

La aplicación de herbicidas sistémicos de amplio espectro en pastizales naturales: efectos sobre los atributos y procesos del ecosistema

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Adriana Mabel Rodríguez

Ingeniera Agrónoma - Universidad de Buenos Aires- 1989

Magister Scientiae en Recursos Naturales - Universidad de Buenos Aires -2004

Lugar de trabajo: Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Rodolfo Ángel Golluscio

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Consejero de Estudios

Agustín Alberto Grimoldi

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agrarias (Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Alemania.)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Rodolfo Ángel Golluscio

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Mónica Beatriz Bertiller

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Ciencias Forestales (Universität Zu Göttingen)

JURADO

Diego Fernando Steinaker

Biólogo (Universidad Nacional de Córdoba)

Ph.D. Biología (University of Regina)

JURADO

David Norberto Bilenca

Licenciado en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires)

Fecha de defensa de la tesis: 04 de DICIEMBRE de 2014

DEDICATORIA

A mi compañero Oscar y a mi hijo Rodrigo, los amores de mi vida

AGRADECIMIENTOS

A Eli, amiga, compañera y socia en la vida académica, por compartir ideas, proyectos y trabajo desde hace muchos años.

A Pájaro, mi director de tesis, y Agustín, Consejero de Estudios, por su acompañamiento y apoyo permanentes.

A mis colegas de la Facultad de Agronomía, que en distintas instancias compartieron generosamente conmigo sus conocimientos y sugerencias.

DECLARACIÓN

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Adriana M. Rodríguez

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Rodríguez, A, Jacobo, E. 2010. Glyphosate application changes plant functional groups proportion and reduces floristic richness and diversity in Flooding Pampa rangeland (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 138: 222-231.

Rodríguez, A, Jacobo, E. 2013. Glyphosate effects on seed bank and vegetation composition of temperate grasslands. *Applied Vegetation Science*, 16: 51-62.

INDICE GENERAL

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

	2
1.1. El problema de estudio	
1.2. ANTECEDENTES	
1.2.1 El uso de herbicidas en pastizales y sus efectos	3-4
1.2.2. Efectos del herbicida sistémico total glifosato sobre comunidades, poblaciones y especies vegetales	4-5
1.2.3. Efectos del herbicida sistémico total glifosato sobre la productividad primaria neta aérea y el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo en el suelo.	5
1.2.4. Los disturbios en los ecosistemas: marcos teóricos para su estudio	6-7
1.3. EL SISTEMA DE ESTUDIO	
1.3.1. Cambios en el uso de la tierra en la Región Pampeana y sus consecuencias en los pastizales de la Pampa Deprimida	7-8
1.3.2. La aplicación de glifosato en los pastizales de la Pampa Deprimida: posibles impactos	8-9
1.4. OBJETIVOS	9-10
1.5. HIPÓTESIS	10-11
1.6. ORGANIZACIÓN DE LA TESIS	11

CAPITULO II: EFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA COMPOSICIÓN FLORÍSTICA Y LA DIVERSIDAD ESPECÍFICA Y FUNCIONAL DE LA VEGETACIÓN Y DEL BANCO DE SEMILLAS

2.1. INTRODUCCIÓN	13-15
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	
2.2.1. Área de estudio	15-16
2.2.2. Sitio experimental	16
2.2.3. Precipitaciones	16-17
2.2.4. Experimento 1: Efecto del glifosato sobre la vegetación	
2.2.4.1. Relevamiento de la vegetación	17-18
2.2.4.2. Diversidad florística	18
2.2.4.3. Grupos funcionales	18
2.2.4.4. Calidad forrajera	18
2.2.5. Experimento 2: Efecto del glifosato sobre el banco de semillas	
2.2.5.1. Relevamiento del banco de semillas	19
2.2.5.2. Densidad y composición del banco de semillas	19
2.2.5.3. Diversidad del banco de semillas	20

