



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

## **Trabajo Final**

# **“ESTUDIO MORFO-ANATÓMICO DE *Gomphrena perennis* L. var. *perennis*: MALEZA TOLERANTE AL HERBICIDA GLIFOSATO”**

**Alumno: Playuk, José Antonio**

**DNI: 36.714.102**

**Legajo N°: 26778/7**

**Directora: Lic. M.Sc. Alejandra V. Carbone**

**Co-directora: Ing. AgrM.Sc. Marta N. Colares**

**Modalidad: Trabajo de investigación**

**La Plata, Noviembre 2016**

## INDICE

Abreviaturas .....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
Concepto de maleza .....	6
Situación actual de la producción agropecuaria argentina .....	6
Glifosato.....	8
Resistencia- Tolerancia .....	8
<i>Características morfológicas que confieren tolerancia a los herbicidas</i> .....	9
Comportamiento de las malezas en el país .....	10
<i>Gomphrena perennis L. var perennis</i> .....	11
Objetivos .....	12
Hipótesis .....	13
MATERIALES Y MÉTODOS .....	13
Material vegetal.....	13
Técnicas Histológicas .....	13
- Estudios anatómicos de raíz, tallo y hoja .....	13
RESULTADOS.....	16
- Morfo-anatomía de la raíz .....	16
- Morfo-anatomía del tallo.....	17
- Morfo-anatomía de la hoja .....	18
• <i>Características de las células epidérmicas</i> .....	18
• <i>Características de los estomas</i> .....	18
• <i>Características de los tricomas</i> .....	18
- Anatomía Foliar .....	19
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIÓN .....	22
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	24
ANEXO.....	29
LÁMINAS DE <i>Gomphrena perennis L. var. perennis</i> .....	32

## **Abreviaturas**

CRH: Cultivo Resistente a Herbicidas

RR: Resistente a Roundup

SD: Siembra Directa

LC: Labranza Convencional

MT: Malezas Tolerantes

MR: Maleza Resistente

C4: estructura Kranz o Corona o de tipo Panicoide.

XL: xilopodio

DR: drusa

TR: tricoma

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, por la formación que me ha brindado, tanto desde el punto de vista académico como humano, en especial a los docentes de los distintos Cursos que he conocido por mi paso por esta Casa.

A mi Directora Alejandra Carbone y Codirectora Marta Colares que pusieron entusiasmo y dedicación para ayudarme a elaborar esta Tesina de Grado.

A la Dra. Ana M. Arambarri, Profesora Titular de Morfología Vegetal, por la ayuda brindada. Del mismo modo a Santiago Martínez Alonso por su colaboración en el laboratorio.

A los evaluadores, por sus oportunas sugerencias y comentarios que enriquecieron este trabajo.

A mis amigos y compañeros que hicieron que estos años hayan sido más fáciles de sobrellevar estando lejos de mi hogar.

A mi familia por haberme brindado todo su apoyo para que pueda culminar con éxito mi carrera universitaria.

## MODALIDAD

Trabajo de investigación

## RESUMEN

*Gomphrena perennis* var. *perennis* L. (Amaranthaceae) es una maleza con metabolismo C4 y presencia de un sistema radicular tuberoso y una estructura llamada xilopodio con capacidad de rebrote. Amplias zonas productivas de Argentina registran infestación con *G. perennis* tolerante a glifosato, lo que dificulta la siembra de cultivos estivales. Los objetivos de la tesis fueron caracterizar morfo-anatómicamente los órganos vegetativos de *G. perennis* provenientes de lotes cercanos a Bandera, Santiago del Estero (Lat.28°28'00"S; Long.62°06'00"W) y determinar si las estructuras anatómicas de dichos órganos se comportan como barreras mecánicas para la absorción y posterior traslado del herbicida. Para ello se realizaron cortes histológicos de raíz, tallo y hoja los cuales fueron montados en gelatina glicerina, para su posterior observación en el microscopio óptico y capturas de imágenes. Las observaciones permitieron concluir que las estructuras (tricomas y ceras) desarrolladas por las plantas como método de adaptación a las condiciones ambientales, representan una barrera a la penetración de herbicidas, reduciendo de esta manera su eficiencia de control. El xilopodio permite el rebrote de la parte aérea luego de la aplicación de herbicidas comportándose como estructura de supervivencia. Asimismo los compuestos utilizados como fuente de energía para el rebrote se encuentran almacenados en las raíces tuberosas que están unidas al xilopodio.

## **INTRODUCCIÓN**

### **Concepto de maleza**

La denominación de “maleza” ha sido aplicada por el hombre a diferentes poblaciones de especies vegetales. En términos generales, ciertas especies son denominadas malezas cuando son no deseables en una determinada situación, ya sea productiva, paisajística o estética. Aldrich (1984), propuso definir como maleza a toda especie vegetal original de ambientes naturales y que como respuesta a la actividad humana comienza a interferir con los cultivos realizados por el hombre. Harlan et al. (1965) definen como maleza aquella planta con hábitos o características perjudiciales o nocivas, que crecen donde no son deseables, usualmente en sitios preparados para otras especies. Asimismo, ciertas especies cultivadas pueden considerarse malezas en determinadas circunstancias y ciertas especies de malezas pueden ser beneficiosas en otras. Muchas especies consideradas malezas poseen alto valor alimenticio, características medicinales, son fijadoras de suelos para prevenir la erosión, etc. En síntesis, debe considerarse al término maleza como una expresión subjetiva aplicada a una especie vegetal en una situación definida. Por otro lado, es necesario considerar que si bien las especies consideradas malezas representan una importante restricción para la producción, reduciendo el rendimiento, la calidad comercial y generando dificultades operativas (cosecha), también participan de procesos fundamentales para el funcionamiento del ecosistema (Scursoni, 2009).

### **Situación actual de la producción agropecuaria argentina**

La creciente demanda de alimentos a nivel mundial ha sido un factor de gran importancia en la transformación de los sistemas agropecuarios actuales, los cuales deben maximizar los rendimientos, logrando inmejorables condiciones ecofisiológicas para el desarrollo de los cultivos (Diez de Ulzurrun, 2013). La producción agrícola moderna se basa en la utilización de cultivares homogéneos, a fin de hacer más eficiente la siembra y estabilizar los rendimientos. Este paradigma incorpora

fertilizantes inorgánicos a los cultivos y hace uso de herbicidas, insecticidas y fungicidas a fin de controlar malezas, insectos u hongos respectivamente. Además, el mejoramiento vegetal se evidenció en el desarrollo de variedades y posteriormente la introducción de genes que permiten tolerancia a algún tipo de herbicida o evento climático en particular (IICA, 1997).

En 1941, con la síntesis del 2,4-D (herbicida hormonal), comenzó la revolución tecnológica de los agroquímicos. El mercado en la década del 50' contaba con 25 herbicidas de síntesis química disponible y recién 10 años después se contaba con suficientes productos que aseguraban un control químico de malezas viable. La síntesis de glifosato fue introducida durante los '70 y finalmente en la década del '90 ingresan al mercado los cultivos resistentes a herbicidas "CRH". Desde la introducción de estos cultivos genéticamente modificados en 1996, en particular la soja resistente a glifosato (RR), y con la adopción de nuevas tecnologías de manejo como la siembra directa (SD), el sistema agrícola nacional encontró un nuevo paradigma productivo. El uso de glifosato como principal herbicida para el control de malezas se extendió a todo el territorio nacional, siendo que más del 95% de la producción de soja en la República Argentina es RR. La adopción del paquete tecnológico que incluye SD + Soja RR + Glifosato permitió mejorar la eficiencia de siembra, pudiendo aumentar la escala de producción por productor agropecuario en base a distintos arreglos contractuales. Con la consecuente aparición de nuevas maquinarias adaptadas para SD (Trucco, 2008; Senesi et al., 2013). El resultado de este nuevo escenario productivo-organizacional fue un aumento de la rentabilidad por reducción de costos fijos, variables y de transacción (Senesi et al., 2013). La promisoría rentabilidad y la ventaja de utilizar prácticas conservacionistas, incentivaron a una rápida adopción de estas tecnologías, tanto a nivel de los propietarios de las tierras como de contratistas y redes. Es así que la labranza convencional (LC) fue reemplazada por la SD y el uso de numerosos herbicidas de pre y post emergencia a fin de controlar las malezas presentes en el

cultivo. Este modelo productivo utiliza el glifosato, el cual representa como agente de control de malezas el 42% del mercado total de agroquímicos y 58% del mercado total de herbicidas (CASAFE, 2014).

### **Glifosato**

Este herbicida es de acción total, sistémico, de amplio espectro, no residual. Es absorbido por las hojas y no por las raíces. Una vez dentro de la planta circula a través de sus tejidos, actuando a nivel de la enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS), responsable de la formación de los aminoácidos aromáticos como: fenilalanina, tirosina y triptófano (Amrhien et al., 1980).

El glifosato permitió reducir costos debido a que reemplazó herbicidas más caros o también porque requiere un menor número de aplicaciones en el control de malezas.

