies potencialmente invasoras, así como el desarrollo de marcos legales (Bentivegna y Zalba, 2014). Como el proceso de invasión puede avanzar en forma exponencial, se considera que la prevención es la alternativa más eficiente para el manejo (Wittenberg y Cock, 2001). Sin embargo, una vez que la especie exótica logra alcanzar un nuevo sitio, se puede recurrir a la erradicación de la misma. Esta estrategia implica la total eliminación de una maleza en un área específica. A pesar de que en algunos países ha sido utilizada en ciertas especies, rara vez se logran alcanzar los objetivos sin enormes esfuerzos (Monaco y otros, 2002). Generalmente, es tenida en cuenta para estadios iniciales de la invasión, áreas pequeñas o de alto valor. Cuando la especie invasora alcanza una distribución más extendida, esta práctica pierde sentido debido a las dificultades y costos asociados. En consecuencia, el control de una especie invasora es una alternativa de mayor factibilidad. Su principal objetivo es mitigar los efectos nocivos que se produce en un área definida pero no necesariamente resultando en la eliminación total de la maleza (DiTomaso, 2000; Masters y Sheley, 2001).

Dos de las formas de control más utilizadas en ecosistemas naturales son el control químico y el control mecánico (Radosевич, 2007). Mundialmente, los compuestos químicos (herbicidas) han sido la herramienta más utilizada en comunidades naturales, como por ejemplo pastizales. La gran cantidad de principios activos actualmente disponibles con distintos modos y mecanismos de acción y selectividad, proveen al manejo de ecosistemas de muchas opciones para controlar plantas indeseables y manipular la composición florística (Masters y Sheley, 2001).

Dos de los herbicidas que típicamente se aplican en el control de malezas en ecosistemas naturales son el 2,4-D y el glifosato (DiTomaso y otros, 2007). Ambos difieren tanto en su modo y mecanismo de acción como en su selectividad. El 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) es una auxina sintética con efecto sistémico y acción

selectiva sobre especies latifoliadas, teniendo muy poca actividad en gramíneas (Arregui y Puricelli, 2013). El glifosato (N-(fosfometil-glicina) inhibe la enzima 5-enolpiruvil-3-fosfato sintetasa, involucrada en la síntesis de aminoácidos aromáticos. Se caracteriza por su falta de selectividad, uso post-emergente y acción sistémica, cuya movilización se realiza con mayor facilidad cuando las plantas se encuentran en pleno crecimiento. Por otra parte, no presenta actividad en el suelo (Wethje y otros, 2010; Arregui y Puricelli, 2013). Frecuentemente, ambos herbicidas se utilizan combinados para lograr una mayor eficiencia en el control (Flint y Barrett, 1989).

Uno de los factores que incide de manera importante sobre la efectividad de un tratamiento con herbicida es el momento preciso de la aplicación (Kyser y DiTomaso, 2013). Además, la relación entre las dosis del herbicida aplicado y los síntomas de las plantas también es relevante para la comprensión de su eficacia (Seefeldt y otros, 1995). El uso de dosis correctas previene la aparición de poblaciones resistentes, reduce los costos y minimiza el impacto sobre el ambiente (Zoschke, 1994; Vila-Aiub y Fischer, 2014).

Dentro de las opciones que incluye el control mecánico, el corte es la técnica de manejo más comúnmente utilizada en ecosistemas naturales (Ditomaso, 2000). También es aplicada a lo largo de márgenes de rutas y caminos, con el fin de mantener este tipo de áreas despejadas y así adquirir una mayor visibilidad. En cualquier caso además sirve para prevenir incendios accidentales, reduciendo la cantidad de combustible vegetal. Aunque no es efectivo para la erradicación, reduce la producción de semillas, disminuye las reservas de carbohidratos y otorga una ventaja competitiva a favor de plantas deseables (Benefield y otros, 1999). La realización de cortes regulares puede limitar la abundancia de especies de mayor porte (Matthias y otros, 2001) ya que la biomasa removida es mayor proporcionalmente con respecto a plantas más pequeñas (Klimes y Klimesova, 2001). En este caso, su efectividad va a depender principalmente del momento apropiado en el cual se realiza el corte (Milakovic y otros, 2014).

### ***5.1.1. Hipótesis***

Es posible lograr un 90% de control mediante la aplicación de:

- a. herbicidas postemergentes.
- b. cortes mecánicos.

### *Sustento de la hipótesis*

*Dipsacus fullonum* es una especie muy difícil de controlar, Glass (1991) indica que el desenterrado de plantas es efectivo para reducir la producción de semillas, pero se restringe sólo en áreas muy pequeñas. Solecki (1993) encontró que la quema controlada de áreas invadidas por *Dipsacus laciniatus*, no ejerció un efecto importante debido a la elevada densidad de rosetas verdes que dificulta el avance de fuego. Además, como la quema afecta negativamente el crecimiento de gramíneas, resulta en una ventaja competitiva para la maleza (Werner, 1977). Finalmente, se han efectuado aplicaciones de herbicidas reguladores de crecimiento e inhibidores de la acetolactato sintetasa en *D. laciniatus*, no registrándose resultados publicados en *D. fullonum* (Bentivegna y Smeda, 2008; Damos y Parrish, 2013), así como recomendaciones de manejo a nivel local.

#### **5.1.2. Objetivos**

##### Objetivo general

Evaluar la efectividad del control químico y mecánico sobre el vigor y/o la reproducción de *D. fullonum*.

##### Objetivos específicos

- Determinar la efectividad de dosis crecientes de glifosato, 2,4-D y combinaciones de los mismos en distintos estadios fenológicos a través de ensayos en condiciones controladas de laboratorio.
- Evaluar el efecto del corte en distintas fechas sobre la supervivencia, el vigor y la producción de capítulos a campo de *D. fullonum*.
- Determinar el poder germinativo de las semillas provenientes de capítulos cortados durante el período de formación de los mismos en distintas fechas.

## 5.2. Materiales y Métodos

### 5.2.1. Control químico

Se realizaron dos experimentos consecutivos, el primero entre 2014-2015 y el segundo entre 2015-2016, que involucraron la aplicación de herbicidas postemergentes sobre carda. Ambos ensayos fueron llevados a cabo en el predio del Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS; 38°40'0.20"S; 62°13'50.46"O). Los tratamientos se aplicaron en tres estadios fenológicos diferentes: estado vegetativo temprano (EVT, 1 mes y medio después de la siembra), estado vegetativo avanzado o roseta (EVA, 6 meses después de la siembra) y prefloración (ER, 9 meses después de la siembra). Se sembraron semillas de carda en recipientes de distinto tamaño: 500, 1500 y 3000 cm<sup>3</sup>, respectivamente para cada estadio. Una vez establecidas las plantas, se ralearon de manera de garantizar tres individuos por recipiente y se retiraron del invernáculo a la intemperie para lograr la rustificación de las mismas. Más tarde, se realizó la aplicación de los herbicidas en dos momentos, para los estadios vegetativos en otoño (3/04/2015 y 20/04/2016) y el reproductivo en primavera (5/11/2014 y 13/11/2015), a modo de respetar la fenología de la maleza. Previo a la aplicación, las plantas en los distintos estadios fueron caracterizadas morfológicamente, cuantificándose el número de hojas y área foliar, este último mediante el software digital ImageJ (Abràmoff y otros, 2004). Conjuntamente, el diámetro de la roseta de plantas en estado vegetativo, la altura de plantas en estado reproductivo y la biomasa aérea seca fueron registrados en los estadios correspondientes.

Se seleccionaron dos herbicidas, glifosato (G) y 2,4-D (H), teniendo en cuenta recomendaciones para el control de especies de similares características morfo-fisiológicas. Se aplicaron siete niveles de dosis para cada herbicida (1/32X, 1/16X, 1/8X, 1/4X, 1/2X, X y 2X) y 5 tratamientos utilizando combinaciones de ambos herbicidas G+H (X+1/4X, X+1/2X, X+X, 1/2x+X, 1/4X+X); siendo X las dosis recomendadas: Glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> (2 L.ha<sup>-1</sup>) y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup> (1,75 L.ha<sup>-1</sup>), ambas determinadas a partir del rango recomendado por la Guía Fitosanitaria CASAFE (2011).

Las aplicaciones se efectuaron a través de una maquina pulverizadora con cinta transportadora desarrollada para tal fin, con una velocidad constante de 3,74 km.h<sup>-1</sup>. Se utilizó una pastilla Bail 11002 abanico plano con filtro 50. La presión fue 36 lb.pulg<sup>-2</sup> y el caudal de caldo 100 L.ha<sup>-1</sup>. Se hicieron circular tarjetas hidrosensibles que luego fueron analizadas a través del software DepositScan para determinar la calidad de la aplicación (Zhu y otros, 2011).

A los 30 días, las plantas fueron cosechadas y secadas a estufa determinándose la biomasa aérea seca media final. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 5 réplicas por tratamiento.

### Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante ANOVA doble, tomando como factores las distintas dosis y los años en que fue realizado el experimento. Las medias se compararon a través del test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ), utilizando el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y otros, 2015). Los datos de materia seca fueron transformados con la función Ln(X) con el fin de corregir la falta de supuestos (Snedecor y Cochran, 1956).

### **5.2.2. Corte**

Se realizaron dos experimentos en condiciones a campo en el año 2015. Uno de ellos se llevó a cabo en el predio de CERZOS-CCT CONICET de Bahía Blanca (BB-38°39'52,29''S; 62°13'55,53''O) y el otro en el establecimiento rural perteneciente a la Universidad Nacional del Sur ubicado en el paraje Napostá (N- 38°25'39.25"S; 62°17'9.28"O). En cada sitio, en el mes de junio, se seleccionaron 54 plantas de poblaciones establecidas de *D. fullonum* con un diámetro mayor a 30 cm, las cuales fueron marcadas. Plantas de esas características tienen la capacidad para florecer en ese año (Ver capítulo 3). De ellas, seis plantas se dejaron sin cortar (testigo) y seis plantas fueron cortadas con tijera, una única vez en cada una de las fechas detalladas en la tabla 5.1 con su correspondiente estadio fenológico. Las plantas se cortaron a una altura de 8 cm. Luego de la senescencia de las mismas, se midió la altura de la planta y se cosecharon sus capítulos, registrándose el número de capítulos y la longitud media de los capítulos por planta.

**Tabla 5.1.** Fechas en que se realizaron los distintos cortes y estadios fenológicos correspondientes de *D. fullonum* en esos momentos.

<i>Fecha</i>	<i>Estadio Fenológico</i>
27 de agosto	Roseta
10 de septiembre	Comienzo formación de tallo principal
24 de septiembre	Tallo principal de 8 cm de altura
8 de octubre	Tallo principal de 18 cm de altura
22 de noviembre	Tallo principal de 40 cm de altura
5 de noviembre	Tallo principal de 1 m de altura
19 de noviembre	Capítulo principal expuesto
3 de diciembre	Comienzo floración

### 5.2.3. Madurez de semillas

Se realizó un estudio adicional para evaluar la factibilidad de realizar un corte de plantas cuando se encuentran en fructificación. El mismo fue conducido entre los años 2014-15 en una población de *D. fullonum* ubicada en Bahía Blanca (38°41'12,45"S; 62°12'56,08"O). En el sitio fueron marcadas 48 plantas el 27 de diciembre de 2014, cuyos capítulos principales (el primero en florecer formado en el tallo central de la planta) se encontraban con un 60% de las flores en anthesis. Cada diez días, se eligieron seis plantas marcadas, y se cosechó el capítulo principal hasta los 70 días de finalizada la floración, momento en el cual se observó la senescencia completa de todos los individuos. Para cada capítulo se extrajeron 100 semillas azar que fueron separadas en dos grupos de 50 para determinar la germinación. Una de las sub-muestras fue almacenada a temperatura ambiente (20-22°C) y la otra refrigerada (5°C) por 7 meses. Luego del almacenamiento se pusieron a germinar en condiciones de temperatura óptima (24°C) y oscuridad.

#### Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante ANOVA, tomando como factores las diferentes fechas y las temperaturas de almacenaje. Las medias se compararon a través de el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ) utilizando el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo y otros, 2015). Los datos de germinación se transformaron con la función arco seno raíz cuadrada con el fin de corregir la falta de supuestos (Snedecor y Cochran, 1956).

### 5.3. Resultados

#### 5.3.1. Control químico

En la tabla 5.2 se detallan los parámetros medidos que reflejan la calidad de las aplicaciones realizadas, obtenidos a partir del análisis de las tarjetas hidrosensibles utilizadas. Por el otro, las características de las plantas en los distintos estadios fenológicos al momento de la aplicación, se registran en la tabla 5.3. No se detectó interacción entre las distintas dosis de herbicida utilizadas y los distintos años en que se realizaron los experimentos para la biomasa seca de plantas ( $p > 0,05$ ). En consecuencia se compararon las medias de biomasa seca obtenidas para cada dosis, a partir de los datos de ambos años combinados.

**Tabla 5.2.** Características relativas a la calidad de las pulverizaciones realizadas sobre los distintos estadios fenológicos de *Dipsacus fullonum*.

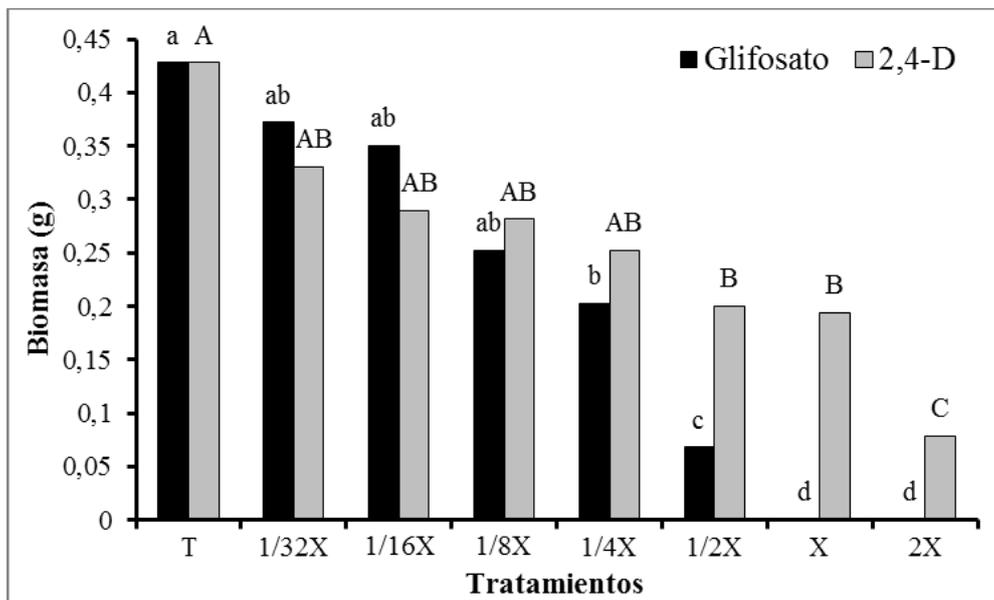
Parámetro evaluado	Fecha de aplicación			
	Primavera 2014	Otoño 2015	Primavera 2015	Otoño 2016
Diámetro volumétrico medio ( $\mu\text{m}$ )	603	644	606	998,5
Diámetro numérico medio ( $\mu\text{m}$ )	213,24	200,85	215,5	184,72
Número de impactos. $\text{cm}^{-1}$	82,7	82,45	73,3	60

**Tabla 5.3.** Caracterización de las plantas de *Dipsacus fullonum* correspondientes a los tres estados fenológicos al momento de las aplicaciones. EVT: estado vegetativo temprano; EVA: estado vegetativo avanzado y ER: estado reproductivo; para el año 2014/15 y 2015/2016.

Parámetro evaluado	2014-15			2015-16		
	EVT	EVA	ER	EVT	EVA	ER
Numero de hojas	6	10	13	4	8	18
Diámetro/Altura (cm)	14	37,1	47,1	9,75	18	25,65
Biomasa seca (g)	0,1275	3,48	5,93	0,13	2,42	4,17
Área foliar ( $\text{cm}^2$ )	41,2	342	296	15,08	76	238

### Estado vegetativo temprano

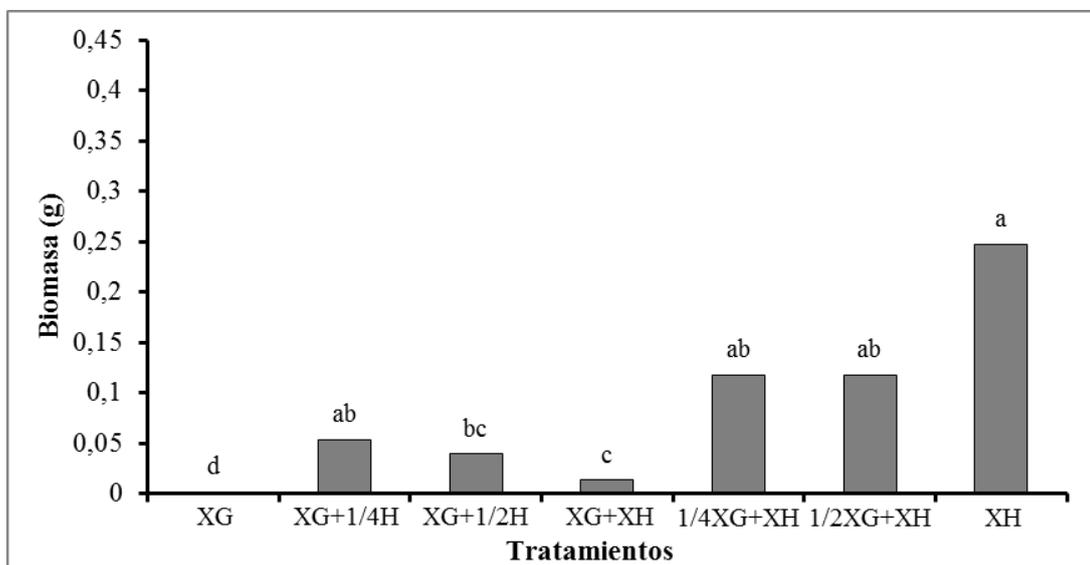
Se registraron diferencias significativas entre las distintas dosis aplicadas de glifosato ( $F=128,16$ ;  $p<0,01$ ) y 2,4-D ( $F=7,08$ ;  $p<0,01$ ) sobre el EVT. Este fue el estadio más susceptible a ambos herbicidas, lográndose un control utilizando glifosato del 52% con  $\frac{1}{4}$  de la dosis recomendada y del 100% en el tratamiento a dosis comercial. Con 2,4-D, sólo se logró un control del 53,1% aplicando la mitad de la dosis recomendada, sin presentar diferencias significativas con el tratamiento X. Duplicando la dosis recomendada de 2,4-D, se obtuvo un 81,6% de control (Fig. 5.1).



**Figura 5.1.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo temprano en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada, glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra dentro de cada herbicida no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p<0,05$ ).

Respecto a la comparación de las aplicaciones utilizando la dosis X de glifosato, X de 2,4-D y las diferentes combinaciones de sub-dosis de ambos herbicidas, se registraron diferencias altamente significativas en la MS de las plantas de *D. fullonum* ( $F=12,91$ ;  $p<0,01$ ) para los distintos tratamientos. Como se mencionó, el más efectivo fue la dosis recomendada de glifosato (100% de control), la cual se diferenció estadísticamente del resto de las combinaciones. El agregado de sub-dosis de glifosato a la dosis de 2,4-D incrementó el control con respecto al 2,4-D aplicado sólo, pero no

alcanzó a ser estadísticamente significativo. El agregado de sub-dosis de 2,4-D a la dosis recomendada de glifosato disminuyó significativamente el control respecto al glifosato aplicado sólo (Fig. 5.2).

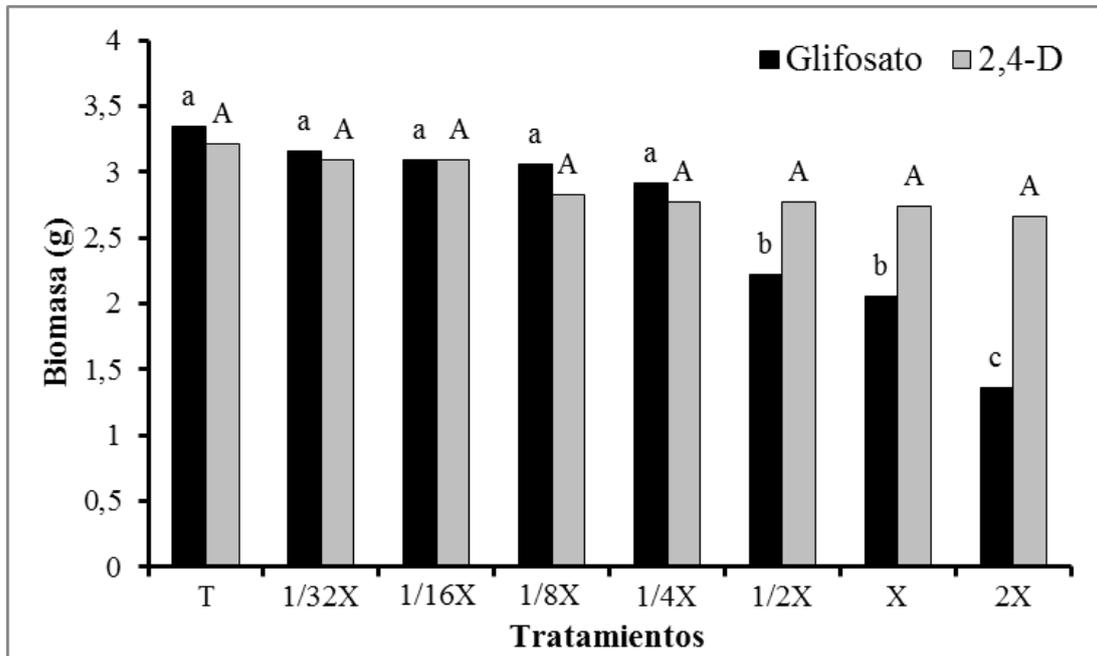


**Figura 5.2.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo temprano en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada de glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

#### Estado vegetativo avanzado

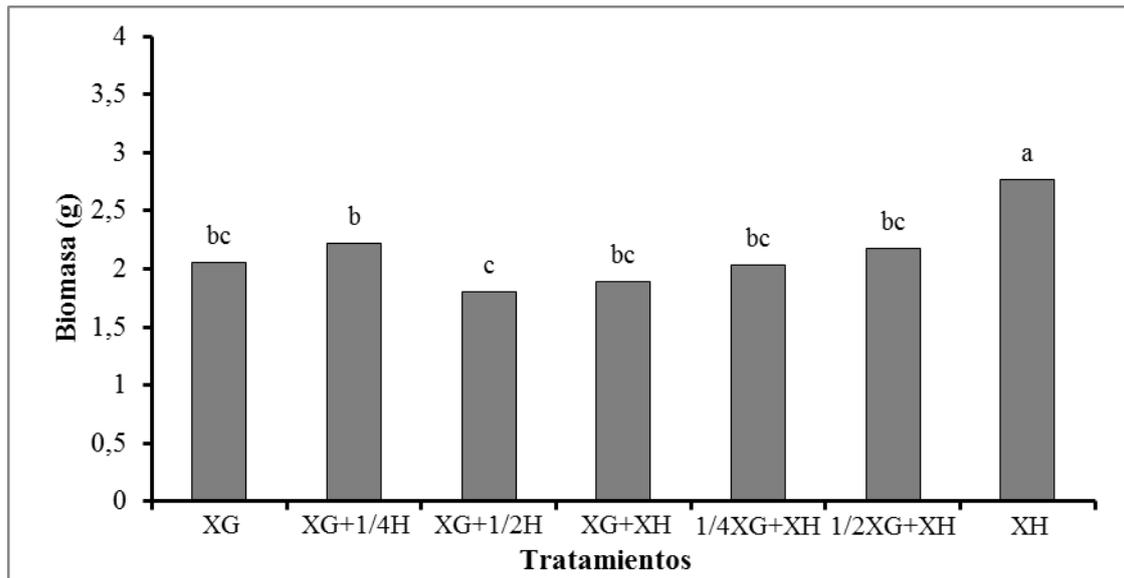
Se encontraron diferencias altamente significativas en la MS de las plantas de *D. fullonum* aplicando glifosato a distintas dosis ( $F=44,88$ ;  $p < 0,01$ ). Para este mismo herbicida, no se registraron diferencias significativas hasta aplicar una dosis de 1/4X y se alcanzó el mayor nivel de control con el tratamiento 2X, reduciendo significativamente la biomasa en un 59,2%. Es de destacar que aplicando la mayor dosis de glifosato (2X) en este estadio hay plantas que sobreviven al tratamiento, continuando con su ciclo de crecimiento y fructificación.

La aplicación de 2,4-D no generó un efecto sobre el crecimiento de carda para ninguna de las dosis ( $F=0,83$ ;  $p > 0,5$ ). Aunque se observó una disminución del 11,2% para el tratamiento 2X con respecto al testigo, este no alcanzó a ser significativo (Fig. 5.3).



**Figura 5.3.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo avanzado en experimentos realizados otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

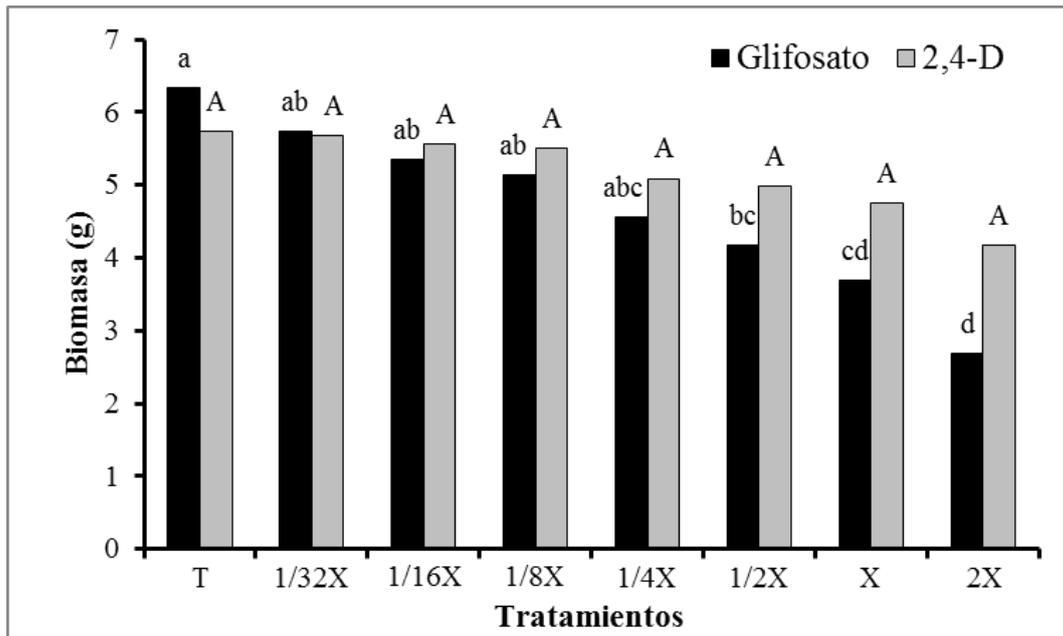
Se registraron diferencias altamente significativas en la MS de las plantas de *D. fullonum* ( $F=3,48$ ;  $p < 0,01$ ) comparando las distintas combinaciones de los herbicidas evaluados. Los tratamientos que incluyeron dosis recomendadas de 2,4-D con sub-dosis de glifosato fueron más efectivos que el 2,4-D aplicado sólo. Todos los tratamientos que presentaban glifosato, no difirieron significativamente entre sí, salvo entre XG+1/4H y XG+1/2H, en el orden del 18% (Fig. 5.4).



**Figura 5.4.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado vegetativo avanzado en experimentos realizados en otoño, los años 2015 y 2016, en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

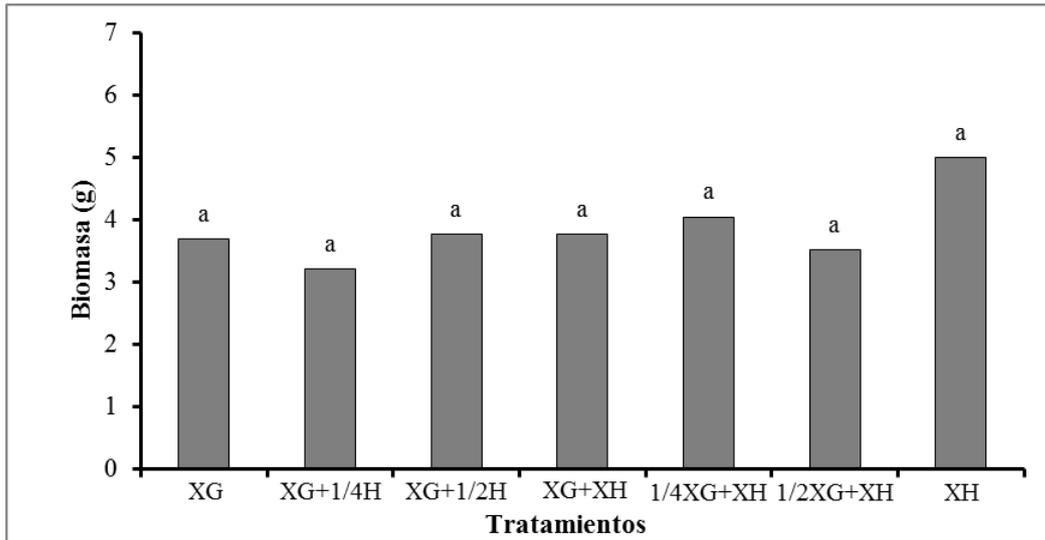
#### Estado reproductivo (prefloración)

Se registraron diferencias altamente significativas en la MS de las plantas de *D. fullonum* aplicando distintas dosis de glifosato ( $F=5,62$ ;  $p < 0,01$ ); sin embargo, no se encontraron diferencias aplicando 2,4-D entre ninguna de las dosis ( $F=0,69$ ;  $p > 0,6$ ). El ER resultó ser el estadio menos susceptible a ambos herbicidas, registrándose una reducción significativa de la biomasa en un 56% con glifosato para el tratamiento 2X con respecto al testigo. Al igual que en el EVT, aunque se registró un control del 27% utilizando 2,4-D con una dosis de 3,5 L.ha<sup>-1</sup>, no se obtuvo una reducción significativa de la biomasa (Fig. 5.5).