2.2.6. Experimento 3: Similitud entre el banco de semillas y la vegetación	20
2.2.7. Experimento 4: Efectos indirectos del glifosato. Competencia entre pastos invernales (C ₃) anuales y perennes	20-21
2.2.8 Análisis estadísticos	21-22
2.3. RESULTADOS	
2.3.1. Efecto del glifosato sobre la vegetación	
2.3.1.1. Cobertura basal total	22-23
2.3.1.2. Valor forrajero	23
2.3.1.3. Cobertura relativa de los grupos funcionales	24-25
2.3.1.4. Composición florística	25-30
2.3.1.5. Diversidad florística	30
2.3.2. Efecto del glifosato sobre el banco de semillas	
2.3.2.1. Densidad del banco de semillas	31
2.3.2.2. Composición del banco de semillas	31-34
2.3.2.3. Diversidad del banco de semillas	35
2.3.2.4. Similitud entre el banco de semillas y la vegetación	35-37
2.3.3. Efecto indirecto del glifosato: competencia entre pastos invernales perennes y anuales	37-39
2.4. DISCUSIÓN	
2.4.1. Efectos directos e indirectos del glifosato sobre la composición florística de la vegetación y del banco de semillas	39-43
2.4.2. Relación entre la composición del banco de semillas y de la vegetación	43
2.4.3. Implicancias para los procesos del ecosistema	44
2.4.4. Implicancias para la producción ganadera	44-45
 CAPÍTULO III. EFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA Y LA EMERGENCIA Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS	
3.1. INTRODUCCIÓN	47-49
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.2.1. Criterios de selección de especies	49
3.2.2. Experimento 5: Efecto del glifosato sobre la regeneración vegetativa	
3.2.2.1. Obtención de las plantas	49-50
3.2.2.2. Diseño experimental e implementación de los tratamientos	50
3.2.2.3. Variables de respuesta	50
3.2.2.4. Análisis estadísticos	50
3.2.3. Experimento 6: Efecto del glifosato en el suelo sobre la emergencia y crecimiento de plántulas	
3.2.3.1. Obtención de las semillas	51
3.2.3.2. Diseño experimental	51-52
	viii

3.2.3.3. Variables de respuesta	52
3.2.3.3. Análisis estadísticos	52
3.3. RESULTADOS	
3.3.1. Efecto del glifosato sobre la regeneración vegetativa	52-56
3.3.2. Efecto del glifosato en el suelo sobre la emergencia y crecimiento de plántulas	56-64
3.4. DISCUSIÓN	
3.4.1. Efecto del glifosato sobre la propagación vegetativa	64-65
3.4.2. Efecto del glifosato sobre la emergencia y el crecimiento de plántulas	65-67
3.4.3. Implicancias para la producción ganadera	67-68

CAPÍTULO IV. EFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA CAPTACIÓN DE ENERGÍA, LA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA NETA AÉREA Y EL CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO, NITRÓGENO Y FÓSFORO TOTAL DEL SUELO

4.1. INTRODUCCIÓN	70-72
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.2.1. Sitios de relevamiento	72
4.2.2. Precipitaciones	72-73
4.2.3. Efecto del glifosato sobre la captación de energía de la vegetación	
4.2.3.1. Experimentos 7: Efecto del glifosato sobre la radiación absorbida a escala lote	74
4.2.3.2. Experimento 8: Efecto del glifosato sobre la radiación absorbida a escala establecimiento y regional	74
4.2.4. Experimento 9: Efecto del glifosato sobre la productividad primaria neta aérea (PPNA)	74-75
4.2.5. Efecto del glifosato sobre la eficiencia del uso de la radiación (EUR)	75
4.2.5. Experimento 10: Propiedades químicas de los suelos	76
4.2.6. Análisis estadísticos	76
4.3. RESULTADOS	
4.3.1. Efecto del glifosato sobre la captación de energía de la vegetación	76-78
4.3.2. Efecto del glifosato sobre la productividad primaria neta aérea	79-80
4.3.3. Efecto del glifosato sobre la eficiencia en el uso de la radiación	80-82
4.3.4. Efecto del glifosato sobre las propiedades químicas de los suelos	82-83
4.4. DISCUSIÓN	83-88

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES

5.1.1. Un modelo conceptual de los efectos del glifosato sobre el pastizal	90-92
5.1.2. Un modelo de estados y transiciones	92-95

5.3. Perspectivas y líneas de investigación	96
---	----

BIBLIOGRAFÍA	98-119
--------------	--------

INDICE DE TABLAS

CAPÍTULO II

Tabla 2.1. Cobertura basal (%) de los grupos funcionales en la posición topográfica alta y baja de la pradera húmeda de mesófitas en lotes testigo y en lotes pulverizados con glifosato en los períodos 2006/2007 y 2007/2008.	24
---	----

Tabla 2.2: Cobertura basal (%) de las especies en la posición topográfica alta y baja de la pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato.	28-29
---	-------

Tabla 2.3: Índices de diversidad para la posición topográfica alta y baja de los lotes testigo y de los lotes pulverizados con glifosato en los periodos 2006/2007 y 2007/2008	30
--	----

Tabla 2.4: Número promedio de semillas (semillas m ⁻²) de cada especie en la posición alta y baja del gradiente topográfico en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato	33-34
--	-------

Tabla 2.5. Índices de diversidad del banco de semillas para la posición topográfica alta y baja de los lotes testigo y de los lotes pulverizados con glifosato en los periodos 2006/2007 y 2007/2008	35
--	----

Tabla 2.6. Índice de similitud de Sørensen, número de especies y cobertura basal (%) de especies relevadas en el banco de semillas y en la vegetación en la posición alta y baja del gradiente topográfico durante los períodos 2007/2008 y 2008/2009	36
---	----

