Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Trabajo Final de Grado para optar al Título de Ingeniero Agrónomo

Estrategias morfoanatómicas y germinativas de la maleza *Lamiun amplexicaule* L. (Lamiaceae) frente a la aplicación del herbicida 2,4 DB

Modalidad: Trabajo de investigación

Alumno:
Juan Pedro Piñeiro, Legajo N°: 28123/9
Correo electrónico:
juanpedro.p@hotmail.com

Director: Dr. Marcelo Paulo Hernández
Co - Directora: MSc. Alejandra Victoria Carbone

Fecha de entrega: La Plata, 27 de octubre de 2023

RESUMEN

En un lote del establecimiento Don Joaquín destinado a la producción de verdeo de “ray grass” fue detectada la aparición de amplios manchones de infestación con *Lamium amplexicaule* “ortiga mansa” (Lamiaceae). Para efectuar el control poblacional se aplicó el herbicida 2,4 DB según la dosis recomendada por marbete. El control no resultó exitoso ya que la ortiga mansa continuó creciendo y formando varias cohortes de descendencia, dejando semillas en el banco del suelo. Por esta razón fue colectado material para su herborización y posterior estudio y análisis morfo-anatómico de órganos vegetativos (tallos, hojas y verticilastros) y semillas, comparando con material sin aplicación de 2,4 DB. El objetivo fue analizar las estrategias de supervivencia de la especie y evaluar los efectos producidos por la aplicación del herbicida en las características morfo-anatómicas y germinación de semillas en una población natural de *L. amplexicaule*. El herbicida produjo reducción en la longitud de los tallos y en parámetros reproductivos evaluados como longitud de las corolas, número de cimas en los verticilastros y longitud y latitud de las semillas respecto al control. El poder germinativo de las semillas generadas por las plantas tratadas con el herbicida hormonal aumentó significativamente respecto al control. La viabilidad de las semillas no se afectó a los 3-9 y 12 meses manteniendo activo su metabolismo. El herbicida tuvo efecto positivo en el vigor germinativo respecto al material control. Si bien el 2,4 DB genera alteraciones morfo-anatómicas en tallos y estructuras reproductivas la supervivencia de *L. amplexicaule* está garantizada por la generación de semillas que posee un elevado poder y vigor germinativo manteniendo la viabilidad hasta transcurridos 12 meses de colectado el material. Estas características le otorgan a la especie mecanismos exitosos para escapar al control hormonal y dejar numerosas descendencias o cohortes con elevada capacidad invasora.

INTRODUCCION

El establecimiento productivo Don Joaquín se encuentra situado en el partido de Magdalena (provincia de Buenos Aires, Argentina) en una región que presenta amplios sectores caracterizados por poseer drenaje imperfecto y

alcalinidad sódica, que incluyen lomadas y tendidos planos, con suelos aptos para cultivos de cosecha y pasturas (Alconada Magliano y Lanfranco, 2020).

Aspectos de la Vegetación y Sistemas productivos

En el establecimiento mencionado las actividades productivas se realizan en cuatro sectores organizados por ambientes, que se detallan a continuación.

1) Sistema netamente agrícola: trigo-soja de segunda-maíz- soja de primera solo para alimento del ganado*;*

2) Sistema mixto articulado por agricultura en el sector de mejor calidad edáfica, con pastura de *Festuca sp*. y trébol rojo;

3) pasturas de *Festuca sp.* con planteo de rotación 4x1 y

4) Sistema con promoción de especies invernales*: Lolium sp.* "ray-grass".

En dicho establecimiento se observan cambios estacionales importantes con resultados variables en los sistemas productivos agrícolas, pasturas y pastizales naturales. El ambiente de los pastizales naturales está asociado a diversos factores ambientales como la fluctuación de la superficie freática y la ocurrencia e intensidad de las precipitaciones, cambios en la composición florística hidro-halomórfica prevaleciente, y la diferente aptitud productiva. El sistema de apotreramiento que se realiza en los últimos años y en la actualidad, condujo a un manifiesto deterioro del suelo y del pastizal natural (Fernández, F. com. personal).

Actividades productivas

La región donde se encuentra emplazado el establecimiento Don Joaquín ha tenido en las últimas décadas cambios en los sistemas productivos al igual que otras regiones de la República Argentina, con un desplazamiento de la frontera agrícola hacia zonas tradicionalmente mixtas o ganaderas y al monocultivo principalmente de soja (Cruzate y Casas, 2009).

En el partido de Magdalena el cultivo de soja se incrementó a 6000 ha (campaña 2009/10) respecto a una superficie de 350 ha sembradas en la campaña 2002, según estimaciones del Ministerio de Economía y Finanzas Públicas (2012). Los productores adoptaron este sistema por las facilidades que la producción de soja tuvo frente a otras actividades productivas, como la

elevada rentabilidad, control de malezas mediante el uso de glifosato como herbicida principal, adaptación a la siembra directa (SD) que posibilita el cultivo en áreas con problemas de oportunidad de labranza, y el bajo costo de la semilla RR. Sin embargo, este éxito productivo y económico en el corto plazo, trajo consecuencias negativas en el mediano y largo plazo debido a la modificación de otros componentes del sistema de producción en general y del ambiente en particular. En general, los sectores de mayor calidad edáfica son dedicados a la agricultura, pero sin considerar en forma adecuada las rotaciones, la implementación de SD, ni el manejo de la fertilidad, siendo necesario el planteo del manejo integral de los suelos (Ferrari, 2010), y de manejos por ambientes (Calviño, 2017; López y Finello, 2017; Uranga, 2017).

En lo referido a la actividad ganadera en la zona, la cría vacuna ha tenido dificultades ambientales y económicas en la última década, lo cual contribuye a un bajo nivel tecnológico y estancamiento productivo. La invernada pastoril compite por los suelos de mejor calidad, con la agricultura y los tambos, en un territorio muy heterogéneo, que se conocen como campos “overos”, donde los ambientes favorables para la producción agrícola se hallan en menor proporción. Ferrero (2017) manifestó que esta situación productiva conlleva a un replanteamiento a futuro para la preservación y cuidado de los recursos de la zona.

Aporte original al tema

El establecimiento “Don Joaquín” presenta un sector dividido en tres lotes de 12 ha cada uno, donde se establecieron los siguientes sistemas de producción en el período 2021/22:

-Sector 1: lote de rastrojo de cultivo de soja de segunda, donde se implementó la siembra de maíz para la obtención de grano para alimentar el ganado.

-Sector 2: lote donde se cosechó maíz y se sembró soja de primera.

-Sector 3: lote de verdeo de invierno anual con implantación de *Lolium perennis* establecido por aplicación de glifosato que favorece la germinación de las semillas presentes en el banco del suelo. Dicho verdeo es considerado como un “cultivo de servicio”, dado que favorece el control y manejo de malezas de manera sustentable, como también conduce a la provisión de forraje de alta

calidad que se destina a la alimentación del ganado mediante pastoreos rotativos.

La planificación de los pastoreos y la carga animal dependen fundamentalmente de la disponibilidad de forraje, resultando importante realizar monitoreos periódicos y censar la aparición de especies invasoras para que no se perjudique dicho recurso.

Durante la primavera y verano del año 2021 fue observada la aparición de amplios manchones de *Lamium amplexicaule* L. “ortiga mansa” (Lamiaceae) en el sector 3. Para efectuar el control poblacional de *L. amplexicaule* se procedió a la aplicación del herbicida hormonal 2,4-DB quedando un sector del lote donde no fue efectuado el control químico.

Características del herbicida 2,4 DB

El 2,4 DB es un herbicida hormonal, sistémico y selectivo que en aplicaciones post-emergentes resulta efectivo para controlar malezas de hoja ancha. Es el éster butílico o éster isobutílico del ácido 2,4 dicloro fenoxibutírico (Herbicide Handbook, 1989; Casafe, 2017).

Está indicado para el efectivo control de malezas latifoliadas en cultivos y praderas consociadas de gramíneas y leguminosas. Las leguminosas son resistentes a los efectos del 2,4 DB ya que no pueden efectuar la conversión de la beta oxidación de este compuesto a 2,4 D.

La absorción del 2,4 DB es por vía foliar, siendo rápidamente trasladado a las zonas del vegetal en activo crecimiento como ápices meristemáticos y yemas que se encuentren en actividad.

Se aconseja la aplicación en pasturas integradas por gramíneas (como cebadillas, pasto ovillo, falaris, festuca, rye-grass o diversos cereales forrajeros), y ciertas leguminosas (como alfalfa, lotus, trébol rojo, trébol blanco y melilotus) siempre que las malezas a controlar, el estado de crecimiento y la densidad de ellas lo justifique. Se recomienda aplicar en gramíneas en el estado fenológico de macollaje hasta el encañado, y en las leguminosas desde 2 a 3 hojas trifolioladas hasta el estado de floración (Herbicide Handbook, 1989; Casafe, 2017).

La dosis recomendada según marbete es de 1 a 1,25 L/ha^{-1}.

OBJETIVO GENERAL

En función de los antecedentes mencionados, el objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia de la aparición de *L. amplexicaule* en un lote de promoción de “ray grass” en el establecimiento productivo Don Joaquín y caracterizar los efectos ejercidos por el 2,4 DB sobre la morfo-anatomía foliar y la germinación de las semillas generadas.

Objetivos específicos

- Analizar la morfometría del tallo, hoja, flor, inflorescencia y del fruto de los ejemplares de *L. amplexicaule* sometidos a la aplicación del herbicida 2,4 DB.
- Estudiar la anatomía e histoquímica del órgano vegetativo (hoja) y reproductivo (fruto) de ejemplares de *L. amplexicaule* sometidos a la aplicación del herbicida 2,4 DB.
- Analizar la germinación y crecimiento inicial de plántulas, como estrategia de supervivencia de esta población frente al herbicida 2,4 DB.
- Establecer las estrategias fenológicas, morfo-anatómicas, histoquímicas y fisiológicas que permite la supervivencia de *L. amplexicaule* frente a la aplicación de 2,4 DB.

MATERIALES Y METODOS

Tareas de campo

Durante la primavera del año 2021 fueron colectados 20 (veinte) ejemplares enteros (parte subterránea y aérea) de *L. ampexicaule* provenientes del lote Nº 12, correspondiente al sector 3 del establecimiento “Don Joaquín”.