**Figura 5.5.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado reproductivo en experimentos realizados en primavera, los años 2014 y 2015, en Bahía Blanca utilizando glifosato y 2,4-D (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Respecto a la comparación de los tratamientos utilizando la dosis X de glifosato, X de 2,4-D y las diferentes combinaciones de sub-dosis de ambos herbicidas, no se registraron diferencias significativas en la MS de las plantas de *D. fullonum* en ninguna de las combinaciones ( $F=0,94$ ;  $p > 0,4$ ; Fig. 5.6).



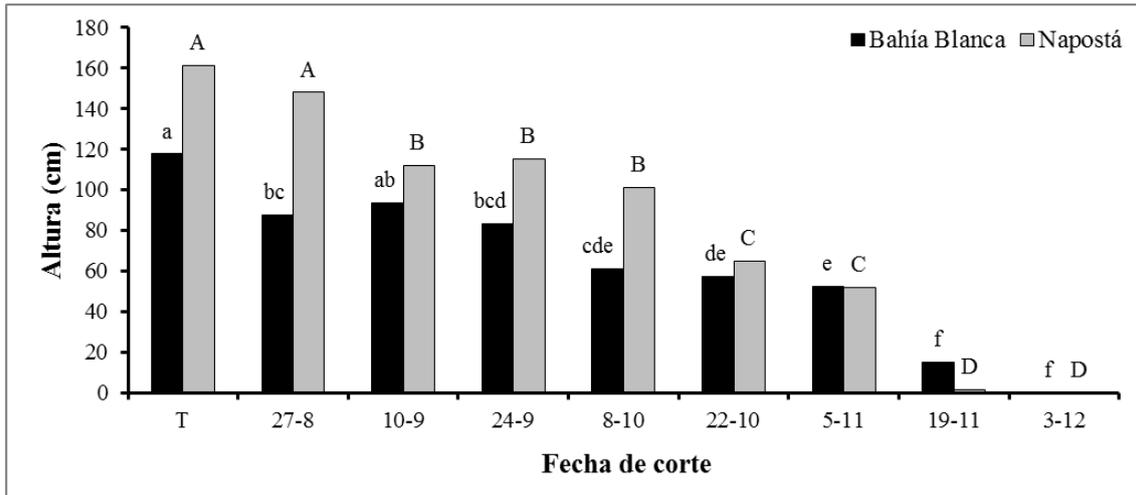
**Figura 5.6.** Control de *Dipsacus fullonum* en estado reproductivo en experimentos realizados en los años 2014 y 2015 en Bahía Blanca utilizando distintas combinaciones de glifosato (G) y 2,4-D (H) (X: dosis recomendada glifosato sal potásica 1215 g ea.ha<sup>-1</sup> y 2,4-D amina 875 g ea.ha<sup>-1</sup>). Los datos correspondientes a distintos años fueron combinados al no encontrarse tanto interacción como efecto del año. Barras con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

### 5.3.2. Corte

#### Altura final de plantas

Se registró interacción entre los distintos sitios y el momento de corte ( $F=3,47$ ;  $p < 0,01$ ) para la altura final de plantas. En ambas localidades, la altura final fue disminuyendo a medida que se efectuaba un corte en fechas más cercanas a la floración de la planta ( $p < 0,01$ ).

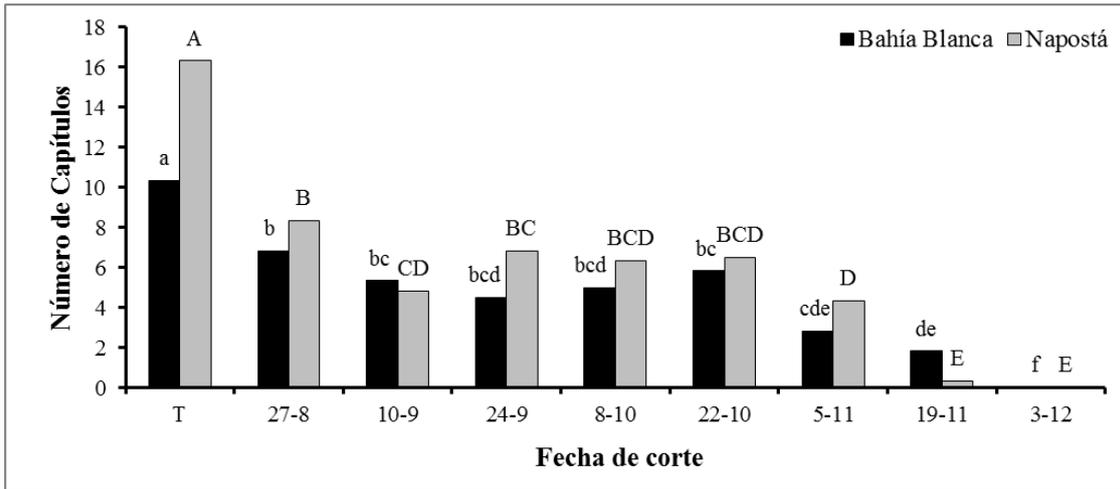
Se logró reducir significativamente la altura de las plantas, realizando un corte cuando el tallo presentó aproximadamente 18 cm de altura. En el momento que las plantas se encontraban en floración, se observó que la misma no logró rebrotar (Fig. 5.7).



**Figura 5.7.** Altura de plantas de *Dipsacus fullonum* al final del ciclo (Marzo del 2016) luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

#### Número de capítulos

Se encontró interacción entre los distintos sitios y momento de corte ( $F=2,29$ ;  $p < 0,05$ ) para el número de capítulos de *D. fullonum*. En ambas localidades, la producción de capítulos fue disminuyendo a medida que se efectuaba un corte más cerca a la floración ( $p < 0,01$ ). Con un corte realizado en estadio de roseta previo a la elongación del tallo, se logró reducir significativamente la producción de capítulos en un 34% para Bahía Blanca y 49% en Napostá. Para ambas localidades se registró formación de capítulos hasta que se realizaron cortes cuando fue visible el capítulo principal (5-11), más allá de esta fecha no existió formación de los mismos (Fig. 5.8).

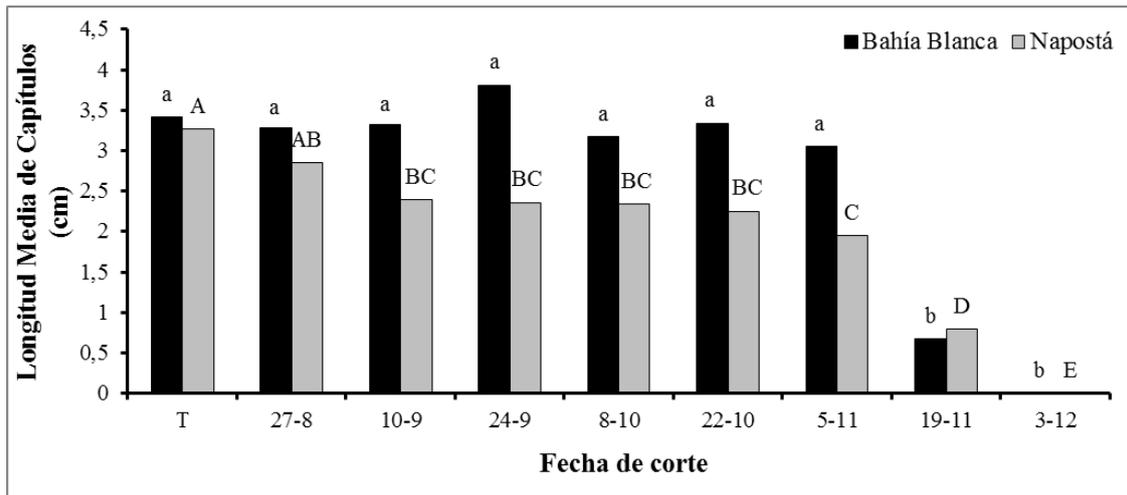


**Figura 5.8.** Número de capítulos de plantas de *Dipsacus fullonum* al final del ciclo (Marzo del 2016) luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

#### Longitud media de los capítulos

Se registró interacción entre los distintos sitios y momento de corte ( $F=2,54$ ;  $p < 0,05$ ) para la longitud media de los capítulos de *D. fullonum*. Tanto en Bahía Blanca ( $F=24,53$ ;  $p < 0,01$ ) como en Napostá ( $F=21,39$ ;  $p < 0,01$ ), el tamaño de los capítulos disminuyó cuando se efectuaban cortes más cercanos a la floración de la planta.

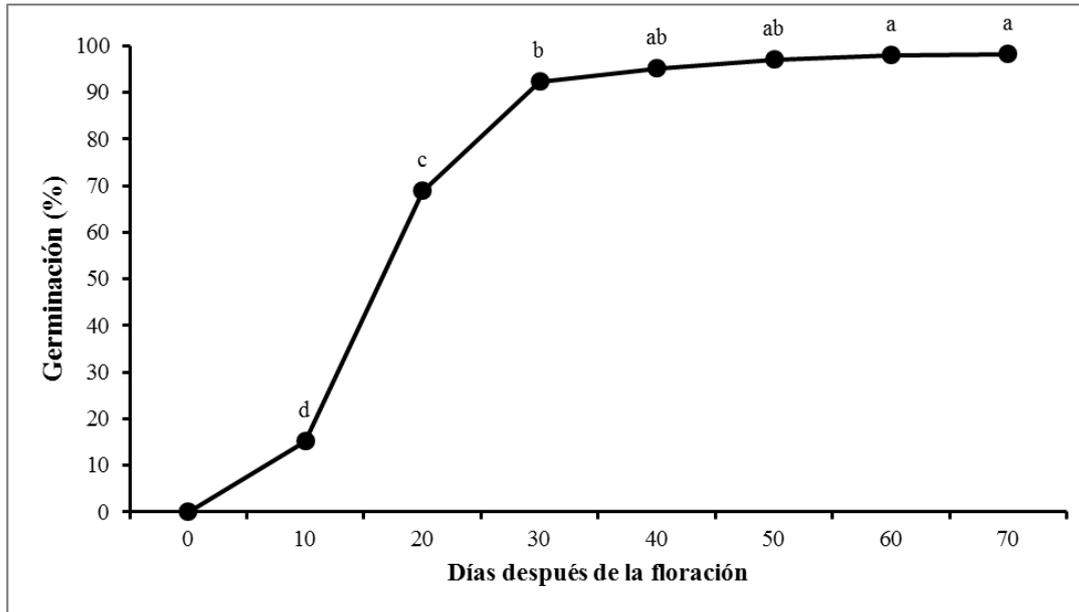
En la localidad de Napostá se observó que con un corte realizado en el comienzo de la elongación del tallo (6 de octubre), se logra reducir significativamente la longitud de los capítulos en un 12%. Un corte efectuado el 16 de noviembre (primeros capítulos visibles), se tradujo en una reducción de la longitud del 75%. Por el contrario en Bahía Blanca, únicamente se encontró una reducción significativa en la longitud de los capítulos de plantas cortadas con respecto al testigo, cuando se realizó un corte tardío (16 de noviembre) en el orden del 82% (Fig. 5.9).



**Figura 5.9.** Longitud media de capítulos producidos por plantas de *Dipsacus fullonum* al final del ciclo luego de haberse efectuado un corte de las mismas en diferentes fechas, en Bahía Blanca y Napostá, en el año 2015. Barras de una misma localidad con letras iguales dentro no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

### 5.3.3. Madurez de semillas

La floración de *D. fullonum* en la población evaluada comenzó el 10 de diciembre del 2015, el 21 de diciembre se encontraron capítulos con el 60% de las flores abiertas. La mayor parte de las flores de la totalidad de los capítulos emergieron entre diciembre 2014 y enero 2015. No se encontró interacción entre las distintas fechas y las condiciones de almacenaje ( $F=0,65$ ;  $p > 0,6$ ) para la germinación de las semillas cosechadas. Sobre este último parámetro, únicamente se denotó un efecto de las fechas ( $F=60,5$ ;  $p < 0,01$ ; Fig. 5.10), no habiéndose encontrado influencia de las condiciones de almacenaje ( $F=0,32$ ;  $p > 0,57$ ). La floración de los capítulos principales se completó nueve días después de la salida de las primeras flores. A partir de los diez días posteriores a ese momento, se observó una germinación media del 18%. La máxima germinación ocurrió a los 40 días después de finalizada la floración alcanzando un 95%.



**Figura 5.10.** Germinación de semillas de *Dipsacus fullonum* de capítulos principales cosechados cada 10 días a partir de la floración en el año 2015. Porcentajes de germinación con la misma letra no difieren entre sí según el test DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4. Discusión

En el presente estudio, el control de *D. fullonum* con glifosato fue más eficaz que utilizando 2,4-D. Diversos autores recomiendan el uso de ambos herbicidas en el control de especies de *Dipsacus* (Glass, 1991; Solecki, 1993). Similarmente, Bentivegna y Smeda (2008) obtuvieron un mayor control utilizando glifosato (64-83%) que con 2,4-D (39-65%) en *D. laciniatus* a los 28 días luego de su aplicación en primavera. Asimismo, en otros experimentos se observó mejor eficacia aplicando glifosato (2,5 L.ha<sup>-1</sup>) que con 2,4-D (0,85 L.ha<sup>-1</sup>) en *D. fullonum* (Faccini y otros, 2013). Werner (1975c) recomienda el uso de 2,4-D como herbicida eficaz; sin embargo, en los resultados de la investigación local, no se logró un control del 90% ni aún con el doble de la dosis recomendada.

El tamaño de la maleza al momento de aplicación es crítico para un control efectivo (Leon y otros, 2016). Damos y Parrish (2013) en experimentos utilizando glifosato y el herbicida hormonal aminopirialid sobre *Dipsacus laciniatus*, observaron que las plantas con un pequeño diámetro de roseta fueron más susceptibles que las plantas más grandes al igual que lo que ocurrió en este estudio con *D. fullonum*. Sin

embargo, ambos autores reportan que el herbicida hormonal fue más eficaz que glifosato, y que este último no fue adecuado en el control de las rosetas grandes.

En cuanto a la utilización de dosis reducidas, sólo en estadio temprano disminuyendo la dosis recomendada a 1/4X de glifosato, se logró obtener un control significativo. Lo mismo ocurrió también con 2,4-D con la dosis 1/2X. En roseta, sólo se observó control con glifosato utilizando la mitad de la dosis recomendada. Así como ha sido demostrado para otras especies, el uso de glifosato o 2,4-D en dosis reducidas puede ejercer un control de carda, lo cual podría ayudar en no provocar un daño significativo sobre especies nativas deseables (Espeland y Kilian, 2015).

Teniendo en cuenta los tratamientos en los cuales se combinaron los herbicidas, se observa que para el EVT y EVA, el control utilizando glifosato combinado con 2,4-D fue menor que con glifosato sólo, siendo más notable en estadios más tempranos. Esto indicaría que ambos principios activos no presentan un efecto sinérgico ni aditivo en el control de carda. Alves de Figueiredo (2015) indicó antagonismo de ambos herbicidas combinados aplicados en *Solanum esculentum*, en el cual el 2,4-D interfirió con la traslocación de glifosato. Contrariamente, en gran parte de especies evaluadas se ha encontrado que ambos herbicidas actúan de manera sinérgica, como por ejemplo Flint y Barrett (1989) en el control de *Convolvulus arvensis*, y del mismo modo ocurrió con *Senna obtusifolia* y con *Ipomoea purpurea* (Leon y otros, 2016).

Zimmerman y otros (2013) indican que la roseta sería el estadio más difícil de controlar en carda, ya que muchos herbicidas no lograron reducir la biomasa de *D. laciniatus* significativamente en este estadio. Incluso observaron que el glifosato la incrementó, justificando que fue debido al efecto adverso de este herbicida en plantas deseadas, permitiendo a las rosetas crecer con un menor nivel de competencia. En consecuencia, la elección de un herbicida dependería del nivel de establecimiento de plantas de carda en un área dada. En infestaciones tempranas podría utilizarse 2,4-D junto con otra técnica de manejo asociada para mejorar su nivel de control, y el glifosato podría ser usado en poblaciones densas de carda con baja diversidad florística.

El corte redujo la altura de plantas además de la producción y tamaño de capítulos de *Dipsacus fullonum*. En floración, se logró evitar el rebrote y en consecuencia la formación de semillas. Cortes previos a ese período no ejercen un buen control debido a que la planta es capaz de rebrotar y reproducirse. Similarmente, Dudley y otros (2009) indican que un corte temprano en la etapa reproductiva no reduce en alta proporción la altura y producción de semillas de *D. laciniatus*, restringiéndose esta

estrategia sólo en el período de floración. Asimismo, esto también se observó con otras dipsacáceas como *Knautia arvensis*, en la cual se detectó una reducción en la producción de semillas luego de un corte en la floración (Feber y otros 1996). Contrariamente a lo registrado con las poblaciones locales de *D. fullonum*, Chessman (1998) indica que, para una población del Reino Unido, un corte temprano (un mes antes de la floración) logra reducir la producción de capítulos en valores mayores al 78%. Asimismo, luego de un corte en plena floración (mediados de verano) observó un 15% de rebrote; sin embargo, ninguna fue capaz de producir capítulos en ese año. Por otro lado, otros autores indican que un corte temprano no reduce la producción de semillas y además hasta podría favorecer su dispersión por el viento debido a la producción de tallos más altos comparada con cortes tardíos (Glass 1991; Solecki 1993; Dudley y otros, 2009).

Semillas de *Dipsacus fullonum* alcanzaron la capacidad para germinar luego de 10 días de finalizada la floración y se observó un nivel de germinación mayor al 90% a los 30 días. Las semillas inmaduras almacenadas tanto a bajas como altas temperaturas no presentaron diferencias en cuanto a su poder germinativo, lo que confirma que las estas no requieren un período de estratificación (Caswell y Werner, 1978; Bentivegna y Smeda, 2011a). De manera similar a *D. fullonum*, en *D. laciniatus* se detectaron semillas viables a los 12 días después de la floración y también se observó que la germinación fue mayor al 90%, luego de 40 días de comenzada la floración. Solecki (1989) incluso informa que se produjeron semillas viables en plantas de carda antes de que cese la floración completamente dentro de un capítulo.

## 5.5. Conclusiones

Los métodos mecánicos y químicos evaluados logran ejercer un control aceptable sobre *D. fullonum*, por lo tanto se acepta la hipótesis planteada en la cual es posible obtener valores de control mayor al 90% utilizando ambas metodologías.

En cuanto al control químico, el herbicida glifosato aplicado sólo aseguraría buenos resultados utilizando una dosis en el rango recomendado en estadios tempranos, reduciéndose su eficacia a medida que la planta presenta mayor tamaño. Como es un herbicida total se recomienda su uso en áreas donde exista una alta densidad poblacional de *D. fullonum*. El 2,4-D controla sólo un 50% de la población carda en el estadio

temprano y no afecta el crecimiento en roseta y prefloración. Como este herbicida no es efectivo en el control de gramíneas, en sitios con una alta presencia de éstas podría ser utilizado como complemento de otra medida principal de control. No se recomienda la aplicación de ambas formulaciones combinadas.

El corte de las plantas sólo es efectivo en un corto período restringido a la floración, por lo tanto no es efectivo en el control de rosetas. Como programa de manejo se recomienda una aplicación de herbicida, preferentemente glifosato, luego de los momentos de máxima emergencia de plántulas de la maleza y un tratamiento de corte en floración (diciembre). Este plan reduciría en gran medida y en el corto plazo el *stand* de *D. fullonum*, debido a la reducción de plantas y la menor producción de semillas remanentes, ayudando en la recuperación de áreas invadidas que serán ocupadas por especies nativas.

## Capítulo VI

**Estudios etiológicos y biogeográficos de las enfermedades encontradas  
afectando a *Dipsacus fullonum* en la provincia de Buenos Aires**

## 6.1. Introducción

En los últimos años, se han generado numerosos problemas relacionados al manejo de malezas en todos los contextos y por lo tanto, se hacen necesarios cambios profundos en el abordaje del control (Harker y O'Donovan, 2013). Entre otras cuestiones se puede mencionar la restricción, y/o prohibición, en el uso de productos altamente tóxicos (ej. Bromuro de metilo), la caída en desuso de varios principios activos de herbicidas, el alto costo de desarrollar y registrar principios activos nuevos, la falta de herbicidas específicos registrados para usos y mercados menores (por ej. malezas invasoras, cultivos menores, sistemas irrigados), el problema creciente de malezas resistentes a herbicidas que producen cambios en la composición de las malezas, además de mandatos gubernamentales de reducir el uso de pesticidas debido a problemas de contaminación (Charudattan, 2001). En consecuencia, existe un creciente consenso sobre la necesidad de encontrar alternativas al uso de las formas más tradicionales de control, y de desarrollar estrategias de manejo integrado que sean efectivas, ambientalmente seguras y socialmente aceptables (Fernandez, 1982; Fernandez y otros, 2014b; Masters y Sheley, 2001; Frantzen y otros, 2002; Harker y O'Donovan, 2013).

Esto se aplica no sólo al manejo de malezas agrícolas, sino también de ecosistemas naturales, donde la reducción de la biodiversidad es la mayor amenaza debido a la proliferación de malezas invasoras. El control de estas últimas mediante las técnicas tradicionales puede ser sumamente riesgoso, debido a que pueden afectar especies deseadas, como en el caso del uso de herbicidas, o muy costoso, como suelen serlo los métodos mecánicos. En algunos casos extremos estas formas de manejo pueden ser directamente impracticables, por ejemplo debido a la inaccesibilidad de los sitios afectados (Evans y otros, 2001).

El control biológico de malezas surge como una alternativa en este contexto (Charudattan, 2001; Frantzen y otros, 2002). Las malezas son susceptibles a ser atacadas por una diversidad de organismos vivos, denominados comúnmente enemigos naturales, y este tipo de control consiste en la manipulación de estos organismos con el fin de mantener bajos los niveles poblacionales de la maleza y así reducir los daños provocados por ella (Eilenberg y otros, 2001). Entre los organismos que suelen ser considerados como agentes de control biológico de malezas se encuentran los patógenos vegetales. Estos constituyen una excelente herramienta para ser considerados en el

control de malezas. Pueden ser extremadamente específicos y ambientalmente seguros (Cabrera Walsh y otros, 2014). La promoción de una enfermedad para suprimir el reclutamiento de malezas, el crecimiento y la reproducción es el mayor objetivo en este tipo de programas (Liebman, 2001).

Hay distintas formas de aplicar el control biológico para regular las poblaciones de malezas (Butt y otros, 2001; Charudattan, 2001; Eilenberg y otros, 2001; Cabrera Walsh y otros, 2014), según las circunstancias y el fin que se persiga:

- **Clásico:** usado para el control de malezas exóticas, consiste en la introducción intencional de uno o varios agentes de control biológico también exótico/s y que usualmente han co-evolucionado con la maleza en su lugar de origen, en los sitios donde se desea controlar la maleza. Se busca el establecimiento permanente de los enemigos naturales y se espera que éstos ejerzan un control a largo plazo, reduciendo las densidades poblacionales de la maleza por debajo de un umbral de daño aceptable, pero nunca que se llegue a la erradicación total. Este tipo de control se basa en la hipótesis de liberación de enemigos, es decir, supone que el mejor desempeño de la maleza en el nuevo ambiente invadido es consecuencia directa de falta de enemigos naturales en dicho ambiente. Con la introducción de los enemigos naturales en el ambiente nuevo, se busca reducirles esta ventaja competitiva con respecto a la flora local.
- **Inundativo:** consiste en la producción masiva de agentes de control biológico en laboratorios o bioterios, para ser liberados en grandes cantidades en el lugar donde se desea ejercer el control. No necesariamente implica el establecimiento permanente del agente, sino que se busca que los individuos del controlador que se aplican en un determinado momento y lugar en forma masiva, ejerzan un control rápido y puntual. Los bioherbicidas, que son fitopatógenos formulados de manera que puedan ser aplicados con maquinaria agrícola, forman parte de este tipo de control. En este caso, se busca que estos productos tengan una rapidez de acción y una vida útil similares a los de un herbicida químico.
- **Conservación y/o fomento (“system management approach”):** consiste en mantener (conservación) o incrementar (fomento) poblaciones de enemigos naturales deseables ya presentes en el ecosistema donde la maleza invade, mediante la manipulación del mismo para intensificar el daño. Esto puede lograrse mediante prácticas complementarias tales como la siembra o conservación de plantas infectadas que provean de inóculo, o el uso de

herbicidas a dosis reducidas para estimular una epidemia al debilitar las plantas y volverlas más susceptibles a un determinado patógeno, etc.

Cualquiera sea la forma en que se planea aplicar, el primer paso previo obligado a la implementación de un programa de control biológico, consiste en la exploración y documentación de los enemigos naturales ya presentes en asociación a la maleza en el lugar donde se planea aplicar este tipo de control. En el caso particular de *Dipsacus fullonum* existen listas de patógenos y otros enemigos naturales encontrados asociados a la maleza tanto en su lugar de origen como en otros ambientes invadidos donde la maleza es exótica (Rector y otros, 2006; Dugan y Rector, 2007; Farr y Rossman, 2016). En Argentina no se cuenta con tal información y hasta el momento sólo se indica un único registro del hongo *Cercospora elongata* asociado a manchas foliares (Sutton y Pons, 1980), y Giolitti y otros (2009) comprobaron que es hospedante del virus del mosaico clorótico del girasol (SuCMoV).

La familia Dipsacaceae es originaria de Europa central y meridional, África boreal y Asia occidental. El hecho de que no existan en nuestro país especies nativas de la familia Dipsacaceae, como tampoco otras de interés económico (Pontiroli, 1965), resulta una ventaja en caso que se decidiera la implementación de control biológico utilizando enemigos naturales altamente específicos.

A la hora de seleccionar un candidato para un estudio más exhaustivo que permita evaluar la factibilidad de utilizarlo como agente de control biológico, en cualquiera de sus enfoques, se deben tener en cuenta varios criterios, entre ellos: el grado de especificidad, el tipo y nivel de daño, y eventualmente, la frecuencia de aparición en la naturaleza, que puede dar una cierta idea de sus requerimientos ambientales (Dugan y Rector, 2007; Cabrera Walsh y otros, 2014). Otro aspecto importante es del grado de dificultad de su manipuleo en el laboratorio. El presente estudio constituye un punto de partida para evaluar la factibilidad de incorporar el control biológico mediante patógenos fúngicos a un plan de manejo integrado de la maleza en la provincia de Buenos Aires.

### **6.1.1. Hipótesis**

En la provincia de Buenos Aires, existen únicamente hongos indígenas y generalistas capaces de causar enfermedad en plantas de carda.

### ***Sustento de la hipótesis***

De acuerdo a las teorías de liberación de enemigos y de resistencia biótica, las malezas invasoras tienen la capacidad de incrementar sus poblaciones de manera desmedida probablemente por que se “liberan” de sus enemigos naturales que han co-evolucionado con la misma en sus respectivos sitios de origen y que regulan sus poblaciones, por lo tanto, únicamente hongos indígenas y/o generalistas podrían afectar a las malezas en los ambiente que invade (Mitchell y Power, 2003; Cabrera Walsh y otros, 2014)

#### ***6.1.2. Objetivos***

##### Objetivo general

Confeccionar una lista de los hongos patógenos presentes sobre *D. fullonum* en la provincia de Buenos Aires, con el propósito de evaluar la factibilidad de incorporarlos como agentes de control biológico a un eventual plan de manejo integrado.

##### Objetivos específicos

1. Realizar una descripción de los síntomas de enfermedad encontrados afectando plantas de la maleza.
2. Identificar los potenciales agentes causales mediante el estudio de sus caracteres morfológicos y culturales.
3. Confirmar su patogenicidad dando cumplimiento a los postulados de Koch.
4. Establecer la distribución geográfica de cada patógeno dentro de la Provincia de Buenos Aires.

### **6.2. Materiales y Métodos**

#### ***6.2.1. Viajes de exploración en la zona de estudio***

Se realizaron visitas no sistemáticas a distintos sitios (50) ubicados en la Provincia de Buenos Aires, en diferentes fechas, durante los años 2013-2015. Los

detalles de los viajes realizados (lugares y fechas) se presentan en Tabla 6.1. En cada sitio se coleccionaron muestras de material vegetal con síntomas de enfermedad y se registraron las coordenadas geográficas mediante un GPS Garmin Etrex (ver Tabla 6.1 y Fig. 6.1).

**Tabla 6.1.** Ubicación de las poblaciones de *Dipsacus fullonum* estudiadas y fechas en que fueron visitadas.

Sítios (Denominación según la localidad más cercana)	Fechas
Bahía Blanca, Coronel Suárez, Coronel Pringles, Daireaux, Pehuajó, Chiclana, Martínez de Hoz.	6/05/2013 al 8/05/2013
Irene, Energía, Necochea, Ayacucho, Casalins, General Paz, Ciudad de Buenos Aires, Ezeiza, Cañuelas, Saladillo, Tapalqué, Loma Negra, Laprida (N), Laprida (S).	27/08/2013 al 9/9/2013
Pigüe, General Villegas, Junín, Mercedes, Lima, Campana, San Miguel del Monte, Rauch, Azul, General Lamadrid, Sierra de la Ventana.	17/03/2014 al 20/03/2014
Napostá, Guaminí, Trenque Lauquen, Agustín Roca, Baigorrita, Pergamino, Arrecifes, Carmen de Areco.	13/07/2015 al 16/07/2015
Tres Arroyos, Bellocq, Tandil, Balcarce, Pinamar, Dolores, Maipú, Chapadmalal.	19/10/2015 al 21/10/2015
Saldungaray.	29/02/2013
Bahía Blanca.	5/10/2014 y 10/01/2014
Napostá.	04/03/2016



**Figura 6.1.** Poblaciones de *Dipsacus fullonum* visitadas en los distintos viajes de colección. Puntos de un mismo color indican poblaciones que fueron visitadas en el mismo viaje.