CAPÍTULO III

Tabla 3.1: Grados de libertad, F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para la emergencia final de plántulas de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca.	57
---	----

Tabla 3.2: Grados de libertad, F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para el porcentaje de semillas intactas viables, semillas intactas no viables y semillas germinadas muertas de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca.	58
---	----

Tabla 3.3: Grados de libertad, F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para la biomasa total, la biomasa aérea y la biomasa de raíces por plántula de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca.	60
---	----

Tabla 3.4: Grados de libertad, F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para el número de brotes, la longitud de brotes y la longitud de raíces por plántula de Lotus; el número de hojas, la longitud de pecíolos y la longitud de raíces por plántula de Trébol blanco, y el número de hojas, a longitud de hojas y la longitud de raíces de Pasto miel y Festuca.	62
---	----

Tabla 3.5: Media y desvío estandard de variables morfológicas de Lotus; Trébol blanco, Pasto miel y Festuca según los factores Cobertura y Tiempo transcurrido entre la pulverización con glifosato y la siembra.	63-64
---	-------

CAPÍTULO IV

Tabla 4.1: Grados de libertad, F y P surgidos del análisis de varianza con arreglo de dobles medidas repetidas de la dinámica mensual de la radiación fotosintéticamente activa absorbida y de la productividad primaria neta aérea desde abril 2006 a marzo 2008.	77
Tabla 4.2: Contribución relativa y absoluta a la PPNA de los grupos funcionales en invierno-primavera y verano-otoño de los lotes testigo no pulverizados y de los lotes pulverizados con glifosato.	80

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 2.1. Precipitaciones mensuales registradas durante los períodos experimentales correspondientes a los cuatro experimentos y precipitaciones promedio mensuales del período 1999–2009 registradas en la Ea. Montenegro.	17
Figura 2.2. Cobertura basal total de la vegetación en la posición alta y baja de la comunidad de pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo no pulverizados y en los lotes pulverizados con glifosato en los períodos 2006-2007 y 2007-2008	23
Figura 2.3. Valor forrajero de la vegetación en la posición alta y baja de la comunidad de pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo no pulverizados y en los lotes pulverizados con glifosato en los períodos 2006-2007 y 2007-2008	23
Figura 2.4. Ordenamiento de la vegetación relevada en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato en la posición alta y baja del gradiente topográfico en los períodos 2006/2007 y 2007/2008.	26
Figura 2.5. Ordenamiento de la composición del banco de semillas relevada en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato en la posición alta y baja del gradiente topográfico en los períodos 2006/2007 y 2007/2008.	31
Figura 2.6. Cantidad de plántulas de pastos invernales anuales y perennes relevadas entre abril y junio del año 2008 luego de haber pulverizado con glifosato en marzo o sin haber pulverizado	37
Figura 2.7. Cantidad de plantas y macollos de gramíneas invernales anuales y perennes establecidas a fin de septiembre bajo cinco tratamientos de competencia generados en junio: 25-125, 50-100 75-75, 100-50 y 125-25 plantas m ⁻² de gramíneas invernales anuales y de gramíneas invernales perennes respectivamente.	38

CAPÍTULO III

Figura 3.1. Evolución del contenido de clorofila en las láminas de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca luego de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 o 720 g. e.a ha ⁻¹ o sin aplicación de glifosato	53
Figura 3.2. Evolución de la cantidad de módulos verdes de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca luego de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 o 720 g. e.a ha ⁻¹ o sin aplicación de glifosato	54
Figura 3.3. Biomasa verde y seca cosechada 25 días después de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 y 720 g. e.a ha ⁻¹ o sin aplicación de glifosato de Lotus, Pasto miel, Festuca y Trébol blanco.	55

Figura 3.4: Emergencia final de plántulas de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal y sobre suelo sin cobertura vegetal 90, 60, 30 o 1 día antes de la siembra y testigo sin pulverizar	57
Figura 3.5. Proporción de semillas germinadas muertas de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal y sobre suelo sin cobertura vegetal 90, 60, 30 o 1 día antes de la siembra y testigo sin pulverizar.	59
Figura 3.6. Biomasa total, aérea y radical de Lotus, Pasto miel, Trébol blanco y Festuca bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal y sobre suelo sin cobertura vegetal 90, 60, 30 o 1 día antes de la siembra y testigo sin pulverizar	61