Este nuevo paquete tecnológico tuvo su primera consecuencia visible en el incremento de la superficie implantada de soja RR desde 6 millones de Ha (campana 1996/97) a las más de 20,5 millones en la actualidad (Bolsa de Comercio de Rosario, 2015). A pesar del beneficio económico que trajo aparejado la introducción de la soja RR y la SD, el uso de glifosato en forma continua e ininterrumpida y la falta de una rotación preestablecida, constituyeron una presión de selección en las comunidades de malezas. La consecuencia de estas prácticas de manejo produjo la aparición de malezas tolerantes (MT) y resistentes (MR).

### **Resistencia- Tolerancia**

La resistencia a herbicidas se refiere a la capacidad de ciertos biotipos (dentro de una población de malezas) para sobrevivir y reproducirse luego de la aplicación de una dosis de herbicida que era letal para esa población (Herbicide resistant plants committee, 1998; Puricelli y Faccini, 2009). Se pasa de una condición en la cual la maleza era altamente susceptible a un herbicida a una donde la misma es resistente.

Esto indicaría que hubo un cambio en la estructura genética que le otorgo la capacidad de resistir la acción del herbicida. Dicho cambio se trasmite de una generación a la otra. Mientras que tolerancia es la capacidad natural heredable de una especie de sobrevivir y reproducirse luego de un tratamiento herbicida (las especies tolerantes nunca fueron susceptibles a la acción del herbicida). La tolerancia es un proceso que involucra a toda la especie (Herbicide resistant plants committee, 1998).

Por otro lado también existen diferentes situaciones de “escape” de una maleza al control de glifosato, que es independiente de las características morfo-anatómicas de las plantas y solamente se da bajo ciertas situaciones climáticas. Esto es importante aclarar ya que muchas personas suelen confundir dicho escape con la tolerancia. El escape se produce con condiciones ambientales extremas (sequia, altas temperaturas, alta irradiación, entre otros). Al manifestarse repercuten sobre aspectos fisiológicos de las plantas (fotosíntesis, transpiración, apertura estomática, etc.), los cuales inciden sobre la acción fitotóxica del herbicida haciendo disminuir su eficacia.

### ***Características morfológicas que confieren tolerancia a los herbicidas***

Las paredes periclinales externas del tejido epidérmico están cubiertas por la cutícula, quien constituye la primera barrera protectora entre la superficie aérea de la planta y el medio que la rodea y también la principal barrera frente al desplazamiento de agua y solutos, incluida la transpiración (Riederer y Schreiber, 2001).

Numerosos investigadores que trabajan con herbicidas han determinado en los resultados de sus experiencias que el glifosato encuentra una barrera impuesta por la cutícula en la epidermis de las plantas que frena la penetración del herbicida hacia los tejidos internos. Monquero et al., (2004); De Prado et al., (2005) atribuyen la menor absorción del glifosato en algunas poblaciones de malezas por la presencia de ceras epicuticulares en la superficie de las hojas, las cuales condicionan el mojado y la penetración de los herbicidas aplicados por vía foliar. Es por ello que el conocimiento

de las características morfológicas de la superficie foliar de las malezas a controlar constituye una herramienta a tener en cuenta a la hora de tomar decisiones sobre el manejo y control (Hull et al., 1982).

La cutícula está constituida fundamentalmente por compuestos lipídicos insolubles y por ceras solubles, algunas de las cuales se depositan en la superficie constituyendo ceras epicuticulares y otras se incluyen en la matriz polímera de la cutina denominándose ceras cuticulares o intracuticulares (Jeffree, 1996).

Otras características morfológicas importantes es el área foliar, el ángulo de inserción y la posición de las hojas, el número y tamaño de estomas y la presencia de tricomas y glándulas (Hess, 1985; Wanamarta y Penner, 1989).

### **Comportamiento de las malezas en el país**

En varias y vastas regiones del país, durante los últimos años, se han producido cambios importantes en las poblaciones de malezas en los diferentes sistemas de producción. Algunas de las causas serían la extensa superficie sembrada con soja, la gran difusión de la SD, el uso masivo del herbicida glifosato, el desinterés por las rotaciones de cultivos, la escasa diversidad de productos químicos aplicados, la ocupación de tierras menos apta para la agricultura y el intenso desmonte. Esto generó una nueva problemática de malezas principalmente en el rubro agrícola y un caso concreto y preocupante en la actualidad, es la difusión de malezas con mayor tolerancia al herbicida glifosato (Rainero, 2008). Dentro de estas se pueden mencionar: *Anoda cristata* L. “malva cimarrona” (Malvaceae), *Commelina erecta* L. “flor de Santa Lucía” (Commelinaceae), *Oenothera indecora* Cambess. “flor de noche” (Oenotheraceae), *Parietaria debilis* L. “ocucha” (Urticaceae), *Conyza bonariensis* L. “rama negra” (Asteraceae), *Rumex paraguayensis* L. “lengua de vaca”(Polygonaceae), *Gomphrena perennis* L. var. *perennis* “flor de papel” (Amaranthaceae) *Iresine diffusa*

“pluma” (Amaranthaceae), *Trifolium repens* L. “trébol blanco” (Fabaceae), *Portulaca gilliesii* (Hook) “flor de seda” (Portulacaceae), entre otras (Puricelli y Faccini, 2009).

### **Gomphrena perennis L. var perennis**

Es una maleza que ha incrementado su abundancia en distintas regiones productivas de nuestro país a partir del actual planteo tecnológico. Esta especie habitualmente se observa en banquinas o sitios sin disturbar, lo que facilita su adaptación a lugares donde se implementan sistemas de SD (Nisensohn et al., 2007).

Pertenece a la familia Amarantáceas, es una hierba perenne, de porte erguido, con hojas y tallos pubescentes. Marzocca et al., (1976) indica que esta especie posee una estructura subterránea llamada xilopodio (Imagen N° 1), que protege a yemas capaces de rebrotar. Las inflorescencias son globosas, simples o ramificadas, formadas por flores hermafroditas pequeñas de color blanco–amarillentas. El fruto es un utrículo pequeño y contiene una semilla que sirve como órgano de propagación (Burkart, 1979).

La distribución geográfica de esta especie comprende parte de Sudamérica (Imagen N°2), fundamentalmente Paraguay, Brasil, Argentina y Uruguay. En Brasil se la encuentra en la región de Paraná, Río Grande do Sul y Santa Catarina. En Paraguay está presente en la zona de Alto Paraguay y en Uruguay en el departamento de Rocha.

En la República Argentina su radio de distribución abarca desde el norte hasta la región pampeana, extendiéndose por las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, La Rioja, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán (Zuloaga et al., 2008) (Imagen N°2).

*G. perennis* vegeta durante primavera, verano y parte del otoño pudiendo generar serios inconvenientes al final del período de barbecho y dificultar la siembra de cultivos

estivales. Las plantas de *G. perennis* no controladas durante el cultivo de verano dificultan las tareas de cosecha (Nisensohn et al., 2007). Las poblaciones de *G. perennis* manifestaron diferencias en la tolerancia al glifosato dependiendo fundamentalmente del momento en el cual fue aplicado el herbicida. En individuos en estado vegetativo el control alcanzado con la dosis de uso recomendada fue del 53% y sólo con aplicaciones de 3200 g.e. ácido/ha se logró un control adecuado (Carbone, 2015).

Cuando las aplicaciones se realizaron al estado reproductivo el grado de tolerancia se incrementó, ya que con la dosis recomendada el control fue sólo del 13% y utilizando la dosis de 3200 g.e. ácido/ha fue controlada el 80 % de la población (Carbone, 2015).

En los últimos años se observó en amplias zonas productivas de la provincia de Santiago del Estero, una alta infestación con poblaciones de *Gomphrena perennis* que resultan tolerantes a la aplicación de glifosato (Carbone, 2015).

### **Objetivos**

1. Caracterizar morfo-anatómicamente los órganos vegetativos: raíz, tallo y hoja de *Gomphrena perennis* provenientes de lotes productivos de la provincia de Santiago del Estero.
2. Relacionar dichas características con la tolerancia a los herbicidas que presenta esta especie.
3. Aplicar técnicas histológicas sencillas y de frecuente utilización en el estudio de la anatomía de las plantas superiores.
4. Recordar el manejo del microscopio óptico y la interpretación de las estructuras vegetales observadas con el mismo.

## **Hipótesis**

En este trabajo se plantea como hipótesis que la tolerancia de *Gomphrena perennis* al herbicida glifosato se debe a características morfo-anatómicas de los órganos vegetativos que le confieren una barrera poderosa a la entrada del herbicida.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los materiales empleados durante la realización de la tesis de grado fueron los de uso frecuente en un laboratorio de anatomía vegetal:

### **Material vegetal**

El material vegetal estudiado se obtuvo de lotes productivos de la zona de influencia de INTA Bandera (paraje Selva Blanca), provincia de Santiago del Estero. El mismo consistió en plantas adultas completas.

La determinación taxonómica del mismo fue efectuada con el uso de la bibliografía pertinente (Burkart, 1979).

Un ejemplar completo fue herborizado y depositado en el herbario LPAG, el resto del material fue acondicionado convenientemente, lavado con agua destilada y fijado en FAA (formol, agua destilada, ácido acético y alcohol etílico; 100:350:50:500 V/V/V/V).