De esa totalidad 10 (diez) ejemplares fueron recolectados en el sector tratado con el herbicida 2,4 DB y los diez ejemplares restantes, de un sector libre de la aplicación del herbicida. Para tal fin se utilizó una pala pequeña y las muestras obtenidas se colocaron entre papel secante en una prensa de madera y/o bolsas simplot con sus correspondientes rótulos.

Para el estudio anatómico e histoquímico foliar, 5 (cinco) hojas de cada sector se conservaron frescas y las restantes se colocaron en frascos plásticos conteniendo liquido conservante FAA (solución de 100 ml de formaldehido-

ácido al 40%, 500 ml de alcohol etílico 96º, 500 ml de ácido acético y 350 ml de agua destilada) (Johansen, 1940).

Para el estudio morfométrico, anatómico, histoquímico y germinativo de las semillas de esta maleza se recolectaron 200 (doscientas) semillas por lote y se colocaron en bolsas de papel que fueron colocadas y conservadas en heladera a 7ºC.

Tareas de laboratorio

a- Herborización

Se procedió al secado final del material vegetal recolectado y a su posterior frizado. Posteriormente, las muestras deshidratadas se montaron sobre cartulina con su respectiva etiqueta informativa. El material herborizado se depositó en los herbarios LP (División Plantas Vasculares del Museo de Ciencias Naturales de La Plata-UNLP) y en el LPAG (FCAyF-UNLP). (Fig. 1).

Figura 1. *L. amplexicaule*. A: Montado y etiquetado de los ejemplares herborizados; B. Ejemplar correspondiente a plantas sin tratamiento con herbicida; C. Ejemplar correspondiente a plantas tratadas con el herbicida 2,4 DB.

b- Morfometría y cuantificación

Se utilizó material fresco y herborizado para efectuar la descripción morfométrica de los tallos, hojas, flores, inflorescencias “verticilastros-cimas” y semillas de ejemplares de *L. amplexicaule.*

El material de herbario seleccionado se hidrató en una solución de agua destilada-detergente, en estufa a 30 ºC, durante 24 hs.
Se midió la longitud de los tallos, flores y los verticilastros, y la longitud y latitud de las hojas y semillas. Se calculó la densidad estomática y la densidad de tricomas mediante la diafanización de las hojas (clarificación), siguiendo las técnicas de Dizeo de Strittmatter (1973) y Arambarri (2018). Asimismo, se hizo un recuento del número de cimas que forman cada verticilastro.
Para la realización de las observaciones mencionadas fueron utilizados una Lupa Arcano, una Lupa binocular Willd M 8 equipada con cámara clara para dibujo, regla y calibre milimetrado.
Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, realizándose la prueba del Test de Tukey (5%) para el contraste de medias mediante el uso del Programa Statistica 7.0.

c- Anatomía

Se realizaron cortes transversales y longitudinales de las hojas, posteriormente decolorados con hipoclorito al 5 % y lavados con agua destilada tres veces. Se practicaron diferentes tinciones, con safranina alcohólica 80%, doble coloración con azul de Alcian y safranina (Luque et al., 1996). En todos los casos se montaron en agua glicerina o en gelatina-glicerina. Los tejidos y las estructuras se examinaron haciendo uso de los microscopios ópticos “Leitz SM Lux” y Lancet equipado con cámara fotográfica Toup View 3.7. Las microfotografías se tomaron con los microscopios ópticos “Gemalux” equipado con cámara Motic 1000 y software MoticImage Plus 2.0” y “Lancet” equipado con cámara fotgráfica “Toup View 3.7”.

d- Histoquímica

Se realizaron cortes transversales y longitudinales de las hojas, posteriormente decolorados con hipoclorito al 5 % y lavados con agua destilada tres veces. Se practicaron las técnicas de identificación de los siguientes compuestos:
-*aceites esenciales*, con reactivo Neutral red (Vogel, 1990; Cosa et al., 2014; Hernández y Katinas, 2019).
-*almidón*, con solución acuosa de Lugol (I-KI) (Ruzin, 1999).

-*lípidos*, con solución alcohólica saturada de Susán IV en alcohol 80º y pasaje por alcohol 70º (Johansen, 1940) o con el reactivo colorimétrico Oil Red “O” (Gurr, 1971).
-mucílagos, con reactivo azul brillante de cresilo 1% (Cosa et al., 2014).
-resinas, con solución saturada de sulfato de cobre y flameado (Cosa et al., 2014).
-taninos, reactivo cloruro férrico al 10% y carbonato de sodio al 2% (D’Ambrogio, 1986; Zarlavsky, 2014).
Se utilizaron los microscopios ópticos con los microscopios ópticos “Gemalux equipado con cámara Motic 1000 y software MoticImage Plus 2.0” y “Lancet equipado con cámara fotgráfica Toup View 3.7”.

e- Germinación

Se evaluó la respuesta germinativa de semillas de *L. amplexicaule* generadas y provenientes de plantas del establecimiento Don Joaquín donde fue aplicado el herbicida 2,4 DB para el control de la mencionada especie, y de semillas provenientes de lotes control donde no fue efectuado el control químico. Los ensayos de germinación fueron realizados con las semillas en diferentes períodos de tiempo de almacenamiento.

Los ensayos de germinación se realizaron en cámaras de crecimiento situadas en los cursos de Morfología Vegetal y Forrajicultura y Praticultura (FCAyF-UNLP), y en las instalaciones de la plantinera comercial PLANTAR (44 y ruta 2, partido de La Plata).

A tal fin, fue diseñado el siguiente Bioensayo de germinación:

Se colocaron 50 semillas de cada población mencionada en bandejas plásticas de germinación de 30 por 20 cm de capacidad con tapa. En la base de las mismas se dispuso un papel de filtro absorbente, humedecido al inicio del ensayo con 30 ml de agua en las condiciones que se mencionan a continuación:

Tratamiento 1: Control o Testigo absoluto sometido a 25 ºC con semillas de 3 (tres) meses de edad. Dicho ensayo se realizó en una cámara de crecimiento de la plantinera comercial PLANTAR.

Tratamiento 2: Control o Testigo absoluto sometido a 25 ºC con semillas de 9 (nueve) meses de edad. Este ensayo se realizó en la cámara de crecimiento de la cátedra de Morfología Vegetal (FCAyF. UNLP).

Tratamiento 3: Semillas de 12 (doce) meses de edad sometidas a alternancia térmica de 10–20 ºC y un fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Ensayo realizado en la cámara de crecimiento del Curso de Forrajicultura y Praticultura (FCAyF. UNLP).

Tratamiento 4: Control o Testigo absoluto con semillas de 12 (doce) meses de edad a 25 ºC en la cámara de crecimiento del Curso de Morfología Vegetal (FCAyF. UNLP).

Una vez que el material vegetal fue sembrado en las bandejas se colocó en las cámaras de crecimiento a las temperaturas mencionadas correspondientes a los Tratamientos y se evaluó en forma periódica las siguientes variables:

- **Porcentaje de germinación** (PG): número de semillas germinadas respecto a un total de 100 semillas luego de 5, 10 y 15 días de incubación. Se consideró “semilla germinada” aquella cuya radícula supere 1 mm de largo.

- **Vigor de germinación o energía germinativa (EG)**, a partir del registro diario de germinación se determinó para cada población, las horas que demora en germinar el 50 % de las semillas sembradas.

- Se realizaron **observaciones visuales y registros fotográficos periódicos** de las semillas y las plántulas obtenidas. Al finalizar el ensayo se colocó material en frascos con FAA (formol-ácido acético- alcohol) para su conservación y posterior análisis bajo lupa y/o microscopio.

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y se realizó la prueba del Test de Tukey (5%) para el contraste de medias mediante el uso del Programa Statistica 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSION

I- ANALISIS MORFOLÓGICO DESCRIPTIVO

El análisis descriptivo morfológico de la especie objeto de estudio se presenta a continuación:

Nombre científico: *Lamiun amplexicaule* L.

Nombre vulgar: ortiga mansa

Familia**:** Lamiaceae = Labiadas

Es una planta de hábito herbáceo, de hasta 40 cm de altura. Sus tallos presentan sección transversal cuadrangular y son ascendentes o algo decumbentes, ramificados desde la base, glabros o glabrescentes en su parte inferior, hispídulos hacia la parte superior, con tricomas retrorsos; los entrenudos de la parte media son más alargados que los entrenudos superiores. Las hojas hispídulas presentan peciolos de 1 a 5 cm de longitud; la lámina foliar tiene 0,5 a 2 cm de longitud por 0,7 a 2,5 cm de latitud, anchamente ovadas a orbiculares, con su base cordada “a veces flabeladas”, con lóbulos irregulares, a veces crenadas; las brácteas foliáceas de 1 a 3 cm de longitud por 1,5 a 4,5 cm de latitud, sésiles, amplexicaules, lobuladas o crenadas. La flor es pentámera, hermafrodita y zigomorfa; el cáliz es gamosépalo, pubescente, formado por sépalos de 5 a 6 mm de longitud; la corola es bilabiada, púrpura, de 12 a 19 mm de longitud, externamente pubescente, formada por un tubo de 10 a 15 mm de longitud que remata en dos labios, el superior 2,5 a 4 mm de longitud y el inferior de 3,5 a 7 mm de longitud; el androceo presenta 4 estambres, los dos superiores de 0,5 a 0,8 mm de longitud, los dos inferiores de 1 a 1,2 mm de longitud; el gineceo es súpero, bicarpelar, con 2 óvulos por carpelo, tetrapartido “por la presencia de un estilo ginobásico” y bífido, estilo de 10 a 18 mm de longitud. Las flores se disponen en cimas protegídas por brácteolas alesnadas y pubescentes; las cimas se agrupan formando el verticilastro, con 10 a 15 flores cada uno. El fruto es un tetra-aquenio de 3 a 4 mm de longitud. La semilla “clusa” tiene 2-3 mm de longitud, es castaña, finamente granulosa, y con manchas blanquecinas en relieve, obovoide - trígonas, de ápice truncado, con una pequeña área membranosa en la base; presenta endosperma escaso o nulo y un embrión recto. Esta especie es originaria de Europa, siendo adventicia en América; presenta una amplia distribución en Argentina (Crespo, 1979, Hernández et al., 2023). (Figura 2).