### **6.2.2. Recolección del material**

Se recolectaron plantas con síntomas de enfermedad (manchas foliares, clorosis, senescencia, marchitez generalizada, pudriciones, etc.) en hojas, tallos y raíces. La mayor parte del material que se seleccionó en el campo se acondicionó en una prensa con abundante papel de diario que se reemplazó al fin de cada jornada. Otra parte del material se conservó en bolsas de papel madera para su posterior procesamiento en el CERZOS-CONICET Bahía Blanca, donde fueron analizadas. Se confeccionó un herbario y se tomaron fotografías para registrar los hallazgos.

### **6.2.3. Descripción de los síntomas. Obtención y aislamiento de los patógenos**

Se identificaron y registraron los síntomas y signos producidos por los distintos patógenos mediante observación directa a ojo desnudo y bajo lupa binocular Leica GZ6. Los distintos patógenos fueron aislados en medio de cultivo artificial a partir de material fresco o herborizado recolectado en el campo. Las estructuras vegetativas y reproductivas de los hongos se estudiaron bajo microscopio Leica ICC50HD.

Cuando no se observaron signos en el material vegetal o cuando éstos fueron insuficientes se realizó una cámara húmeda con el fin de inducir y/o promover la esporulación. Para ello, se acomodó el material en cajas plásticas transparentes con la base recubierta por algodón húmedo sobre el cual se colocó un papel absorbente. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente bajo luz natural (Waller, 2002) y se revisaron diariamente hasta que se produjo la esporulación.

Con el fin de obtener cultivos de los agentes causales en medio de cultivo artificial, se realizaron aislamientos a partir de material vegetal con síntomas de enfermedad siguiendo métodos de rutina (Dhingra y Sinclair, 1985). En algunos casos, se siguió el protocolo propuesto por Yuan y Mohammed (2002).

Los aislamientos se realizaron en el medio de cultivo Agar Papa Glucosado (APG) preparado según Dhingra y Sinclair (1985). Para inhibir el crecimiento bacteriano en algunos casos se utilizó clorafenicol 250 mg/l (Silvestro, 2015). Los cultivos se incubaron en condiciones normales de laboratorio. A partir de las colonias desarrolladas, se realizaron repiques a tubos en pico de flauta y/o a nuevas cajas de Petri con APG u otro medio de cultivo elegido según el caso, para promover la esporulación.

### **6.2.3. Identificación**

La identificación de los hongos encontrados se realizó en base al estudio de los síntomas a los cuales estaban asociados, su morfología, características culturales y, en algunos casos, ciertos aspectos fisiológicos. Se observaron los síntomas presentes en el material recolectado bajo lupa, para su completa descripción. Se montaron preparados en agua destilada para la observación, medición y descripción de las estructuras fúngicas al microscopio óptico. Los cortes en general se hicieron a “mano alzada” con hoja de afeitar. En algunas ocasiones se utilizó el colorante Floxina B, que tiñe solamente células vivas, para facilitar la observación. Las medidas de las estructuras fúngicas fueron tomadas sobre el tejido del hospedante y/o a partir de colonias creciendo en medio de cultivo. Las características culturales se estudiaron en diversos medios de cultivos preparados según Dhingra y Sinclair (1985) entre los cuales se utilizaron APG, AAv (Agar Avena), AM (Agar Malta) y APZ (Agar Papa Zanahoria). Las fotografías fueron tomadas con un fotomicroscopio Leica ICC50HD. En cuanto a la clasificación de las especies fúngicas, para el ordenamiento y nomenclatura de los

taxones superiores se siguió la octava edición del Diccionario de los Hongos de Ainsworth y Bisby (Kirk y otros, 2001). En el ordenamiento de géneros se siguió a Sutton (1980) para Celomicetes y Ellis (1971) para Hifomicetes.

#### **6.2.4. Ensayos de inoculación**

##### Obtención de plantas

Las inoculaciones se realizaron sobre plantas sanas de *D. fullonum* obtenidas a partir de semilla de una población proveniente de la localidad de Bahía Blanca (38°43'4,5" S; 62°17'2,8" O), creciendo en macetas de 12 cm x 12 cm, conteniendo suelo proveniente del predio del CERZOS en la misma localidad.

Las plantas fueron mantenidas en invernáculo, en un rango de temperaturas de 16-25°C. En todos los ensayos se utilizaron por lo menos cuatro plantas en estadio de roseta.

##### Preparación del inóculo

Se utilizaron distintos medios de cultivo para la preparación del inóculo. En algunos casos, se hicieron crecer colonias del hongo en APG o en APZ, en cajas de Petri a temperatura ambiente. Al cabo de un determinado número de días, cuando se observó que las colonias registraban una esporulación abundante, la misma se separó del medio de cultivo. En el caso de picnidios, se extrajeron con un ansa y luego se molieron en un mortero de porcelana con agua estéril, para liberar los conidios. A esta suspensión, se le agregó agua destilada, batiendo con varilla de vidrio para obtener una suspensión de conidios sobrenadante, que se volcó en vaso de precipitado. Para hifomicetes, se le agregó un volumen de agua destilada a la caja de Petri y se raspó la superficie de la colonia con una varilla de vidrio para obtener directamente una suspensión de conidios sobrenadante. En ambos casos, a la suspensión obtenida, se agregó nuevamente agua destilada para obtener el volumen deseado y se calculó la concentración de los conidios de la suspensión a través del uso de una cámara de Neubauer.

Para otros hongos, se transfirieron directamente las esporulaciones producidas a partir de material herborizado sometido a cámara húmeda, a un volumen deseado de agua destilada.

Finalmente, en el caso particular de *Rhizoctonia* (hongo de suelo que forma solamente micelio estéril), se utilizó como inóculo suelo conteniendo el hongo proveniente del sitio Chapadmalal (38°13'39.7"S; 57°43'46,5"O).

#### Inoculación de las plantas

Según el caso, se utilizó uno de estos tres métodos:

- a) Asperjado: las plantas se asperjaron con 20 ml de una suspensión acuosa de esporas, tratando de mojar todas las hojas de las plantas hasta punto de chorreado. La concentración utilizada varió según el patógeno.
- b) Pincelado: la suspensión acuosa de esporas (5 ml) se aplicó sobre determinadas hojas elegidas, mediante un pincel fino sobre haz y/o envés. La concentración utilizada varió según el patógeno.

En ambos casos, las plantas inoculadas se mantuvieron durante las primeras 48 h en una cámara húmeda bajo condiciones de humedad relativa cercanas al 100%, fotoperíodo de 12 h y temperatura entre 18-25°C, según el hongo inoculado. Más tarde, las plantas se retiraron de la cámara húmeda y fueron mantenidas en las mismas condiciones pero a una humedad relativa entre 40% y 70% hasta la finalización de los ensayos.

- c) Se sembraron semillas de carda en bandejas conteniendo suelo proveniente del sitio Chapadmalal (38°13'39.7"S; 57°43'46,5"O) donde se habían encontrado plantas que presentaban síntomas de pudrición de raíces y presencia del hongo *Rhizoctonia* sp. Al mismo tiempo se sembraron semillas en otra bandeja testigo conteniendo suelo del mismo sitio, previamente esterilizado en autoclave.

#### **6.2.5. Análisis de los síntomas y signos desarrollados luego de la inoculación**

Se identificaron y registraron los síntomas producidos por los distintos patógenos mediante observación directa a ojo desnudo y bajo lupa binocular. Para favorecer la formación de los cuerpos de fructificación del patógeno, en los casos en que no se registraron espontáneamente luego de la inoculación, se colocó el material vegetal, previamente desinfectado superficialmente, en recipientes herméticos pequeños en los que se mantuvo una humedad cercana al 100%. La desinfección superficial del material vegetal se realizó sumergiéndolo en una solución de hipoclorito de sodio 60

g/L 1:10 durante dos minutos y secándolo inmediatamente después con papel absorbente estéril. Pasado el tiempo necesario para la aparición de las estructuras fúngicas se observó el material bajo microscopio óptico para confirmar la identidad del patógeno.

Para la confirmación de la patogenicidad, y dar cumplimiento a los postulados de Koch, se realizaron re-aislamientos en APG a partir del material vegetal inoculado artificialmente con síntomas, desinfectado superficialmente de la forma indicada anteriormente. Se realizaron cortes pequeños (aprox. 5 mm de lado) en la zona de transición entre la línea de crecimiento del síntoma y el tejido vegetal sano. Los cortes se realizaron con hoja de afeitar esterilizada con alcohol y fueron transferidos a cajas de Petri con APG. Luego del tiempo necesario para cada caso se realizó una observación de las características culturales y el estudio de las estructuras reproductivas bajo microscopio óptico para confirmar que el patógeno aislado era el mismo que el original.

### 6.3. Resultados

#### 6.3.1. Clase *Hyphomycetes*

##### *Cercospora elongata* (Peck.) Speg.

**Descripción de los síntomas:** Manchas foliares angulares, grisáceas, pequeñas y numerosas al principio; luego coalescentes, frecuentemente con halo rosado a violáceo (Fot. 6.1a). Esporulaciones en el centro de la mancha, de moderada frecuencia, encontrándose normalmente sobre las necrosis más avanzadas, siendo más abundantes en hojas basales.

**Descripción del patógeno:** fructificaciones anfígenas, sin estroma, conidióforos solitarios o 2-18 fasciculados, grisáceos, rectos o a veces con ondulaciones, y en ocasiones con 1 ramificación, ápice obtuso con cicatriz prominente, 1-6 septados, sin constricciones en los septos; 60-160 (-200) x 3-5  $\mu\text{m}$  (Fot. 6.1c). Conidios hialinos, aciculares, rectos, de base trunca, 100-280 (-350) x 4-6  $\mu\text{m}$ , 2-9 (-16) septos (Fot. 6.1d). Colonias en APG aterciopeladas de borde liso a levemente lobado, gris claro a negro, de

crecimiento relativamente lento, aproximadamente 3 cm de diámetro luego de 7 días (Fot. 6.1e). Fructifica escasamente en APG.

**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*, Argentina, Prov. de Buenos Aires,

- Bahía Blanca, 38°43'4,5"S; 62°17'2,8"O. 6 de mayo 2013.
- Ezeiza, 34°49'46,8"S; 58°30'37,2"O. 8 de septiembre del 2013.
- Villegas, 35°0'13,1"S; 62°56'54,4"O. 17 de marzo del 2014
- Agustín Roca, 34°28'44,6"S; 60°50'56,8"O. 15 de julio del 2015.
- Tandil, 37°20'59.9"S; 59°7'33.6"O. 20 de octubre del 2015.

**Inoculaciones artificiales:**

- *Mediante pincelado:* luego de 11 días de realizada la inoculación artificial se formaron las primeras manchas, tanto en el haz como en el envés (Fot. 6.1b). Todas las hojas inoculadas desarrollaron síntomas. Las manchas fueron inicialmente pequeñas, de coloración gris muy claro a traslúcido, más o menos angulares, sin halo coloreado. Con el tiempo aumentaron en número y tamaño, provocando la muerte parcial o total de las hojas afectadas. Sólo en una hoja basal se encontraron las esporulaciones características del patógeno.
- *Mediante asperjado:* con este método de inoculación (concentración 3.000 conidios/ml) se desarrollaron síntomas en dos plantas de las cuatro inoculadas y se formó una menor cantidad de manchas sobre las hojas que en las inoculadas por pincelado. No se produjo muerte prematura de las hojas afectadas.

**Postulados de Koch:** Se logró re-aislar el patógeno en medio de cultivo a partir de las manchas producidas por inoculación artificial, dándose cumplimiento a los postulados de Koch.

**Distribución:** este patógeno fue hallado en un 62% de los sitios visitados (Fig. 6.2), prácticamente acompañando la distribución de la maleza en la provincia de Buenos Aires. Se amplía la distribución de este hongo en Argentina, ya que existía hasta el

momento un único registro previo en *D. fullonum* en La Plata, Buenos Aires (Sutton y Pons, 1980).



**Figura 6.2.** Sitios donde fue encontrado el hongo *Cercospora elongata*.

**Observaciones:** la descripción de este patógeno se basa en fructificaciones obtenidas a partir de tejido inoculado artificialmente. En estas condiciones las características del material examinado coinciden con las brindadas por otros autores para *C. elongata* (Chupp, 1953; Sutton y Pons, 1980), salvo en que los conidióforos tienden a ser más rectos y los conidios son un poco más largos y anchos. Las medidas de los conidios de *Cercospora* pueden variar según se tomen a partir de un patógeno fructificado sobre tejido infectado naturalmente o como resultado de inoculaciones artificiales (Anderson, 2001). *D. fullonum* presentó síntomas luego de haber sido inoculado con *C. elongata* tanto en el haz como en el envés de la hoja. Como esta maleza presenta estomas en ambas caras de la hoja (hojas anfiestomáticas) (Drew y Bazzaz, 1982) y se conoce que muchas especies de *Cercospora* penetran por estomas (Alderman y Beute, 1986; Kim y otros, 2011), es altamente probable que *C. elongata* penetre el tejido de su hospedante a través de estos orificios naturales.

**Especificidad:** según la literatura este patógeno causa enfermedad en varios taxa dentro de la familia Dipsacaceae (Farr y Rossman, 2016).

*Alternaria* aff. *destruens* E.G. Simmons

**Descripción de los síntomas:** manchas foliares pequeñas (<1 cm), llenas, circulares, elipsoidales a irregulares, pardo a pardo oscuras, en ocasiones acompañadas de clorosis, ubicadas tanto en el centro de la lámina como en los márgenes aunque más comúnmente en estos últimos (Fot. 6.2a).

**Descripción del patógeno:** fructificaciones anfígenas, sin estroma. Colonias en APZ aterciopeladas de borde levemente lobado, gris oscuro a negro, de crecimiento relativamente rápido, con abundante esporulación comparada con la producida sobre APG, formación de 5 anillos concéntricos al cabo de siete días, con un diámetro de colonia de aproximadamente 6,5 cm. La formación de anillos concéntricos corresponde al crecimiento en respuesta al fotoperiodo al que la colonia estuvo expuesta durante la incubación (Fot. 6.2c). Conidióforos primarios, con cadenas simples de 2-10 conidios, grisáceos, rectos, ápice obtuso con cicatriz prominente, 1-6 septados, sin constricciones en los septos; 70-160 x 4-6,5 µm. Conidios de coloración parda, ovoides a elipsoidales estrechos, sin rostro o pseudorostrados (con un conidióforo secundario apical). Los conidios son rugosos, (11)19-44 x 8-14 µm, con 3-6(7) septos transversales, 1-3 septos longitudinales y 1-3 septos oblicuos (Fot. 6.2b). Conidióforos secundarios largos; 14-60 x 4-5 µm, 1-5 septados. Conidióforos secundarios cortos; 2,5-4 x 3 µm con 0-1 septos.

**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*; Argentina, Prov. de Buenos Aires. Bahía Blanca, 38°43'4,5"S; 62°17'2,8"O. 20 de febrero del 2015.

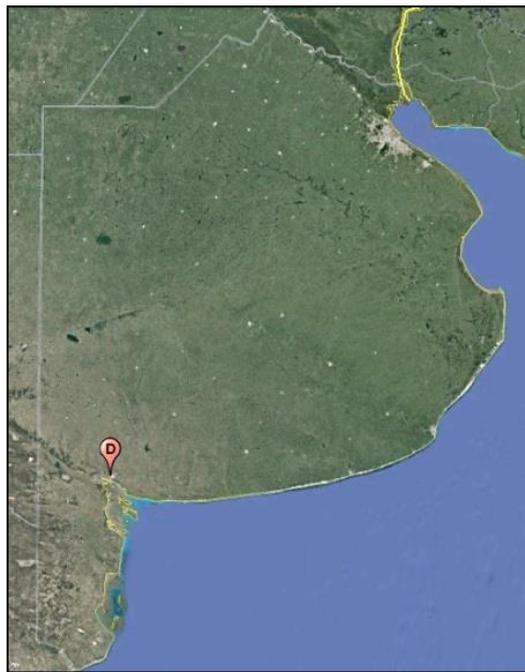
**Inoculaciones artificiales:** (concentración de inóculo=370.000 conidios/ml). Los primeros síntomas en las láminas de las hojas se detectaron a los 14 días de realizada la inoculación. Se observaron manchas foliares necróticas pequeñas (<1 cm), circulares a elipsoidales, de centro grisáceo y borde oscuro, dispersas en la parte central de las láminas y muy abundantes en los bordes. Las lesiones foliares en este caso tenían un borde violáceo oscuro más marcado que las observadas en condiciones naturales (Fot. 6.2d). La totalidad de las plantas inoculadas presentaron síntomas. Durante el ensayo no se formaron fructificaciones sobre las plantas, sino solamente luego del mantenimiento de los tejidos foliares afectados en cámaras húmedas. Se logró aislar el patógeno

inoculado a partir de las manchas desarrolladas dándose así cumplimiento a los postulados de Koch.

**Distribución:** encontrada en un solo sitio en la localidad de Bahía Blanca (Fig. 6.3)

**Observaciones:** las características del agente causal coinciden en gran parte con las descritas en la literatura para *A. destruens* (Simmons, 2007). Difiere en que las cadenas de conidios en este caso no son tan frecuentemente ramificadas. En la literatura aparece como un patógeno específico de *Cuscuta* (ver abajo), por lo cual esta identificación es sólo tentativa.

**Especificidad:** Simmons (2007) indica que esta especie ha sido encontrada en *Cuscuta* spp., género que incluye plantas parásitas.



**Figura 6.3.** Sitio donde fue encontrado el hongo *Alternaria* aff. *destruens*.

### 6.3.2. Clase Coelomycetes

*Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley

**Descripción de los síntomas:** manchas foliares necróticas circulares, pardo oscuras, de 5-10 mm de diámetro con anillos de crecimiento concéntrico (Fot. 6.3 a y b). El hongo se encontró también asociado a lesiones necróticas negras y alargadas sobre el tallo floral. Picnidios sobre las manchas de plantas vivas, dispuestos al azar, normalmente en el centro claro de la mancha.

**Descripción del patógeno:** conidiomas picnidiales globosos, (60)100-140 x (50)91-139 µm, epífilos, con ostíolo central, semiinmersos, uniloculares, glabros, de color pardo claro, pared gruesa alrededor del ostíolo, peridio pseudoparenquimático con células dispuestas en *textura angularis* (Fot. 6.3c). Conidios hialinos, elipsoidales, cilíndricos, alantoides, unicelulares en su mayoría, 5-8 x 1,5-4 µm pero a veces con un septo, bigutulados, gúttulas pequeñas, notables (Fot. 6.3d).

Células conidiógenas 5-8 x 4,5-7,5 µm, ampuliformes, doliformes o lageniformes. Colonias en APG negras, aterciopeladas. Colonias en AAv 5-8 cm, luego de 7 días, en AM, márgenes lobados a irregulares, reacción con hidróxido de sodio levemente positiva, al principio coloreando el agar de verde, luego de rojo.

**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*, Argentina, Prov. de Buenos Aires,

- Bahía Blanca, 38°43'4,5"S; 62°17'2,8"O. 10 de enero del 2014.
- Arrecifes, 34°11'46"; 59°57'46". 15 de julio del 2015
- Carmen de Areco, 34°16'27,4"; 59°53'58.7". 15 de Julio de 2015.
- Guaminí, 36°55'12,1"S; 62°21'55,6"O. 16 de julio del 2015
- Bellocq, 38°33'4"; 60°7'40.3". 19 de octubre del 2015.
- Pinamar, 37° 5'22.98"S; 56°57'1.39"O. 20 de octubre del 2015.
- Balcarce, 37°52'41,3"; 58°0'21.5". 20 de octubre del 2015.

**Inoculaciones artificiales:** (concentración de inóculo=  $2,8 \times 10^6$  conidios/ml). Los primeros síntomas se observaron ocho días después de la inoculación como manchas incipientes de color gris claro, llenas, circulares a irregulares, que aumentaron de tamaño con el tiempo. Las lesiones foliares en plantas inoculadas difirieron un poco de las encontradas en condiciones naturales: fueron de mayor tamaño (>1cm), llegando a

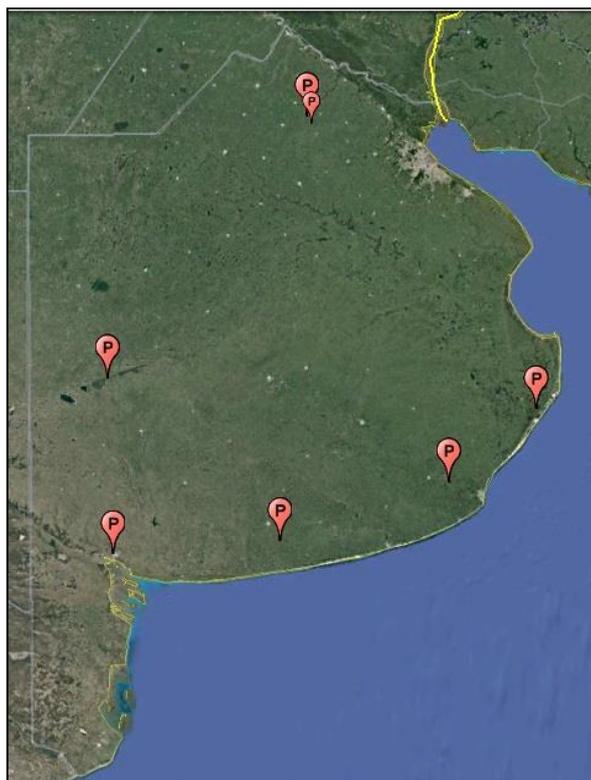
secar parcialmente las hojas, hasta en un 50% de su superficie, las líneas de crecimiento concéntrico no fueron notables y la coloración fue más grisácea (Fot. 6.3e). La totalidad de las plantas inoculadas presentaron síntomas del mismo tipo. Durante el experimento no se formaron picnidios sobre las plantas, sino solamente luego del sometimiento de los tejidos afectados a cámaras húmedas, o sobre las colonias aisladas en APG a partir de las manchas foliares.

**Postulados de Koch:** se logró re-aislar el patógeno inoculado a partir de las manchas desarrolladas y a partir de cuerpos de fructificación formados en las manchas, dándose cumplimiento de los postulados de Koch.

**Distribución:** se lo encontró en el 12% de los sitios visitados (Fig. 6.4).

**Observaciones:** la descripción coincide con lo descrito por Boerema y otros (2004) salvo en que los conidios unicelulares son un poco más largos.

**Especificidad:** sumamente polífago, se trata de un hongo de suelo, parásito débil y oportunista, que ha sido aislado en Europa a partir de más de 200 hospedantes, incluyendo numerosos cultivos de la familia Fabaceae y Asteraceae (Boerema y otros, 2004).



**Figura 6.4.** Sitios donde fue encontrado el hongo *Boeremia exigua*.

### *Ascochyta dipsaci* Bubák

**Descripción de los síntomas:** manchas foliares necróticas irregulares, levemente angulares, rodeadas por un halo clorótico (Fot. 6.4a). Los cuerpos de fructificación (picnidios) no siguen un patrón en su disposición sobre las manchas.

**Descripción del patógeno:** conidiomas picnidiales anfígenos, pardo claros, con ostíolo más oscuro, semiinmersos, globosos, uniloculares, diámetro 102-200  $\mu\text{m}$ , peridio pseudoparenquimático de 3 capas de células dispuestas en textura redondeada, con ostíolo central. Dispuestos al azar en el tejido afectado. Células conidiógenas enteroblásticas, fialídicas, ampuliformes o doliformes a alargadas, lisas, 5,5-15 x 2-4,71  $\mu\text{m}$ , formadas directamente sobre la cara interna de la pared de los picnidios, sin conidióforos. Conidios elípticos, uniseptados, a veces constrictos a la altura del septo, algunos unicelulares, pero mayormente bicelulares, 7,5-13,75 x 3,75-6,25  $\mu\text{m}$ , ornamentados con perforaciones, coloración castaño claro a grisáceo (Fot. 6.4d).

Colonias en APG de crecimiento relativamente moderado a lento, aterciopeladas, en un principio de color blanco, luego grisáceas a gris verdosas, con formación de picnidios negros dispuestos al azar.

**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*; Argentina, Prov. de Buenos Aires, Saldungaray, 38°26'18.09"S; 61°51'37.03"O. 28 de febrero del 2013.

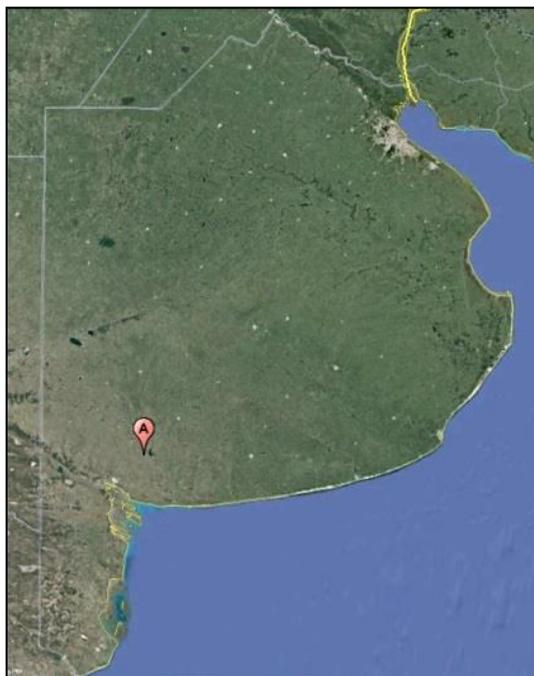
**Inoculaciones artificiales:** como resultado de uno de los ensayos, los síntomas se desarrollaron 20 días después de realizada la inoculación (concentración de inóculo= $1 \times 10^6$  conidios/ml), como manchas necróticas oblongas, de centro pardo claro y borde más oscuro en los pecíolos de las hojas (Fot. 6.4b), que mostraron un crecimiento muy rápido llegando a abarcar toda su superficie en un par de días, provocando la muerte prematura de las hojas afectadas. Sólo dos plantas de las cinco inoculadas mostraron estos síntomas, sobre tres hojas en una de ellas y sobre una sola en la otra. Se produjo la muerte de dos de éstas hojas. En un segundo ensayo (concentración de inóculo= $2 \times 10^5$  conidios/ml), a 25°C día y 20°C noche, en cuatro de las cinco plantas inoculadas, se desarrollaron, a los siete días de iniciada la inoculación, manchas sobre la lámina de las hojas similares a las encontradas a campo, irregulares aunque de color grisáceo, tanto en el centro como en el borde de las láminas, con halo clorótico poco notable, en algunas hojas alcanzaron mayor tamaño (>2 cm) y confluyeron secándolas totalmente (Fot. 6.4c). Hubo producción de picnidios en hojas sometidas a cámara húmeda principalmente en lesiones avanzadas.

**Postulados de Koch:** se logró re-aislar el patógeno en medio de cultivo a partir de las manchas producidas por inoculación artificial, dándose cumplimiento a los postulados de Koch.

**Distribución:** sólo fue hallada en una única ocasión en un sitio cercano a la localidad de Saldungaray (Fig. 6.5).

**Observaciones:** el material examinado coincide con lo descripto por Mel'nik y otros (2000) salvo en que los conidios tienden a ser más largos y en que los conidiomas se forman tanto en el haz como en el envés de la hoja. Ésta es la primera cita de *A. dipsaci* en Argentina.

**Especificidad:** es patógeno de *Dipsacus* spp. y de *Scabiosa caucasica* (no citada en Arg.) (Mel'nik y otros, 2000).



**Figura 6.5.** Sitio donde fue encontrado el hongo *Ascochyta dipsaci*.

### 6.3.3. Clase Dothideomycetes

#### *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

**Descripción de los síntomas:** plantas en estado reproductivo con menor desarrollo en altura que plantas sanas de alrededor, presentando marchitamiento, clorosis generalizada, detención de crecimiento, destrucción de órganos y, a veces, muerte de plantas (Fot 6.5a). También formación escasa de capítulos, y en algunos casos, éstos con deformaciones (Fot 6.5c). Los tejidos atacados mostraron podredumbre de consistencia blanda a semi-blanda. Raíces con pudrición húmeda y desprendimiento de corteza, coloración oscura (Fot. 6.5d) y base de tallos con coloración pardo oscuro a castaño, a veces rojiza, no superando el segundo nudo, y pudrición húmeda interna. Se observaron bandas concéntricas en la base del tallo (Fot. 6.5b). Pudriciones avanzadas acabaron con los tejidos más blandos, dejando solo los más lignificados como haces vasculares en forma de enriado.

**Descripción del patógeno:** en ataques fuertes y en condiciones de alta humedad se observó formación de abundante micelio blanco algodonoso denso sobre el cual se formaron esclerocios, duros, compactos, negros, de 1-2 cm de diámetro, de forma variable tendiendo a ser redondeados, o adoptando la forma de las cavidades en que se formaban (Fot. 6.5e). Los esclerocios en corte muestran una corteza externa constituida por varias capas de células isodiamétricas, de paredes gruesas y melanizadas. La médula está formada por un tejido prosenquimático de células hialinas de pared delgada.

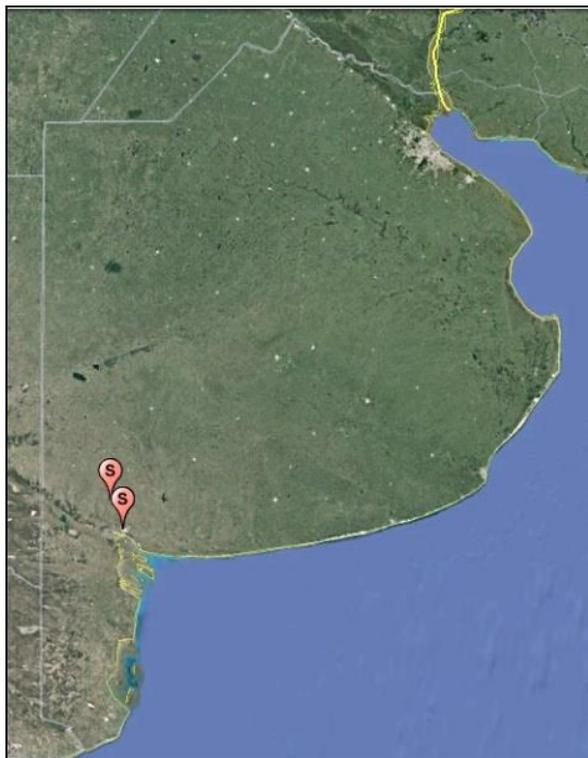
**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*; Argentina, Prov. de Buenos Aires,

- Bahía Blanca, 38°40'2.76"S 62°13'49.84"O, 23 de noviembre del 2015.
- Napostá, 38°25'39.07"S; 62°17'9.86"O. 4 de marzo del 2016.