### **Técnicas Histológicas**

#### **- Estudios anatómicos de raíz, tallo y hoja**

Durante el desarrollo del trabajo se aplicaron diferentes técnicas histológicas por medio de las cuales se obtuvieron preparados semipermanentes de raíz, tallo y hoja, los que luego fueron observados y analizados bajo microscopio óptico.

### - **Raíz**

Para efectuar los cortes transversales de raíz, las muestras fueron deshidratadas y embebidas en parafina según Johansen, 1940. Para ello se procedió de la siguiente manera:

- 1) Deshidratación. Por tratarse de material conservado en FAA se lo somete directamente al pasaje por alcohol 100°.
- 2) Clarificación. Consiste en cambiar el alcohol 100° por xilol, para lograr la imbibición en una sustancia solvente de la parafina. Se hace con mezclas sucesivas de alcohol/xilol 3:1, 1:1, 1:3.
- 3) Infiltración. Se debe cambiar el xilol por parafina mediante el uso de mezclas sucesivas de xilol/parafina 3:1, 1:1, 1:3, quedando el material inmerso en parafina líquida (60-65°C). El último cambio de parafina pura puede dejarse varios días en estufa.
- 4) Preparación de los tacos de parafina. Se armaron tacos o cubos de parafina que se dejaron solidificar para hacer posteriormente los cortes con micrótomo tipo Minot.
- 5) Desparafinado y coloración. Los cortes se adhirieron al porta objeto, se desparafinaron y se colorearon con safranina O al 80% y / o violeta de cresilo. Posteriormente se montaron en gelatina glicerina.

### - **Tallo**

Los cortes transversales del tallo se efectuaron a mano alzada en distintos entrenudos de la planta (cercaos al ápice y en entrenudos basales) de uno a dos mm de diámetro. Con la ayuda de una lupa se seleccionaron los cortes más delgados, los cuales fueron decolorados con hipoclorito de sodio al 50% y posteriormente montados en gelatina glicerina coloreada con safranina alcohólica. Este colorante tiñe de rojo intenso las paredes celulares lignificadas y de rojo suave o rosado las celulósicas.

- **Hoja**

Para observar la epidermis en vista superficial se empleo la “técnica de Diafanización” de Dizeo de Strittmatter (1973). Esta permite observar la epidermis de las hojas sin removerla directamente, eliminando el contenido celular. Para ello se aplico el siguiente protocolo:

- 1) El material fresco se colocó en un vaso de precipitado con alcohol de 96° calentándolo hasta ebullición y manteniéndolo allí durante 2 minutos (tiempo variable de acuerdo al material). Luego se agregó igual volumen de NaOH al 5% y nuevamente se lo dejó en ebullición durante un minuto, al cabo del cual se retiró del vaso de precipitado
- 2) Se efectuaron sucesivos lavados con agua destilada hasta que esta quedó totalmente limpia.
- 3) El material lavado se introdujo en una solución de NaClO al 50% y se dejó hasta tornarse transparente. Se efectuaron sucesivos lavados con agua destilado para quitar todo resto de hipoclorito.
- 4) El material se colocó en Hidrato de Cloral (5 gr en 100 ml de agua destilada) el tiempo necesario hasta quitarle opacidad. Una vez que el material vegetal se torno transparente se coloreó con solución alcohólica de safranina al 80% y se monto en gelatina glicerina.

También se empleo otro método para la diafanización de las hojas, el cual consistió en colocarlas en una mezcla de hidróxido de sodio al 5% e hipoclorito de sodio al 5% en partes iguales, durante 2-3 días. Luego el material fue lavado con agua destilada y decolorado con hipoclorito de sodio al 50%, nuevamente lavado 3 veces con agua destilada y colocado por 24 hs en hidrato de cloral al 5% para su clarificación (Arambarri et al., 2011).

Obtenidas las epidermis por las técnicas mencionadas se observaron: células epidérmicas (disposición y contorno), estomas (tipo, disposición y recuento por mm<sup>2</sup>) y tricomas (características y recuento por mm<sup>2</sup>). Para el recuento de estomas y tricomas se contaron 8 campos ubicados en la parte media de los semilimbos de la lámina y sobre ambas epidermis. Los estomas y tricomas que se encontraban en el borde del campo visual, quedando visible en una proporción inferior a su mitad, no fueron considerados en el recuento. Esta metodología se repitió en 10 hojas en completo estado de desarrollo.

Para observar la estructura anatómica de la hoja, se efectuaron cortes transversales a mano alzada en la porción media de la lamina, los cuales se decoloraron con hipoclorito de sodio al 50% y se montaron en gelatina glicerina coloreada con safranina alcohólica.

Las descripciones anatómicas y morfológicas fueron realizadas según la terminología utilizada por Metcalfe y Chalk (1950, 1979, 1989).

Todas las observaciones y microfotografías se realizaron con un microscopio óptico LEITZ equipado con cámara MOTIC 2300 y software MOTIC IMAGEPLUS 2.0.

## **RESULTADOS**

### **- Morfo-anatomía de la raíz**

*G. perennis* presenta un sistema radicular profundo formado por numerosas raíces tuberosas, el cual está unido en su parte superior a la estructura conocida con el nombre de xilopodio (Imagen N°2). Dicha estructura subterránea protege yemas capaces de rebrotar dando ramificaciones aéreas luego de transitar por condiciones adversas.

Se efectuaron cortes transversales en diferentes zonas de raíces jóvenes (Lámina N°1). En estos cortes se prestó especial atención al crecimiento secundario inusual en donde se observan bandas de floema y xilema secundario incluidos en un tejido de tipo parenquimatoso (tejido conjuntivo). En el corte de la raíz de menor diámetro se visualiza una estructura central diarca que corresponde a la estructura primaria de la raíz (Lámina N°1 A).

En el corte correspondiente a la raíz de mayor diámetro se observa la presencia de varias capas de súber en la zona cortical (Lámina N°1 B).

Las observaciones microscópicas permitieron establecer la presencia de abundantes cristales de oxalato de calcio en forma de drusas (Lámina N°1 C), cuyo número aumenta al incrementarse el grosor de la raíz.

#### - **Morfo-anatomía del tallo**

*G. perennis* presenta tallos aéreos de crecimiento indefinido, de consistencia herbácea, y nudos bien marcados, alcanzando alturas de hasta 1,5m.

La observación del corte transversal de un tallo de aproximadamente 2mm de diámetro correspondiente a los entrenudos basales muestra los siguientes tejidos: (Lámina N°2 A) la epidermis con células redondeadas y pared periclinal externa con depósito de gruesa cutícula y numerosos tricomas (los cuales presentan las mismas características que las hojas). En posición subepidérmica se encuentran cordones de colénquima angular que alternan con cordones de clorénquima. Se observan células parenquimatosas conteniendo corpúsculos esféricos que en estudios futuros se evaluará su naturaleza química. En el cilindro vascular central se observa el xilema secundario con cordones de floema incluidos. Dicho cilindro xilemático está rodeado de floema secundario el cual está limitado externamente por anillos discontinuos de fibras. Los haces vasculares poseen ubicación periférica respecto a la amplia médula

parenquimatosa (Lámina N°2 B). Se observan, al igual que en la raíz, abundantes drusas (Lámina N°2 C).

- **Morfo-anatomía de la hoja**

Las hojas de *Gomphrena perennis* son simples, con filotaxis opuesta y sin presencia de anexos foliares (Lámina N°3 A). El patrón de venación es reticulado (Lamina N°3 B).

**Epidermis en vista superficial**

- ***Características de las células epidérmicas:***

Las células epidérmicas de ambas superficies foliares (adaxial y abaxial) presentan paredes anticlinales ondulado-sinuosas. Las células donde se insertan los tricomas son de forma isodiamétrica y con paredes rectas. En vista superficial se observa la conspicua banda parenquimática que rodea a los haces vasculares (nervaduras) (Lámina N°3 B).

- ***Características de los estomas:***

Los estomas son de tipo anomocítico (las células que rodean a las oclusivas no difieren del resto de las epidérmicas). (Lámina N°3 C)  
Se observan estomas en ambas epidermis y se contabilizaron por  $\text{mm}^2$   $40 \pm 5$  en la cara superior y  $38 \pm 5$  en la cara inferior. Esto indica que ambas superficies poseen similar densidad estomática.

- ***Características de los tricomas:***

Los tricomas son simples uniseriados-pluricelulares y no glandulares. Las células basales son redondeadas y las células apicales de forma aguzada (Lámina N° 4 A). Los tricomas presentan en toda la superficie abundantes depósitos de ceras (Lámina N°4

B). Las uniones entre las células que conforman el pelo son de tipo nodosas (Lámina N°4 C).

Se contabilizó el número de tricomas por  $\text{mm}^2$  en ambas superficies foliares y se observó que la cara inferior posee  $45 \pm 5$  y la superior  $28 \pm 4$ . Como se puede observar la superficie inferior posee un número de tricomas mayor respecto a la cara superior.

#### - **Anatomía Foliar**

La hoja presenta estomas en ambas epidermis (anfiestomáticas) y las células oclusivas se encuentran ubicadas al mismo nivel que las restantes células epidérmicas. Posee epidermis uniestratificada, cubierta por una cutícula delgada e hipodermis solo hacia la cara abaxial.