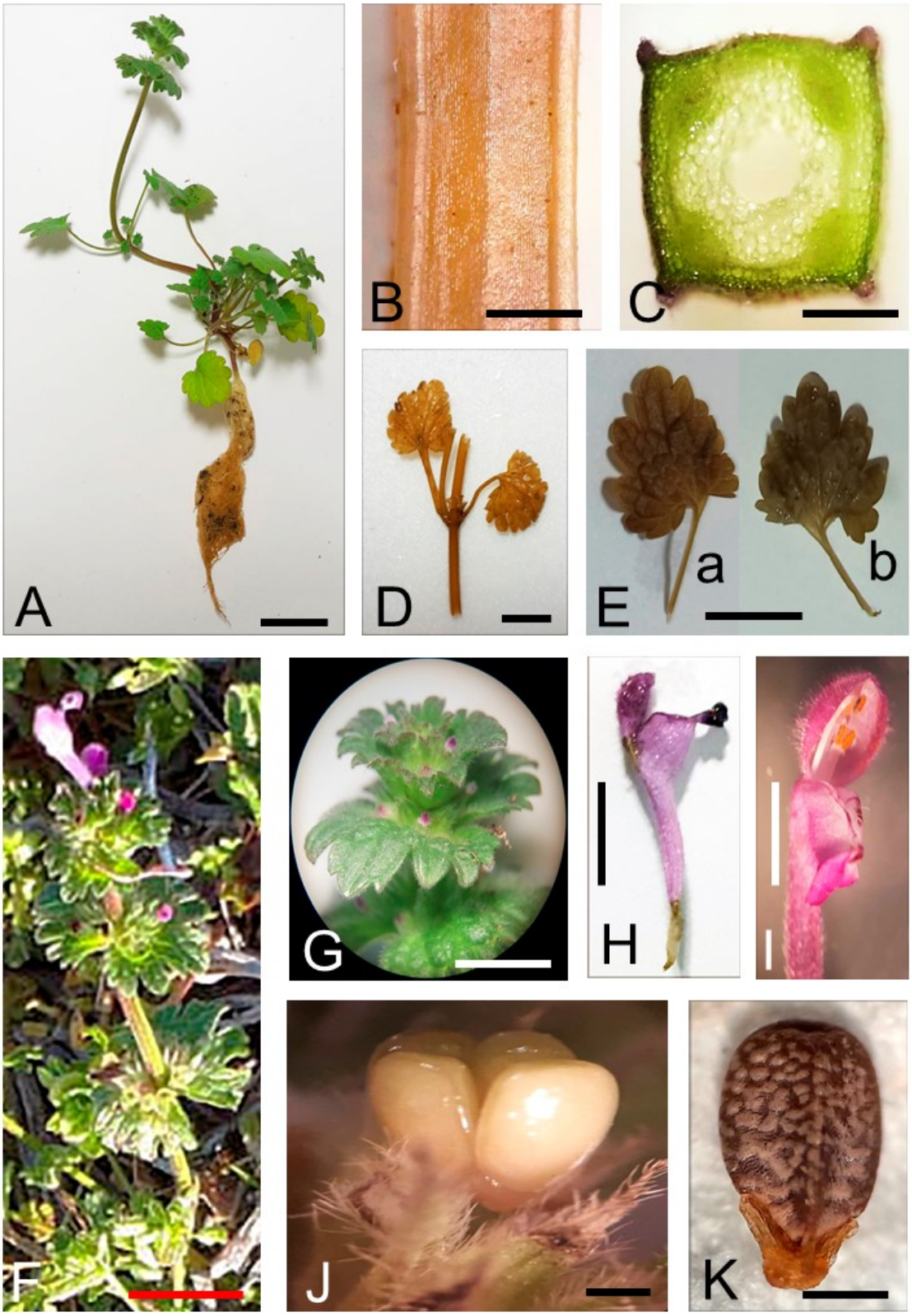

Figura 2. *L. amplexicaule*. A: Aspecto general de la planta; B: Vista superficial del tallo; C: Vista transversal del tallo; D: Filotaxis; E: Hoja, a- cara adaxial, b- cara abaxial; F: Verticilastro; G: Detalle de una cima; H: Corola bilabiada; I:

Estambres; J: fruto inmaduro; K: Clusa. Escalas: A, D, E, F, G, H, I = 1 cm; B, C, J, K = 1 mm.

II- DATOS MORFOMETRICOS

TALLOS

a- Longitud del tallo

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable longitud de los tallos de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB mostraron diferencias significativas (P ≤0,05) respecto a los tallos de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 1.

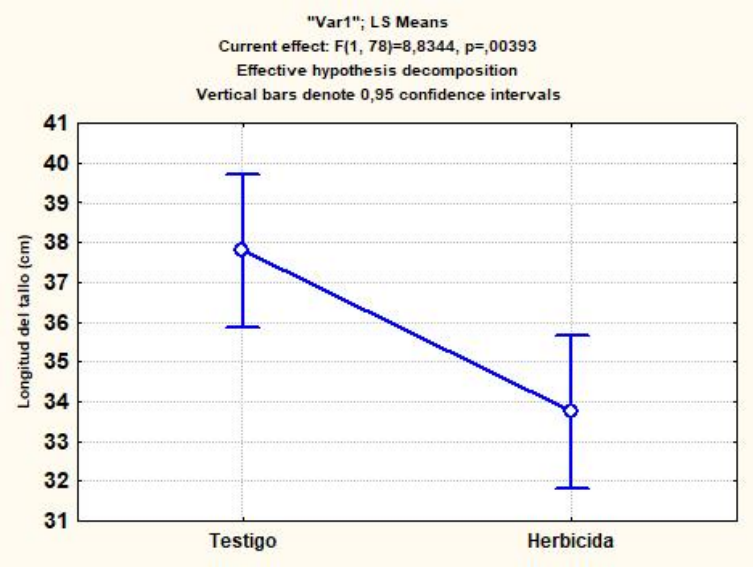

Gráfico 1. Longitud de los tallos de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

Puede observarse que la aplicación del herbicida 2,4 DB produjo una penalidad sobre las plantas de *L. amplexicaule* reduciendo la longitud de sus tallos, afectando la normal actividad de los tejidos meristemáticos y el alargamiento de las células, como es esperable en los herbicidas de actividad hormonal (Casafe, 2017).

b- Latitud del tallo

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable latitud de los tallos de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB no

manifestaron diferencias significativas (P ≤0,05) respecto a los tallos de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 2.

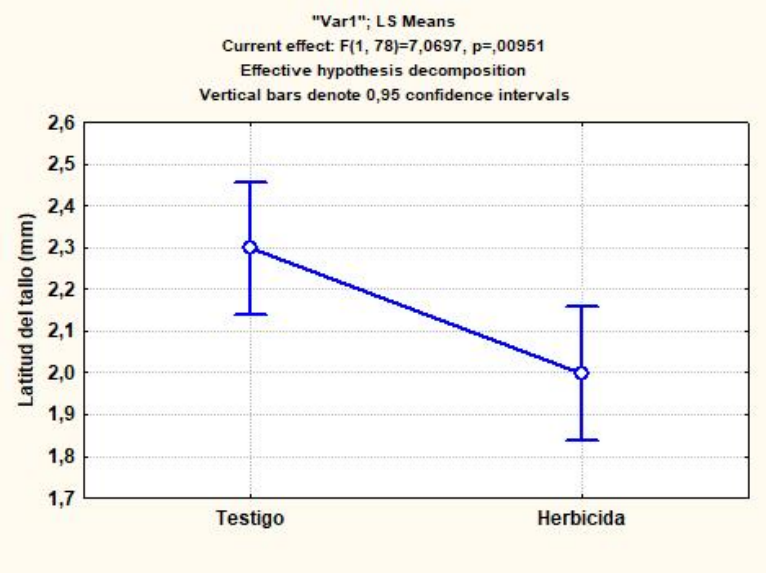

Gráfico 2. Latitud de los tallos de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

HOJAS

c- Longitud de las hojas

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable longitud de las hojas de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB no manifestaron diferencias significativas (P ≤0,05) respecto a los tallos de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 3.

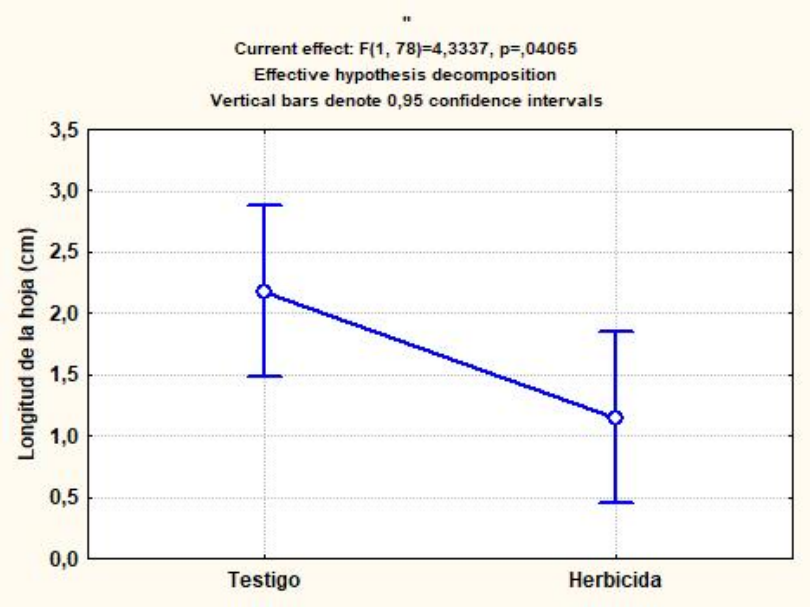

Gráfico 3. Longitud de las hojas de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

Como se observa en el gráfico 3, la longitud de las hojas de L. amplexicaule de ambas procedencias no manifestaron diferencias significativas si bien se nota una disminución en este parámetro en las hojas de las plantas tratadas con el herbicida. Esta reducción puede deberse a los efectos deletéreos del herbicida y el consumo energético que realizaron las plantas para sobreponerse a dicha aplicación.

d- Latitud de las hojas

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable latitud de las hojas de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB no manifestaron diferencias significativas ($P \leq 0{,}05$) respecto a los tallos de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 4.