CAPÍTULO IV

Figura 4.1. Precipitaciones mensuales de abril del año 2000 a marzo del año 2008 y precipitaciones promedio históricas del período 1979-2008 registradas en la Ea.Montenegro y en la región Azul Tapalqué	73
Figura 4.2: Dinámica mensual de la radiación fotosintéticamente activa absorbida en los lotes de pastizal natural sin pulverizar con glifosato y en los lotes pulverizados con glifosato entre abril de 2006 a marzo de 2008	77
Figura 4.3: Dinámica mensual de la radiación fotosintéticamente activa absorbida entre abril de 2000 a marzo de 2008 en los lotes de pastizal natural sin pulverizar con glifosato y en los lotes pulverizados con glifosato a escala establecimiento y a escala regional	78
Figura 4.4: Dinámica mensual de la productividad primaria neta aérea de los lotes de pastizal natural testigo sin pulverizar y de los lotes pulverizados con glifosato entre abril de 2006 y marzo de 2008	79
Figura 4.5. Eficiencia en el uso de la radiación de los lotes de pastizal natural testigo sin pulverizar y de los lotes pulverizados con glifosato entre abril de 2006 y marzo de 2008	81
Figura 4.6: Regresiones lineales simples entre la productividad primaria neta aérea, estimada mediante cortes de biomasa, y la radiación fotosintéticamente activa absorbida mensual, obtenida mediante imágenes satelitales, desde abril de 2006 a marzo de 2008 para los lotes no pulverizados y para los lotes pulverizados con glifosato.	82
Figura 4.7: Evolución del contenido de carbono orgánico, de nitrógeno total y de fósforo total de los suelos entre los años 2008 a 2012 de los lotes pulverizados recurrentemente con glifosato y de los pulverizados.	83

CAPÍTULO V

Figura 5.1. Modelo conceptual de los efectos del glifosato en los distintos niveles de organización del pastizal.	91
Figura 5.2. Estados (I a V) y transiciones (T1 a T5, T1' a T4') de la pradera húmeda de mesófitas del pastizal de la Pampa Deprimida bajo distintas modalidades de pastoreo y de pulverización con glifosato a fin de verano.	93

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

CAPÍTULO III

Foto 3.1: Plantas de Pasto miel, Festuca y Lotus pulverizadas con 1440 o 720 g e.a. ha⁻¹ de glifosato, 90 días después del corte realizado a los 25 días posteriores a la aplicación del herbicida.

56

Foto 3.2: Plantas de Trébol blanco, Lotus y Pasto miel no pulverizadas con glifosato, 90 días después del corte realizado a los 25 días posteriores a la aplicación del herbicida.

56

La aplicación de herbicidas sistémicos de amplio espectro en pastizales naturales:
efectos sobre los atributos y procesos del ecosistema

Application of systemic broad spectrum herbicides in native grasslands: Effects on traits
and ecosystem processes

RESUMEN

Esta tesis analiza los efectos de la aplicación de un herbicida sistémico no selectivo, el glifosato, sobre atributos estructurales y funcionales de pastizales naturales pastoreados por herbívoros domésticos. Se realizaron experimentos en un establecimiento ganadero de la Pampa Deprimida, donde la pulverización recurrente de pastizales con glifosato a fin de verano para incrementar la oferta de forraje invernal se ha difundido ampliamente. La pulverización de glifosato produjo un drástico cambio de la composición florística de la vegetación y del banco de semillas, aumentando la contribución de pastos anuales invernales y disminuyendo la de pastos perennes invernales, estivales y leguminosas, redujo la riqueza y la diversidad y disminuyó la cobertura y la calidad forrajera estival. Estos cambios en la vegetación modificaron atributos funcionales, ya que la pulverización incrementó la absorción de radiación y la productividad primaria neta aérea del pastizal en invierno-primavera y las redujo en verano, pero el incremento invierno-primaveral no compensó la disminución estival. La menor producción primaria anual podría relacionarse con el menor contenido de materia orgánica y de fósforo edáfico en los lotes pulverizados. Mediante experimentos en condiciones controladas investigué la respuesta de mecanismos biológicos claves, la regeneración vegetativa y la emergencia y crecimiento de plántulas, a la aplicación de glifosato, de *Paspalum dilatatum*, *Schedonorus arundinaceus*, *Lotus tenuis* y *Trifolium repens*, principales miembros de los grupos funcionales más afectados. El glifosato provocó la muerte de todos los tejidos, impidiendo la regeneración vegetativa, y redujo la emergencia y el establecimiento de plántulas cuando se pulverizó sobre vegetación pre-existente hasta sesenta días antes de la germinación. Estos mecanismos explican, en gran medida los cambios en la composición de la vegetación y del banco de semillas. Los resultados sugieren que los drásticos cambios que la aplicación de glifosato causa en el pastizal pueden ser irreversibles, poniendo en riesgo la integridad del ecosistema y su sustentabilidad como recurso forrajero.

Palabras clave: glifosato, composición florística, banco de semillas, diversidad, productividad primaria.