**Distribución:** se encontró en dos sitios en poblaciones experimentales (Fig 6.6).

**Observaciones:** el hongo se logró aislar en APG, pero no se pudieron cumplir los postulados de Koch para este patógeno. Sus características coinciden plenamente con las observadas por Willetts y Wong (1980) para *S. sclerotiorum* y los síntomas asociados concuerdan con los provocados por este patógeno en otros hospedantes (Delhey y otros, 2009).

**Especificidad:** *S. sclerotiorum* es un hongo extremadamente polífago que ataca numerosas especies de dicotiledóneas y entre ellas, tanto a cultivos, malezas, como a especies silvestres (Boland y Hall, 1994).



**Figura 6.6.** Sitios donde fue encontrado el hongo *Sclerotinia sclerotiorum*.

#### 6.3.4. Clase Agonomycetes

##### *Rhizoctonia* sp.

**Descripción de los síntomas:** plantas en estado vegetativo con marchitamiento de hojas, a veces con presencia de canchales de color marrón claro, de forma más o menos navicular, en la base de los pecíolos. Algunas raíces de color castaño oscuro, con podredumbre húmeda y necrosis marrón oscura con desprendimiento de corteza, ciertos sectores mostrando estrangulamiento y coloración negra (Fot. 6.6 a y b).

**Descripción:** sobre las raíces afectadas se observó un micelio grueso, color castaño oscuro a rojizo, ramificado más o menos en ángulo recto, con leves constricciones en la base de las ramificaciones, formadas por debajo de los septos (Fot. 6.6c).

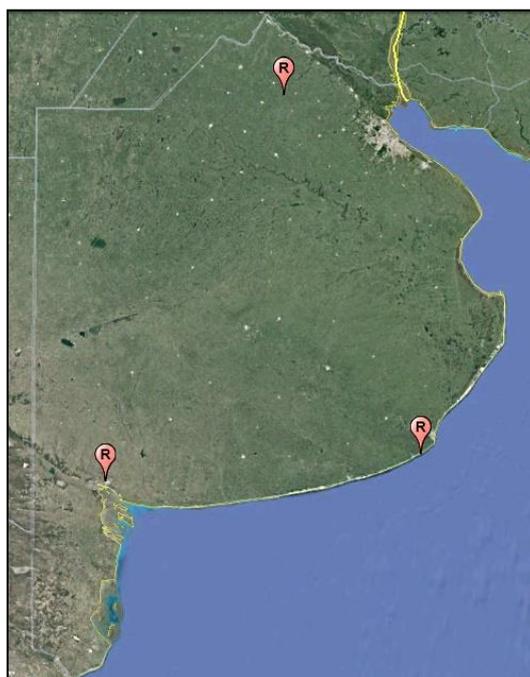
Sobre APG el micelio es blanco al principio, con moderada a gran cantidad de micelio aéreo, tornándose de color castaño claro (té con leche) con el tiempo, dando lugar a la formación de esclerocios del mismo color.

**Material examinado:** *Dipsacus fullonum*; Argentina, Prov. de Buenos Aires.

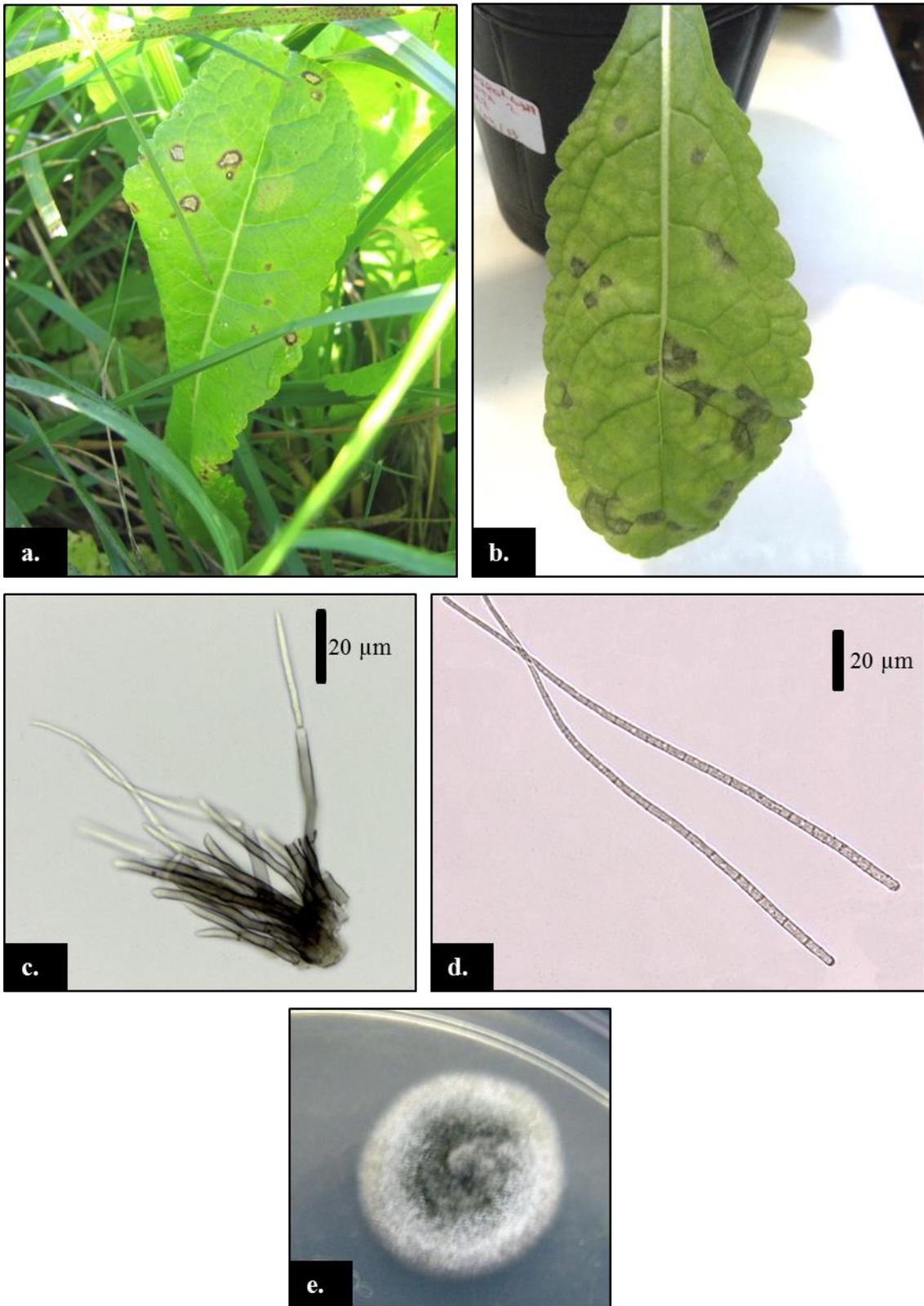
- Bahía Blanca, 38°43'4,5"; 62°17'2,8". 5 de octubre del 2014.
- Carmen de Areco, 34°16'27,4" S; 59°53'58.7"O. 15 de julio del 2015.
- Chapadmalal, 38°13'39.7"S; 57°43'46,5"O. 21 de octubre del 2015.

**Distribución:** la especie fue hallada en tres sitios del total muestreado (Fig. 6.7)

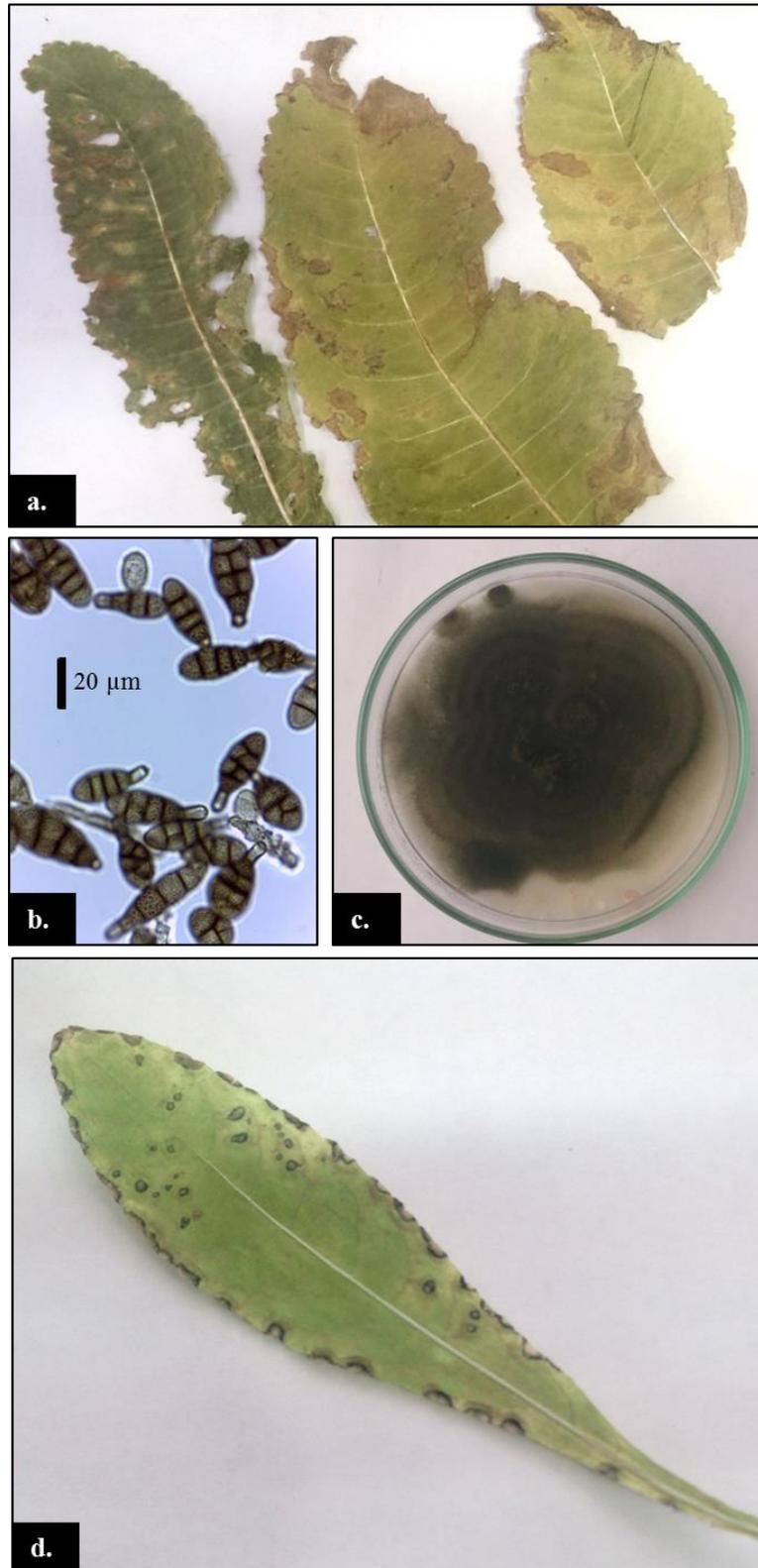
**Observaciones:** se logró el aislamiento del hongo a partir de plantas con los síntomas de enfermedad descritos y la formación de síntomas iguales a ellos en las plantas inoculadas artificialmente en el laboratorio (Fot. 6.6d), pero sin embargo no se logró el re-aislamiento del patógeno a partir de éstos últimos. Sus características morfológicas y culturales coinciden plenamente con las del género *Rhizoctonia* (Sneh y otros, 1991).



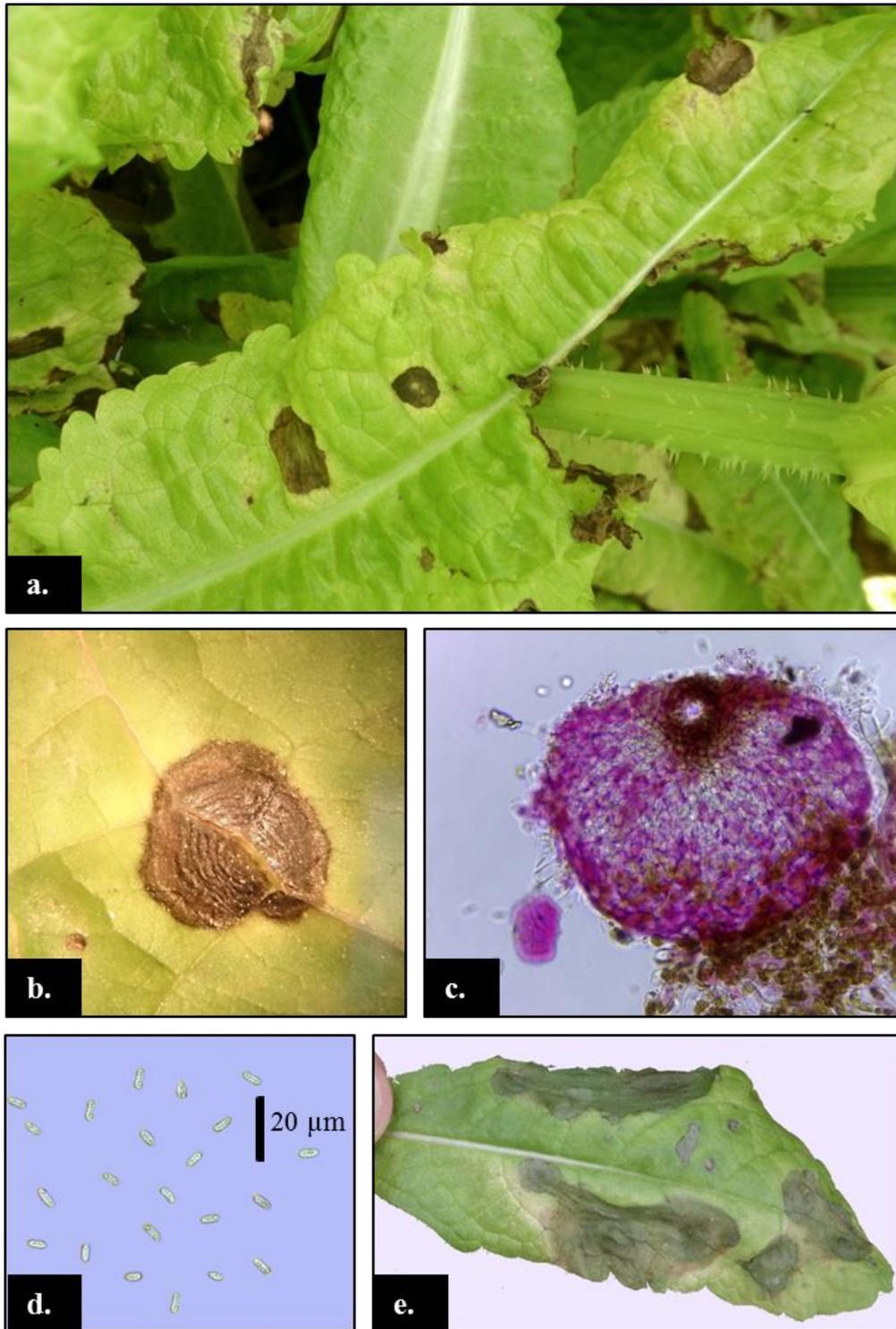
**Figura 6.7.** Sitios donde fue encontrado el hongo *Rhizoctonia* sp.



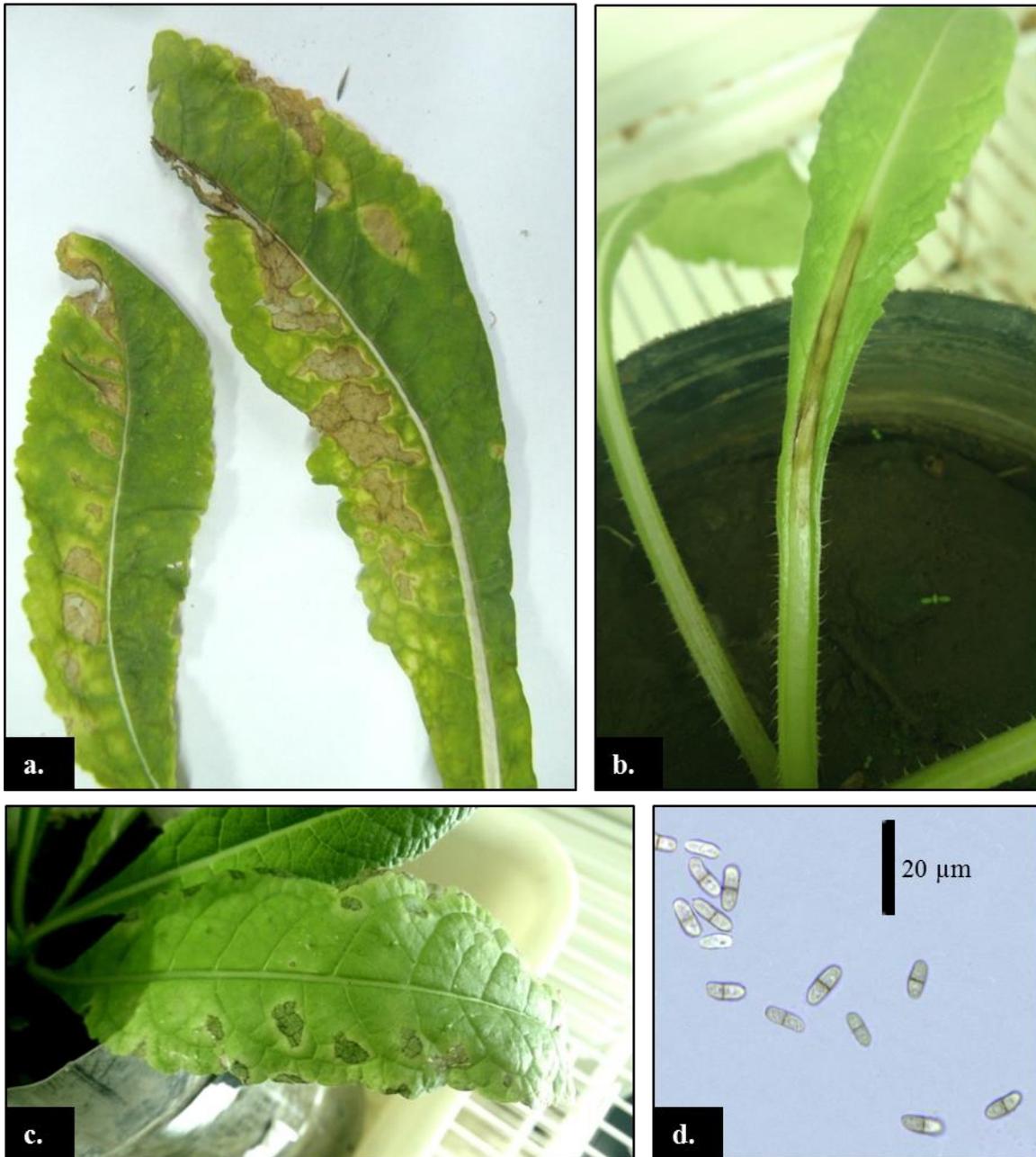
**Fotografía 6.1.** *Cercospora elongata*; **a.** síntomas encontrados en el campo; **b.** síntomas obtenidos experimentalmente; **c.** fascículo de conidióforos; **d.** conidios; **e.** colonia creciendo en APG (agar papa glucosado).



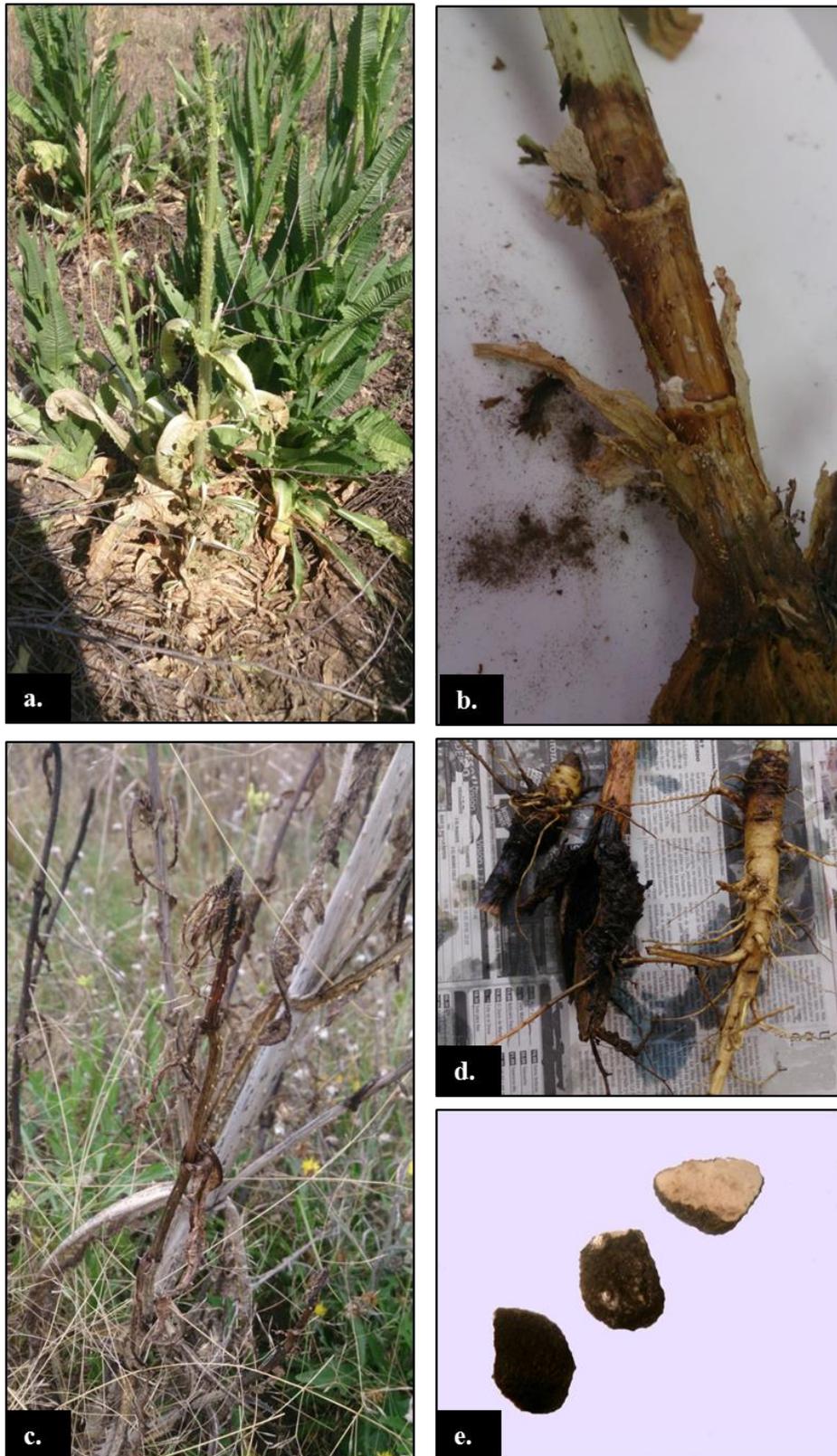
**Fotografía 6.2.** *Alternaria* aff. *destruens*; **a.** síntomas encontrados en el campo; **b.** conidios; **c.** colonia creciendo en APZ (agar papa zanahoria); **d.** síntomas obtenidos experimentalmente.



**Fotografía 6.3.** *Boeremia exigua*; **a.** síntomas encontrados en el campo; **b.** detalle de una mancha mostrando anillos de crecimiento concéntrico; **c.** picnidio; **d.** conidios; **e.** síntomas obtenidos experimentalmente.



**Fotografía 6.4.** *Ascochyta dipsaci*; **a.** síntomas encontrados en el campo; **b.** síntoma obtenido experimentalmente a 20°C; **c.** síntomas obtenidos experimentalmente a 25°C; **d.** conidios.



**Fotografía 6.5.** *Sclerotinia sclerotiorum*; **a-d** síntomas encontrados en el campo; **a.** vista general; **b.** detalle de síntomas en la base del tallo; **c.** necrosis avanzada; **d.** detalle de síntomas en raíz (izq.) y raíz sana (der.); **e.** esclerocios.



**Fotografía 6.6.** *Rhizoctonia* sp.; **a-b** síntomas encontrados en el campo; **a.** en follaje; **b.** en raíz; **c.** micelio característico del hongo asociado a raíces afectadas; **d.** síntomas obtenidos experimentalmente.

**Tabla 6.2.** Cuadro sinóptico de la potencialidad de cada uno de los patógenos registrados sobre *Dipsacus fullonum* como agente de biocontrol.

Hongo	Especificidad	Distribución	Frecuencia	Grado de dificultad para producir inóculo	Daño en condiciones naturales	Daño en el laboratorio	Potencial uso
<i>Cercospora elongata</i>	Alta	Amplia	Alta	Bajo a medio	Bajo	Medio	Sí
<i>Alternaria aff. destruens</i>	No se puede estimar hasta confirmar identificación	Restringida	Baja	Bajo	Bajo	Bajo-Medio	Evaluación depende de identificación
<i>Boeremia exigua</i>	Baja	Amplia	Media	Bajo	Bajo	Alto	No
<i>Ascochyta dipsaci</i>	Alta	Restringida	Baja	Bajo	Bajo	Medio	Sí
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Baja	Restringida	Baja	Bajo	Medio-Alto	¿Alto?	Quizás
<i>Rhizoctonia sp.</i>	No se puede estimar hasta confirmar identificación	Restringida	Baja	Alto	Alto	Bajo	Evaluación depende de identificación

#### 6.4. Discusión

En este estudio se confirmó la presencia de seis enfermedades provocadas por patógenos fúngicos afectando poblaciones de *D. fullonum* en la provincia de Buenos Aires. Entre los patógenos encontrados, *Cercospora elongata*, *Ascochyta dipsaci*, *Boeremia exigua* y *Sclerotinia sclerotiorum* ya habían sido citados con anterioridad asociados a esta especie (Farr y Rossman, 2016). Se amplía la distribución de *C. elongata* en Argentina registrada previamente por Sutton y Pons (1980). *A. dipsaci* y *B. exigua* se citan por primera vez provocando síntomas de enfermedad sobre esta especie en nuestro país. Por otra parte, *Alternaria* aff. *destruens* y *Rhizoctonia* sp., requieren de un estudio más exhaustivo para establecer inequívocamente su identidad taxonómica. Algunos otros hongos registrados durante estos estudios se desestimaron ya sea porque se obtuvieron solamente micelios estériles, y por lo tanto no fue posible su identificación, o porque se encontraron muy esporádicamente asociados a escasos síntomas de enfermedad. De los patógenos confirmados, tres de ellos fueron aislados de síntomas foliares, dos corresponden a hongos del suelo que atacan raíz y base de tallo (*S. sclerotiorum* y *Rhizoctonia* sp.), y uno (*B. exigua*) fue encontrado atacando tanto hojas como tallos. Se observó que los patógenos foliares ocasionaban síntomas primarios, superficiales, no-sistémicos, que aparentemente no causaban impactos severos en el crecimiento vegetativo o producción de semillas. En cambio, *S. sclerotiorum* fue encontrado provocando muerte de plantas, al igual que lo que ocurre en diversos cultivos y plantas silvestres (Delhey y otros, 2009). Síntomas tipo mosaico, clorosis y encrespado de las hojas, típicamente virales, se observaron en diversos sitios. Giolitti y otros (2009) citan el *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV) encontrado en poblaciones de carda en Balcarce, Pieres y Tandil. El SuCMoV es un patógeno que da pérdidas considerables en el girasol en años predisponentes. Rector y otros (2006) indican la presencia de dos virus no identificados en *D. fullonum* en el mediterráneo y observaron que los síntomas virales reducían significativamente el número de capítulos por planta, además de que una proporción de plantas no produjera ninguna semilla.

El objetivo principal de conocer los patógenos asociados a la carda en el área de estudio es identificar posibles controladores biológicos que presenten características deseables para ser incorporados a un plan de manejo de la maleza, utilizando la estrategia de conservación y/o fomento de enemigos naturales ya presentes en el lugar

invadido. En cuanto al grado de especificidad, algunos de los hongos encontrados (*C. elongata* y *A. dipsaci*), según Rector y otros (2006), atacan sólo especies de *Dipsacus* spp. Otros como *B. exigua* y *S. sclerotiorum* son sumamente polífagos (Boland y Hall, 1994; Boerema y otros, 2004) y es probable que lo mismo sea cierto para *Rhizoctonia* sp. Debe notarse sin embargo, que esta evaluación de especificidad está basada en los escasos reportes históricos existentes y no en los resultados de pruebas experimentales. En cuanto al nivel de daño, éste sólo puede inferirse en base a las observaciones realizadas (tanto bajo condiciones naturales como artificiales) y a las referencias en la literatura de otros patosistemas, pero el impacto real de estos patógenos sobre la planta aún no es conocido porque no se han realizado estudios experimentales al respecto.