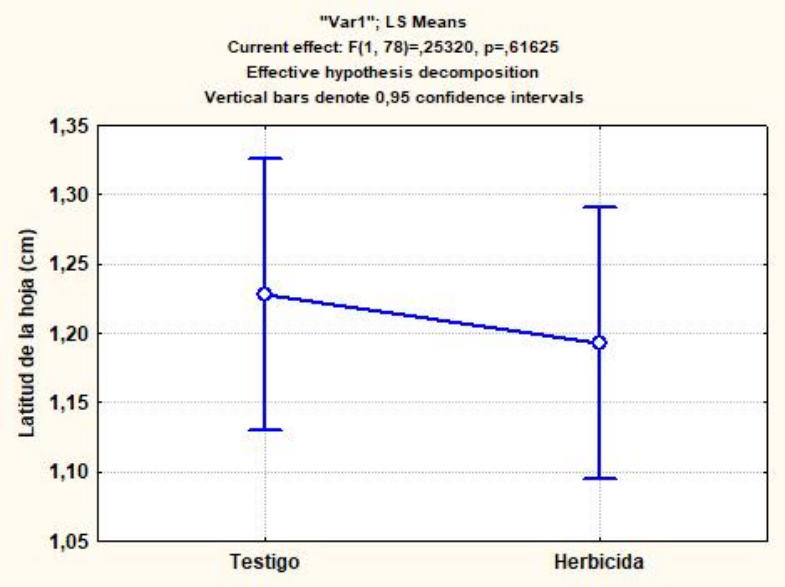

Gráfico 4. Latitud de las hojas de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

e- Densidad estomática total

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable densidad estomática total de las hojas de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB manifestaron diferencias significativas (P ≤0,05) respecto a las hojas de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 5. Como puede observarse, la densidad estomática total de las hojas de las plantas tratadas con el herbicida se incrementó un 27% respecto a las plantas control o testigo.

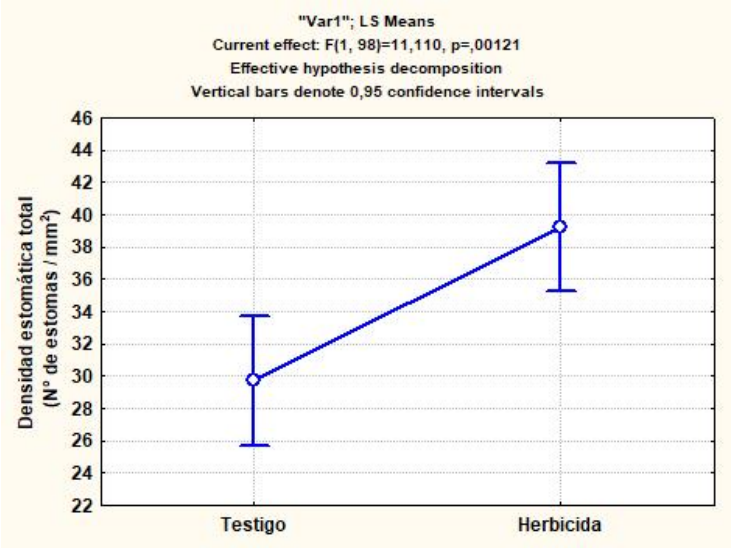

Gráfico 5. Densidad estomática total en las hojas de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

f- Densidad total de tricomas

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable densidad total de los tricomas de las hojas de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB manifestaron diferencias significativas (P ≤0,05) respecto a los tricomas presentes en las hojas de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 6.

La aplicación del herbicida 2,4 DB produjo un incremento del 500% en la densidad de tricomas foliares respecto a las plantas control o testigo.

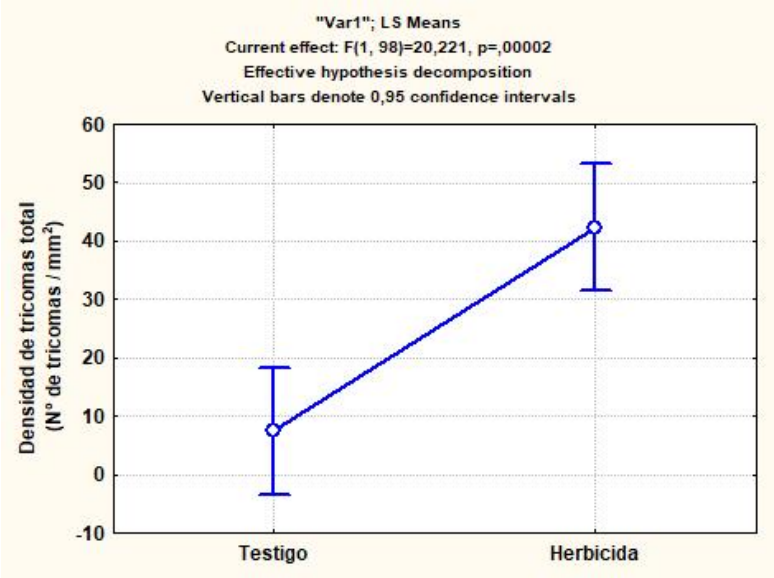

Gráfico 6. Densidad total de tricomas en las hojas de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

FLOR E INFLORESCENCIAS

g- Longitud de la corola

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable longitud de la corola de las flores de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB es significativamente menor respecto de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 7.

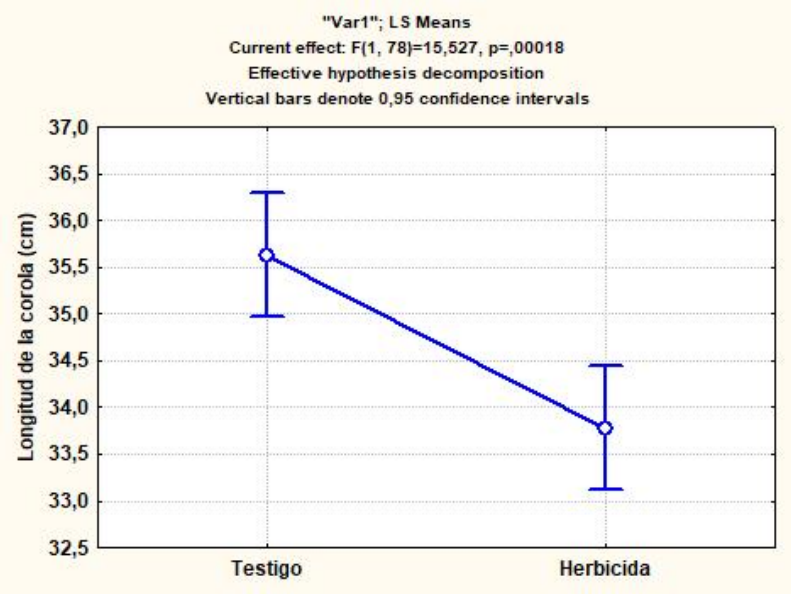

Gráfico 7. Longitud de la corola de las flores de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

h- Número de cimas por verticilastros

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable número de cimas por verticilastros de las inflorescencias de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB es significativamente menor respecto de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 8.

El número de cimas por verticilastro disminuyó un 17% en los ejemplares tratados con el herbicida 2,4 DB respecto a los controles.

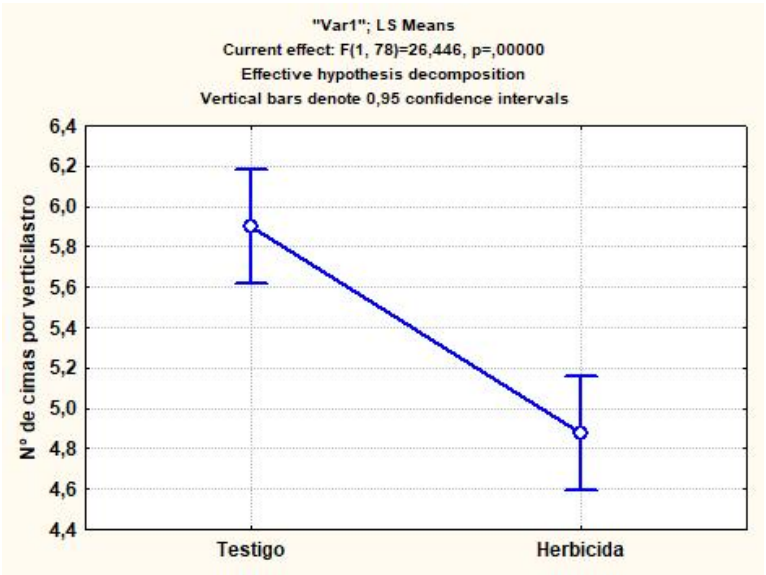

Gráfico 8. Número de cimas por verticilastros en las inflorescencias de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

i- Longitud de los verticilastros

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la longitud de verticilastros de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con 2,4 DB es significativamente menor respecto de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 9.

La longitud de los verticilastros disminuyó un 25% en los ejemplares tratados con el herbicida 2,4 DB respecto a los controles.

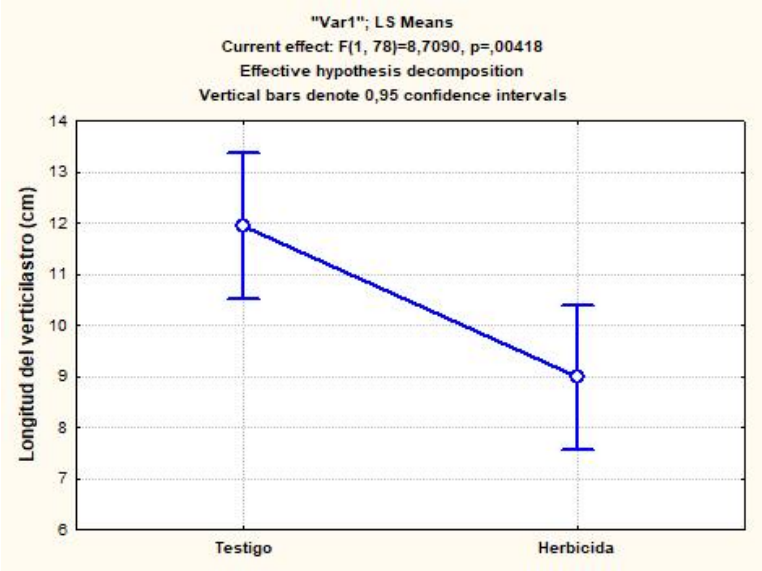

Gráfico 9. Longitud de los verticilastros de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

SEMILLAS

j- Longitud de los frutos

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable longitud de las semillas provenientes de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB es significativamente menor respecto de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 10. La longitud de las semillas tratadas con el herbicida disminuyó un 15% respecto a las semillas control.