ABSTRACT

This thesis investigates the effects of the systemic herbicide glyphosate on structural and functional traits and ecosystem processes of native grasslands under cattle grazing. Experiments were performed in a commercial cattle farm of the Flooding Pampa region, where late summer application of glyphosate has been extensively adopted to increase winter forage production of native grasslands. Glyphosate application caused a dramatic shift in floristic composition of vegetation and seed bank, by the increase of winter annual grasses and the reduction of perennial winter and summer grasses and legumes contribution, as well as species richness and diversity. Glyphosate also reduced total basal cover and forage value in summer. These structural changes altered functional traits, as radiation absorption and net aerial primary productivity increased in winter–spring and decreased in summer when glyphosate was applied, but the summer decrease was not counterbalanced by the winter–spring increase. The lower annual primary

productivity may be related with the lowest organic carbon and phosphorus soil content found in glyphosate-sprayed grasslands. Through controlled experiments, I investigated the response of key biological mechanisms, vegetative regeneration and seedlings emergence and establishment, to glyphosate application of *Paspalum dilatatum*, *Schedonorus arundinaceus*, *Lotus tenuis* and *Trifolium repens*, major component of most affected functional groups. Glyphosate killed every tissue, thus avoided vegetative regeneration, and reduced seedlings emergence and establishment when herbicide was sprayed on pre-existing vegetation until sixty days before germination. These mechanisms may explain the changes in vegetation and seed bank composition. The dramatic changes that glyphosate causes in this grassland may be irreversible and threaten ecosystem integrity and its sustainability as forage resource.

Key words: glyphosate, floristic composition, seed bank, diversity, primary productivity.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. EL PROBLEMA DE ESTUDIO

Alrededor del 75% de la superficie de los ecosistemas terrestres ha sido alterada en distinto grado por la actividad humana. La intensificación de la agricultura en los últimos 60 años ha reducido la heterogeneidad estructural del hábitat a escala de paisaje, causando el deterioro generalizado de la biodiversidad (Benton et al. 2003). Los cambios en el uso de la tierra llevaron a la simplificación de los ecosistemas naturales complejos y a una mayor utilización de agroquímicos (Tscharntke et al. 2005). Los herbicidas han sido ampliamente utilizados en todo el mundo para reemplazar vastas áreas de pastizales templados por cultivos (Gelbard, 2003) provocando la reducción de la biodiversidad de los agroecosistemas (Freemark y Boutin 1995, McLaughlin y Mineau 1995, Schütte 2003). De los biomas terrestres, los pastizales son los más extensos dado que cubren casi un tercio de toda la superficie (Ellis y Ramankutty 2008). En la categoría de “pastizales” se incluyen todos los ecosistemas naturales o semi-naturales con un estrato herbáceo que provee el hábitat para ungulados domésticos o silvestres (“rangelands” según Pratt et al. 1966). Estos ecosistemas han ofrecido históricamente una cantidad de bienes (carne, leche, cueros, fibras, etc.) y servicios (mitigación de inundaciones y sequías, reciclaje de nutrientes y materia orgánica, hábitat de fauna silvestre, recreación, biodiversidad, secuestro de carbono, etc.) esenciales para el desarrollo humano (Gibson 2009). El pastoreo y diversas herramientas de manejo asociadas al uso pastoril (quemadas prescritas, fertilización, aplicación de herbicidas, entre otras) constituyen disturbios antrópicos que pueden alterar en forma directa o indirecta los atributos y procesos propios de estos ecosistemas y, por ende, los bienes y servicios que puedan brindar (Chaneton 2011).

Es muy abundante la información disponible sobre el efecto del pastoreo, de la fertilización y del fuego en los ecosistemas pastoriles, en cambio es muy escasa y parcial la referida al efecto de los herbicidas en estos ambientes. Se reconoce que el pastoreo de grandes herbívoros, ejercido mediante la defoliación, el pisoteo y las deyecciones, altera los atributos y procesos de los ecosistemas pastoriles. El pastoreo modifica en forma directa la estructura y la diversidad de la vegetación (Milchunas y Lauenroth 1993, McNaughton 1994, Perelman et al. 2007), lo que a su vez altera propiedades del ecosistema (magnitud de los componentes y flujos de los procesos, según Hooper et al. 2005) como la tasa de circulación de carbono y de nutrientes (Chaneton et al. 1996, Bardgett y Shine 1999, Rossignol et al. 2006, Semmartin et al. 2008) y la productividad primaria (Milchunas y Lauenroth, 1993, Rush y Oesterheld 1997, Frank 2005, Bagchi y Ritchie 2010). Asimismo, se ha estudiado el efecto de otras prácticas de manejo de los pastizales asociadas con su uso pastoril, como la fertilización y las quemadas prescritas, que también afectan la estructura, diversidad y productividad primaria y secundaria de estos ecosistemas (Henkin et al. 1996, Guevara et al. 2000, Newman y Redente 2001, Bennett et al. 2002, Littera et al. 2003, Fernandez Grecco y Agnusdei 2004, Aydin y Uzun 2005, Rodríguez et al. 2007). En cambio, los efectos de prácticas de más reciente difusión, como la aplicación de herbicidas para incrementar la producción ganadera o para restaurar la vegetación de los pastizales colonizados por especies exóticas o invasoras, han sido menos estudiados hasta el momento, y los antecedentes son casi inexistentes en pastizales de Sud-América. Esta tesis aborda el efecto de la aplicación de un herbicida sistémico de amplio espectro sobre la estructura y el funcionamiento de pastizales naturales templado-húmedos bajo uso ganadero.