Posee estructura Kranz (C4) de tipo atriplicoide. Los haces vasculares están rodeados casi completamente por una vaina parenquimática que contiene abundantes cloroplastos (Lámina N°5). El mesófilo circundante se dispone de manera radiada y presenta cloroplastos más pequeños. El haz vascular central presenta la vaina y el clorénquima interrumpidos abaxial y adaxialmente por células parenquimatosas.

Entre los haces vasculares se observan células incoloras de gran tamaño, que contienen cristales de oxalato de calcio en forma estrellada (drusas).

### **DISCUSIÓN**

La arquitectura de la raíz es un aspecto fundamental en el desarrollo de la planta teniendo en cuenta la necesidad de explotar un ambiente espacialmente heterogéneo. Muchos recursos del suelo están desigualmente distribuidos o están sujetos a una reducción localizada, por eso es que el desarrollo espacial del sistema radical será en gran medida determinado por la habilidad de una planta de explotar estos recursos. El

patrón de crecimiento del sistema radical de una especie está determinado principalmente por su caracterización genética, como fue corroborado por Jáuregui et al., (2014). Sin embargo, también está influenciado por la disponibilidad de agua, la temperatura, los nutrientes y las condiciones químicas y biológicas de los distintos horizontes del suelo (Fahn 1992).

*G. perennis* posee una estructura subterránea conocida como xilopodio, tal como lo refiere Marzocca (1976). De acuerdo a diferentes autores (Limndman, 1906; Rachid, 1974) los xilopodios se caracterizan por su complejidad estructural, consistencia rígida y capacidad gemífera, pueden ser de origen caulinar y/o radicular lo cual debería confirmarse con estudios anatómicos. Existen numerosos antecedentes que indican que los xilopodios constituyen órganos con suficientes reservas que permiten a las plantas sobrevivir a condiciones adversas, dando nuevos rebrotes cuando las partes aéreas son dañadas por el fuego o se pierden durante la fase de latencia de las plantas, tal cual fue mencionado para *Vernonia* y otras especies de Asteraceae del Cerrado brasileño (Figueiredo-Ribeiro et al., 1986; Tertuliano y Figueiredo-Ribeiro, 1993; Asega y Carvalho, 2004). Estas especies mencionadas poseen como reserva fructanos (hidratos de carbono) que se asocian con la tolerancia a la sequía (Vijn y Smeekens, 1999), bajas temperaturas (Hendry, 1987; Vijn y Smeekens, 1999), pudiendo actuar además, como reguladores osmóticos debido a su rápida polimerización y despolimerización (Figueiredo-Ribeiro, 1993). Esto constituye un carácter ecológicamente importante para la supervivencia de estas plantas expuestas a dichas situaciones desfavorables.

Si bien es conocida la ocurrencia del crecimiento secundario anómalo en raíces y tallos de numerosas especies de distintas especies de Dicotiledóneas, tal lo manifestado por Metcalfe y Chalk (1950, 1979,1989), la anatomía radical de Amaranthaceae ha sido poco estudiada según refiere Jáuregui et al., 2014. Estos

autores describen la anatomía de *G. albiflora*, la cual muestra un desarrollo secundario anómalo, tal lo observado en el presente trabajo para *G. perennis*.

Esta estructura anómala también se observó en el corte transversal del tallo, el cual presenta un crecimiento secundario inusual que forma bandas de floema y xilema secundarios, como lo manifestado por Acosta et al., (2009) para la misma especie.

Las características de las células epidérmicas y los estomas de tipo anomocíticos en ambas caras de la hoja (anfistomática) coinciden con lo descrito por Metcalfe y Chalk, 1950 para la familia *Amaranthaceae* y con los trabajos de García et al., (2008) en *G. albiflora*, que crece naturalmente en la zona costera del Estado Falcón (Venezuela), y Fank-do-Carvalho et al., (2010) en especies de *Gomphrena* endémicas del bioma Cerrado de Brasil.

Tal como lo establecieron Metcalfe y Chalk (1979), el tipo de tricomas es un carácter estable y constituye una valiosa herramienta desde el punto de vista taxonómico. El tipo de tricomas observados, tanto en la hoja como en el tallo, son similares a los descritos por diversos autores (Fank-do-Carvalho y Graciano- Riberiro, 2005 y Garcia et al., 2008 y Fank-do-Carvalho et al., 2010) para distintas especies de *Gomphrena*.

También se observó la presencia de una cutícula delgada, tanto en la epidermis del tallo como de la hoja y abundantes depósitos de ceras en los tricomas, las cuales se comportarían como una barrera física a la penetración del herbicida, tal cual fue propuesto por Bukovac (1976).

El número de tricomas por unidad de superficie obtenido en este trabajo para ambas caras de la hoja, determinaría una densidad media (35-70) según Arambrarri et al., (2011), quienes estudiaron especies de la región subtropical seca de la provincia chaqueña, coincidente con el origen de las plantas estudiadas. Estudios realizados en *G. albiflora* por Garcia et al., (2008) arrojan resultados similares. La presencia de este carácter se asocia a mecanismos tendientes a evitar el sobrecalentamiento de la hoja y disminuir la tasa transpiratoria (Johnson, 1974; Ehleringer y Mooney, 1978).

Es probable que la presencia de tricomas en la superficie foliar de *G. perennis* otorgue atributos de protección, además de atenuar el impacto de las condiciones ambientales severas, como fue observado por Luttge et al., (1986) y Larcher (2003) en otras especies de plantas.

Las hojas de *G. perennis* poseen estomas de tipo anomocítico en ambas epidermis (hojas anfiestomáticas) coincidiendo con lo descrito por García et al. (2008) en *G. albiflora* que crece naturalmente en la zona costera del Estado Falcón (Venezuela) y por Fank-do-Carvalho et al., (2010) en especies de *Gomphrena* endémicas del bioma Cerrado de Brasil.

Las hojas de *G. perennis* poseen estructura Kranz de tipo “atriplicoide”, coincidiendo con lo descrito para *Gomphrena globosa* L. y *G. albiflora* Moq. (García et al., 2008) y una hipodermis abaxial como lo reportado por Acosta et al., 2009.

En todos los órganos estudiados se han encontrado cristales de oxalato de calcio en forma de drusas en coincidencia con Metcalfe y Chalk (1950) para la familia Amaranthaceae. Estas drusas podrían constituir un mecanismo de almacenamiento y/o defensa ante las condiciones ambientales severas que se dan naturalmente en la zona de crecimiento *G. perennis* tal como afirman Molano-Flores 2001 y Nakata 2003.

## **CONCLUSIÓN**

Los estudios realizados sobre la morfo-anatomía de los órganos vegetativos de *G. perennis*, permitirían arribar a la conclusión que la presencia de tricomas y ceras en la superficie de la epidermis de hojas y tallos confieren una barrera a la penetración de los herbicidas. Para confirmar esto, se podrían realizar ensayos a campo donde se apliquen diversos agroquímicos, para luego evaluar algún parámetro y visualizar que porcentaje de principio activo ingresa a la planta luego de haber sido efectuada la aplicación.

Por otra parte el tipo de sistema radical que presenta *G. perennis*, compuesto por un xilopodio y un conjunto de raíces tuberosas, le permiten a la maleza rebrotar y generar nuevos vástagos aéreos luego de la estación adversa o posteriormente al daño aéreo sufrido por la aplicación de un herbicida. El xilopodio con sus raíces tuberosas (reservantes) le dan el carácter perennifolio a esta Amaranthaceae.

Al ser una planta C4 presenta una alta tasa fotosintética, la cual permite sintetizar compuestos carbonados en volúmenes elevados. El destino de estos hidratos de carbono es ser fuente de energía para el crecimiento tanto aéreo como radicular y además un porcentaje de los mismos tiene como destino el xilopodio y sus raíces tuberosas. Aquí es donde se almacenan estos compuestos que serán utilizados para el rebrote de la especie luego de que la misma haya transcurrido por una condición adversa.

## BIBLIOGRAFIA

- Acosta, J. M., Amsler, A. y Vegetti, A. C. 2009. Estudio anatómico de órganos vegetativos en *Gomphrena perennis* L. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **44**(Supl.):139
- Aldrich, R. 1984. Chapter 1. Concepts and Definitions. In: *Weed Crop Ecology. Principles in Weed Management*. Breton Publishers, North Scituate, Massachusetts
- Amrhein, N.; Deus, B.; Gehrke, P. y Steinrucken, H. 1980. The site of inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. *Plant Physiology* **66**:830-834
- Arambarri, A. M.; Novoa M. C.; Bayón N. D.; Hernández M. P.; Colares M. N. y Monti C. 2011. Ecoanatomía foliar de árboles y arbustos de los distritos chaqueños occidental y serrano (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* **46**(3-4): 251-270
- Asega, A. F. y Carvalho, M. A. M. 2004. Fructanmetabolising enzymes in rhizophores of *Vernonia herbacea* upon excision of aerial organs. *Plant Physiol. Biochem.* **42**: 313-319
- Bukovac, M. J. 1976. Herbicide entry into plants. In: *Herbicides: Physiology, Biochemistry, Ecology*. Vol. I (ed. By Audus L.J.). Academic Press, New York, 335-364
- Burkart, A. 1979. Amaranthaceae. En: Burkart, A. (ed.), *Flora Ilustrada de Entre Ríos*. Tomo III, Argentina. Colección Científica de INTA, Buenos Aires
- Carbone, A. 2015. Características morfo-anatómicas de dos poblaciones de *Gomphrena perennis* L. y su posible relación con la sensibilidad al herbicida glifosato. Tesis de Maestría en Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata. Argentina. 121pp.
- CASAFE. 2005. Estadísticas. Disponible en: <http://www.casafe.org/estadisticas/links.php>. Ultimo acceso octubre 2016