Algunos hongos del género *Cercospora* debido a su capacidad destructiva, aparente alta especificidad y su ciclo asexual relativamente simple, son considerados potenciales agentes controladores (Charudattan y otros, 1985; Hasan y Ayres, 1990). De hecho, muchos hongos cercosporoides han sido estudiados y/o usados en el control biológico de malezas (Morris y Crous, 1994; Tessman y otros, 2001; Butt y otros, 2003;). Por ejemplo, *Cercospora heliotropii-bocconii* fue propuesta para el control de *Heliotropium europaeum*, debido a su potencial destructivo (Hasan y otros, 1995) y *Cercospora rodmanii* ha sido estudiado para el control de la planta acuática *Eichhornia crassipes* (Conway, 1976), habiéndose registrado una rápida dispersión del hongo y decrecimiento poblacional luego de inoculaciones bajo determinadas condiciones (Charudattan y otros, 1985; Ray y Hill, 2013). Según Rector y otros (2006) *C. elongata* se caracteriza por ser un hongo específico del género *Dipsacus*. Su amplia distribución y frecuencia en la Provincia de Buenos Aires, indicarían que se trata de un hongo capaz de infectar y provocar enfermedad bajo un amplio rango de condiciones ambientales. Además se observó una producción espontánea de conidios en medio de cultivo, una característica poco común en especies de este género (Booker y Umaharan, 2008). A pesar del bajo nivel de daño observado en las poblaciones visitadas, las características mencionadas lo constituyen en un buen candidato para su uso en un plan de manejo integrado. Se espera que su uso en combinación con herbicidas químicos en dosis bajas provoque niveles de daño mayores que los provocados por el patógeno actuando solo en condiciones naturales.

Muchas especies de *Alternaria* se comportan como organismos saprófitos o parásitos facultativos, pero algunas de ellas son patógenos altamente virulentos (Thomma, 2003). La especie de *Alternaria* encontrada sobre *D. fullonum*, es

morfológicamente similar a *A. destruens* (Simmons, 2007), la cual ha sido industrialmente desarrollada y registrada como bioherbicida para el control exclusivo de cuscuta dada su especificidad y facilidad de este género de hongos para producir conidios en el laboratorio (Cook y otros, 2009). Durante este estudio, tanto su frecuencia de aparición en la naturaleza como el daño observado fueron bajos. Antes de decidir la conveniencia de continuar los estudios sobre este hongo, su identidad a nivel de especie debe ser confirmada.

Entre los celomicetes encontrados sobre carda, según la bibliografía, *B. exigua* es altamente polífago y *Ascochyta dipsaci* es altamente específico (Rector, y otros, 2006). Ambos presentaron una distribución geográfica limitada y un bajo nivel de daño aparente en condiciones naturales durante este estudio. Sin embargo, *A. dipsaci* no se descarta como candidato potencial debido a su aparente alta especificidad, ya que podría ser aplicado complementariamente a otras prácticas que le permitan aumentar el nivel de daño que causa en su hospedante. Otro hongo del mismo género como *A. caulina*, se ha propuesto como un importante potencial biocontrolador de *Chenopodium album* (Kempenaar y otros, 1996; Netland y otros, 2001). La habilidad de las especies de *Ascochyta* para penetrar tejidos sanos depende de las condiciones ambientales, cantidad de inóculo aplicado y el estadio de la planta. Se puede asumir que una combinación de este tipo de hongos con dosis reducidas de herbicida permitiría mejorar la eficacia en el control, porque se considera que la infección es favorecida cuando los tejidos están dañados (Ögüt y otros, 2012). Es sabido que muchos celomicetes, al igual que los aquí encontrados, son fáciles de manipular y muestran una gran capacidad para producir niveles altos de inóculo en el laboratorio por lo cual algunos han sido estudiados para el desarrollo de micoherbicidas contra distintas malezas. Por ejemplo, *Boeremia exigua* en *Taraxacum officinale* (Stewart-Wade y Boland, 2004), *Phoma commelinicola* en *Commelina diffusa* (Boyette y otros, 2015) y *Phoma destructiva* en *Cirsium arvense*. Este último se trata de un hongo necrótrofo que causa infección sistémica, clorosis y que además puede reducir el crecimiento y reproducción de la maleza (Kruess, 2002)

El desarrollo radical contribuye a la capacidad regenerativa de la maleza, un factor clave que le permite competir efectivamente con pasturas deseables. Los patógenos que atacan la raíz podrían ser considerados para el control biológico de carda debido al daño que producen. Estos agentes reducen el almacenaje de reservas necesario para la floración lo que puede resultar en una producción reducida de capítulos e incluso muerte de plantas, actuando en el estadio más significativo de la maleza (Skipp y otros,

2013). *S. sclerotiorum* se caracteriza por ser un hongo altamente virulento y agresivo en una amplia diversidad de malezas (Sands y otros, 1990). El daño que provoca sobre la planta es alto, pero presenta el problema de poseer un amplio rango de hospedantes. A pesar de ello, se han propuesto mutantes auxotróficos para ser utilizados como microherbicidas, para el control de diversas especies, por ejemplo *Cirsium arvense* en EEUU (Brosten y Sands, 1986; Cripps, 2012). Los mutantes se aplican sobre la maleza con determinados nutrientes (aminoácidos), sin ellos, el patógeno podría no infectar, por lo que se logra un efecto localizado y no residual. Sin embargo, se indica que estos mutantes han tenido menor impacto sobre la maleza que las cepas salvajes (Miller y otros, 1989; Duke y otros, 2015). En EEUU también se comercializan como microherbicidas cepas de *Sclerotinia minor* que producen escasos esclerocios, para el control de dicotiledóneas, lo cual también ayuda a producir un efecto puntual reduciendo el riesgo que afecte otras especies (Hershenhorn y otros, 2016; Cordeau y otros, 2016).

*Rhizoctonia* es un género de hongos que incluye el patógeno cosmopolita *R. solani*, saprófito en el suelo que eventualmente causa pudrición de raíces en muchas especies (Ogoshi, 1987). Grey y otros (1995) encontraron en diferentes malezas gramíneas una disminución del vigor causada por *R. solani*, aunque comparado con otros hongos del suelo, este efecto fue bajo. Sin embargo, algunos autores señalan un buen potencial para aprovechar el daño provocado por este hongo, utilizando otras formas de control que actúen en forma sinérgica. De hecho, es probable que el alto grado de daño observado durante estos estudios, se deba al efecto del patógeno en combinación con algún otro factor que aún no se ha podido identificar. Caesar (2003) comprobó que la combinación del insecto *Apthona* sp. con *Rhizoctonia* ocasionaba grandes niveles de daño sobre las malezas *Euphorbia esula* y *E. virgata*. Por su parte, Quimby y otros (1992) indican que tratamientos con glifosato inducen un “pulso” de *Rhizoctonia*, estimulando la pudrición de raíces. King (1998) condujo ensayos preliminares en invernáculo donde cuantificó los efectos de *R. solani* aplicado al suelo. El hongo logró reducir el peso seco en un 20 y 30% luego de 6 semanas en *Avena fatua* y *Aegilops cylindrica*, respectivamente. El estudio de King (1998) incluyó también un experimento a campo en el cual se inoculó el suelo con cepas de *R. solani*, se pulverizó glifosato y luego se plantó avena y cebada. El peso medio de las semillas cosechadas en ambas especies fue reducido en un 20% comparado con el testigo. Esto evidencia el mayor efecto que produce *Rhizoctonia* sobre plantas luego de una aplicación de

herbicida. Debido a la difícil manipulación en el laboratorio de *Rhizoctonia* para producir inóculo, un control biológico con enfoque conservativo podría ser utilizando para el manejo de carda, aprovechando el efecto de los herbicidas a bajas dosis que provoquen “pulsos” del patógeno ya presente en el suelo. Esto dependerá, desde ya, de su identificación completa y de la determinación de su rango de hospedantes y el conocimiento de los grupo/s anastomósico/s (razas) que ataque/n a la carda, para así evaluar si este planteo se puede aplicar sin que se afecten especies deseadas.

Los hongos biótrofos son muy usados en el control biológico clásico, por su reducido rango de hospedantes, habilidad para dispersarse rápidamente y su poder destructivo (Butt y otros, 2001), especialmente aquellos pertenecientes al orden Uredinales (“royas”). Según la literatura, no se han encontrado hasta ahora royas asociadas a *D. fullonum* y en consecuencia en otros países se han propuesto para su introducción otros patógenos biótrofos como los oídios *Sphaeroteca dipsacearum*, *Erysiphe knautiae* y el mildiu *Peronospora dipsaci*. En Argentina, ninguna de estas especies ha sido encontrada hasta el momento, por lo que en el futuro podría llegar a considerarse su introducción para la aplicación del control biológico clásico, en caso de que alguno de ellos resultase exitoso en alguna otra parte del mundo. Por lo pronto, se sabe que *S. dipsacearum* se ha encontrado en siete géneros hospedantes, todos pertenecientes a la familia Dipsacaceae mientras que *Erysiphe knautiae*, se ha encontrado solo en dos especies fuera de esta familia (*Papaver anomalum* y *Saxifraga manchuriensis*) (Rector y otros, 2006).

## 6.5. Conclusiones

Como se esperaba, algunos de los patógenos registrados son generalistas residentes, que deben haber pasado a *D. fullonum* a partir de plantas enfermas de otras especies. Sin embargo, *C. elongata* y *A. dipsaci*, son específicos y presumiblemente exóticos, que deben haber llegado a nuestro país junto con las semillas de la maleza, por lo tanto se rechaza la hipótesis planteada.

En síntesis, en base a los resultados de esta investigación y con el conocimiento adquirido hasta la fecha, surge que el hongo *C. elongata* es el que reúne las mejores cualidades para ser utilizado como agente de control biológico en un plan de manejo integrado, aplicando la estrategia de conservación y/o fomento. Con el fin de

incrementar su nivel de daño se deberían realizar estudios en relación a su compatibilidad con otras prácticas de manejo, como la aplicación de herbicidas a bajas dosis, la cual podría estimular el desarrollo de una epidemia al interferir en los mecanismos de defensa de una maleza haciéndola más susceptible. En caso que este hongo no resultara efectivo, *A. dipsaci* podría ser una opción alternativa.

## **Capítulo VII**

### **Consideraciones generales y perspectivas a futuro**

## 7.1. Consideraciones generales

A partir de las hipótesis planteadas y los objetivos definidos, se desarrollaron los distintos experimentos que forman parte de la presente tesis, y que han contribuido con información novedosa y relevante que ayuda a explicar en gran parte la amplia distribución de *D. fullonum* en la Provincia de Buenos Aires y su elevada capacidad de dispersión, así como también se realiza un aporte que sirve directamente en la aplicación de metodologías de control.

*D. fullonum* se reproduce únicamente a través de semillas. Luego de evaluar la producción por planta de las mismas, se determinó que puede superar las 15.000 semillas. Esta cantidad depende en gran medida del número de capítulos por planta y del número de semillas que presentan esos capítulos. Además, este valor varía según el nivel de competencia intraespecífica, disminuyendo cuando los individuos de carda se encuentran muy próximos entre sí. De acuerdo a esto, se esperaría que cuando arriba a un nuevo sitio, las plantas presentarían un mayor potencial de producción de semillas. Otro aspecto destacable es que las semillas evaluadas presentaron una alta capacidad para germinar (>90%) en condiciones óptimas y el proceso se produjo en un rango amplio de condiciones ambientales. Las semillas de carda germinaron entre valores de pH de 3 y 12. Además, ocurrió en un rango amplio de temperatura constante (8 y 34°C), presentando un óptimo en los 22°C con valores superiores al 90%. Asimismo, se destaca que esos valores se presentaron en condiciones de total oscuridad, por lo tanto se manifestó como independiente del fotoperiodo. Por otra parte, las semillas germinaron en condiciones de moderado estrés hídrico (hasta -0,8 MPa) y elevado estrés salino (hasta 320 mM de NaCl), esto último indica un comportamiento similar a especies halófitas. La habilidad para germinar bajo ambas situaciones en el suelo, supone una ventaja ecológica importante para las malezas, ya que estas condiciones son limitantes para otras especies. Sumado a ello, mantuvieron una alta capacidad para germinar por un período mayor a un año, independientemente de la temperatura a la que estuvieron expuestas e incluso en condiciones de saturación hídrica. Este carácter es de fundamental interés para entener el potencial de dispersión de la maleza tanto en el tiempo como en el espacio.

El banco de semillas del suelo también juega un rol ecológico importante. En cuanto a su dinámica, se observó que alrededor de un 30% de las semillas de *D. fullonum* que se depositan en el suelo, pueden permanecer viables en el mismo por un

período de tres años. En consecuencia, las prácticas de manejo deberían realizarse por lo menos por el término de cuatro años. Además, la mayor parte de las plántulas emergen rápidamente luego de la caída al suelo desde la planta madre concentrándose fundamentalmente en el otoño. Se observó que no todas las semillas germinan inmediatamente, presumiblemente porque no encuentran el conjunto de condiciones para germinar inmediatamente o por procesos de dormición secundaria, lo cual promueve su dispersión en el tiempo. La aplicación de cualquier medida de control en ese momento evitaría el establecimiento de nuevas plantas. Además, la emergencia ocurre hasta los 5 cm de profundidad, independientemente de la textura del suelo, por lo cual este no sería un factor limitante para el proceso mencionado. Por lo tanto, en ambientes donde sea factible la labranza del suelo, debería ser de tal forma que se logren enterrar las semillas más allá de la profundidad indicada.

Aunque *Dipsacus fullonum* suele ser citada como una especie bianual, las plantas tienen capacidad de reproducirse en el término de un año y esto depende de las condiciones ambientales que atraviese la planta que den a lugar a plantas de mayor tamaño al finalizar el invierno. En estado vegetativo se presentaría una mayor capacidad competitiva con otras especies, siendo explicada por la morfología de las hojas de la roseta, sus elevados índices foliares y altas tasas de crecimiento relativo en estado vegetativo. A pesar de que presentan una elevada proporción de lámina, la presencia de aguijones evita el pastoreo por especies silvestres y domesticadas, lo que supone una ventaja ecológica. Por otra parte, la raíz juega un rol central en el almacenamiento de reservas que sirve para sustentar los tejidos reproductivos. La altura máxima promedio (mayor a 1m) se observó en verano. Las mayores tasas de crecimiento tanto aérea como radical se encontraron en los primeros estadios (otoño) y en prefloración (primavera). Estos períodos serían los más propicios para la aplicación de herbicidas sistémicos, ya que el mayor esfuerzo de la planta en producir nuevas estructuras favorece al transporte y la acción de dichos compuestos.

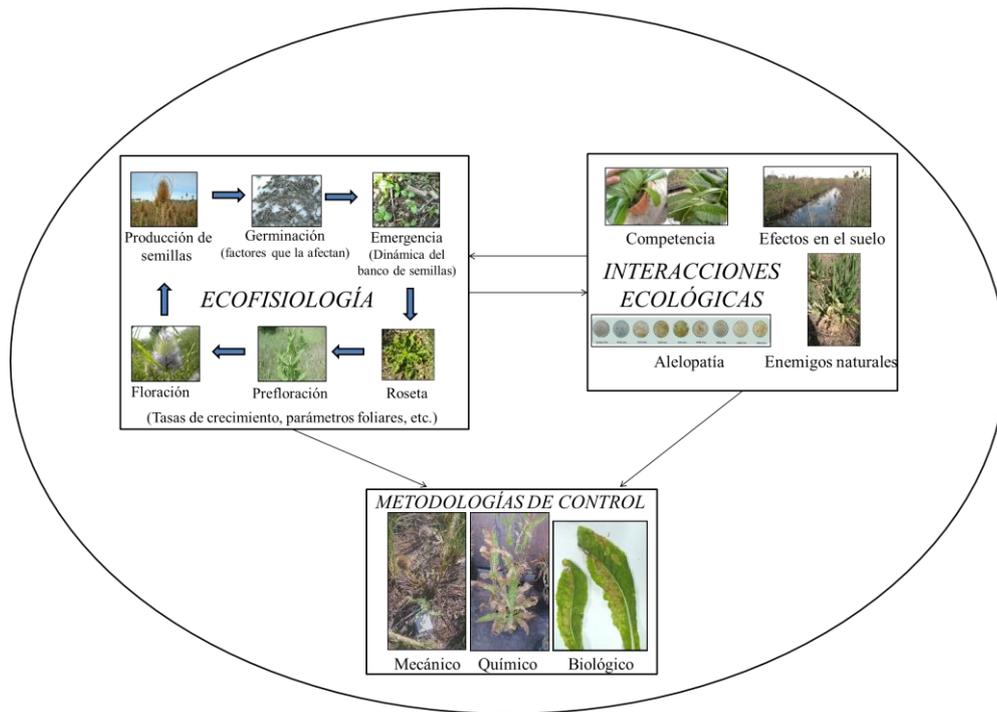
Se demostró que *Dipsacus fullonum* ejerce interferencia sobre especies de interés y en suelos típicos de la provincia de Buenos Aires. En primer lugar, se dilucidó que la habilidad competitiva es otro factor que contribuye a la expansión de carda. Esta maleza evidenció alta habilidad frente a especies nativas presentes en ambientes de la Provincia de Buenos Aires y habilidad intermedia para competir con gramíneas exóticas. En segundo lugar, los efectos fitotóxicos producidos en la germinación de diferentes especies evaluadas indican la presencia de metabolitos secundarios que

también podrían contribuir a su éxito invasor. Además la tolerancia diferencial de las especies observada permite inferir que estos metabolitos se producen fundamentalmente en tejidos foliares y más que nada en estado vegetativo. Esto junto con las tasas de crecimiento encontradas, demuestran también el rol central que posee el estadio de rosetas en la supresión de otras especies. Según los resultados obtenidos, *Thinopyrum ponticum* fue el que demostró un mejor comportamiento compitiendo con carda y mayor tolerancia a los efectos fitotóxicos de distintas soluciones en la germinación, seguido por *Festuca arundinacea*, luego por *Nassella clarazii* y finalmente *Nassella tenuis*. Dependiendo de los fines que se persigan, festuca y agropiro podrían ser potenciales candidatos para su uso en siembras de sitios invadidos luego de aplicar alguna herramienta de control sobre *D. fullonum*. Estas podrían ser utilizadas para pastoreo como primera estrategia y luego paulatinamente ser reemplazadas por gramíneas nativas con la finalidad de poder restaurar los ambientes invadidos. En tercer lugar, en coincidencia con muchas otras especies invasoras, los densos parches de carda producen modificaciones en las características del suelo incrementando los niveles de nitrógeno en forma de nitrato y la capacidad de intercambio catiónico. El conocimiento de la magnitud y dirección de la alteración de los procesos ocurridos en el suelo por una especie invasora sirve de base para conducir esfuerzos en planes de restauración de ambientes invadidos.

Evaluando diferentes técnicas de manejo de amplio uso, esta especie demostró tolerancia al control químico utilizando 2,4-D y una mayor susceptibilidad al herbicida glifosato. El control mecánico por cortes se constituye como una alternativa eficiente en la reducción de parámetros reproductivos. Sin embargo, ambas técnicas de manejo dependen fundamentalmente del momento en que se realizan, debiéndose optar por el control químico en estadios tempranos de la maleza y por el corte únicamente en floración con el fin de obtener los mejores resultados. En el primer caso, se explicaría en gran parte debido a que las tasas de crecimiento que presentaba la especie en fechas tempranas son las más altas y porque se produce la acumulación de reservas en la raíz para sustentar a futuro las estructuras reproductivas. En el segundo caso, coincide con los momentos en que la raíz presenta tasas de crecimiento negativas, en el cual se infiere que para ese periodo la planta destinó gran parte de los fotoasimilados para la formación de estructuras reproductivas, cuando se efectúa un corte en este momento, la planta no demuestra habilidad para rebrotar.

Finalmente, en las condiciones locales, se han encontrado diversos agentes patógenos que atacan a *D. fullonum* que podrían ser incorporados en el marco de control biológico de conservativo o de fomento. Según las características deseables que presentan estos agentes, como la especificidad, la facilidad de manipularlos en el laboratorio y su frecuencia en la naturaleza, se considera que en primer lugar el hongo *Cercospora elongata* y en segundo lugar *Ascochyta dipsaci*, son dos candidatos promisorios para poner en práctica este enfoque. Debido a que su nivel de daño observado a campo es relativamente bajo, su aplicación debería estar asociada a alguna de las prácticas de manejo evaluadas que eleven la susceptibilidad de la maleza a ser atacadas por estos patógenos y generen un daño considerable, por ejemplo el uso de herbicidas.

Las estrategias propuestas no son suficientes para lograr un control óptimo de manera definitiva, si se las utilizan en forma aislada. En general, se considera una apropiada aproximación para controlar una maleza invasoras, la utilización de estudios de biología y control en un plan integrado de manejo de la especie problema. Esta perspectiva involucra la complementación de los conocimientos existentes y las técnicas disponibles, los cuales apuntan a ser aplicados de manera racional y en los momentos adecuados, para poder lograr los máximos beneficios. Además, debe tener un mínimo impacto sobre la calidad ambiental, factor crucial en la conservación de áreas naturales. Resulta fundamental la conjugación de los métodos de control evaluados con el estudio realizado sobre la biología y ecología de la maleza, que en forma conjunta con medidas preventivas, servirán como base para el manejo integrado de *D. fullonum* (Fig. 7.1).



**Figura 7.1.** Resumen esquemático que relaciona los temas tratados en la tesis en referencia a los estudios biocológicos de *Dipsacus fullonum* y herramientas de control propuestas.

## 7.2. Líneas futuras de investigación

La presente tesis ha generado un aporte valioso al conocimiento de la especie en Argentina, sin embargo es posible profundizar algunos aspectos que podrían resultar de interés y que contribuirían a complementar la información generada.

Sería interesante determinar la influencia de las condiciones ambientales a las que son expuestas plantas madres sobre la germinación y emergencia de las semillas, que dan a lugar a una variación interanual y entre localidades, de modo de evaluar la plasticidad fenotípica de la especie. Además sería importante dilucidar la interacción entre varios factores sobre la germinación de las semillas y el comportamiento del crecimiento de la maleza en diferentes condiciones de estrés ambiental, como el salino, el déficit hídrico y la saturación de agua, todo esto con el fin de predecir de manera más exacta los sitios que puede invadir.

Se hace necesario estudios adicionales en cuanto a los efectos fitotóxicos registrados a partir de la utilización de soluciones realizadas con tejidos sobre la germinación de especies nativas y cultivadas en condiciones de campo. Por ejemplo, se

deberían realizar estudios a nivel bioquímico donde se identifique/n el/los compuesto/s involucrado/s y se evalúe/n aisladamente para corroborar los efectos encontrados.

Finalmente, se deberían conducir experimentos que integren las técnicas de control evaluadas. Para ello, en el presente caso a futuro sería necesario establecer cuáles son las condiciones de incubación óptimas para la esporulación de los hongos seleccionados en medio de cultivo artificial y desarrollar un protocolo para la producción masiva de inóculo para ser aplicado a campo. Adicionalmente, sería útil conocer la concentración de inóculo y las condiciones ambientales óptimas para que se produzca la infección y el desarrollo de la enfermedad. Por otra parte, se requieren abordar estudios que investiguen la tolerancia de los patógenos a determinados herbicidas para establecer la factibilidad de aplicarlos de manera conjunta. Si esto último fuese posible, finalmente se deberían determinar los efectos sobre el crecimiento de *D. fullonum* de ambos métodos combinados.

## Bibliografía

- Abràmoff, M.J.; Magalhaes, P.J. y Ram, S.J. 2004. Image processing with Image J. *Biophotonics International* 11: 36-43.
- Acciaresi, H.A.; Sobrero, M.T. y Leguizamón, E.S. 2014. Interacción maleza-cultivo I: Competencia, teorías, recursos y factores; estrategias competitivas. En: Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. *Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo*. EdiUNS. Pp.: 175-201.
- Acosta, J.M.; Bentivegna, D.J.; Panigo, E.S.; Dellaferrera, I. y Perreta, M.G. 2013. Factors affecting seed germination and emergence of *Gomphrena perennis*. *Weed Research* 53: 69–75.
- Ahmed, M. y Wardle, D.A. 1994. Allelopathic potential of vegetative and flowering ragwort (*Senecio jacobaea* L.) plants against associated pasture species. *Plant and Soil* 164: 61-68.
- Alderman. S.C. y Beute, M. K. 1986. Influence of temperature and moisture on germination and germ tube elongation of *Cercospora arachidicola*. *Phytopathology* 76: 715-719.
- Alves de Figueiredo, M. 2015. Interações entre os herbicidas 2,4D e glifosato: aspectos químicos, bioquímicos e fisiológicos. Dissertação Mestre em Ciências. Universidade de São Paulo. Brasil. 114 pp.
- Anderson, F.E. 2001. Enfermedades de plantas endémicas o raras de la región de Bahía Blanca: estudios etiológicos y epidemiológicos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. 252 pp.
- Arjenaki, F.G.; Jabbari, R. y Morshedi, A. 2012. Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4:726-729.
- Arregui, C. y Puricelli, E. 2013. Mecanismos de acción de plaguicidas. Ed. UNR. 265 pp.
- Ashrafi, Z.Y.; Sadeghi, S. y Mashhadi, H.R. 2009. Inhibitive effects of barley (*Hordeum vulgare*) on germination and growth of seedling quack grass (*Agropyrum repens*). *Iceland Agriculture Science* 22: 37-43.
- Baker, H.G. 1986. Patterns of plant invasion in North America. En: Mooney, H.A. y Drake, J.A. (eds.) *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii*. New York: Springer-Verlag Pp. 44–57.
- Beaton, L.L. y Dudley, S.A. 2004. Tolerance to salinity and manganese in three common roadside species. *International Journal of Plant Science* 165: 37-51.
- Beaton, L.L. y Dudley, S.A. 2007. The impact of solute leaching on the salt tolerance during germination of the common roadside plant *Dipsacus fullonum* subsp. *sylvestris* (Dipsaceae). *International Journal of Plant Science* 168: 317-324.
- Beaton, L.L. y Dudley, S.A. 2013. Tolerance of roadside and old field populations of common teasel (*Dipsacus fullonum* subsp. *sylvestris*) to salt and low osmotic potentials during germination. *AoB PLANTS* 5, plt001; doi:10.1093/aobpla/plt001.
- Beck, K.G.; Zimmerman, K.; Schardt, J.D.; Stone, J.; Lukens, R.R.; Reichard, S.; Randall, J.; Cangelosi, A.A.; Cooper, D. y Thompson, J.P. 2008. Invasive species

- defined in a policy context: recommendations from the federal invasive species advisory committee. *Invasive Plant Science and Management* 1: 414-421.
- Benech Arnold, R.L.; Batlla, D.; Guglielmini, A.C. y Kruk, B.C. 2014. La reanudación del crecimiento y el aumento del área. En: Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. *Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo*. EdiUNS. Pp. 139-169.
- Benfield, C.B.; DiTomaso, J.M.; Kyser, G.B.; Orloff, S.B., Churches, K.R.; Marcum, D.B. y Nader, G.A. 1999. Success of mowing to control yellow starthistle depends on timing and plant's branching form. *California Agriculture* 53: 17-21.
- Bentivegna, D.J. 2006. Biology and management of cut-leaved teasel (*Dipsacus laciniatus* L.) in central Missouri. Tesis de Magister. University of Missouri. 67 pp.
- Bentivegna, D.J. 2008. Integrated management of the invasive weed, Cut-leaved teasel (*Dipsacus laciniatus* L.) along a Missouri Highways. Tesis doctoral. University of Missouri. 132 pp.
- Bentivegna, D.J. y Smeda, R.J. 2008. Chemical Management of Cut-Leaved Teasel (*Dipsacus laciniatus*) in Missouri. *Weed Technology* 22: 502-506.
- Bentivegna, D.J. y Smeda, R.J. 2011a. Cutleaf Teasel (*Dipsacus laciniatus* L.): Seed development and persistence. *Invasive Plant Science and Management* 4: 31-37.
- Bentivegna, D.J. y Smeda, R.J. 2011b. Seed production of cut-leaved teasel (*Dipsacus laciniatus*) in central Missouri. *Biologia* 66: 807-812.
- Bentivegna, D.J. y Smeda, R.J. 2012. Integrated management of cutleaf teasel (*Dipsacus laciniatus*) along roadsides in Missouri, USA. *International Journal of Pest Management* 58: 147-152.
- Bentivegna, D.J. y Zalba, S.M. 2014. Plantas Invasoras. En: *Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo*. Tomo I. (Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. Eds.). EdiUNS. Pp.: 231-266.
- Benvenuti, S.; Macchia, M. y Miele, S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science* 49: 528-535.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. *Seeds: Physiology of development and germination*. Plenum. Nueva York, EEUU. 445 pp.
- Bezic, C.R. 2010. Ecología y control de la maleza invasora *Acroptilon repens* L. en el Valle Inferior del Río Negro. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. 212 pp.
- Bilenca, D. y Miñarro, F. 2004. Identificación de áreas valiosas de pastizal en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires. 323 pp.
- Boerema, G.H.; de Gruyter, J.; Noordeloos, M.E. y Hamers, M.E.C. 2004. *Phoma identification manual*. CABI Publishing. EEUU. 470 pp.
- Boland, G.J. y Hall, R. 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16: 93-108.
- Bond, J.A. y Oliver, L.R. 2006. Comparative growth of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) accessions. *Weed Science* 54: 121-126.