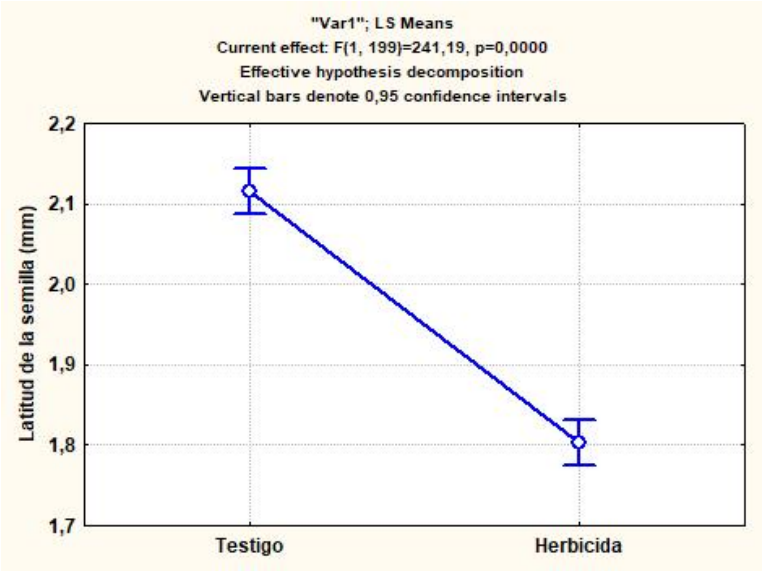

Gráfico 10. Longitud de las semillas provenientes de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (control sin aplicación de 2,4 DB).

k- Latitud de las semillas

A partir del análisis de la varianza, se encontró que la variable latitud de las semillas provenientes de los ejemplares de *L. amplexicaule* tratados con el herbicida 2,4 DB es significativamente menor respecto de los ejemplares testigos (T), tal como puede observarse en el gráfico 11. La latitud de las semillas provenientes de las plantas tratadas con el herbicida disminuyó un 20,4% respecto a las semillas control.

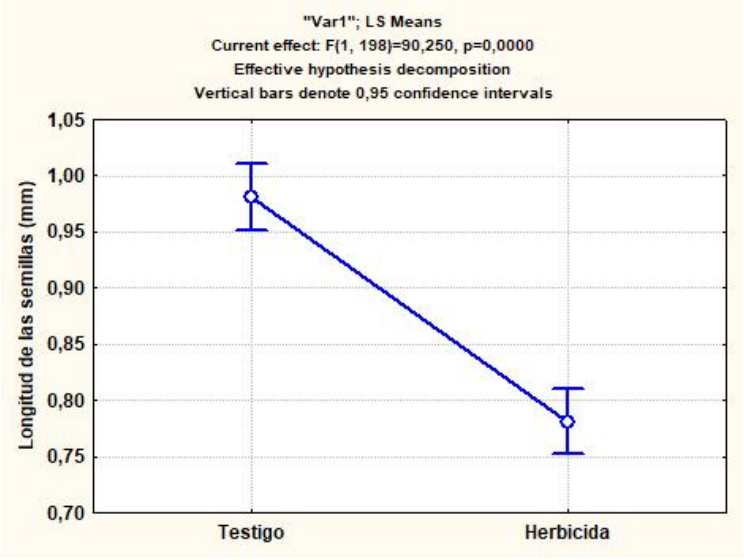

Gráfico 11. Latitud de las semillas provenientes de ejemplares de *Lamium amplexicaule* tratados con 2,4 DB (herbicida) y Testigo (sin aplicación de 2,4 DB).

Se pudo observar que la aplicación del herbicida 2,4 DB produjo reducción en todos los parámetros evaluados referidos a las estructuras reproductivas respecto a las plantas control. Si bien el 2,4 DB no resultó ser eficaz para controlar las poblaciones de *L. amplexicaule*, logró disminuir el número de cimas por verticilastros, el tamaño de las corolas de las flores y las dimensiones de las semillas, tanto en longitud como latitud. Esto podría ejercer un efecto en la disminución de la capacidad invasora de la especie, dejando menor descendencia representada por el número de semillas generadas en las siguientes cohortes.

ANÁLISIS ANATÓMICO E HISTOQUÍMICO

- **HOJA**

Los cortes histológicos de las láminas foliares de *L. amplexicaule* de ejemplares control y tratados con el herbicida 2,4 DB presentaron similar estructura anatómica. Se observó la presencia de un tejido epidérmico uniestratificado, con estomas (Fig. 3 A) y tricomas glandulares en ambas caras.
Los tricomas presentes son: a-. tricomas globosos con una base 1-celular y una cabeza 3-celular (Fig. 3 C, D; Fig. 4 E) y b- tricomas uniseriados, simples, formados por una base 2-celular y un cuerpo de 2 a 3 células, siendo la apical aguda (Fig. 3 E, F).
El mesófilo es dorsiventral con parénquima en empalizada formado por una a tres capas de células y el parénquima esponjoso formado por dos a tres capas de células (Figs. 3 A; Fig. 4 C, D, F; Fig. 5 A, B, D, E). La vena media posee uno o dos haces vasculares (Fig. 3 B; Fig. 5 B, C). En ocasiones, en la vena media, suele presentarse 1 o 2 capas de tejido colenquimático angular. (Fig. 3 B).
Los ejemplares de ambas procedencias (control y tratados con el herbicida) presentaron tricomas con aceites esenciales (Fig. 3 C-F); (Fig. 4 A, C) y mucílagos (Fig. 4 B, D, E); mesófilo con aceites esenciales (Fig. 4 C), mucílagos (Fig. 4 D, E), resinas (Fig.4 F) y taninos (Fig. 5 A, B); sustancias

lipídicas en las paredes celulares (Fig. 5 D); taninos en el tejido xilemático (Fig. 5 C). Los ejemplares control presentaron granos de almidón en el mesófilo (Fig. 5 E).

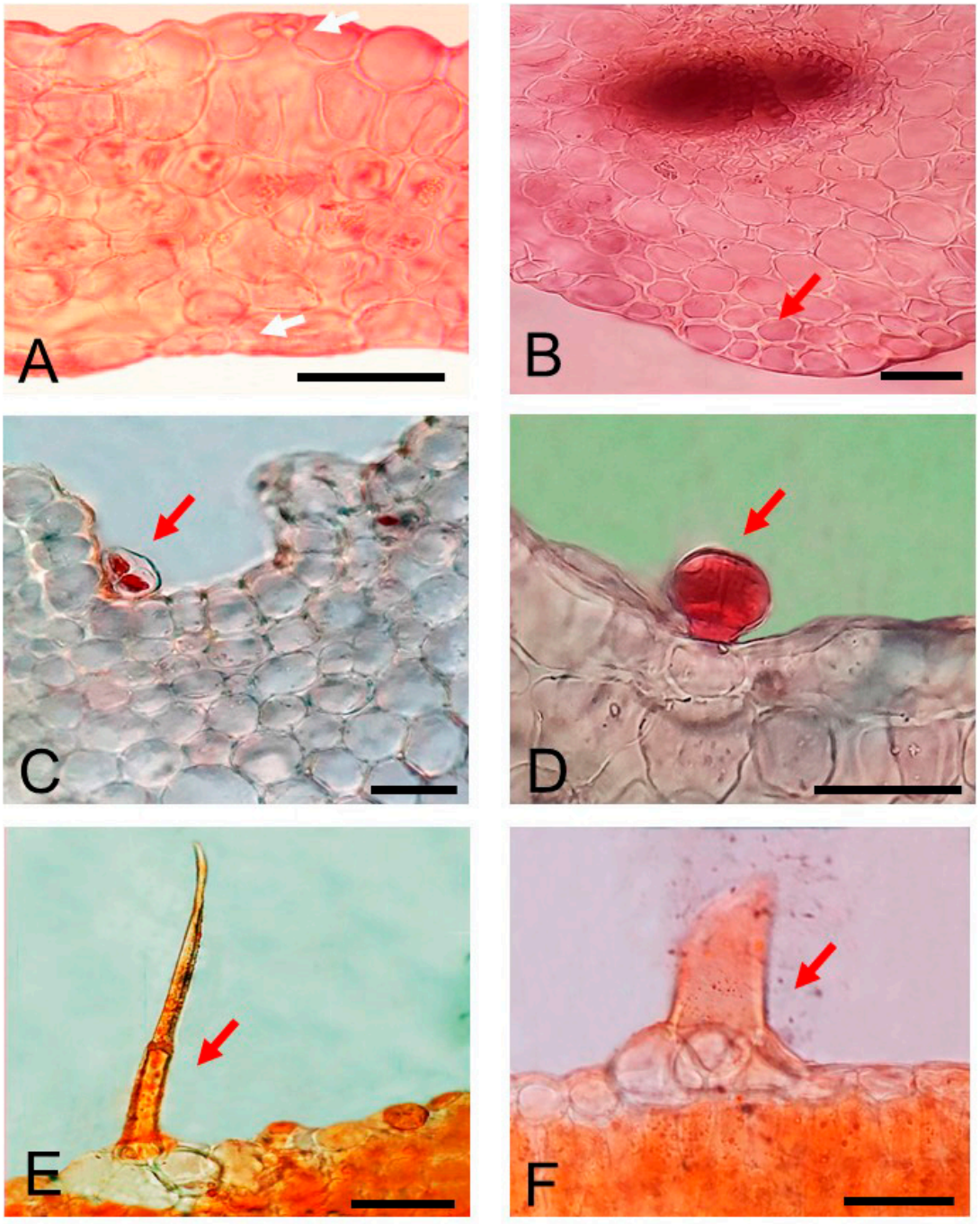

Figura 3. *L. amplexicaule*. A: Corte transversal de la lámina foliar. Epidermis uniestratificada con las paredes tangenciales con depósito de sustancias lipofílicas; B: Colénquima angular subepidérmico en corte transversal de la lámina foliar y haz vascular de la vena media; C y D: Tricoma glandular con

cabeza tricelular; E y F: Tricoma glandular uniseriado y tricelular. Escalas: A-F= 100 µm.