- De Prado, J.; Osuna, M.; Heredia, A. y De Prado, R. 2005. *Lolium rigidum*, a pool of resistance mechanisms to ACCase inhibitor herbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2185-2191
- Diez de Ulzurún, P., 2013. Manejo de malezas problema. Modos de acción de herbicida. REM-AAPRESID, Rosario, Argentina. 4(2):213-220
- Dizeo de Strittmatter. C. 1973. Nueva técnica de diafinización. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15:126-129
- Ehleringer, J. y Mooney, H. 1978. Leaf hairs: effects on physiological activity and adaptative value to a desert shrub. *Oecologia* 37:183-200
- Fahn, A. y Cutler, D. 1992. *Encyclopedia of Plant anatomy*. Gebruder, Borntraeger. 177pp.
- Fank-do-Carvalho, S. y Graciano-Ribeiro, D. 2005. Arquitetura, anatomía e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L. f. (Amaranthaceae). *Acta bot. Bras.* 19(2):377-390
- Fank-do-Carvalho, S., Rodrigues de Aguiar Gomes, M., Tanno Silva, P. y Bao, S. 2010. Leaf surfaces of *Gomphrena spp.* (Amaranthaceae) from Cerrado biome. *Biocell* 34(1):23-35
- Figueiredo-Ribeiro, R. C. L. 1993. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 5: 203-208
- Figueiredo-Ribeiro, R. C. L., Dietrich, S. M. C., Chu, E. P., Carvalho, M. A. M., Vieira, C. C. J. y Graziano, T. T. 1986. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. *Rev. bras. Bot.* 9: 159-166

- García, M., Jáuregui, D. y Medina, E. 2008. Adaptaciones anatómicas foliares en especies de angiospermas que crecen en la zona costera del Estado Falcón (Venezuela). *Acta Bot. Venez.* **31**(1):291-306
- Harlan, J. y De Wet, J. M. 1965. Some thoughts about weeds. *Econ. Bot.* **19**: 16-24
- Hendry, G. 1987. The ecological significance of fructan in a contemporary flora. *New Phytol.* **106**: 201-216
- Herbicide Resistant Plants Committee. 1998. Herbicide resistance and herbicide tolerance defined. *Weed Technol.* **12**: 789
- Hess, E. 1985. Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerances and susceptibility. In: *Weed Physiology*, Vol. II (Ed. By Duke S). CRC Press, Boca Raton, Fl. 191-214
- <https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/infoboletinsemanal.aspx?IdArticulo=981>.  
Último acceso Septiembre de 2016
- Hull, H., Davis, D. y Stolzenberg, G. 1982. Actions of adjuvant on plant surface. In: *Adjuvants for Herbicides* (Ed. By Hodgson R). Weed Science Society of America, Lawrence, K.S. Pp. 26-67
- IICA, 1997. Educación agrícola superior, desarrollo sostenible, integración regional y globalización. Trabajos presentados en la XI Conferencia Latinoamericana de ALEAS 22-25 de abril, Santiago de Chile, Chile
- Jáuregui, D., Lapp, M., Castro, M., Ruiz-Zapata, T. y Torrecilla, P. 2014. *Pittieria***38**:83-94
- Jeffree, C. 1996. Structure and ontogeny of plant cuticles. En: *Plant Cuticles: An Integrated Functional Approach*, pp. 33-82. G. Kerstients, ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford

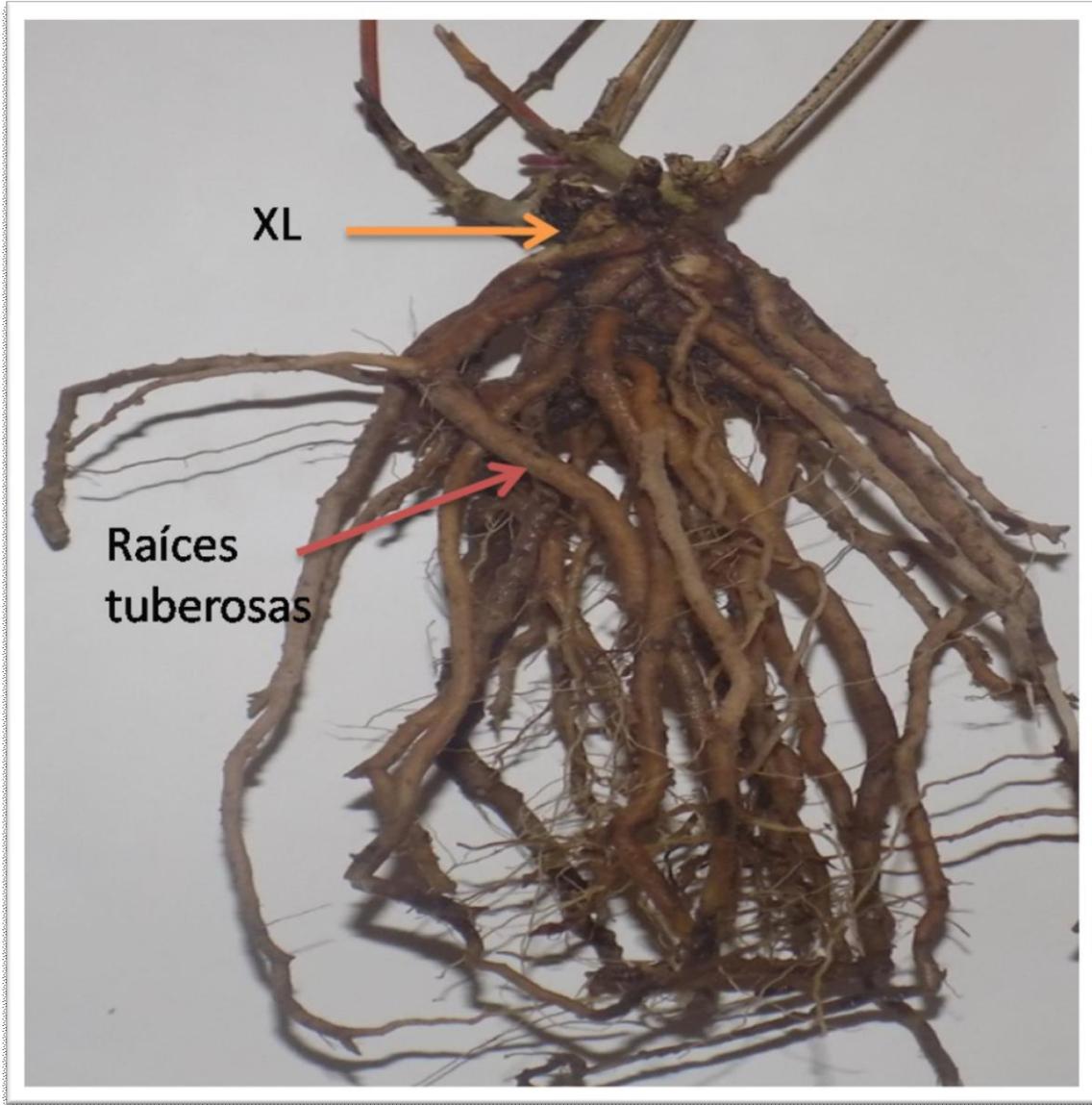
- Johansen, D. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw- Hill Book Company, Inc. 523 pp.
- Johnson, H. 1974. Plant pubescence: an ecological perspective. *Botanical Rev.***41**:233-258
- Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. 4th ed. Springer, Alemania
- Lindman, C. A. M. 1906. A vegetação no Rio Grande do Sul. Loefgren, Porto Alegre
- Lüttge, U., Klauke, B., Griffiths, H., Smith, J. y Stimmel, K. 1986. Comparative ecophysiology of CAM and C3 bromeliads. V. Gas exchange and leaf structure of the C3 bromeliad *Pitcairnia integrifolia*. *Plant, Cell and Environment***9**:411-419
- Marzocca, A., Mársico, O. y Del Puerto, O. 1976. Manual de malezas. Editorial Hemisferio Sur. 564 pp.
- Metcalf, C. R y Chalk, L. 1950. Anatomy of Dicotyledons. Vol 1, 2 Clarendon Press, Oxford
- Metcalf, C. R y Chalk, L. 1979. Anatomy of Dicotyledons. 2<sup>nd</sup>. Ed. Vol. 1. Clarendon Press, Oxford
- Metcalf, C. R y Chalk, L. 1989. Anatomy of Dicotyledons. 2<sup>nd</sup>. Ed. Vol. 2. Clarendon Press, Oxford
- Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida*(Malvaceae). *Ann.Bot.* **88**:387-391
- Monquero, P., Christoffoleti, P., Osuna, M. y De Prado, R. 2004. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosato por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. *Planta Daninha.* **22**:444-451