1.2. ANTECEDENTES

1.2.1 El uso de herbicidas en pastizales y sus efectos

El uso de herbicidas para controlar malezas herbáceas o arbustivas con el fin de incrementar la producción forrajera está ampliamente documentado en pastizales semiáridos y áridos de América del Norte (DiTomaso 2000). También hay abundantes antecedentes sobre el uso de herbicidas para restaurar la biodiversidad mediante el control de especies exóticas o invasoras en pastizales semiáridos de América del Norte y templados de Europa (Kettenring y Reinhardt Adams 2011). La mayoría de estos trabajos son “estudios de eficacia” que evalúan exclusivamente el efecto de herbicidas selectivos sobre la población objetivo en parcelas experimentales pequeñas sin pastoreo (Weir et al. 2013) y durante períodos no mayores a dos años (Endress et al. 2012).

En cambio, los efectos de herbicidas sobre las poblaciones de plantas que no son objeto de control, sobre la composición de la comunidad vegetal o sobre el funcionamiento y la diversidad del ecosistema en el mediano o largo plazo han sido menos estudiados (Kettenring y Reinhardt Adams 2011). En general, los resultados de estos trabajos alertan sobre la ocurrencia de consecuencias imprevistas y no deseadas sobre la vegetación. La aplicación de herbicidas selectivos para controlar dicotiledóneas en pastizales de pastos cortos y medios de las planicies centrales de Estados Unidos redujo temporalmente, en algunos casos, el aporte de la maleza objeto de control pero no contribuyó a aumentar el aporte de otros grupos funcionales (Cummings et al. 2007). En otros casos disminuyó la cobertura de dicotiledóneas nativas y aumentó la cobertura de gramíneas exóticas (Skurski et al. 2013) en lugar de aumentar la de gramíneas nativas (Endress et al. 2012). Finalmente, uno de los pocos estudios a escala de lote en pastoreo advirtió que la cobertura de malezas dicotiledóneas varió mucho más entre años que por efecto del herbicida y que no se logró aumentar la producción secundaria (Fuhlendorf et al. 2009). En el caso del control de leñosas en pastizales semiáridos de Estados Unidos, la aplicación de herbicidas selectivos en cobertura total tuvo una eficacia muy variable entre años y además afectó negativamente la diversidad de dicotiledóneas herbáceas (Tunnell et al. 2006) y la cobertura y densidad de tréboles (Lulow 2007).

Los herbicidas selectivos para controlar gramíneas anuales o perennes en pastizales semiáridos templados también redujeron la cobertura de la especie objeto de control pero aumentaron la del suelo desnudo (Barnes 2007) y su eficacia fue muy variable y altamente dependiente del sitio y de la época del año (Mónaco et al. 2005, Morris et al. 2009). Cuando se aplicó este tipo de herbicidas para controlar la competencia de gramíneas perennes dominantes con el fin de restaurar pastizales degradados del este de Gran Bretaña y de las planicies centrales de Estados Unidos, el control fue efectivo sólo en el corto plazo, no se produjeron aumentos en la riqueza de la comunidad (Milligan et al. 2003; Westbury y Dunnett 2008) y su eficacia fue altamente variable entre años y dependiente de la composición florística inicial del sitio (Hendrickson y Lund 2010). El momento de la aplicación de graminicidas selectivos resultó determinante para favorecer o reducir la cobertura y diversidad de gramíneas deseadas según su ciclo de crecimiento en los pastizales templado-húmedos del este de Estados Unidos, en tanto que el tipo de graminicida determinó el incremento o reducción de la cobertura y diversidad de dicotiledóneas (Ruffner y Barnes 2010). Cuando se aplicó reiteradamente un herbicida sistémico no selectivo para erradicar una gramínea invasora (*Cynodon dactylon*) protegiendo de la acción del herbicida al resto de

las especies en un pastizal del sudoeste de Estados Unidos, se logró reducir la población de *C. dactylon* pero, al mismo tiempo, aumentó la de otras malezas exóticas (Mau Crimmins 2007).