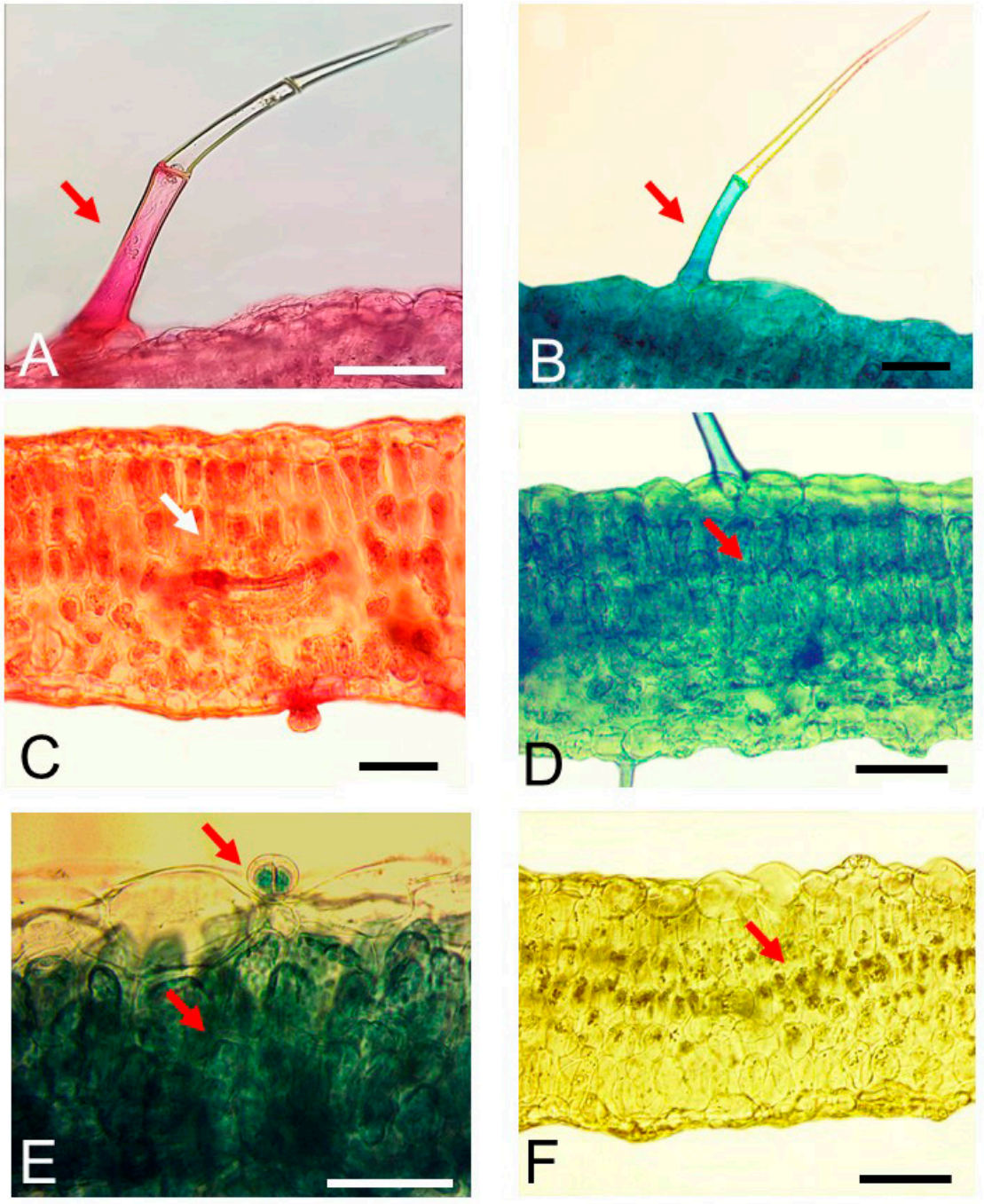

Figura 4. *L. amplexicaule*. A: Tricoma foliar con sustancias lipofílicas; B: Tricoma con mucílagos; C: Mesófilo foliar con aceites esenciales; D: Mesófilo foliar con mucílagos; E: Mesófilo y tricoma con mucílagos; F. Mesófilo con resinas. Escalas: A-F= 100 µm.

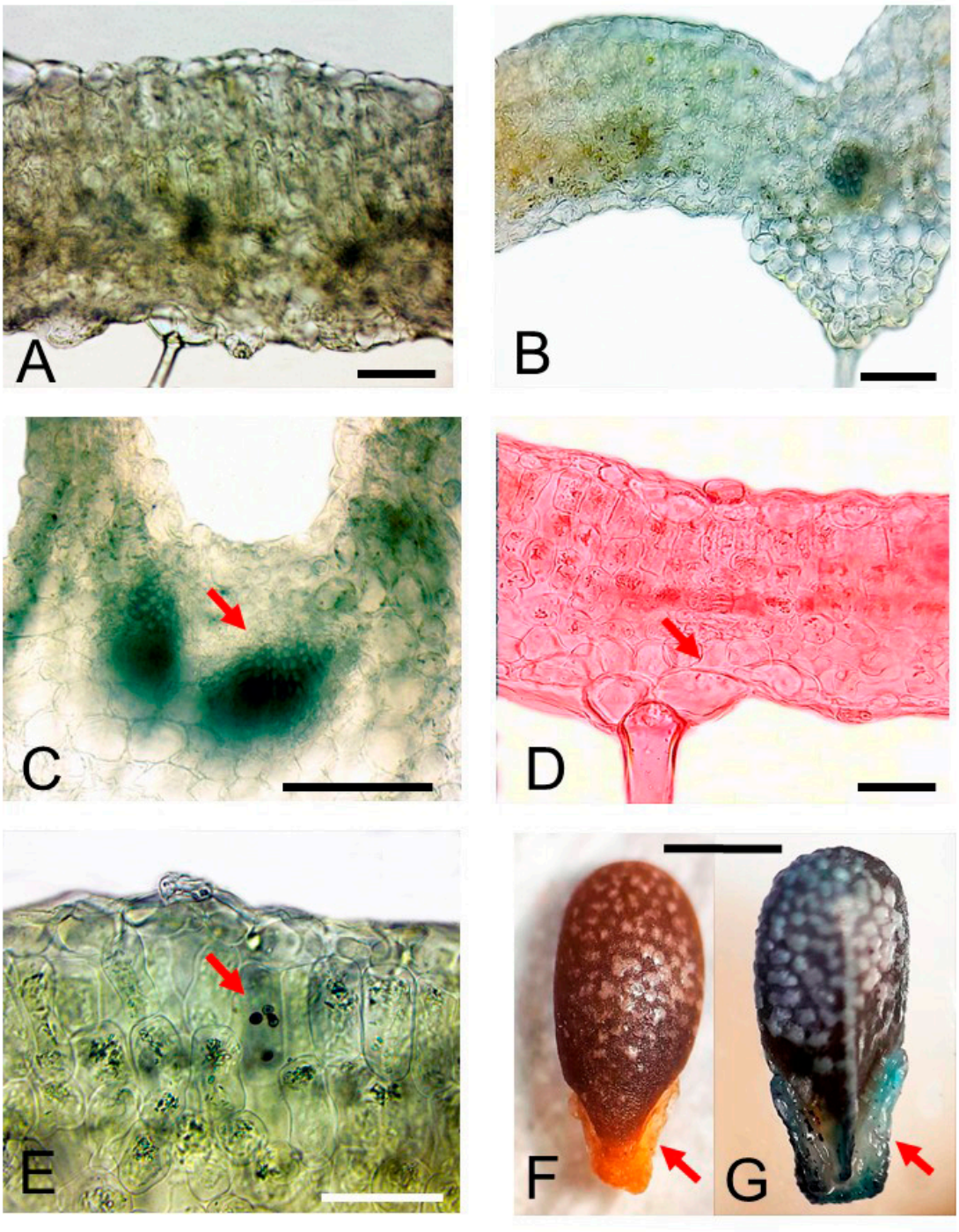

Figura 5. *L. amplexicaule*. A-B: Mesófilo foliar con resinas; C: Haces vasculares de la vena media foliar con taninos; D: Paredes celulares con sustancias lipofílicas; E: Mesófilo con granos de almidón; F-G: Núcula con base mucilaginosa. Escalas: A-E= 100 µm; F-G= 1 mm.

- **NÚCULA Y SEMILLA**

Las núculas pertenecientes a los ejemplares de ambas procedencias (control y tratados con el herbicida), presentan una base membranosa conteniendo mucílagos y sustancias lipofílicas (Fig. 6 F, G) y similares características anatómicas e histoquímicas. Poseen un pericarpo leñoso (Fig. 6 B, C, D) de 45 a 89 µm de espesor con un hilo sub-triangular situado en la parte basal de la cara ventral prolongado en una quilla longitudinal que ocupa las ¾ partes de dicha cara. El epicarpo de 16-40 µm de espesor se observa en la Fig. 6 C y está formado por células alagadas radialmente con paredes radiales y periclinales gruesas; el mesocarpo (6-10 µm de espesor) está formado por 1 o 2 capas de células rectangulares y de paredes delgadas; capa en empalizada (15-25 µm) formada por esclereidas alargadas radialmente, de paredes engrosadas, y con cristales; endocarpo (6-10 µm de espesor) formado por una capa de células de paredes delgadas. La testa de la semilla (2-4 µm de espesor) está formada por una capa de células rectangulares de paredes delgadas. En su interior se halla un embrión recto y endosperma escaso o nulo; el embrión presenta gotas lipídicas (Fig. 6 F, G) y el endosperma contiene granos de almidón (Fig. 6 E).

El pericarpo, y el tegumento seminal presentan gotas lipídicas (Fig. 6 B), mucílagos (Fig. 6 C) y taninos (Fig. 6 D).