- Nakata, P. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science***164**:901-909
- Nisensohn, L., Tuesca, D., Angelotti, P. y Bonifazi, S. 2007. *Portulacagilliesii* Hook. Y *Gomphrenaperennis* L.: Especies con tolerancia al herbicida glifosato. *Revista Agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias*, UNR. Disponible: en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/21/3AM21.htm>.
- Puricelli, D. y Faccini, E. 2009. Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo. *Planta Daninha, Vicosa, M-G*.**27**:303-307
- Rachid, M. 1974. Traspiracao e sistemas subterraneos da vegetacao de verao dos campos Cerrados de Emas. Boletim da Faculdade de Filosofia Ciencias e Letras da Universidade de Sao Pablo, 80(botánica) **5**:5-140
- Rainero, H. 2008. Problemática del manejo de malezas en sistemas productivos actuales. Boletín de Divulgación Técnica Nro. 3. INTA-EEA Manfredi. Argentina. 4pp.
- Riederer, M. y Schreiber, L. 2001. Protecting against water loss: Analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal Experimental Botany***52**:2023-2032
- Scursoni, J. 2009. Malezas: concepto, identificación y manejo con sistemas cultivados.- 1ª ed.- Buenos Aires. Universidad de Buenos Aires.
- Senesi, S. I., Ribas Chaddad, F. y Palau, H. 2013. Networks in Argentine agriculture: A multiple-case study approach. *Revista de Administración de la Universidad de Sao Paulo* **48** (1) jan./fev./mar.
- Tertuliano, M. F. y Figueiredo-Ribeiro, R. C. L. 1993. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. *New Phytol.* **123**: 741-749

- Trucco, V. 2008. Importantes transformaciones. Fundación Darse Cuenta. <http://blogdarsecuenta.wordpress.com/2008/08/25/importantes-transformaciones>
- Vijn, I. y Smeekens, S. 1999. Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiol.* **120**: 351-359
- Wanamarta, G. y Penner, D. 1989. Foliar absorption of herbicides. *Weed Sci.* **4**: 215-231
- Zuloaga, F. O., Morrone, O. y Belgrano, M. J. (eds.). 2008. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). II. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 3486 pp. <http://www.darwin.edu.ar/>(octubre 2016)

**ANEXO**

**Imagen N° 1xilopodio y raíces tuberosas**



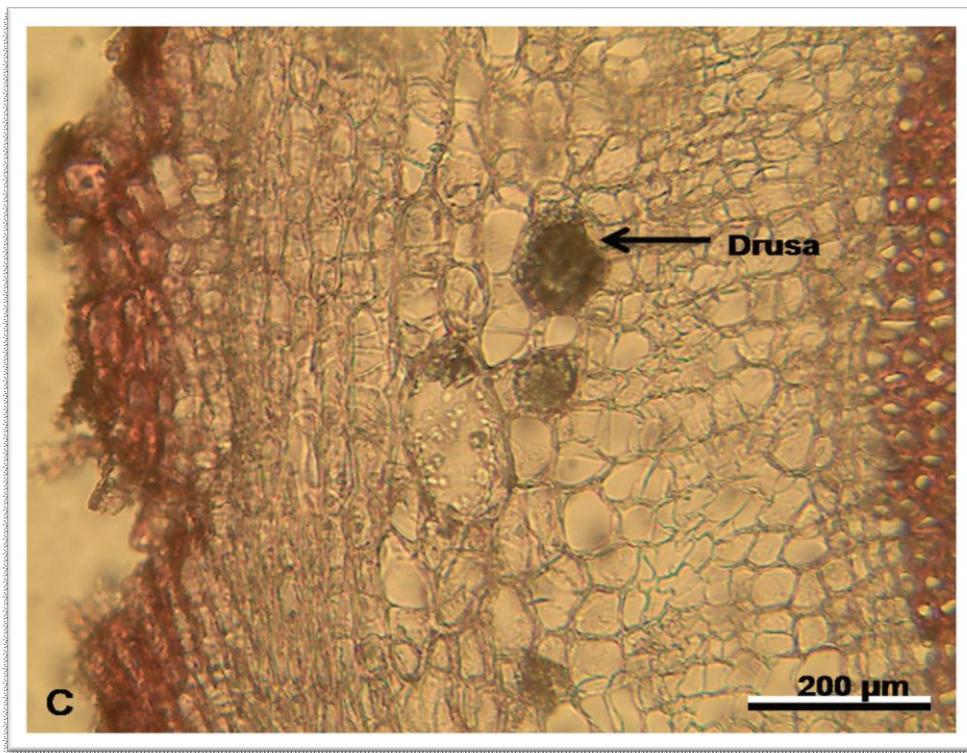
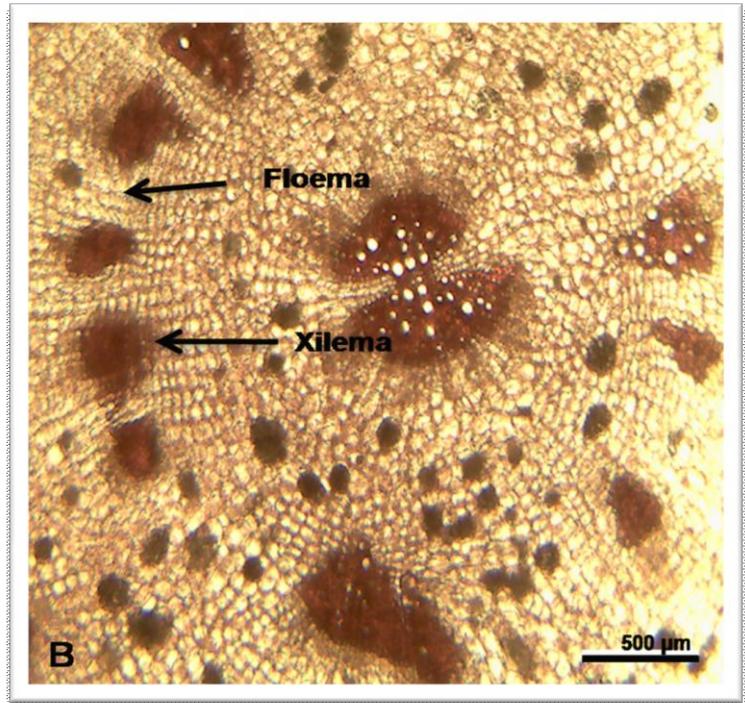
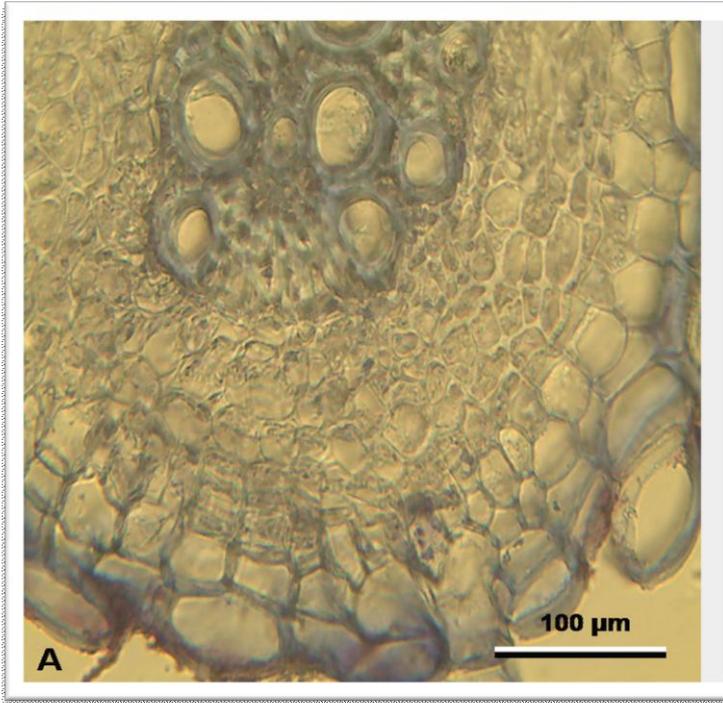
**Imagen N° 2**



**Distribución de *G. perennis* en América del Sur. En rojo, provincia de Santiago del Estero donde se recolectaron las muestras.**