También se utilizaron herbicidas para evaluar los efectos de la extinción de alguna especie o grupo funcional sobre la dinámica de la vegetación, la diversidad florística y funcional de comunidades naturales o semi-naturales (Virágh 1986, 1987, 1989, Virágh y Gerencsér, 1988, Aarssen y Epp 1990, Campbell et al. 1991, Díaz et al. 2003, Eriksson et al. 2006, Davies et al. 2007, Cherwin et al. 2009, Parfitt et al. 2010, Skurski et al. 2013). Estos experimentos mostraron que los herbicidas pueden tener un fuerte impacto sobre un grupo funcional en particular, tal como monocotiledóneas o dicotiledóneas, y pueden dejar residuos tóxicos en el suelo que inhiben el reclutamiento de plantas nativas o la germinación de especies que no son objeto de control, generando respuestas no buscadas o inesperadas en la estructura y funcionamiento de la comunidad (Flory y Clay 2009). En todos los casos citados precedentemente se utilizaron herbicidas selectivos o herbicidas de amplio espectro aplicados individualmente a las plantas de las especies objeto de control o en pequeños parches, atendiendo al objetivo de erradicar o disminuir la dominancia de una especie o grupo funcional en particular. En cambio, no hay antecedentes sobre el uso de un herbicida sistémico de amplio espectro en cobertura total, como el glifosato, con excepción de su uso en pastizales de la Pampa Deprimida (Arzadun y Mestelan 2009).

1.2.2. Efectos del herbicida sistémico total glifosato sobre comunidades, poblaciones y especies vegetales

Existen numerosos antecedentes sobre los efectos del glifosato en malezas y cultivos. En cambio son prácticamente inexistentes los estudios sobre sus efectos en especies nativas o espontáneas que no son objeto de control. Las especies, y aún los biotipos de una misma especie difieren en su susceptibilidad al glifosato (Baylis 2000, Boutin et al. 2004) debido a diferencias morfo-fisiológicas en la intercepción, retención, penetración, movimiento y actividad del herbicida (Feng et al. 2003 a, b). A su vez, para una misma especie distintos tejidos tienen diferente sensibilidad al glifosato y la sensibilidad varía según la etapa fenológica (Pline et al. 2002, Feng et al. 2003 a, Puricelli y Faccini 2009) y el área foliar desplegada al momento de la pulverización (Blackburn y Boutin 2003). Por ejemplo, el glifosato aplicado como desecante pre-cosecha a cultivos en estado reproductivo afectó las semillas que estaban madurando en las plantas al momento de la pulverización, tanto en cultivos como sorgo, soja, lino o trigo (Baur et al. 1977, Azlin y McWhorter 1981, Cerkaukas et al. 1982, Bennett y Shaw 2000, Gubbels et al. 1993, Darwent et al. 1994), como en las malezas objeto de control (Baskin y Baskin 1998, Clay y Griffin 2000, Blackburn y Boutin 2003). En la mayoría de los casos se observaron efectos negativos sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas y estos efectos dependieron de la dosis aplicada, del grado de maduración de las semillas en la planta madre al momento de la pulverización y del área foliar disponible (Blackburn y Boutin 2003). A medida que las semillas maduran en la planta madre, su contenido de humedad disminuye. Si el glifosato se aplica cuando las semillas están fisiológicamente inmaduras (contenido de humedad mayor o igual al 30-40%), el herbicida detiene el desarrollo de la planta y la posterior maduración de la semilla (Darwent et al. 1994) y, además, se puede translocar a las semillas inhibiendo posteriormente su germinación o el crecimiento de las plántulas (Baur et al. 1977). En cambio, cuando la aplicación ocurre en un estado reproductivo avanzado, el área foliar

suele ser menor, lo que inhibe en gran medida la acción del glifosato (Grossbard y Atkinson 1985).

Si bien numerosos trabajos afirman que el glifosato se desactiva en el suelo (Kennedy y Jordan 1985, Hurst y John 1999, Baylis 2000), otros sugieren que su presencia en el suelo o sustrato puede causar efectos adversos como los hallados en el desarrollo de plántulas de algodón que germinaron en sustrato con glifosato (Pline et al. 2002) o de *Lotus corniculatus* que germinaron en suelos con presencia de glifosato residual (Clua et al. 2012). Estos efectos adversos se manifestaron como un menor contenido de clorofila y desarrollo aéreo y radical de las plántulas, y podrían explicarse porque las raíces de plantas activas cuando se aplica el herbicida exudan el compuesto o sus metabolitos secundarios (el principal metabolito es el ácido aminometilfosfónico, AMPA), los que a su vez pueden ser absorbidos por las radículas de las semillas que germinan con posterioridad a la pulverización (Rodrigues et al. 1982).