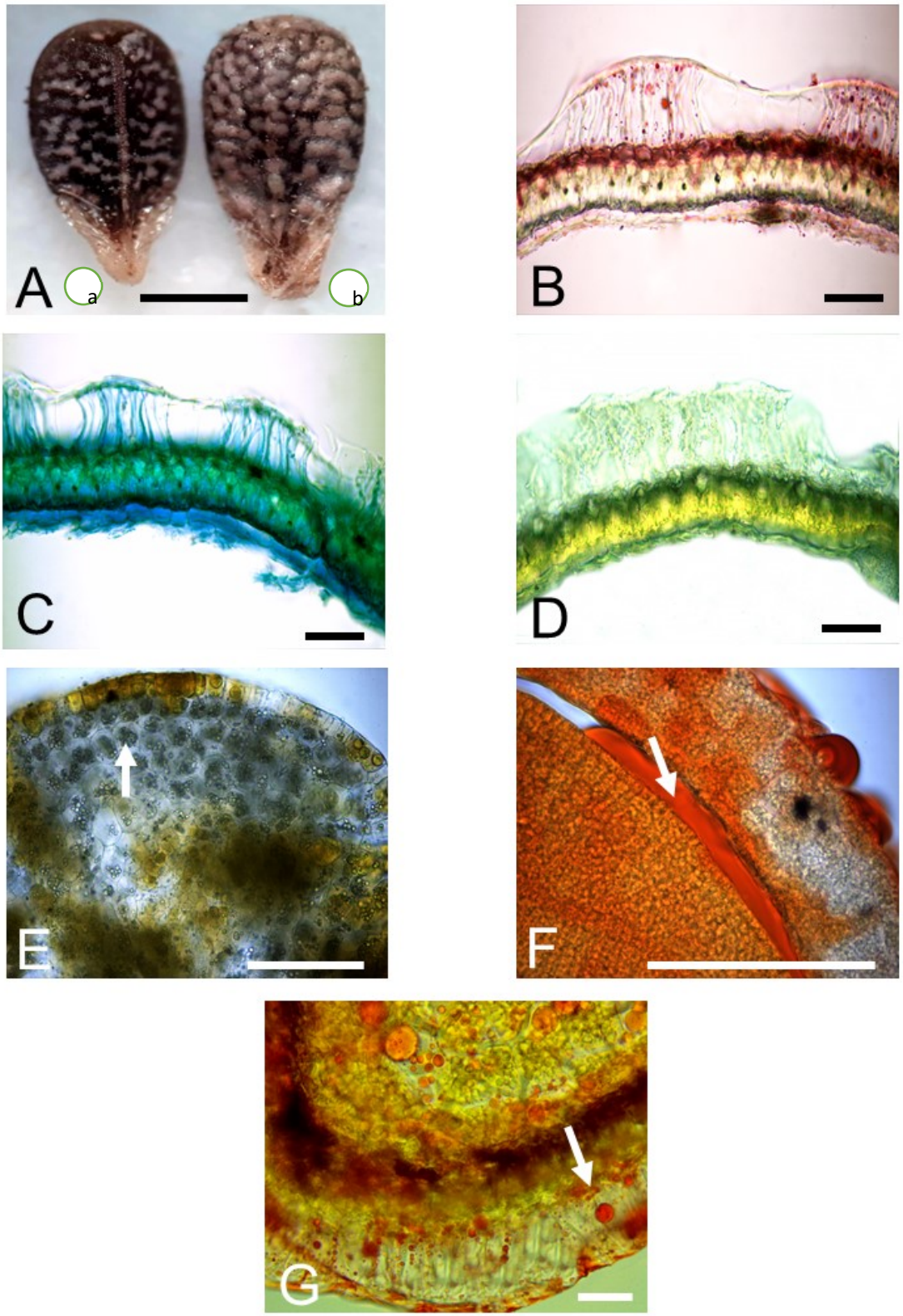

Figura 6. *L. amplexicaule*. A: a- Núcula resultante del tratamiento con herbicida, b- Núcula resultante de los ejemplares testigo. B: Pericarpo y testa con sustancias lipofílicas; C: Pericarpo y testa con mucílagos; D: Pericarpo y testa con taninos; E: Granos de almidón en el embrión. F. Base membranosa de la

núcula conteniendo mucílagos. G. Sustancias lipofílicas en la núcula. Escalas: A = 1 mm; -E= 100 µm; F-G= 1 mm. B-G= 100 µm.

VI- GERMINACIÓN

En los ensayos correspondientes a germinación se trabajó con semillas de 3, 9 y 12 meses de edad para evaluar su comportamiento en cuanto al Poder y Energía Germinativa. Los resultados obtenidos en el parámetro Poder Germinativo (PG) se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Poder germinativo (PG) expresado en porcentaje (%), de semillas de *L. amplexicaule* colectadas en septiembre de 2021 procedentes del Establecimiento Don Joaquín. Efectos del origen de las semillas y la edad sobre el PG.

Material	**Tratamiento 1 (3 meses edad)**	**Tratamiento 2 (9 meses de edad)**	**Tratamiento 3 (12 meses de edad)**	**Tratamiento 4 (12 meses de edad)**
Tratadas con 2,4-DB	14 a	35 a	40 a	40 a
Sin tratamiento de 2,4-DB	4 b	15 b	15 b	15 b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tuckey (>0.005).

Como puede observarse en la Tabla 1 las semillas provenientes de las plantas que fueron tratadas con el herbicida 2,4 DB mostraron mayores registros de PG en todos los ensayos realizados respecto a los controles con diferencias estadísticamente significativas.

Asimismo, se observó que las semillas cosechadas en septiembre de 2021 no perdieron su viabilidad con el transcurso del tiempo (edad), sino que evidenciaron incrementos en el PG superiores al 50% entre el tratamiento 2 (semillas de 9 meses de edad) respecto al Tratamiento 1 (semillas de 3 meses de edad). Esta tendencia se mantuvo a los 12 meses de colectadas las semillas manifestando que mantienen su viabilidad.

Estos resultados indican que las semillas mantienen su capacidad germinativa transcurrido un año de su generación y llenado, lo que ocasionaría problemas de infestación de los lotes donde hubo presencia de esta especie.

Resulta importante señalar que las semillas obtenidas de plantas tratadas con 2,4-DB manifestaron mayores registros de germinación respecto a los controles en todos los períodos de tiempo evaluados. Estas respuestas se dieron tanto en condiciones controladas como en el Tratamiento 3, donde fue generada una situación similar a la que acontece en condiciones de campo con alternancia térmica y 12 horas de fotoperíodo y 12 horas de oscuridad.

Las respuestas observadas indican que las semillas de *L. amplexicaule* presentan elevada plasticidad para germinar no manifestando requerimientos estrictos para entrar en actividad metabólica y que las mismas poseen períodos de tiempo elevados de viabilidad.

Tabla 2. Energía germinativa (EG) expresada en horas (h), de las semillas de *L. amplexicaule* colectadas en septiembre de 2021 procedentes del Establecimiento Don Joaquín. Efectos del origen de las semillas y la edad sobre la EG.

Material	**Tratamiento 1 (3 meses de edad)**	**Tratamiento 2 (9 meses de edad)**	**Tratamiento 3 (12 meses de edad)**	**Tratamiento 4 (12 meses de edad)**
Tratadas con 2,4-D	188 b	120 b	100 b	100 b

Sin tratamiento de 2,4-D	240 a	168 a	140 a	140 a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (>0.005).

Los resultados obtenidos indican que las semillas que provienen de las plantas tratadas con el herbicida presentan mayor EG respecto a las semillas de plantas control en todos los tratamientos realizados. Las semillas del Tratamiento 1 control requieren de 240 horas de incubación respecto a las que fueron obtenidas de plantas tratadas con 2,4 DB que requieren de 188 horas. Esta tendencia observada en semillas de 3 meses de edad se mantuvo en semillas de 9 y 12 meses de edad en condiciones controladas de germinación (Tratamiento 2 y 4). Se pudo observar que a medida que aumenta la edad de las semillas se fueron acortando los períodos de germinación.

Las semillas del Tratamiento 3 que se sometieron a períodos de alternancia térmica y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad tuvieron el mismo comportamiento que las que estuvieron en condiciones controladas indicando que este material no requiere de condiciones ambientales estrictas para entrar en actividad metabólica.

En la Figura 7 se pueden observar imágenes de las plántulas obtenidas de los ensayos realizados de germinación a los 7 y 15 días de efectuada la siembra de los materiales de ambas procedencias.

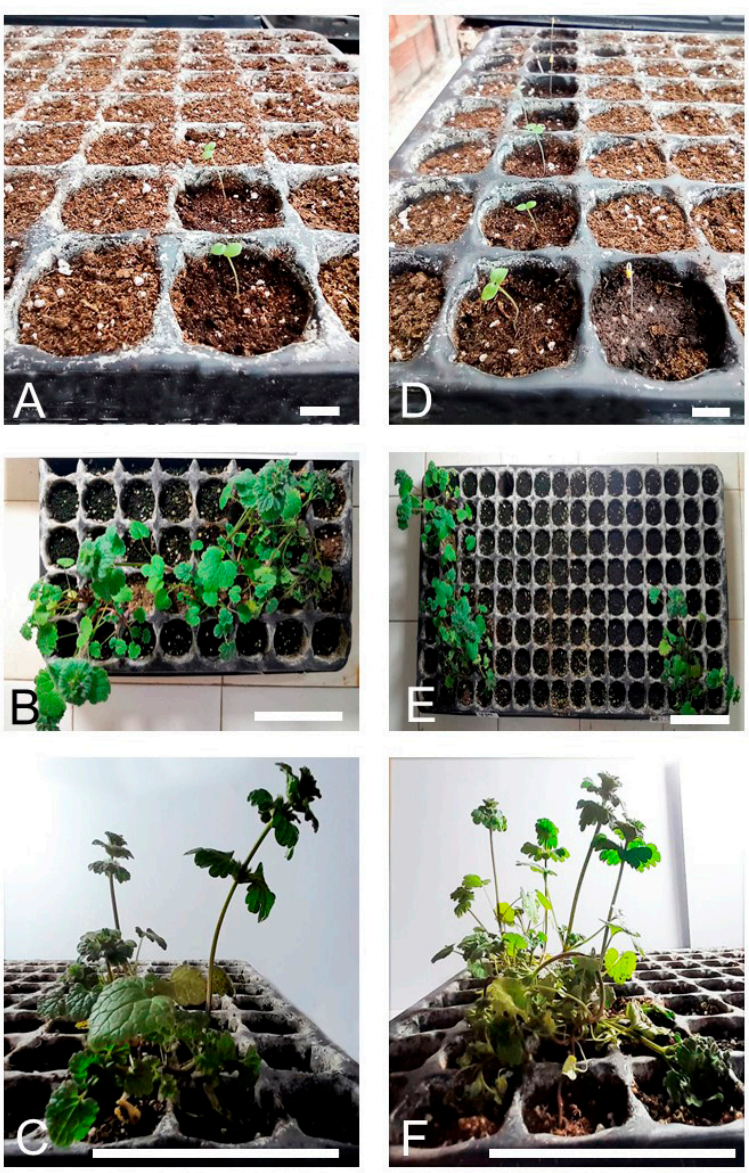

Figura 7. *Lamium amplexicaule*. A, B, C: Ensayo con semillas obtenidas de plantas testigo; A: plántulas a los 7 días de siembra, B y C: plantas a los 15 días de siembra. D, E, F: Ensayo con semillas provenientes de plantas tratadas con 2,4 DB; D: plántulas a los 7 días de siembra, E y F: plantas a los 15 días de siembra. Escalas: A, D = 1 cm; B, C, F y G = 10 cm.