# LÁMINAS DE *Gomphrenaperennis*L. var. *perennis*

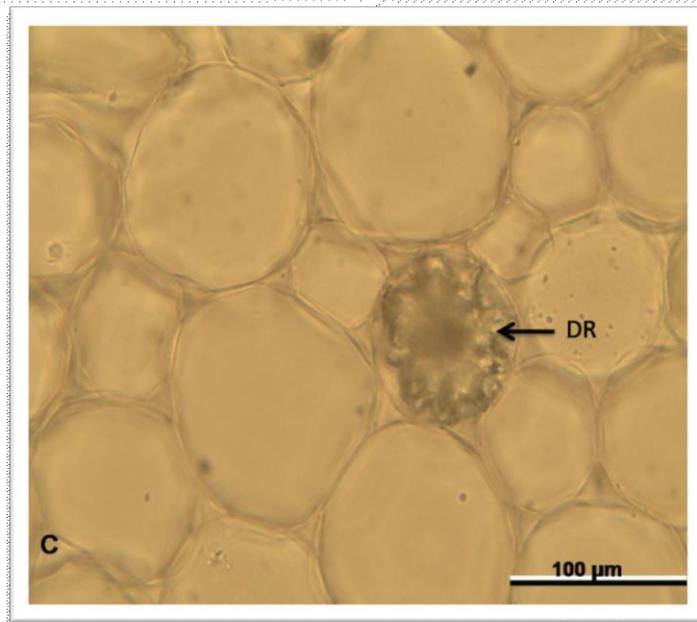
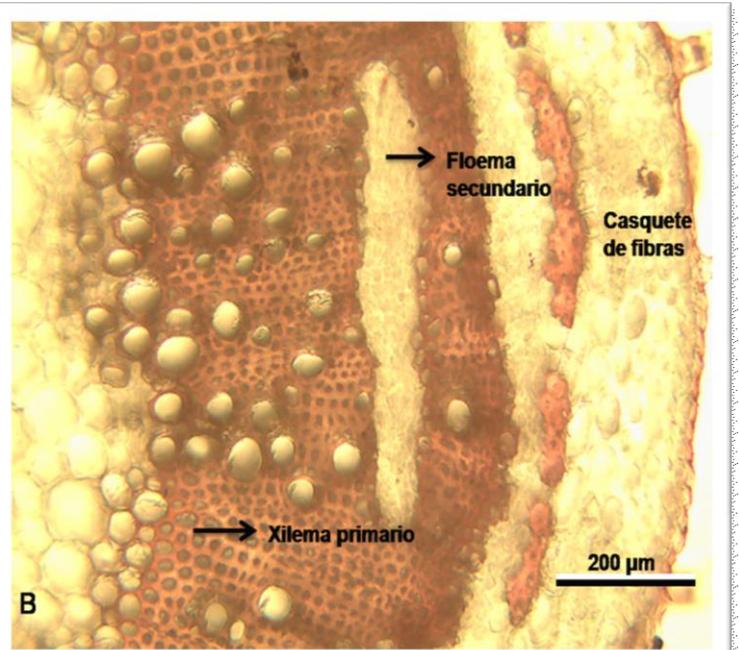
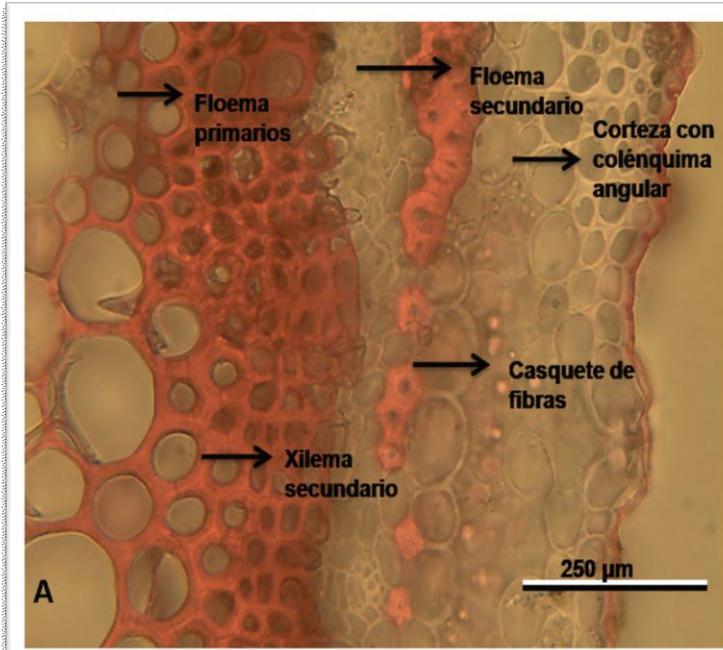
## Lámina N° 1 corte transversal de la raíz



## Lámina N° 1

- A-** Corte transversal de una raíz joven de *G. perennis* donde se puede ver una estructura primaria diarca.
- B-** Corte transversal de una raíz de mayor diámetro donde se visualiza el crecimiento secundario inusual.
- C-** Drusa (precipitado de oxalato de calcio) en la raíz de *G. perennis*

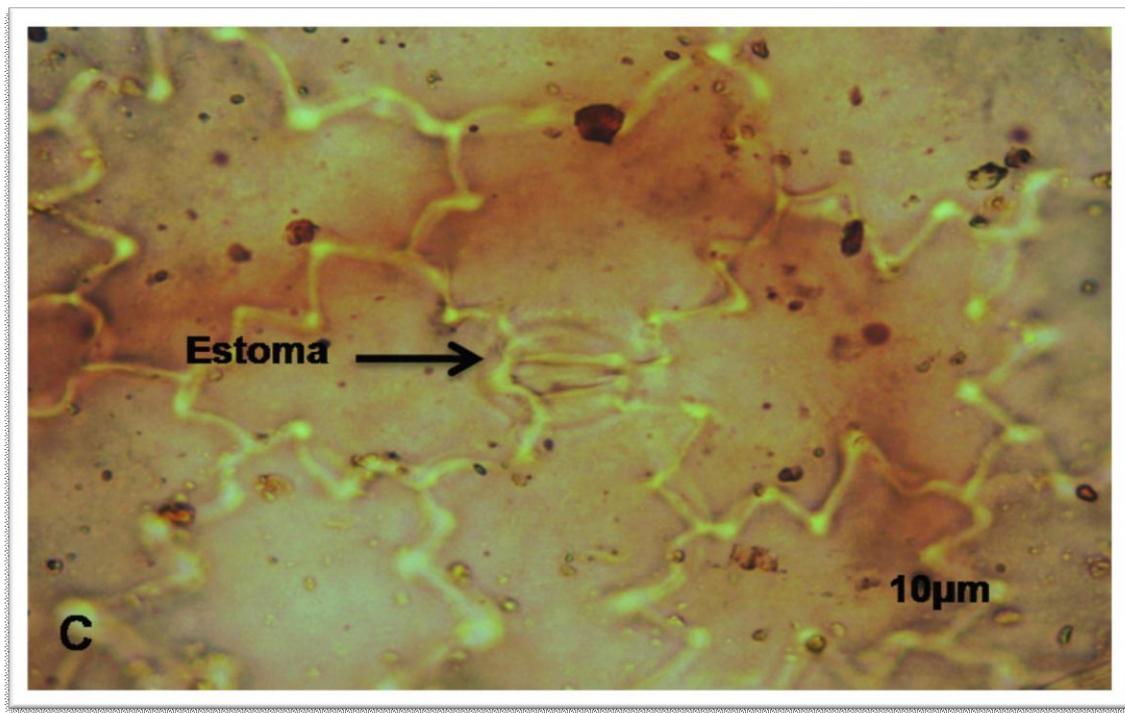
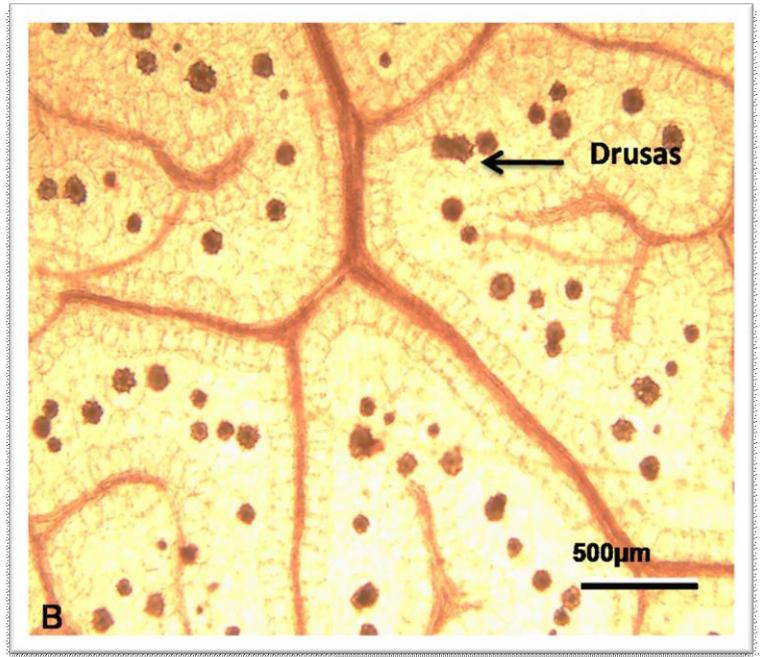
## Lámina N°2 cortes transversales del tallo



**Lámina N°2:**

- A-** Imagen del corte transversal del tallo, en la cual se puede observar los tejidos de corteza y cilindro vascular.
- B-** Imagen del corte transversal del tallo donde se observa el crecimiento secundario anómalo que presenta *G. perennis*
- C-** Drusa en el parénquima medular del tallo.