- Booker, H.M., y Umaharan, P. 2008. Quantitative resistance to *Cercospora* leaf spot disease caused by *Pseudocercospora cruenta* in cowpea. *Euphytica* 162: 167-177.
- Boyette, C.D.; Hoagland, R.E. y Stetina, K.C. 2015. Biological control of spreading dayflower (*Commelina diffusa*) with the fungal pathogen *Phoma commelinicola*. *Agronomy* 5: 519-536.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13: 115-155.
- Brosten, B.S. y Sands, D.C. 1986. Field trials of *Sclerotinia sclerotiorum* to control Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science* 34: 377-380.
- Burns, J.H. y Winn, A.A. 2006. A comparison of plastic responses to competition by invasive and non-invasive congeners in the Commelinaceae. *Biological Invasions* 8: 797-807.
- Busso, C.A.; Bentivegna, D.J. y Fernández, O.A. 2013. A review on invasive plant in rangelands of Argentina. *Interciencia* 38: 95-103.
- Butt, T.M.; Jackson, C.W. y Magan, N. 2001. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. CABI Publishing. 390 pp.
- Cabrera Walsh, G.; Briano, J.; de Briano, A. y Anderson, F.E. 2014. Control biológico de las malezas. 2014. En: Malezas e Invasoras de la Argentina, Tomo I: Ecología y Manejo. EdiUNS. Pp. 805-826.
- Cabrera, A. 1963. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Colección científica del INTA IV. Buenos Aires. 623 pp.
- Cabrera, A. 1971. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Fascículo 1 Regiones Fitogeográficas Argentinas. Ed. ACME, Buenos Aires. 85 pp.
- Caesar, A.J. 2003. Synergistic interaction of soilborne plant pathogens and root-attacking insects in classical biological control of an exotic rangeland weed. *Biological Control* 28: 144-153.
- Callaway, R.M. y Ascheboug, E.T. 2000 Invasive plants versus their new and old neighbours: a mechanism for exotic invasions. *Science* 290: 521-523.
- Campos, R.E. y Fernández, L. 2011. Coleopterans associated with plants that form phytotelmata in subtropical and temperate Argentina, South America. *Journal of Insect Science* 2: 1-18.
- CASAFE. 2011. Guía de Productos Fitosanitarios. 1978 pp.
- Caswell, H. y Werner, P.A. 1978. Transient behavior and life history analysis of teasel (*Dipsacus sylvestris* Huds.). *Ecology* 59: 53-66.
- Chachalis, D. y Reddy, K. 2000. Factors affecting *Campsis radicans* seed germination and seedling emergence. *Weed Science* 48: 212-216.
- Charudattan, R. 2001. Biological control of weeds by means of plant pathogens: Significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *BioControl* 46: 229-260.
- Charudattan, R.; Linda, S.B.; Kluepfel, M. y Osman, Y.A. 1985. Biocontrol efficacy of *Cercospora rodmanii* on waterhyacinth. *Phytopathology* 75: 1263-1269.

- Chauhan, B.S. y Johnson, D.E. 2008. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of *Eclipta* (*Eclipta prostrata*) in a tropical environment. *Weed Science* 56: 383–388.
- Chauhan, B.S.; Gill, G. y Preston, C. 2006. Factors affecting seed germination of annual sowthistle (*Sonchus oleraceus*) in southern Australia. *Weed Science* 54: 854–860.
- Chen, H. y Maun, M.A. 1999. Effects of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Cirsium pitcheri*. *Plant Ecology* 140: 53–60.
- Chessman, O.D. 1998. The impact of some field boundary management practices on the development of *Dipsacus fullonum* L. flowering stems, and implications for conservation. *Agriculture, Ecosystem & Environment* 68: 41-49.
- Chuko, H. y Hanyu, Y. 1990. Growth characteristics of teasel (*Dipsacus fullonum* L.). *Japanese Journal of Crop Science* 59: 461–468.
- Chupp, C.H. 1953. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. Ithaca. 667 pp.
- Cipollini M.L. y Whigham D.F. 1994. Sexual dimorphism and cost of reproduction in the dioecious shrub *Lindera benzoin* (Lauraceae). *American Journal of Botany* 8: 65-75.
- Conway, K.E. 1976. *Cercospora rodmanii*, a new pathogen of water hyacinth with biological control potential. *Canadian Journal of Botany* 54: 1079-1083.
- Cook, J.C.; Charudattan, R.; Zimmerman, T.W.; Roskopf, E.N.; Stall, W.M. y MacDonald, G.E. 2009. Effects of *Alternaria destruens*, glyphosate, and ammonium sulfate individually and integrated for control of dodder (*Cuscuta pentagona*). *Weed technology* 23: 550-555.
- Cooper, C.A. 2012. *Melinis repens* Seed Bank Longevity in Miami-Dade County. FIU Electronic Theses and Dissertations. 27 pp.
- Copeland, L.O. 1976. Seed viability and viability testing. En: Principles of seed science and technology, Burgess Publishing Company, Minneapolis, EEUU. Pp. 103-120.
- Corbin, J.D. y D'Antonio, C.M. 2002. Effects of exotic species on soil nitrogen cyclin: implication for restoration. *Weed technology* 18: 1464-1467.
- Cordeau, S.; Triolet, M.; Wayman, S.; Steinberg, C. y Guillemain, J.P. 2016. Bioherbicides: dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. *Crop Protection* 87: 44-49.
- Cordo, H. 2004. El Control Biológico de Malezas, una alternativa factible para la lucha contra las plantas invasoras exóticas en Áreas Protegidas de la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 63: 1-9.
- Cripps, M.G.; Bourdôt, G.W. y Bailey, K.L. 2012. Plant pathogens as biocontrol agents for *Cirsium arvense* – an answer to Müller and Nentwig. *NeoBiota* 13: 31–39.
- Cuevas, Y.A. y S.M. Zalba. 2009. Control de pinos invasores en el Parque Provincial Ernesto Tornquist (Buenos Aires): áreas prioritarias y análisis de costos. *BioScriba* 2: 76-89
- D'Antonio, C. y Meyerson, L.A. 2002. Exotic plant species as problems and solutions in ecological restoration: a synthesis. *Restoration Ecology* 10: 703–713.
- Dalla Salda, L.; Spalletti, L.; Poiré, D.; De Barrio, R.; Echeveste, H. y Benialgo, A. 2006. Tandilia. Serie correlación geológica, 21: 17-46.

- Damos, R. y Parrish, J.A.D. 2013. The effects of the herbicides aminopyralid and glyphosate on growth and survival of *Dipsacus laciniatus* (Dipsacaceae) rosettes with different taproot diameters. Illinois State Academy of Science. Transactions 106: 35-37.
- Davidson, A.M. y Nicotra, A.B. 2012. Beware: alien invasion. Where to next for an understanding of weed ecology? *New Phytologist* 194:602–605.
- Davis, A.S.; Cardina J.; Forcella, F.; Johnson, G.A.; Kegode, G.; Lindquist, J.L.; Luschei, E.C.; Renner, K.A.; Sprague, C.L. y Williams, M.M. II. 2005. Environmental factors affecting seed persistence of annual weeds across the U.S. corn belt. *Weed Science* 53: 860–868.
- Delhey, R.; Kiehr, M.; Allievi, M.I.; Lusto, J.; Frayssinet, S.; Sidoti Hartmann, B.; Kröger, I.; Paoloni, P.J., Zappacosta, D. y Servera, A. 2009. Sclerotinia sclerotiorum en plantas cultivadas e invasoras del sur pampeano y norte patagónico, Argentina. *Phyton* 78: 111-115.
- Dhingra, O.D. y Sinclair, J.B. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press. Boca Raton. 355 pp.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C.W. 2015. InfoStat, Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Diarra, A.; Smith Jr., R.J. y Talbert, R.E. 1985. Growth and morphological characteristics of red rice (*Oryza sativa*) biotypes. *Weed Science* 33: 310-314.
- Distel, R.A.; Peláez, D.V. y Fernández, O.A. 1992. Germination of *Piptochaetium napostaense* (Speg.) Hackel and *Stipa tenuis* Phil. and seedling survival under field conditions. *Rangeland Journal* 14: 49-55.
- DiTomaso, J. M.; Enloe S. F. y Pitcairn, M.J. 2007. Exotic plant management in California annual grasslands. En: Stromberg, M. R.; Corbin, J.D. y D'Antonio, C. M. (Ed.). Ecology and management of California grasslands. University of California Press, Berkeley. Pp. 281–296.
- DiTomaso, J.M. 2000. Invasive weeds in rangelands: species, impacts, and management. *Weed Science* 48: 255-265.
- Drew, A.P. y Bazzaz, F.A. 1982. Effect of night temperature on daytime stomatal conductance in early and late successional plants. *Oecologia* 54: 76-79.
- Dudley, M.P.; Parrish, J.A.D.; Post, S.L.; Helm, C.G. y Wiedenmann, R.N. 2009. The effects of fertilization and time of cutting on regeneration and seed production of *Dipsacus laciniatus* (Dipsacaceae). *Natural Areas Journal* 29: 140-145.
- Dugan, F.M. y Rector, B.G. 2007. Mycoflora of seed of common teasel (*Dipsacus fullonum*) in Washington State. *Pacific Northwest Fungi* 2: 1-10.
- Duke S.O.; Scheffler, B.E.; Boyette, C.D y Dayan, F.E. 2015. Biotechnology in weed control. En: Kirk, O. (Ed.) Encyclopedia of chemical technology; John Wiley & Sons, Inc. New York, EEUU. Pp. 1–25.
- Ebrahimi, E. y Eslami, S.V. 2012. Effect of environmental factors on seed germination and seedling emergence of invasive *Ceratocarpus arenarius*. *Weed Research* 52: 50-59.
- Egley, G.H. y Duke S.O. 1985. Physiology of weed seed dormancy and germination. En: Weed physiology, reproduction and ecophysiology. Duke S.O. CRC Press. Boca Ratón, EEUU. Pp. 27–64.

- Ehlert, K.A.; Mangold, J.M. y Engel, R.E. 2014. Integrating the herbicide imazapic and the fungal pathogen *Pyrenophora semeniperda* to control *Bromus tectorum*. *Weed Research* 54: 418-424.
- Ehrenfeld, J.G. 2003. Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6: 503-523.
- Ehrenfeld, J.G.; Kourtev, P. y Huang, W. 2001. Changes in soil functions following invasions of exotic understory plants in deciduous forests. *Ecological Applications* 11: 1287-1300.
- Eilenberg, J.; Hajek, A. y Lomer C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46: 387-400.
- Elizalde, J.H.I.; García, L.F.; Maidana, A.C. y Lallana, V.H. 2007. Germinación y viabilidad de semillas de *Eryngium horridum* Malme almacenadas en laboratorio. *Revista Científica Agropecuaria* 11: 121-127.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. 608 pp.
- Elmqvist T.; Cates R.G.; Harper J.K. y Gardfjell H. 1991. Flowering in males and females of a Utah willow, *Salix rigida*, and effects on growth, tannins, phenolic glycosides and sugars. *Oikos* 61:65-72.
- Espeland, E.K. y Kilian, R. 2015. Low-dose Glyphosate does not control annual bromes in the Northern Great Plains. *Invasive Plant Science and Management* 8: 334-340.
- Evans, H.C.; Greaves, M.P. y Watson, A.K. 2001. Fungal biocontrol agents of weeds. En: Butt, T.M; Jackson, C.W. y Magan, N. *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. CABI Publishing. Pp. 169-192.
- Faccini, D.; Nisensohn, L.; Tuesca, D.; Carné, I. y Guerrero, P.T. 2013. Control de *Dipsacus fullonum* L. con herbicidas postemergentes. VII Jornada de Ciencia y Tecnología Universidad Nacional de Rosario. <http://www.unr.edu.ar/noticia/7444/vii-jornada-de-ciencia-y-tecnologia-sexta-entrega-de-resumenes>. Último Acceso: 2 de noviembre del 2016.
- Faccini, D.E. y Nisensohn, L.A. 1994. Dinámica de la población de yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* H.B.K.). Influencia de los tratamientos químicos y mecánicos en un cultivo de soja. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 29: 1041-1050.
- Farr, D.F. y Rossman, A.Y. 2016. Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory, ARS, USDA. Disponible en: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. 10 de noviembre del 2016.
- Feber, R.E.; Smith, H. y Macdonald, D.W. 1996. The effects on butterfly abundance of the management of uncropped edges of arable field. *Journal of Applied Ecology* 33: 1191-1205.
- Femina, D.; Lakshmipriya, P.; Subha, S. y Manonmani, R. 2012. Allopathic effect of weed (*Tridax procumbens* L.) extract on seed germination and seedling growth of some leguminous plant. *International Journal of Pharmacy* 3: 90-95.
- Feng, Y.; Wang, J. y Sang, W. 2007. Biomass allocation, morphology and photosynthesis of invasive and non-invasive exotic species grown at four irradiance levels. *Acta Oecologica* 31: 40-47.

- Ferguson, I.K. y Brizicky, G.K. 1965. Nomenclatural notes on *Dipsacus fullonum* and *Dipsacus sativus*. Journal Arnold Arboretum Harvard University 46: 362–365.
- Fernández, O.A. 1982. Manejo Integrado de Malezas. Planta Daninha 5: 69-79
- Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. 2014a. Definiciones Visión y Enfoque. En: Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo. Tomo I (Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. Eds.). EdiUNS: Pp. 1-24.
- Fernández, O.N.; Leguizamón, E.S.; Acciaresi, H.A. y Fernández, O.A. 2014b. El Manejo Integrado de Malezas (MIM). En: Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo. Tomo I (Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. Eds.). EdiUNS. Pp. 825-872.
- Figuroa, R.; Doohan, D.; Cardina, J. y Harrison, K. 2007. Common Groundsel (*Senecio vulgaris*) Seed Longevity and Seedling Emergence. Weed Science 55: 187-192.
- Flint, J.L. y Barrett, M. 1989. Effects of glyphosate combinations with 2,4-D or dicamba on field bindweed (*Convolvulus arvensis*). Weed Science 37: 12-18.
- Fonseca, C.R.; Guadagnin, D.L.; Emer, C.; Masciadri, S.; Germain, P. y Zalba, S.M. 2013. Invasive alien plants in the Pampas grasslands: a tri-national cooperation challenge. Biological Invasions 15: 1751–1763.
- Font Quer, P. 1958. Botánica Pintoresca. Ediciones Península, Barcelona, 719 pp.
- Forcella, E.; Wood, J.T. y Dillon, S.P. 1986. Characteristics distinguishing invasive weeds within *Echium* (Bugloss). Weed Research 26: 351-364.
- Foyer, C.H.; Lelandais, M. y Kunert, K.J. 1994. Photooxidative stress in plants. Physiologia Plantarum 92: 696-717.
- Frantzen, J.; Rossi, F. y Müller-Schärer, H. 2002. Integration of biological control of common groundsel (*Senecio vulgaris*) and chemical control. Weed Science 50: 787-793.
- Fraser, L. H. y Keddy, P. A. 2005. Can competitive ability predict structure in experimental plant communities? Journal of Vegetation Science 16: 571-578.
- Fujii, Y.; Parvaez, S.S.; Parvaez, M.M.; Ohmae, Y. e Iida, O. 2003. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. Weed Biology and Management 3: 233-241.
- Gibson, D.J.; Connolly, J.; Hartnett, D.C. y Weidenhamer, J.D. 1999. Designs for greenhouse studies of interactions between plants. Journal of Ecology 87: 1-16.
- Giolitti, F.; Bejerman, N. y Lenardon, S. 2009. *Dipsacus fullonum*: an Alternative Host of Sunflower chlorotic mottle virus in Argentina. Journal of Phytopathology 157: 325-328.
- Glass, W.D. 1991. Vegetation management guideline: cut-leaved teasel (*Dipsacus laciniatus* L.) and common teasel (*Dipsacus sylvestris* Huds.). Natural Areas Journal 11: 213-214.
- Goldberg, D.E. 1996. Simplifying the study of competition at the individual plant level: consequences of distinguishing between competitive effect and response for forest vegetation management. New Zeland Journal Forest Science 26: 19-38.
- González-Zertuche, L. y Orozco-Segovia, A. 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 58: 15-30.

- Greene, D.F. y Johnson, E.A. 1994. Estimating the mean annual seed production of trees. *Ecology* 75: 642-647.
- Grey, W.E.; Quimby, P.C.; Mathre, D.E. y Young, J. 1995. Potential for biological control of downy brome (*Bromus tectorum*) and medusahead (*Taeniatherum caput-medusae*) with crown and root rot fungi. *Weed Technology* 9: 362–365.
- Grime, J.P. 1973. Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature* 242: 344-347.
- Gross, K.L. 1984. Effects of seed size and growth form on seedling establishment of six monocarpic perennial plants. *Journal of Ecology* 72: 369-387.
- Harizanova, V.; Stoeva, A. y Rector, B. 2012. Host range testing and biology of *Abia sericea* (Cimbricidae), a candidate for biological control of invasive teasels (*Dipsacus* spp.) in North America. *Journal of Hymenoptera Research* 28: 1-11.
- Harker, K.N. y O'Donovan, J.T. 2013. Recent weed control, weed management, and integrated weed management. *Weed Technology* 27: 1-11.
- Hasan, S.; Jourdan, M.; Brun, L. y Sheppard, A.W. 1995. Axenic culture and influence of wetness period and inoculum concentration on infection and development of cercospora blight of *Heliotropium europaeum*. *European journal of plant pathology* 101: 491-496.
- Hasan, S. y Ayres, P.G. 1990. The control of weeds through fungi; principles and prospects. *New Phytologist* 115: 201-222.
- Hauman, L. 1925. Les phanérogames adventices de la flore Argentine. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural* X: 319-345.
- He, H.B.; Wang, H.B.; Fang, C.X.; Lin, Z.H.; Yu, Z.M. y Lin W.X. 2012. Separation of allelopathy from resource competition using rice/barnyardgrass mixed-cultures. *PLoS ONE* 7: e37201. doi:10.1371/journal.pone.0037201
- Hejda, M.; Pyšek, P. y Jarošík, V. 2009. Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *Journal of Ecology* 97: 393-403.
- Herrera-Reddy, A.M.; Carruthers, R.I. y Mills, N.J. 2012. Integrated management of Scotch Broom (*Cytisus scoparius*) using biological control. *Invasive Plant Science and Management* 5: 69-82.
- Hershenhorn, J.; Casella, F. y Vurro, M. 2016. Weed biocontrol with fungi: past, present and future. *Biocontrol Science and Technology* 26: 1313-1328.
- Hillman, J.M. 1997. Potentially allelopathic effects of poison hemlock (*Conium maculatum*) on native plant revegetation at Wilder Ranch State Park. *Symposium Proceedings California Exotic Pest Plant Council*.
- Horak, M.J. y Loughin, T.M. 2000. Growth analysis of four *Amaranthus* species. *Weed Science* 48: 347–355.
- Huarte, H.R.; Pereyra Zorraquín, M. del R.; Bursztyn, E.M. y Zapiola, M.L. 2016. Effects of environmental factors on seed germination and seedling emergence of Common Teasel (*Dipsacus fullonum*). *Weed Science* 64: 421-429.
- Hubbel, S.P. y Werner, P. 1979. On measuring the intrinsic rate of increase of populations with heterogeneous life histories. *American Natural Journal* 113: 277-293.
- Huenneke, L.F. y Thomson, J.K. 1995. Potential interference between a threatened endemic thistle and an invasive non-native plant. *Conservation Biology* 9: 416-425.

- Hurrell, J.A.; Bazzano, D.H. y Delucchi, G. 2007. Dicotiledóneas herbáceas 2: nativas y exóticas. Ed. Literature of Latin America. 288 pp.
- Hyams, D. 2005. CurveExpert 1.3. A comprehensive curve fitting system for Windows.
- Jefferson, L.V. y Pennacchio, M. 2003. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. *Journal of Arid Environments* 55: 275–285.
- Jurica, H.S. 1921. Development of head and flower of *Dipsacus sylvestris*. *Botanical Gazette* 71: 138-145.
- Kempenaar, C.; Horsten, P.J. y Scheepens, P.C. 1996. Growth and competitiveness of common lambsquarters (*Chenopodium album*) after foliar application of *Ascochyta caulina* as a mycoherbicide. *Weed Science* 44: 609-614.
- Kew, R.B.G. 2016. The state of the world's plants report. Royal Botanic Gardens. Kew, Reino Unido. 83 pp.
- Kim, H.; Ridenour, J.B.; Dunkle, L.D. y Bluhm, B.H. 2011. Regulation of stomatal tropism and infection by light in *Cercospora zea-maydis*: evidence for coordinated host/pathogen responses to photoperiod. *PLoS Pathogens* 7: e1002113. doi:10.1371/journal.ppat.1002113
- King, L.R., 1998. Bare patch disease in barley: potential as a biosuppressor of grassy weeds. M.S. Report of Research, Universidad del Estado de Montana, Bozeman, 27 pp.
- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; David, J.C. y Stalpers, J.A. 2001. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi 9º Ed. CAB Intern. Oxon, Inglaterra. 655 pp.
- Kleemann, S.; Chauhan, B. y Gill, G. 2007. Factors affecting seed germination of perennial wall rocket (*Diploaxis tenuifolia*) in southern Australia. *Weed Science* 55: 481-485.
- Klimes L. y Klimesova J. 2001. The effects of mowing and fertilization on carbohydrate reserves and regrowth of grasses: do they promote plant coexistence in species-rich meadows?. *Evolutionary Ecology* 15: 363–382.
- Koger, C.H.; Reddy K.N. y Poston, D.H. 2004. Factors affecting seed germination, seedling emergence, and survival of texasweed (*Caperonia palustris*). *Weed Science* 52: 989-995.
- Kruess, A. 2002. Indirect interaction between a fungal plant pathogen and an herbivorous beetle of the weed *Cirsium arvense*. *Oecologia* 130: 563-569.
- Kyser, G.B. y DiTomaso, J.M. 2013. Effect of timing on chemical control of dalmatian toadflax (*Linaria dalmatica*) in California. *Invasive Plant Science and Management* 6: 362-370.
- Larenas Parada, G.; Viana, D.; Leonor, M.; Chafatinos, T. y Escobar, N.E. 2004. Relación suelo-especie invasora (*Tithonia tubaeformis*) en el sistema ribereño del río Arenales, Salta, Argentina. *Ecología austral* 14: 19-29.
- Leon, R.G.; Ferrell, J.A. y Sellers, B.A. 2016. Seed production and control of sicklepod (*Senna obtusifolia*) and pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) with 2,4-D, Dicamba, and Glyphosate Combinations. *Weed Technology* 30: 76-84.
- Lessani, H. y Mojtahedi, M. 2002. Introduction to plant physiology. Tehran University Press. Theran, Iran. 726 pp.

- Liao, J.D. y Boutton, T.W. 2008. Soil microbial biomass response to woody plant invasion of grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1207-1216.
- Liebman, M. 2001. Managing weeds with insects and pathogens. En: Liebman, M.; Mohler, C.H. y Staver, C.P. *Ecological management of agricultural weeds*. Cambridge University Press. Inglaterra. Pp. 375-408.
- Lindsay, E.A. y French, K. 2005. Litterfall and nitrogen cycling following invasion by *Chrysanthemoides monilifera* ssp. *rotundata* in coastal Australia. *Journal of Applied Ecology* 42: 556-566.
- Lockwood, J.L.; Hoopes, M.F. y Marchetti, M.P. 2007. *Invasion Ecology*. Ed. Blackwell Publishing Ltd. Massachusetts, EEUU. 304 pp.
- Long, M.A. y Grassini, C.M. 1997. Actualización del conocimiento florístico del Parque Provincial Ernesto Tornquist. Informe final del convenio de colaboración recíproca Ministerio de asuntos Agrarios Provincia de Buenos Aires y Universidad Nacional del Sur. 257 pp.
- Lusher, R. 2006. Controlling roadside vegetation in the Midwest. *Right of Way*. Pp. 24-27.
- Mack, R.N.; Simberloff, D.; Lonsdale, W.M.; Evans, H.; Clout M. y Bazzaz, F.A. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Maharjan, S.; Shrestha, B.B. y Jha, P.K. 2007. Allelopathic effects of aqueous extract of leaves of *Parthenium hysterophorus* L. on seed germination and seedling growth of some cultivated and wild herbaceous species. *Scientific World* 5: 33-39.
- Mahoney, K.J. y Kegode, G.O. 2004. Biennial wormwood (*Artemisia biennis*) biomass allocation and seed production. *Weed Science* 52: 246-254.
- Mamolos, A.P. y Kalburtji, K.L. 2001. Competition between Canada thistle and winter wheat. *Weed Science* 49: 755-759.
- Mangold, J.; Parkinson, H.; Duncan, C.; Rice, P.; Davis, E. y Menalled, F. 2013. Downy brome (*Bromus tectorum*) control with Imazapic on Montana Grasslands. *Invasive Plant Science and Management* 6: 554-558.
- Mashhadi, H.R. y Radosovich, S.R. 2004. *Invasive Plants*. En: Inderjit (ed.) *Weed biology and management*. Kluwer academic publishers. The Netherlands. 554 pp.
- Masters, R.A. y Sheley, R.L. 2001. Invited synthesis paper: principles and practices for managing rangeland invasive plants. *Journal of Range Management* 54: 502-517.
- Matthias, D.; Karin O. y Regula B. 2001. Abandonment alters community composition and canopy structure of Swiss calcareous fens. *Applied Vegetation Science* 4: 237-246.
- McKenney, J.L.; Cripps, M.G.; Price, W.J.; Hinz, H.L. y Schwarzländer, M. 2007. No difference in competitive ability between invasive North American and native European *Lepidium draba* populations. *Plant Ecology* 193: 293-303.
- Mel'nik, V.A.; Braun, U. y Hagedorn, G. 2000. Key to the fungi of the genus *Ascochyta* Lib. (Coelomycetes). Berlin, Alemania. 192 pp.
- Michel, B. y Kaufmann, M. 1973. The osmotic potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914-916.

- Milakovic, I.; Fiedler, K. y Karrer, G. 2014. Management of roadside populations of invasive *Ambrosia artemisiifolia* by mowing. *Weed Research* 54: 256–264.
- Miller, R.V.; Ford, E. J.; Zidack, N. J. y Sands, D.C. 1989. A pyrimidine auxotroph of *Sclerotinia sclerotiorum* for use in biological weed control. *Microbiology* 135: 2085-2091.
- Mitchell, C.E. y Power, A.G. 2003. Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature* 421: 625-627.
- Mohler, C.L. 1993. A Model of the Effects of Tillage on Emergence of Weed Seedlings. *Ecological Applications* 3: 53-73.
- Mohler, C.L. 2001. Weed life history: identifying vulnerabilities. En: Liebman, M.; Mohler, C.L. y Staver, C.P. *Ecological management of agricultural weeds*. Cambridge University Press, Reino Unido. Pp. 40-98.
- Mohler, C.L. y Galford, A.E. 1997. Weed seedling emergence and seed survival: separating the effects of seed position and soil modification by tillage. *Weed Research* 37: 147-155.
- Monaco, T.J.; Weller, S.C. y Ashton, F.M. 2002. *Weed science: principles and practices*. 4ta Ed. John Wiley & Sons Ltd. 671 pp.
- Montagu, K.D. y Woo, K.C. 1999. Recovery of tree photosynthetic capacity from seasonal drought in the wet-dry tropics: The role of phyllode and canopy processes in *Acacia auriculiformis*. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 135-145.
- Montemurro, P.; Fracchiolla, M. y Lonigro, A. 2007. Effects of some environmental factors on seed germination and spreading potentials of *Silybum marianum* Gaertner. *Italian Journal of Agronomy* 3: 315-320.
- Montero, G. y Barberis, I. 2007. La fitotelmata en los agroecosistemas pampeanos. *Revista Agromensajes Facultad de Ciencias Agrarias UNR, Argentina* 23:39-44.
- Moroney, J.R. y Rundel, P.W. 2013. Abundance and dispersion of the invasive Mediterranean annual, *Centaurea melitensis* in its native and non-native ranges. *Biological Invasions* 15: 495-507.
- Morris, M.J. y Crous, P.W. 1994. New and interesting records of South African fungi. XIV. Cercosporoid fungi from weeds. *South African Journal of Botany* 60: 325-325.
- Mullins, D. 1951. Teasel growing, an ancient practice. *World Crops* 3: 146–147.
- Mulvaney, R.L.; Khan, S.A.; Stevens, W.B. y Mulvaney, C.S. 1996. Improved diffusion methods for determination of inorganic nitrogen in soil extracts and water. *Biology and Fertility of Soils* 24: 413–420.
- Nageswara, R.R.; Talwar, H.S. y Wright, G.C. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using chlorophyll meter. *Journal Agronomy of Crop Science* 186: 175-182.
- Nakamura, I. y Hossain M.A. 2009. Factors affecting the seed germination and seedling emergence of redflower ragleaf (*Crassocephalum crepidioides*). *Weed Biology and Management* 9: 315–322.
- Nandi, S. y Dalal, T. 2012. Evaluation of allelopathic potential of *Lantana camara* L. on seeds of *Raphanus sativus* L. and *Spinacia oleracea* L. *Plant Archives* 12: 459-462.

- Nandula, V.; Eubank, T.; Poston, D.; Koger, C. y Reddy, K. 2006. Factors affecting seed germination of horseweed (*Coniza canadensis*). *Weed Science* 54: 898-902.
- Natale, E.S.; Gaskin, J.; Zalba, S.M., Ceballos, M. y Reinoso, H.E. 2008. Especies del género *Tamarix* (Tamaricaceae) invadiendo ambientes naturales y seminaturales en Argentina *Boletín Sociedad Argentina Botánica* 43: 137-145.
- Navie, S.C.; Panetta, F.D.; McFadyen, R.E. y Adkins, S.W. 1998. Behaviour of buried and surface-sown seeds of *Parthenium hysterophorus*. *Weed Research* 38: 335-341.
- Netland, J.; Dutton, L.C.; Greaves, M.B.; Baldwin, M.; Vurro, M.; Evidente, A.; Einhorn, G. y Scheepens, P.C. 2001. Biological control of *Chenopodium album* L. in Europe. *BioControl* 46: 211-228.
- Nigam, S.N. y Aruna, R. 2008. Stability of soil plant analytical development (SPAD) chlorophyll meter reading (SCMR) and specific leaf area (SLA) and their association across varying soil moisture stress conditions in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica* 160: 111-117.
- Nilsen, E.T. y Orcutt, D.M. 1996. *Physiology of plants under stress, abiotic factors*. John Wiley and Sons. Nueva York, EEUU. 689 pp.
- Norsworthy, J.K. y Oliveira, M.J. 2006. Sicklepod (*Senna obtusifolia*) germination and emergence as affected by environmental factors and seeding depth. *Weed Science* 54: 903-909.
- Novara, L.J. 2007. Dipsacaceae. *Aportes Botánicos de Salta. Flora del Valle de Lerma-Ser. Flora Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta* 8: 1-7.
- Novoa, A.; Rodríguez, R.; Richardson, D. y González, L. 2013. Soil quality: a key factor in understanding plant invasion? The case of *Carpobrotus edulis* (L.) N.E.Br. *Biological Invasions* 16: 429-443.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosing and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology* 25: 125-143.
- Öğüt, D.; Doğan, M.N. y Einhorn, G. 2012. Control of *Chenopodium album* L. utilizing two plant pathogenic fungi in combination with reduced doses of nicosulfuron. *Julius-Kühn-Archiv* 434: 281-287.
- Orioli, G.; Irigoyen, J.; Arregui, C. y Leguizamón, E.S. 2014. El contacto, la absorción y el transporte de los herbicidas en la planta. En: Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. *Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo*. EdiUNS. Pp. 351-364.
- Palacios, S.M.; Del Corral, S.; Carpinella, M.C. y Ruiz, G. 2010. Screening for natural inhibitors of germination and seedling growth in native plants from Central Argentina. *Industrial Crops and Products* 32: 674-677.
- Paoloni, J.D. 2010. *Ambientes y recursos naturales del partido de Bahía Blanca*. EdiUNS. Buenos Aires, Argentina. 242 pp.
- Parther, T.S. y Callihan, R.H. 1991. Interference between yellow starthistle and pubescent wheatgrass during grass establishment. *Journal of Range Management* 44: 443-447.
- Pontiroli, A. 1965. Dipsacaceae. En: Angel L. Cabrera (Ed.) *Flora de la Provincia de Buenos Aires, Colección Científica I.N.T.A. IV*: 388-389.