En las hojas de *L. amplexicaule* (ejemplares control y ejemplares tratados con herbicida 2,4 DB) fueron hallados aceites esenciales, mucilagos, resinas y taninos; en los frutos y semillas, se hallaron mucilagos y taninos. Los mucílagos son metabolitos que permiten la retención y acumulación de agua (Villa-Uvidia et al., 2020) en aquellos órganos donde están presentes. Los aceites

esenciales y los taninos, impiden la congelación y deshidratación foliar ante el frío y el calor extremo (Sharifi-Rad et al., 2021; Carrasco Sánchez, 2017) y filtran la radiación UV - B (Kaufr y Saraf, 2010); confiriendo también a los órganos vegetales protección contra diversos patógenos, por sus propiedades antibióticas (Nava Pérez et al., 2012; Castresan et al., 2013; Stegmayer et al., 2021). Por lo tanto, los mencionados compuestos presentes en las hojas, frutos y semillas de *Lamium amplexicaule* evitan daños metabólicos en las hojas asegurando un proceso fotosintético exitoso que se ve plasmado en el incremento de la densidad estomática para sobrellevar el estrés químico generado por la aplicación del herbicida, y en los frutos y semillas protegiendo al embrión y reteniendo humedad en los tejidos para evitar la deshidratación extrema. Estos compuestos tendrían un rol fundamental contribuyendo a la supervivencia de esta especie tal como se observó en el área de estudio.

Si bien el herbicida no efectuó un control eficaz poblacional, las características morfo-anatómicas adquiridas por los ejemplares tratados con el 2,4 DB provocarían una disminución del potencial invasor, reduciendo el tamaño de las plantas, el número de cimas por verticilastros y el tamaño de las corolas florales y de semillas generadas. Estas respuestas podrían generar una reducción en el número de ejemplares por cohorte.

El gasto energético ocasionado por la aplicación del herbicida 2,4 DB que se vio reflejado en el crecimiento de las plantas no impidió que éstas pasaran al estado reproductivo dejando descendencia y semillas viables por períodos prolongados de tiempo. La estructura de las hojas y semillas evidencian la síntesis de metabolitos secundarios como mucílagos, taninos, resinas y sustancias lipofílicas que estuvieron presentes en las plantas de ambas procedencias. Estos compuestos garantizan la generación de estructuras reproductivas exitosas como son las semillas viables de elevada capacidad germinativa y plasticidad.

Los resultados obtenidos en este ensayo permiten establecer que las semillas obtenidas de plantas tratadas con 2,4 DB presentaron variaciones en sus características morfométricas, en el poder y energía germinativa respecto a los controles. Si bien las semillas provenientes de plantas tratadas con 2,4 DB

fueron de menor longitud y ancho que el material control, las mismas manifestaron mayor PG y menor EG en diferentes períodos de tiempo y de edad de las simientes. Esta respuesta señala que el herbicida no resulta eficaz en el control de la especie y que la misma posee plasticidad para germinar en diferentes períodos de tiempo no reduciendo su viabilidad.

En ensayos futuros se pretende evaluar la respuesta de semillas de *L. amplexicaule* respecto al PG y EG para predecir el comportamiento a campo en condiciones naturales. Estos relevamientos resultarían de suma importancia dado que esta especie presenta hábito de crecimiento anual con la generación de numerosas semillas que pasan a formar parte del banco de semillas del suelo.

BIBLIOGRAFIA

Alconada Magliano MM, Lanfranco JW. 2020. Suelo en el paisaje. Parte 2 Condiciones de abastecimientos. La Plata, Editorial EDULP, UNLP. 200 p.

Crespo S. 1979. Flora ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Parte V: Dicotiledóneas Metaclamídeas. INTA, Tomo VI, V; dirigida por Arturo Burkart. 294-346.

Arambarri AM. 2018. La “técnica de clarificación 5-5-5”, un método natural para el tratamiento de material vegetal. *Bol Soc. Arg. de Botánica*, 53 (4): 579-586.

Calviño P. 2017. Manejo de ambientes: Sudeste bonaerense. Resúmenes Simposio Fertilidad 2017, Rosario:41-43.

Carrasco Sánchez J. 2017. Respuesta al estrés hídrico en plantas mediterráneas Perspectiva frente al cambio climático. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. 20 pp.

Casafe, 2017. Manual fitosanitario. 1017. https://www.manualfitosanitario.com/. Ultimo acceso: 20 mayo 2022.

Castresan JE, Rosenbaum J, González LA. 2013. Estudio de la efectividad de tres aceites esenciales para el control de áfidos en pimiento *Capsicum annuum* L. IDESIA (Chile), 31 (3): 49-58.

Cosa M.T.; Dottori N.; Stiefkens L.; Haid M.; Matesevach M, Delbón N, Wiember P, Machado S, Cabrera V, Costa C, Pérez A, Trenchi A. 2014. Aplicación de técnicas de histología vegetal a la resolución de diversos problemas. Laboratorio de Morfología Vegetal, Universidad Nacional de Córdoba, 133 pp.

Cruzate GA y Casas R. 2009. Extracción de nutrientes en la agricultura argentina. XIX Conferencia Internacional de ISTRO. Disponible en: http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/D0F05E377CB382B68525799500757379/$FILE/21.pdf

D'Ambrogio A. 1986. Manual de técnicas en histoquímica vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 86 pp.

Dizeo de Strittmatter C.1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol Soc. Arg. de Botánica*,15: 126- 129.

Fernández F. Comunicación personal.

Ferrari M. 2010. "¿Nuestros actuales sistemas de producción agrícola son ambientalmente sustentables?". Instituto Internacional de Nutrición de Plantas (IPNI). Georgia (USA). Disponible en: http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/E0F1D4402BFC17B285257984005754F5/$FILE/6.pdf.

Ferrero O. 2017. Ganadería de precisión: medir para producir más. Revista técnica de planteos ganaderos 2017: 36-39.

Gurr MI. 1971. The biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in plants. Lipids 6:266-273.

Hernández MP y Katinas L. 2019. Technique for the identification of osmophores in flowers of herbarium material (TIOFH). Protoplasma, 256 (6): 1753-1765.

Hernández MP, Carbone AV, Fernández F, Rodríguez Guiñazú A, Novillo B, Baridón J, Piñeiro JP, Sandoval M, Calonge FS, Alberto CM, Katinas L. 2023. Características morfoanatómicas y palinológicas de ejemplares de *Lamium amplexicaule* L. (Lamiaceae) tratados con herbicida hormonal 2,4-DB en el establecimiento productivo Don Joaquín (partido de Magdalena). XXIX Jornadas Argentinas de Botánica. San Fernando del Valle de Catamarca, 19 al 23 de septiembre de 2023.

Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America. 1989. Published by Weed Science Society of America. Champaign, Illinois 61820. Sixth Edition. ISBN0-911733-13-2.

Johansen DA. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co., New York, USA. 523 pp.

Kaufr CD, Saraf S. 2010. In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. Pharmacognosy Research 2 (1): 22-25.

López G y Finello M. 2017. Ambientes del centro de Santa Fe: ¿vale la pena el manejo diferenciado? Resumen Simposio Fertilidad, Rosario: 44-50. https://www.fertilizar.org.ar/subida/evento/Simposio2017/ActaSimposio2017.pdf

Luque R, de Sousa M y Kraus JE. 1996. Métodos de coloração de Roeser (1972) - modificado - e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. Acta Bot. Bras. 10 (2).

Ministerio de Economía y Finanzas Públicas. 2012. Plan estratégico para el desarrollo territorial del partido de Magdalena en la provincia de Buenos Aires. Informe final 193 p. Disponible: www.mininterior.gov.ar/planificacion/pdf/planes-loc/Buenos Aires/Plan-Estrategico-Desarrollo-Territorial-Del-Partido-De-Magdalena-2.pdf.

Nava Pérez E, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Vázquez-Montoya EL. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. Ra Ximhai, Universidad Autónoma Indígena de México, 8 (3): 1-29.

Ruzin SE. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford, New York: Oxford University Press. 322 pp.

Sharifi – Rad J, Quispe C, Herrera-Bravo J, Akram M, Abbaass W, Semwal P y Calina D. 2021. Phytochemical constituents, biological activities and health-promoting effects of the *Melissa officinalis*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 1-20.

Stegmayer MI, Fernández LN, Álvarez NH,Olivella L, Gutiérrez HF, Favaro MA y Derita MG. 2021. Aceites esenciales provenientes de plantas nativas para el control de hongos fitopatógenos que afectan a frutales. Revista FAVE - Ciencias Agrarias 20 (1): 317-329.

Uranga M. 2017. Manejo diferencial por ambientes en suelos clase I y II del sudeste de Córdoba: Una visión práctica. Resúmenes Simposio Fertilidad 2017, Rosario: 51-54. Disponible en: https://www.fertilizar.org.ar/subida/evento/Simposio2017/ActaSimposio2017.pdf

Villa-Uvidia DN, Osorio Rivera MA y Villacis-Venegas NY. 2020. Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos. Dom. Cien., 6 (2): 503-524. Disponible en: file:///C:/Users/User/Downloads/Dialnet- [Consultado: 02-12-2020].

Vogel S. 1990. The role of scent glands in pollination, First ed. Smithsonian Institution, Washington DC.

Zarlavsky GE. 2014. Histología vegetal: técnicas simples y complejas. *Sociedad Argentina de Botánica*, Buenos Aires. Argentina.198 pp.