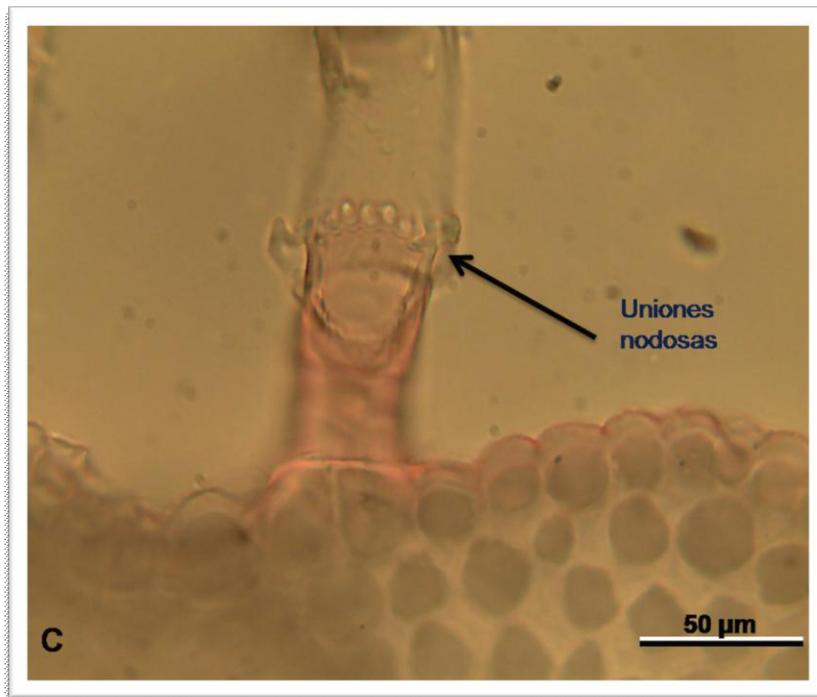
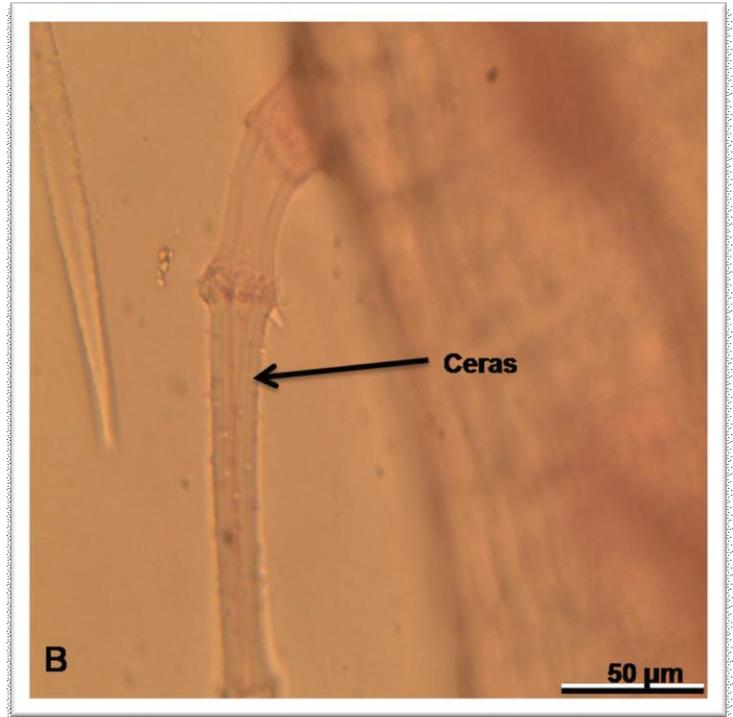
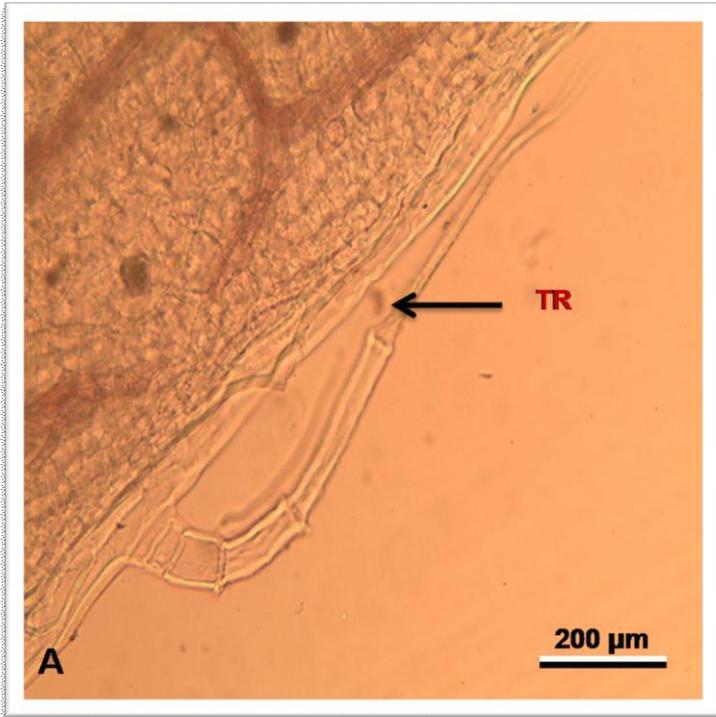
**Lámina N° 3 hoja**



**Lámina N°3:**

- A-** Imagen de las hojas de *G. perennis*, las mismas son opuestas pubescentes y sin anexos foliares.
- B-** Hoja diafanizada de *G. perennis*. Se visualizan las drusas y la banda parenquimática que rodea a las nervaduras.
- C-** Vista superficial de la epidermis foliar de *G. perennis*, con células epidérmicas y estomas de tipo anomocíticos.

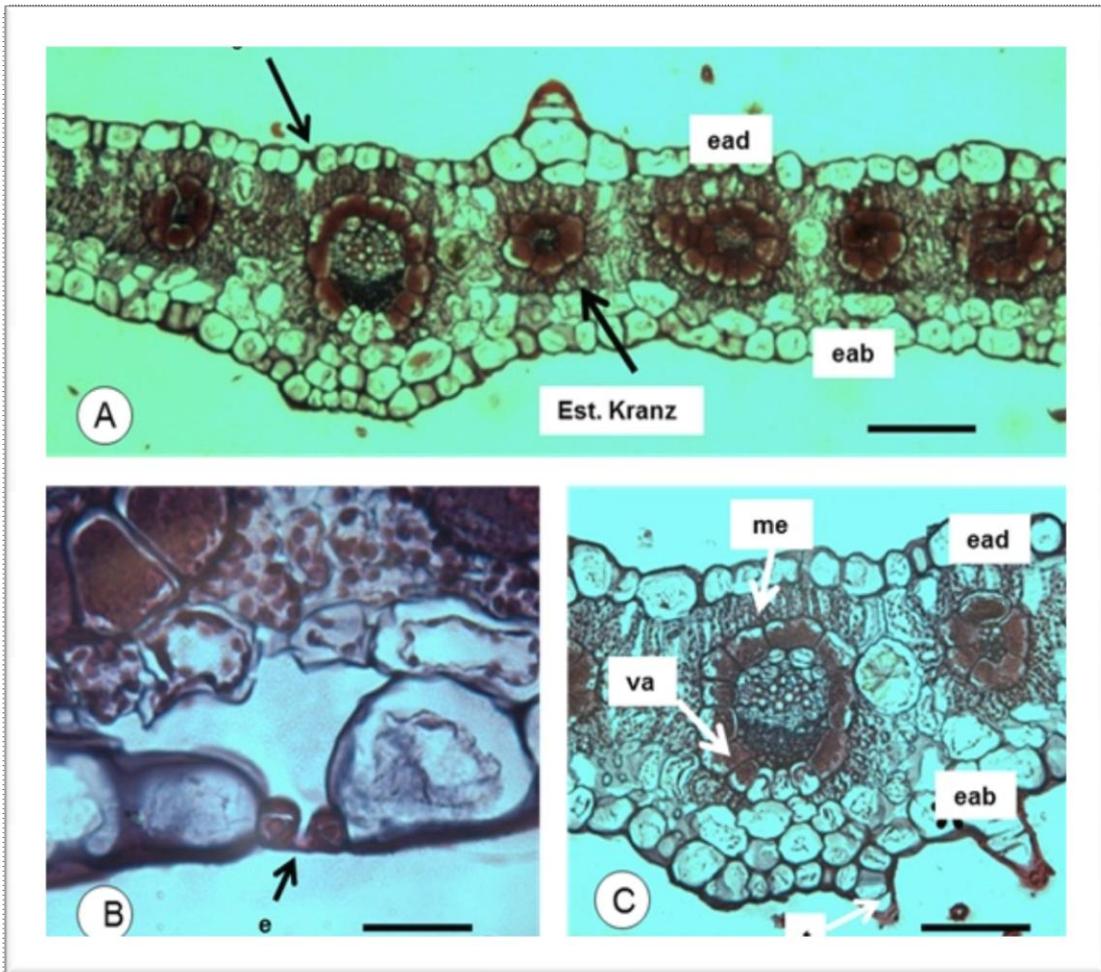
**Lámina N° 4 tricomas en el tallo**



**Lámina N°4:**

- A-** Tricoma con ápice agudo en el tallo.
- B-** Ceras en los tricomas de *G. perennis* L.
- C-** Unión nodosa entre las células que conforman los tricomas.

Lámina N°5 corte transversal de la lámina



**Lámina N°5:**

- A-** Corte transversal de la lámina señalando estoma (flecha superior) en la epidermis adaxial y la estructura Kranz.
- B-** Corte transversal mostrando estoma (e) en la epidermis abaxial (flecha).
- C-** Corte transversal mostrando estructura Kranz. Haz vascular rodeado por una vaina parénquimática (va) y mesófilo radiado (me). Presencia de de tricomas (t) en la epidermis abaxial.