- Poorter, H.; Niklas, K.J.; Reich, P.B.; Oleksyn, J.; Poot, P. y Mommer, L. 2012. Biomass allocation to leaves stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* 193: 30–50.
- Prinzing, A.; Durka, W.; Lotz, S. y Brandl, R. 2002. Which species become aliens? *Evolutionary Ecology Research* 4: 385–405.
- Puliafico, K.P.; Schwarzländer, M.; Price, W.J.; Harmon, B.L. y Hinz, H.L. 2011. Native and exotic grass competition with invasive hoary cress (*Cardaria draba*). *Invasive Plant Science and Management* 4: 38–49.
- Puricelli, E.C.; Faccini, D.E.; Orioli, G.A. y Sabbatini, M.R. 2003. Spurred anoda (*Anoda cristata*) competition in narrow-and wide-row soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, 17: 446-451.
- Qaderi, M.M.; Presti, A. y Cavers, P.B. 2005. Dry storage effects on germinability of Scotch thistle (*Onopordum acanthium*) cypselas. *Acta Oecologica* 27: 67-74.
- Quimby, P.C.; King, L.R. y Grey, W.E. 2002. Biological control as a means of enhancing the sustainability of crop/land management systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88: 147–152.
- Raccuia, S.A.; Cavallaro, V. y Melilli, M.G. 2004. Intraspecific variability in *Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* Lam. sicilian populations: seed germination under salt and moisture stresses. *Journal of Arid Environment* 56: 107-116.
- Radosevich, S.R.; Holt, J.S. y Ghersa, C.M. 2007. Ecology of weeds and invasive plants relationship to agriculture and natural resource management. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, EEUU. 475 pp.
- Ranal, M.A. y Santana, D.G. 2006. How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira Botanica* 29: 1-11.
- Ravlić, M.; Baličević, R.; Knežević, M. y Ravlić J. 2013. Allelopathic effect of creeping thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) on germination and early growth of winter wheat and winter barley. Libro de resúmenes del 8º Simposio Internacional de Agricultura. Pp. 97-100
- Ray, P. y Hill, M.P. 2013. Microbial agents for control of aquatic weeds and their role in integrated management. *CAB Reviews perspectives in agriculture veterinary science nutrition and natural resources* 8: 1-9.
- Rector, B.G.; Harizanova, V.; Sforza, R.; Widmer, T. y Wiedenmann, R.N. 2006. Prospects for biological control of teasels, *Dipsacus* spp., a new target in the United States. *Biological Control* 36:1-14.
- Rejmánek, M. 2000. Invasive plants: approaches and predictions. *Austral ecology* 25: 497-506.
- Rimer, R.L. y Evans, R.D. 2006. Invasion of downy brome (*Bromus tectorum* L.) causes rapid changes in the nitrogen cycle. *The American midland naturalist* 156: 252-258.
- Roberts, H.A. 1986. Seed persistence in soil and seasonal emergence in plant species from different habitats. *Journal of Applied Ecology* 23: 639-656.
- Roberts, H.A. y Chancellor, R.J. 1979. Periodicity of seedling emergence and achene survival in some species of *Carduus*, *Cirsium* and *Onopordum*. *Journal of Applied Ecology* 16: 641-647.

- Ross, M.A. y Lembi, C.A. 2009. Applied weed science-including the ecology and management of invasive weed. Ed Pearson Education, Inc. 561 pp.
- Ryder, M.L. 1996. Is the Fuller's teasel (*Dipsacus sativus*) really a distinct species? The Linnean: newsletter and proceedings of the Linnean Society of London 11:21-27.
- Sakai, A.K.; Allendorf, F.W. y Holt, J.S. 2001. The population biology of invasive species. Annual Review of Ecology and Systematics 32: 305-332.
- Sands, D.C.; Ford, E.J. y Miller, R.V. 1990. Genetic manipulation of broad host-range fungi for biological control of weeds. Weed Technology 4: 471-474.
- Seefeldt, S.; Jensen, J. y Fuerst, E. 1995. Feature Log-Logistic analysis of herbicide dose-response relationships. Weed Technology 9: 218-27.
- Seibert, A.C. y Brent Pearce, R. 1993. Growth analysis of weed and crop species with reference to seed weight. Weed Science 41: 52-56.
- Sellers, B.A.; Smeda, R.J.; Johnson, W.G.; Kendig, J.A. y Ellersieck, M.R. 2003. Comparative growth of six *Amaranthus* species in Missouri. Weed Science 51: 329-333.
- Selles-Martínez, J. 2001. Geología de la Ventania, Provincia de Buenos Aires (Argentina). Journal of Iberian Geology 27: 43-69.
- Seybold, C.A.; Grossman, R.B. y Reinsch, T.G. 2015. Predicting cation exchange capacity for soil survey using linear models. Soil Science Society of America Journal 69: 856-863.
- Sforza, R. 2004. Candidates for the biological control of teasel, *Dipsacus* spp. Libro de resúmenes del XI Simposio Internacional de Control Biológico de Malezas. Pp. 155-161.
- Shanee, S.; Tanveer, A.; Javaid, M.M.; Chaudhry, K.M.; Aziz, A.; Khaliq, A.; Chaudhry, M.N.; Pervez, M.A. y Awan, I.U. 2011. Phytotoxic effects of *Euphorbia dracunculoides*: a weed of rainfed chickpea-chickpea cropping system. Spanish Journal of Agricultural Research 9: 580-588.
- Silvestro, L.B. 2015. Ocurrencia, distribución y caracterización de hongos del suelo en sistemas agrícolas bajo siembra directa. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Mar del Plata. 186 pp.
- Simmons, E.G. 2007. *Alternaria*: an identification manual. CBS Fungal Biodiversity Centre. Noruega. 775 pp.
- Singh, M.; Ramirez, A.; Sharma, S. y Jhala, A.J. 2012. Factors affecting the germination of Tall Morningglory (*Ipomoea purpurea*). Weed Science 60: 64-68.
- Singh, M. y Achhireddy N.R. 1984. Germination ecology of milkweedvine (*Morrenia odorata*). Weed Science 32: 781-785.
- Skipp, R.A.; Bourdot, G.W.; Hurrell, G.A.; Chen, L.Y.; Wilson, D.J. y Saville, D.J. 2013. *Verticillium dahliae* and other pathogenic fungi in *Cirsium arvense* from New Zealand pastures: occurrence, pathogenicity and biological control potential. New Zealand Journal of Agricultural Research 56: 1-21.
- Snedecor, G.W. y Cochran, W.G. 1956. Statistical Methods Applied to experiments in agriculture and biology. Iowa State College Press. Iowa, EEUU. 534 pp.

- Sneh, B.; Burpee, L. y Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press. 133 pp.
- Sobrero, M.T. y Acciari, H.A. 2014. Interferencia cultivo-maleza: la alelopatía y su potencialidad en el manejo de malezas. En: Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciari, H.A. Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo. EdiUNS. Pp.: 307-329.
- Sobrero, M.T.; Ochoa, M. del C. y Chaila, S. 2003. Potencial alelopático de *Wedelia glauca*: efecto sobre especies hortícolas. *Planta Daninha* 22: 71-75.
- Solecki, M.K. 1989. The viability of cut-leaved teasel *Dipsacus laciniatus* L. seed harvested from flowering stems: management implications. *Natural Areas Journal* 9: 102-105.
- Solecki, M.K. 1993. Cut-leaved and common teasel (*Dipsacus laciniatus* L. and *D. sylvestris* Huds.): Profile of two invasive aliens. En: McKnight, B.N. (Ed.), *Biological Pollution: the control and impact of invasive exotic species*. Indiana Academic of Science Pp: 85-92.
- Songsri, P.; Jogloy S.; Holbrook, C.C.; Kesmala, T.; Vorasoot N.; Akkasaeng, C. y Patanotai, A. 2009. Association of root, specific leaf area and SPAD chlorophyll meter reading to water use efficiency of peanut under different available soil water. *Agricultural Water Management* 96: 790-798.
- Söyrinki, N. 1991. On the alien flora of the province of Buenos Aires, Argentina. *Annales Botanici Fennici* 28: 59-79.
- Sparks, D.L.; Page, A.L.; Helmke, P.A.; Loeppert, R.H.; Soltanpour, P.N.; Tabatabai, M.A.; Johnston, C.T. y Sumner, M.E. 1996. Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods. Soil Science Society of America Inc. Pp. 1018-1020.
- Stewart-wade, S.M. y Boland, G.J. 2004. Selected cultural and environmental parameters influence disease severity of dandelion caused by the potential bioherbicidal fungi, *Phoma herbarum* and *Phoma exigua*. *Biocontrol Science and Technology* 14: 561-569.
- Susko, D.J. y Hussein Y. 2008. Factors affecting germination and emergence of Dame's Rocket (*Hesperis matronalis*). *Weed Science* 56: 389-393.
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with pycnidia, acervuli, and stromata. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Inglaterra. 696 pp.
- Sutton, B.C. y Pons, N. 1980. Notes on the original species of *Cercosporina*. *Mycotaxon* 12: 201-218.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2010. Plant physiology. Sinauer Associates. Sunderland, EEUU. 782 pp.
- Tan, D.T.; Thu, P.Q. y Dell, B.U. 2012. Invasive plant species in the national parks of Vietnam. *Forests* 3: 997-1016.
- Tessmann, D. J.; Charudattan, R.; Kistler, H.C. y Roskopf, E.N. 2001. A molecular characterization of *Cercospora* species pathogenic to water hyacinth and emendation of *C. piaropi*. *Mycologia* 93: 323-334.
- Thomma, B.P. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology* 4: 225-236.
- Tucat, G.; Bentivegna, D.; Fernández, O.; Busso, C.; Brevedan, R.; Mujica, M.; Torres,

- Y.; Daddario, J.; Ithurrart, L.; Giorgetti, H.; Rodríguez, G.; Montenegro, O.; Baioni, S.; Entío, J. y Fioretti, M. 2013. Efecto fitotóxico de *Baccharis ulicina* sobre la germinación y crecimiento inicial de *Avena sativa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo 45: 63-77.
- Upadhyaya, H.D. 2005. Variability for drought resistance related traits in the mini core collection of peanut. Crop Science 45: 1432-1440.
- USDA, 1985. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Laboratorio de salinidad de los Estados Unidos de América. L.A. Richards, Ed. Manual 60. LIMUSA. México. 172 pp.
- USDA ARS, 2016. National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?14380>. Último Acceso: 2 de noviembre del 2016.
- van Mourik, T.A.; Stomph, T.J. y 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.
- Vanderhoeven, S.; Dassonville, N.; Chapuis-Lardy, L.; Hayez, M. y Meerts, P. 2006. Impact of the invasive alien plant *Solidago gigantea* on primary productivity, plant nutrient content and soil mineral nutrient concentrations. Plant Soil 286: 259-268.
- Vilà, M.; Espinar, J.L.; Hejda, M.; Hulme, P.E.; Jarošík, V.; Maron, J.L. y Pyšek, P. 2011. Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. Ecology Letters 14: 702-708.
- Vila-Aiub, M.M. y Fisher, A. 2014. Resistencia de malezas a herbicidas. En: Fernández, O.A.; Leguizamón, E.S. y Acciaresi, H.A. Malezas e Invasoras de la Argentina: Ecología y Manejo. EdiUNS. Pp. 428-451.
- Villamil, C.B. y Martínez, G.A. 2014. Plantas silvestres del partido de Tres Arroyos. Ed. Independencia 161 pp.
- Waller, J. M. 2002. Detection and isolation of fungal and bacterial pathogens. En: (eds. Waller J.M., Lenné J.M. & Waller S.J.) Plant Pathologist's Pocketbook. CAB International, pp. 208-215.
- Wang, J.; Ferrell, J.; MacDonald, G. y Sellers, B. 2009. Factors affecting seed germination of cadillo (*Urena lobata*). Weed Science 57: 31-35.
- Wardle, D.A. y Peltzer, D.A. 2003. Interspecific interactions and biomass allocation among grassland plant species. Oikos 100: 497-506.
- Wardle, D.A.; Ahmed, M. y Nicholson, K.S. 1991. Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radical growth of pasture plants. New Zealand Journal of Agricultural Research 34: 185-191.
- Wehtje, G.; Gilliam, C.H. y Marble, S.C. 2010. Postemergence weed control with glyphosate plus flumioxazin combinations. Weed Technology 24: 356-360.
- Weigelt, A. y Jolliffe, P. 2003. Indices of plant competition. Journal of Ecology 91: 707-720
- Werner, P.A. 1975a. A seed trap for determining patterns of seed deposition in terrestrial plants. Canadian Journal of Botany 53:810-813.

- Werner, P.A. 1975b. Predictions of fate from rosette size in teasel (*Dipsacus fullonum* L.). *Oecologia* 20: 197-201.
- Werner, P.A. 1975c. The Biology of Canadian Weeds. 12 *Dipsacus sylvestris* Huds. *Canadian Journal of Plant Science* 55: 783-794.
- Werner, P.A. 1976. Ecology of plant populations in successional environments. *Systematic Botany* 1: 246-268.
- Werner, P.A. 1977. Colonization Success of a "Biennial" Plant Species: Experimental Field Studies of Species Cohabitation and Replacement. *Ecology* 58: 840-849.
- White, V.A. y Holt, J.S. 2005. Competition of artichoke thistle (*Cynara cardunculus*) with native and exotic grassland species. *Weed Science* 53: 826-833.
- Willetts, H.J. y Wong, J.A.L. 1980. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. *The Botanical Review* 46: 101-165.
- Williamson, M. y Fitter, A. 1996. The varying success of invaders. *Ecology* 77: 1661-1666.
- Wintermans, J.F. y De Mots, A. 1965. Spectrophotometric characteristic of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanols. *Biochimica et Biophysica Acta* 2: 448-453.
- Wittenberg, R. y Cock, M.J. 2001. Invasive alien species: a toolkit of best prevention and management practices. CAB International. Oxon, Inglaterra. 229 pp.
- Wright, G.C., Nageswara, R.C. y Farquhar, G.D. 1994. Water use efficiency and carbon isotop discrimination in peanut under water deficit conditions. *Crop Science* 34:92-97.
- Yuan, Z.Q. y Mohammed, C.L. 2002. *Ceratocystis moniliformis* sp. nov., an early colonizer of *Eucalyptus obliqua* logs in Tasmania, Australia. *Australian Systematic Botany* 15: 125-133.
- Zalba, S.M., Cuevas, Y. y Boó, R.M. 2008. Invasion of *Pinus halepensis* Mill. following a wildfire in an Argentine grassland nature reserve. *Journal of Environmental Management* 88: 539-546.
- Zalba, S.M. y Villamil, C.B. 2002. Woody plant invasion in relictual grasslands. *Biological Invasions* 4: 55-72.
- Zeng, R.S., Mallik, A.U. y Luo, S.M. 2008. Allelopathy in sustainable agriculture and forestry. Springer. Nueva York, EEUU. 389 pp.
- Zhu, H.M.; Salyani, R.D. y Fox, R.D. 2011. A portable scanning system for evaluation of spray deposit distribution. *Computer and Electronics in Agriculture* 76: 38-43.
- Zia, S. y Khan, A. 2002. Comparative effect of NaCl and seawater on seed germination of *Limonium stocksii*. *Pakistan Journal of Botany* 34: 345-350.
- Zimdahl, R.L. 1993. Fundamentals of weed science. Academic Press Inc. California, EEUU. 450 pp.
- Zimmerman, L.M.; Porter, N.M.; Riney, J.L. y Parrish, J.A. 2013. The effects of herbicide treatment, life history stage, and application date on cut and uncut teasel, *Dipsacus laciniatus* (Dipsacaceae). *Natural Resources* 4: 170-174.
- Ziska, L.H.; Blumenthal, D.M.; Raymond Hunt Jr., E. y Diaz-Soltero, H. 2011. Invasive species and climate change: an agronomic perspective. *Climatic Change* 105: 13-42.

- Zoschke, A. 1994. Toward reduced herbicide rates and adapted management. *Weed Technology* 8: 376-387.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. Monogr. Missouri Botanical Garden Press. Saint Louis, EEUU. 1269 pp.

**Apéndice 1-** Principales características de los suelos correspondientes a los sitios experimentales.

1.1. Bahía Blanca

Parámetro	Clase/Valor
Textura	Arenoso-franco (64% arena; 15% limo; 21% arcilla)
Secuencia de horizontes	Ap-A2-AC-2Ckm
M.O. (%)	4,8
pH (1: 2,5)	7,4
Pe (mg.kg <sup>-1</sup> )	19
CIC (cmol.kg <sup>-1</sup> )	16
Ca <sup>++</sup> (cmol.kg-1)	19
Na <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	12,8
K <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	0,9
Suma de Bases (cmol.kg-1)	18

1.2. Carmen de Patagones

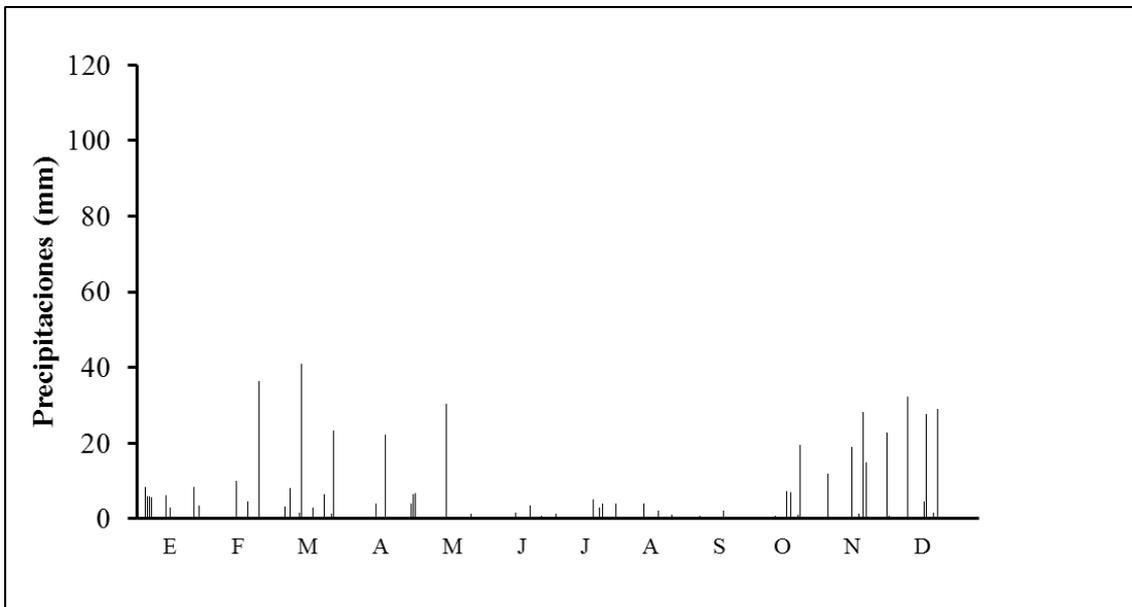
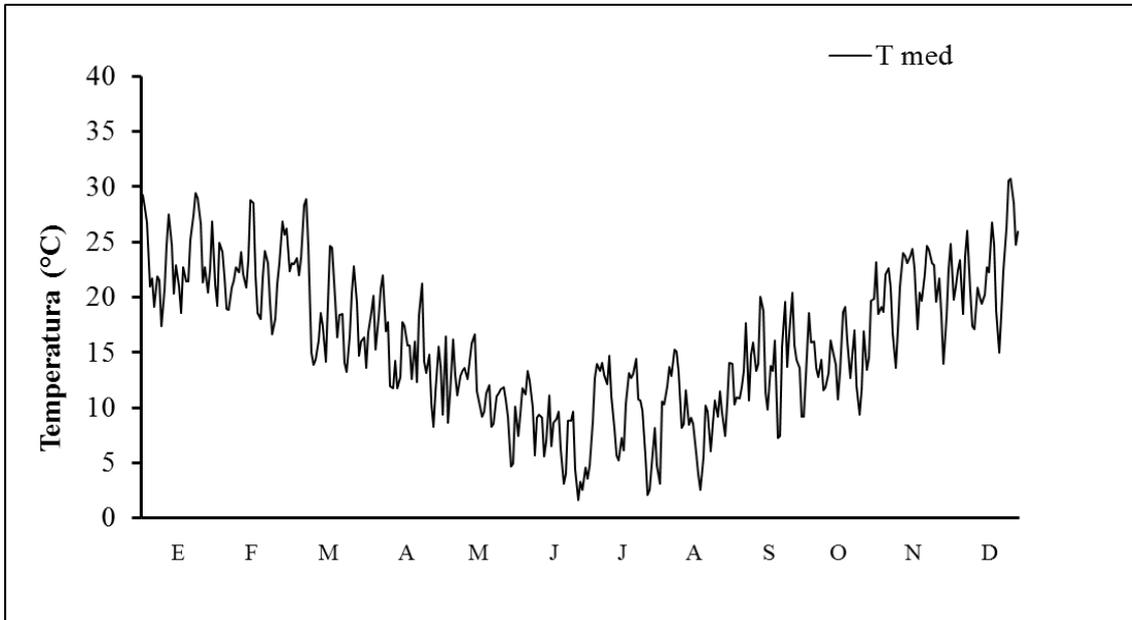
Parámetro	Clase/Valor
Textura	Franco-arcillo-arenoso (78,9% arena; 10,5% limo; 10,6% arcilla)
Secuencia de horizontes	Ap-C1-C2-C3
M.O. (%)	2,2
pH (1: 2,5)	8,3
Pe (mg.kg <sup>-1</sup> )	12
CIC (cmol.kg <sup>-1</sup> )	10
Ca <sup>++</sup> (cmol.kg-1)	4,9
Na <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	4,3
K <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	1,3
Suma de Bases (cmol.kg-1)	11

## 1.3. Napostá

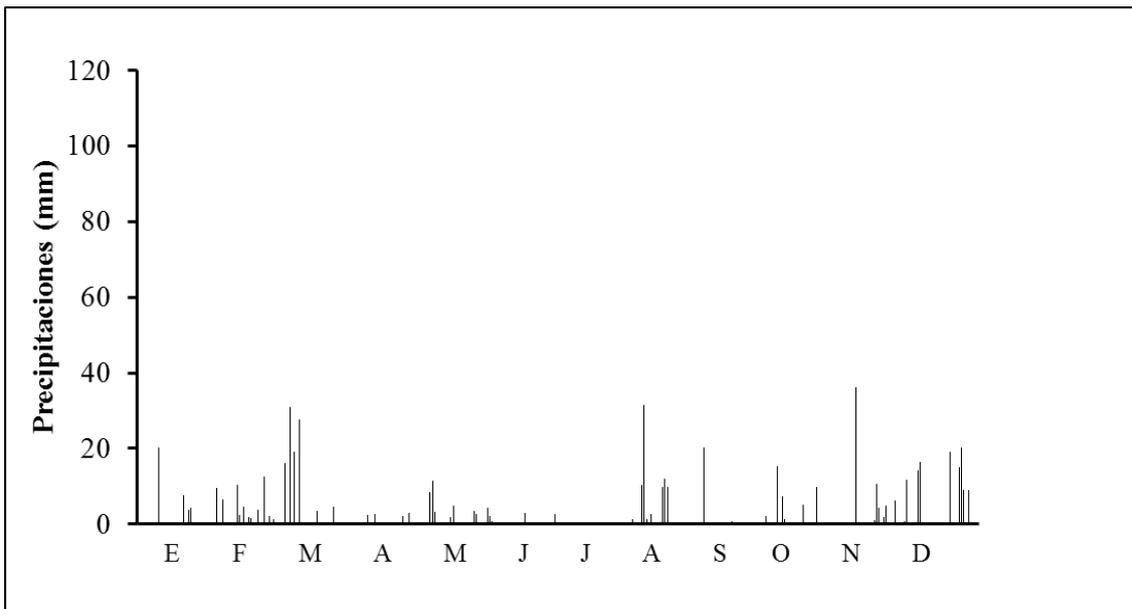
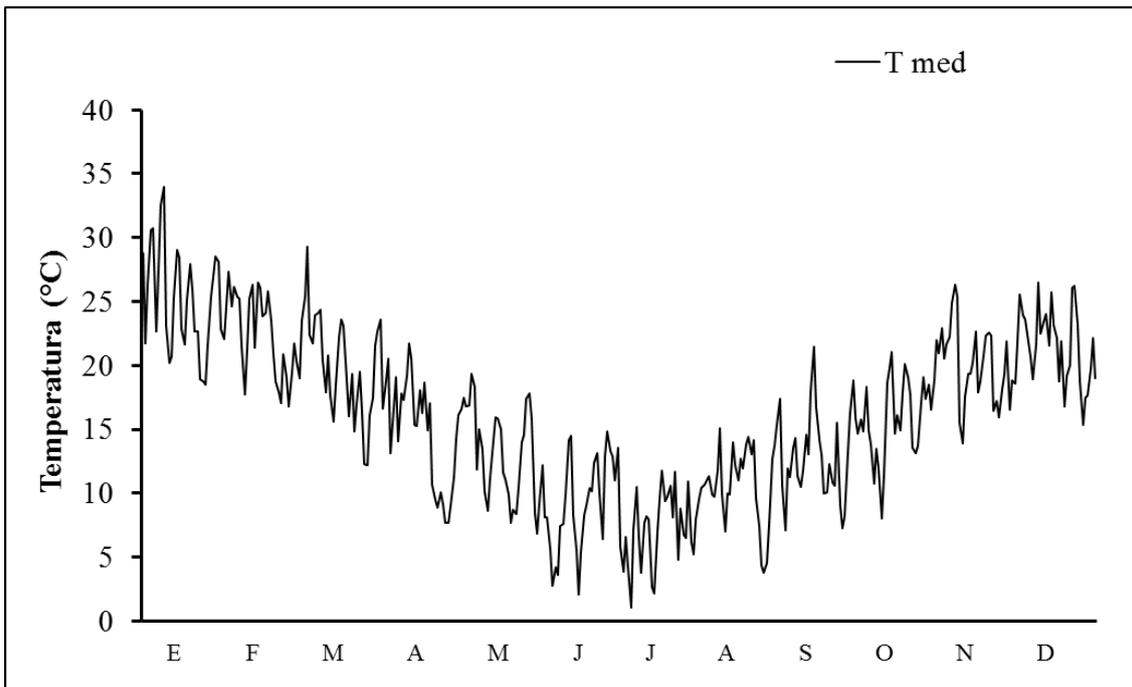
Parámetro	Clase/Valor
Textura	Franco (21,2% arena; 31,5% limo; 47,3% arcilla)
Secuencia de horizontes	Ap-A2-AC-2C-2Ck1-3Ck2
M.O. (%)	3,8
pH (1: 2,5)	7,3
Pe (mg.kg <sup>-1</sup> )	21
CIC (cmol.kg <sup>-1</sup> )	16
Ca <sup>++</sup> (cmol.kg-1)	13,4
Na <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	0,9
K <sup>+</sup> (cmol.kg-1)	3,6
Suma de Bases (cmol.kg-1)	17,9

**Apéndice 2-** Datos meteorológicos (temperatura media y precipitaciones) recogidos para los sitios experimentales en ciertos períodos involucrados en los diferentes estudios.

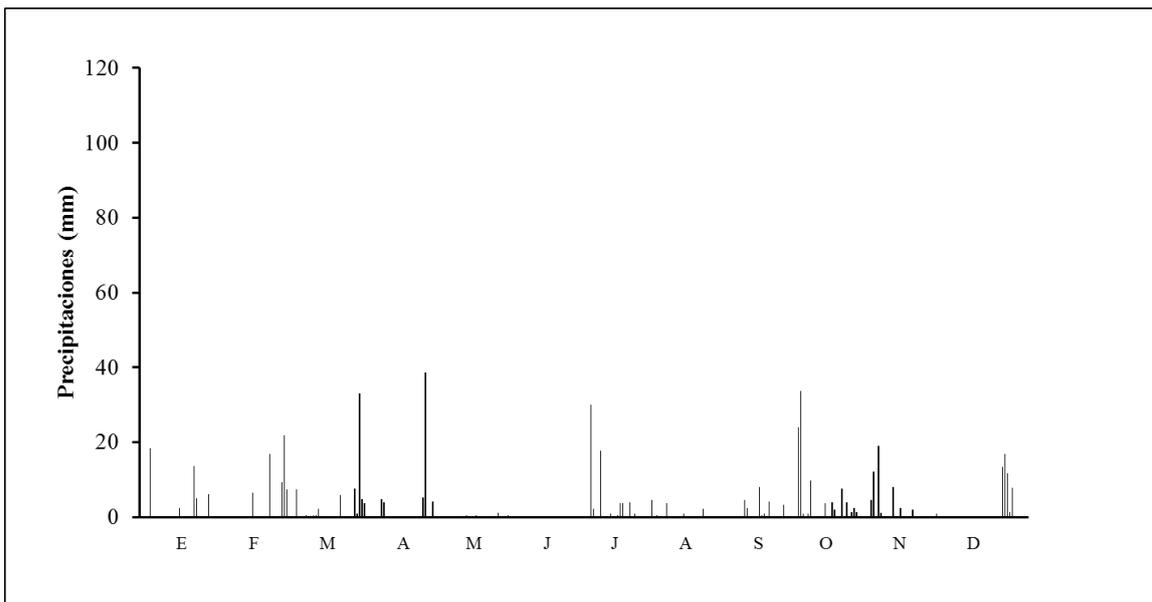
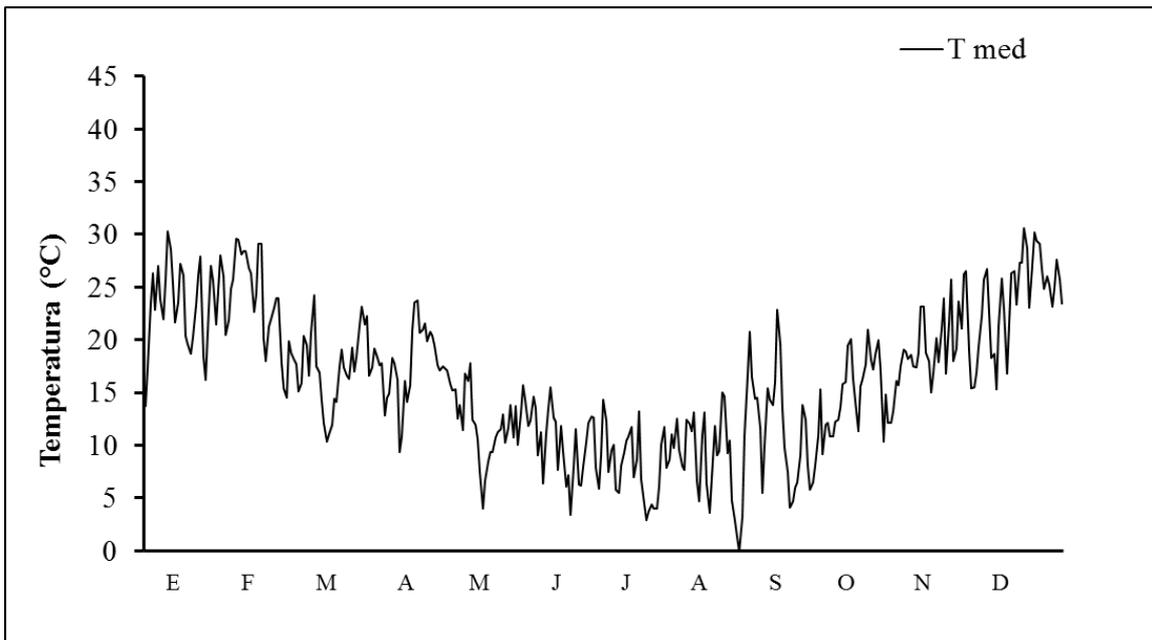
### 2.1. Bahía Blanca (2011)



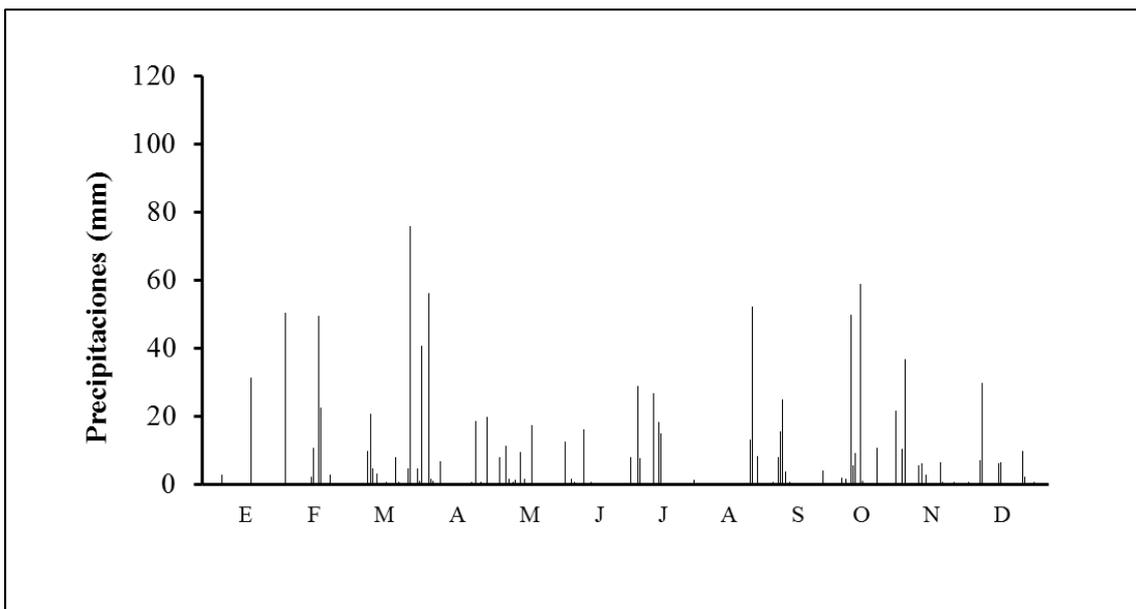
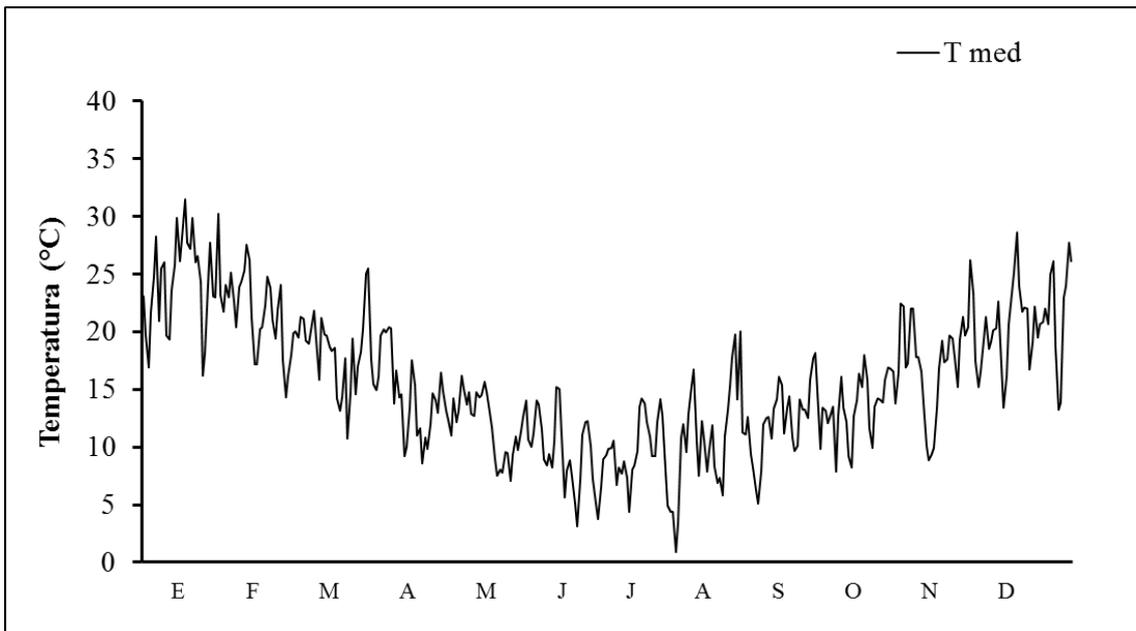
## 2.2. Bahía Blanca (2012)



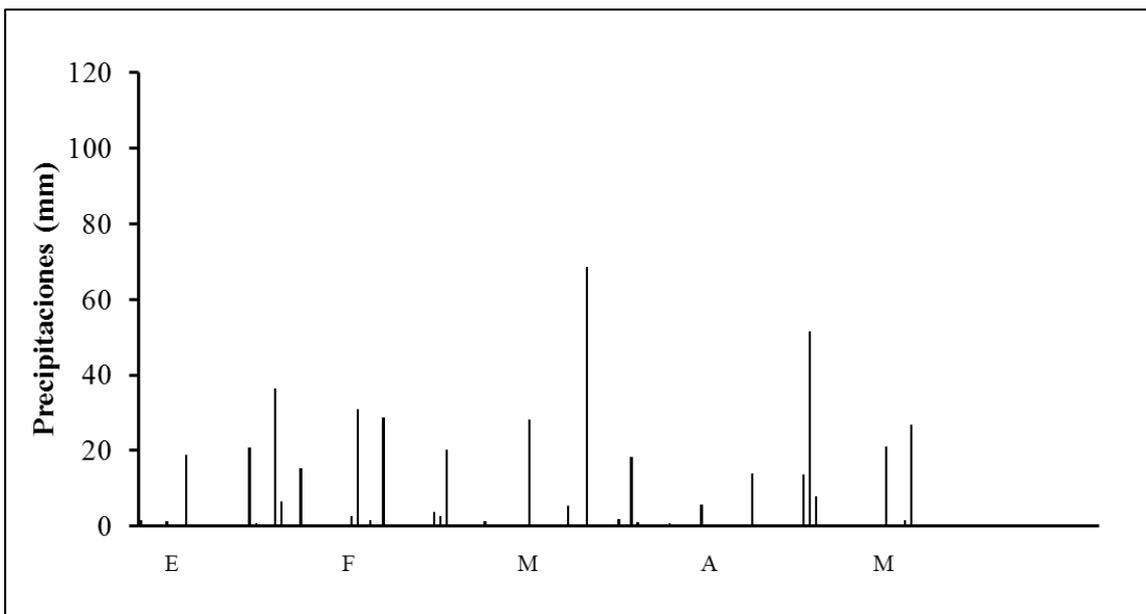
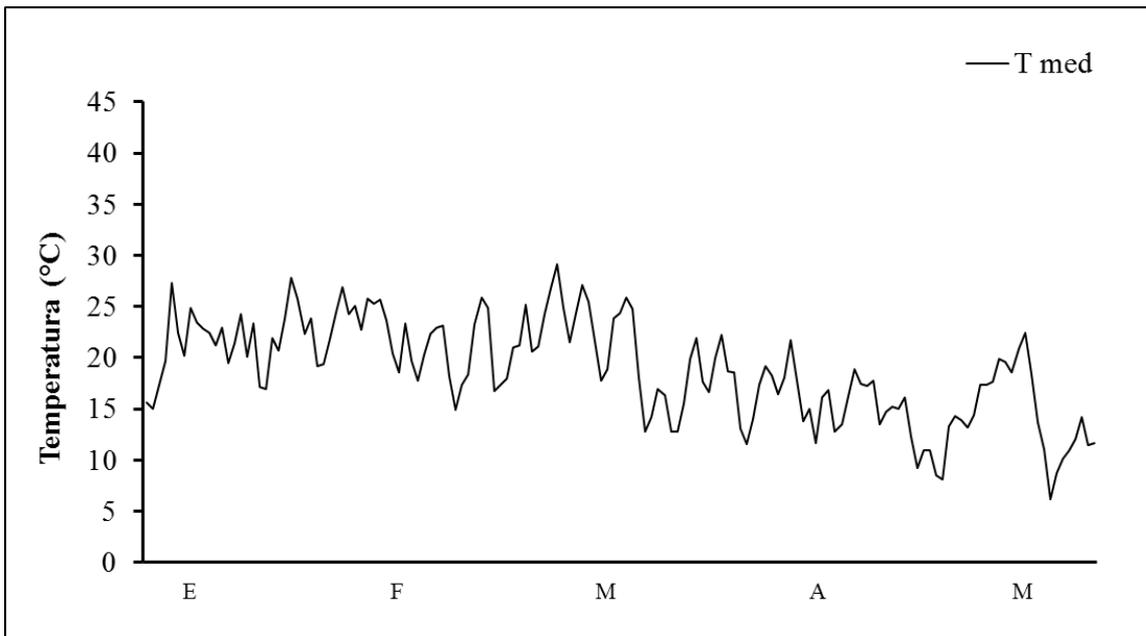
## 2.3. Bahía Blanca (2013)



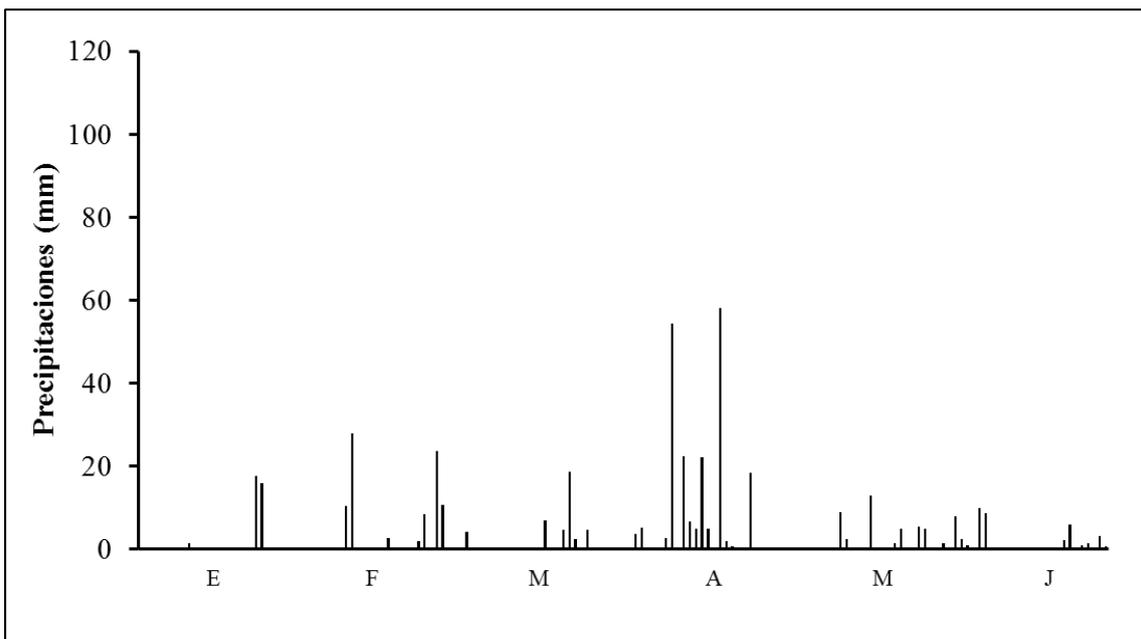
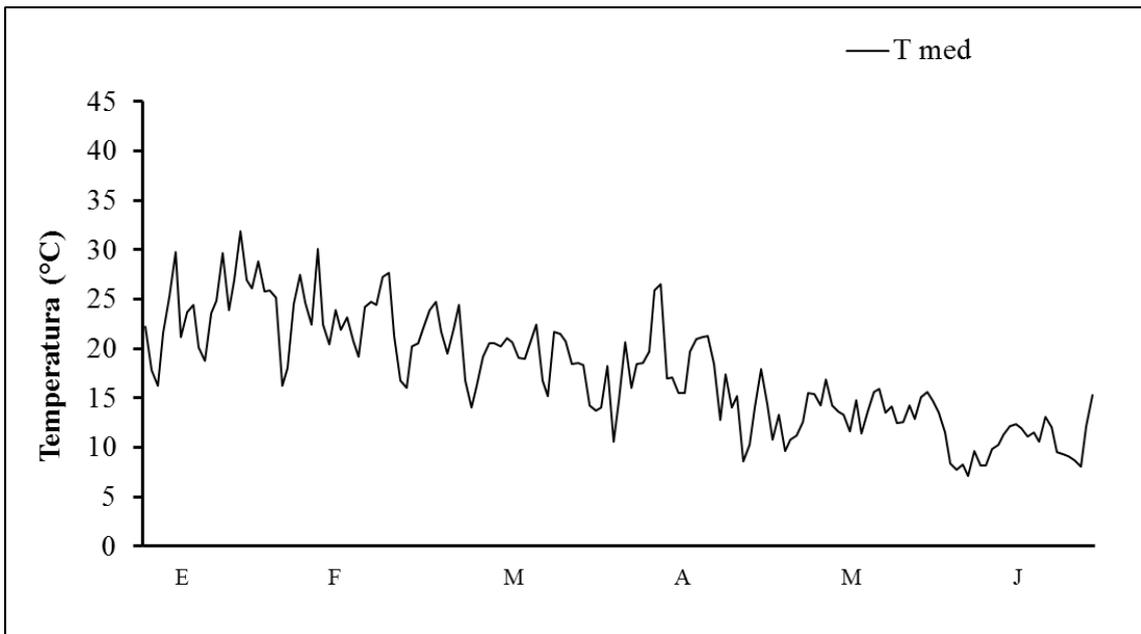
## 2.4. Bahía Blanca (2014)



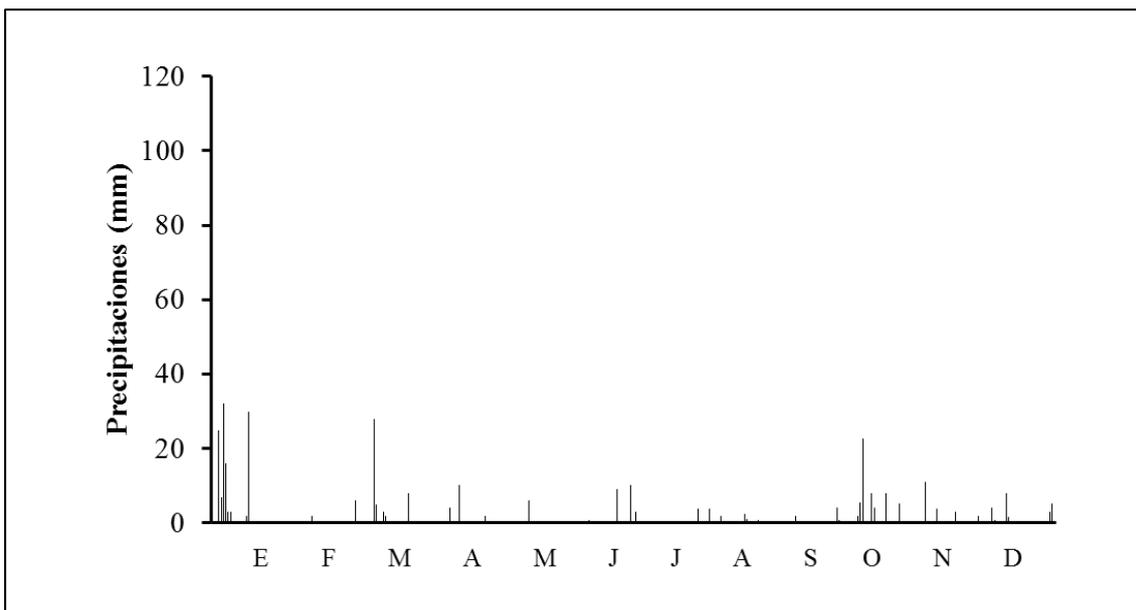
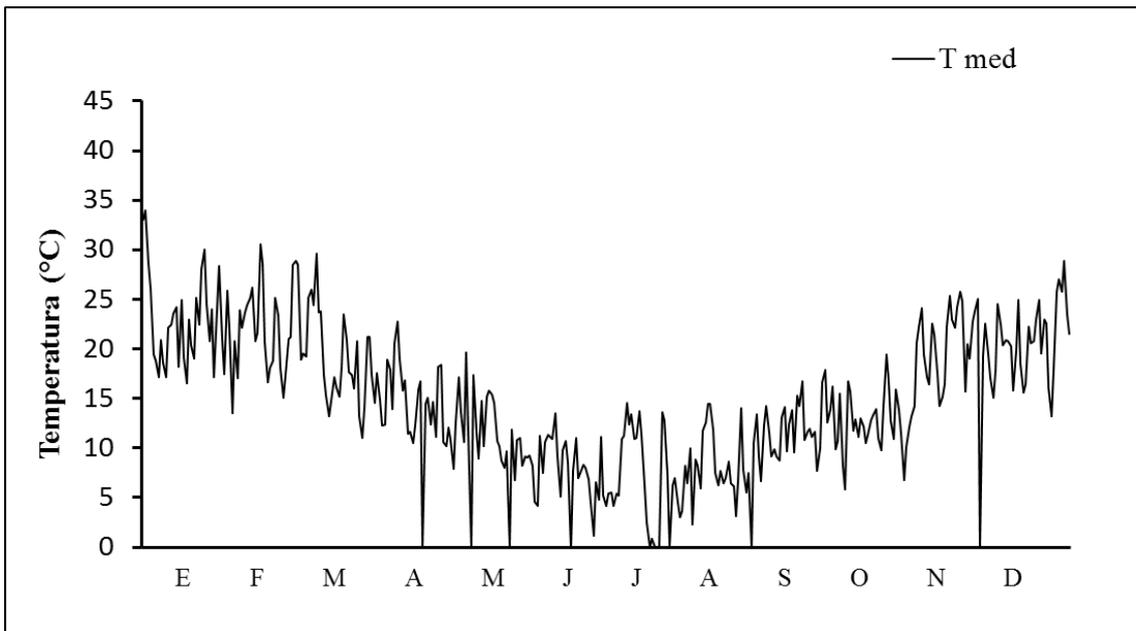
## 2.5. Bahía Blanca (2015)



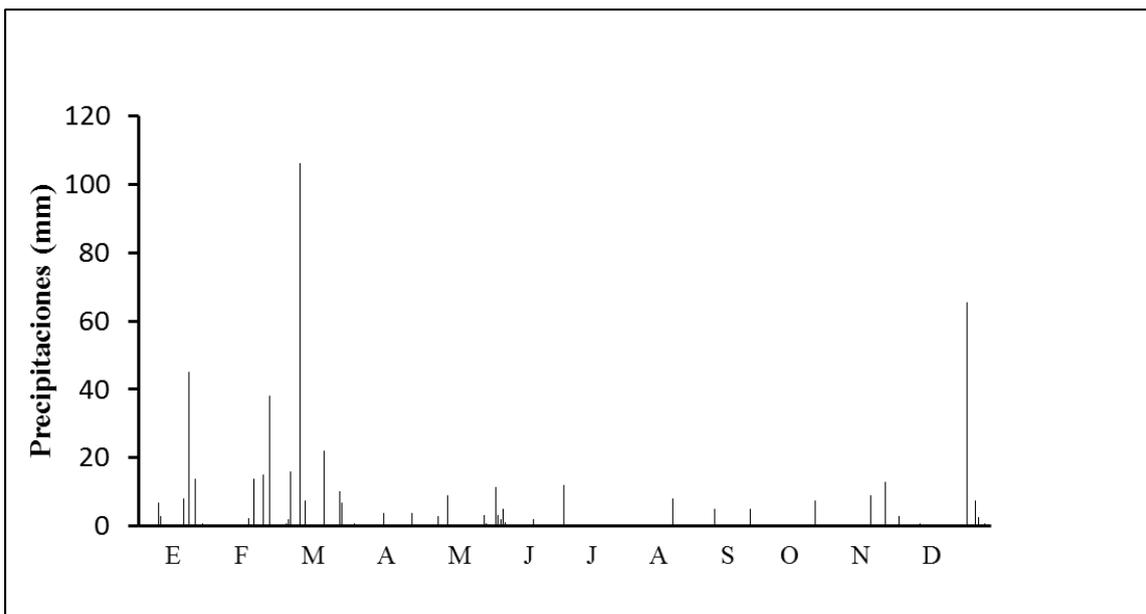
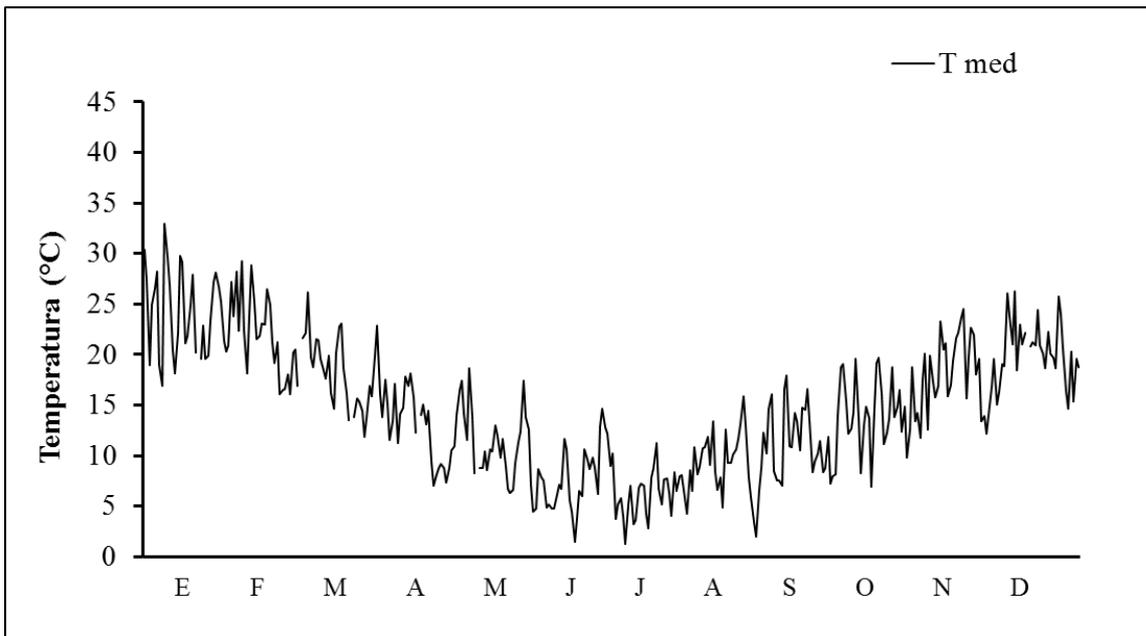
## 2.6. Napostá (2014)



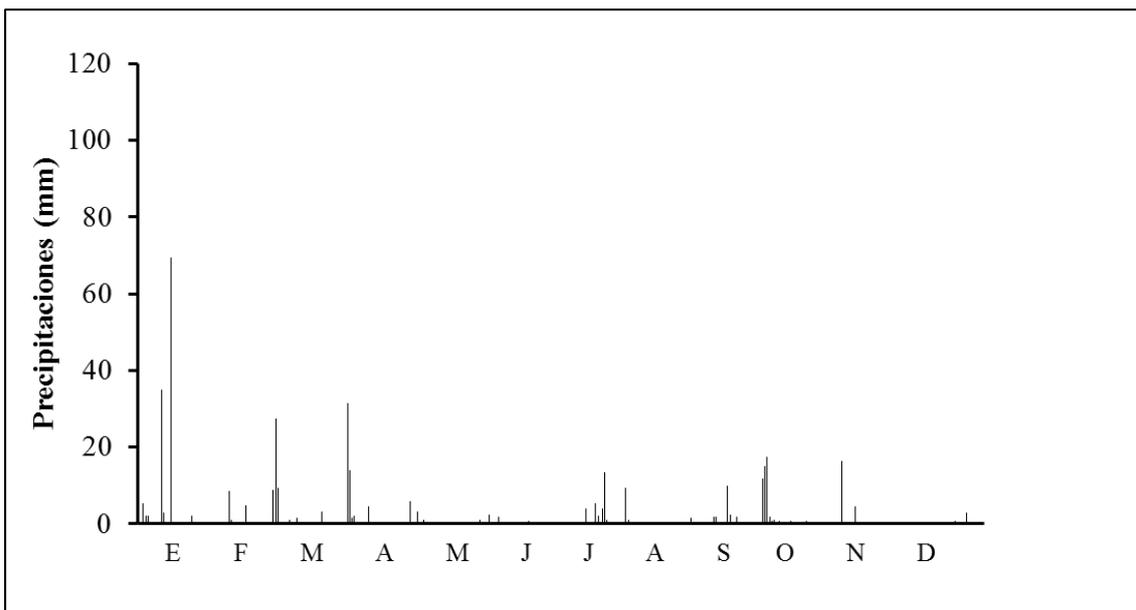
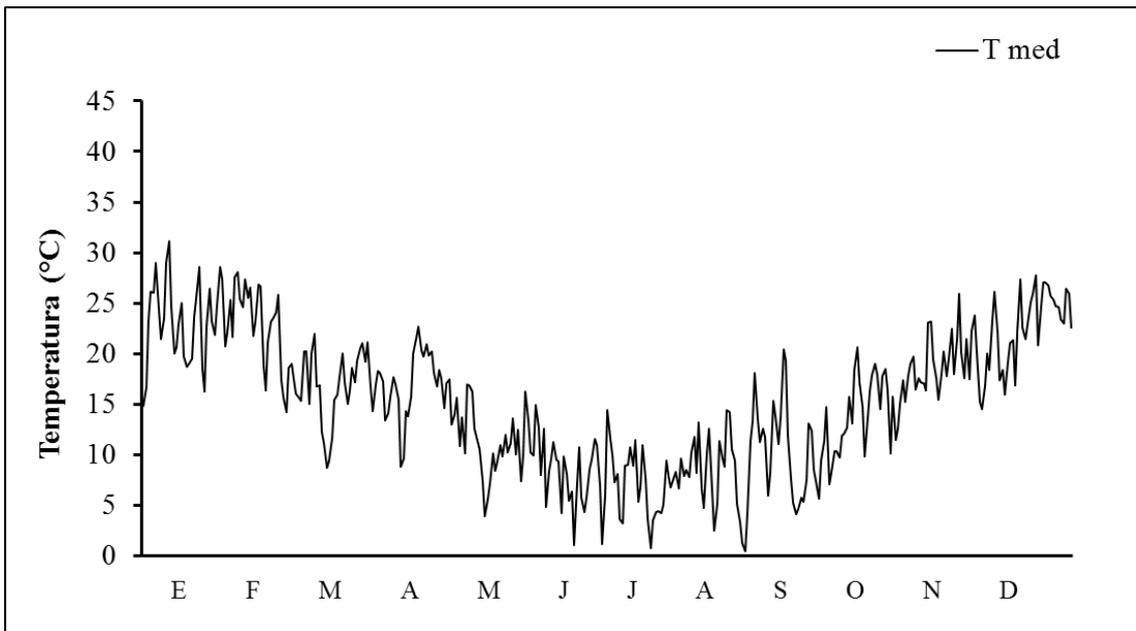
## 2.7. Patagones (2011)



## 2.8. Patagones (2012)



## 2.9. Patagones (2013)



## 2.10. Patagones (2014)