Además de los efectos directos sobre la vegetación, la aplicación de glifosato puede modificar las interacciones bióticas, como por ejemplo la competencia entre grupos funcionales o especies vegetales. En este sentido, la remoción total del tapiz luego de la pulverización con glifosato promovió la germinación tanto de pastos anuales como perennes, pero favoreció la competencia de los primeros sobre los segundos, que redujeron sustancialmente su productividad en presencia de especies anuales (Corbin y D'Antonio 2004). También se ha demostrado el efecto directo negativo de la aplicación de glifosato sobre la viabilidad de las esporas de los hongos micorrízicos arbusculares y sobre su capacidad de colonizar raíces (Druille et al. 2013 a) así como el efecto indirecto sobre la diversidad de micorrizas al modificar la diversidad de la comunidad vegetal (Druille et al. 2013 b).

1.2.3. Efectos del herbicida sistémico total glifosato sobre la productividad primaria neta aérea y el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo en el suelo.

Son muy escasos los antecedentes relacionados con el efecto de la aplicación de glifosato sobre la productividad primaria de los ecosistemas pastoriles. Sólo un trabajo evaluó los cambios en la disponibilidad estacional de la biomasa aérea de un pastizal templado, observando que la aplicación del herbicida disminuyó la biomasa disponible entre otoño y primavera, respecto del pastizal no pulverizado (Arzadun y Mestelan 2009). Este trabajo mostró además un drástico cambio en la contribución relativa de los grupos funcionales, en tanto que la aplicación de glifosato aumentó la de los pastos invernales anuales y disminuyó la de las leguminosas y los pastos estivales. Estos cambios en la cantidad y distribución de la biomasa aérea producida y de la identidad de las especies y grupos funcionales que la componen podrían alterar el ciclo de carbono, que ejerce un control importante sobre los ciclos y la disponibilidad de nitrógeno y fósforo del ecosistema (Detling 1988, Hobbs et al. 1991, Wedin 1996, Chaneton et al. 1996, Weidenhamer y Callaway 2010). En consecuencia, podrían esperarse efectos indirectos negativos de la aplicación de glifosato sobre el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo a mediano o largo plazo. En cambio, no hay antecedentes que sugieran que la pulverización con glifosato *per se* pueda alterar en forma directa atributos del suelo tales como el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo (Duke et al. 2012).

1.2.4. Los disturbios en los ecosistemas: marcos teóricos para su estudio

El estudio de los efectos de un disturbio sobre el funcionamiento de un ecosistema puede abordarse en forma integral aplicando la teoría general de los sistemas (Bertalanffy 1968). Por tratarse de un sistema complejo que incluye varios niveles de organización (población, comunidad, ecosistema) relacionados entre sí, resulta pertinente abordar su estudio con un enfoque jerárquico (Allen y Starr 1982, O'Neill et al. 1986, Allen y Hoekstra 1992). Un disturbio puede afectar en forma directa algunos procesos biológicos (tasa de crecimiento poblacional, producción de semillas) de algunas poblaciones vegetales (Tilman 1988, Silvertown y Charlesworth 2001). En este nivel jerárquico, las poblaciones vegetales interactúan entre sí mediante diversos procesos (competencia, facilitación) y se integran en un nivel de organización superior, la comunidad vegetal. Un disturbio puede alterar las interacciones entre los componentes de una comunidad vegetal, explicando los cambios en los atributos propios de la misma, como la composición florística, la diversidad de la vegetación y del banco de semillas, entre otros (Tilman 1982). Los disturbios que alteran la composición florística de la vegetación pueden modificar el tamaño y la composición del banco de semillas debido a que el aporte de semillas al banco depende principalmente de la producción de semillas (Simpson et al. 1989). En pastizales sometidos a disturbios frecuentes, dominados por especies anuales, pioneras en la sucesión, se registra la mayor similitud entre la vegetación y el banco de semillas, mientras que en los pastizales pocos o no disturbados, dominados por gramíneas perennes, tardías en la sucesión secundaria, la similitud es menor (Moore 1980, Lavorel y Lebreton 1992). A su vez, los cambios en los atributos de la comunidad vegetal pueden explicar los cambios en procesos y atributos propios del nivel de ecosistema, como la captación de energía y la productividad primaria neta aérea (PPNA). Los cambios en la magnitud y en la dinámica de la PPNA pueden alterar el ciclo de carbono, que ejerce un control importante sobre los ciclos y la disponibilidad de nitrógeno y fósforo del ecosistema (Detling 1988, Hobbs et al. 1991, Wedin 1996, Chaneton et al. 1996).

En el enfoque jerárquico, los “tipos o grupos funcionales” se consideran un nivel de organización que constituye el nexo entre el nivel de plantas individuales o poblaciones y los procesos a nivel de ecosistema (Chapin 1993, Chapin et al. 1996). Los grupos funcionales surgen de agrupar a las especies por sus características ecofisiológicas, por el tipo de respuesta ante controles bióticos y ambientales o disturbios, o por su rol en el ecosistema (Lavorel et al. 1997). Los efectos de los disturbios sobre las propiedades del ecosistema pueden ser explicados en mayor medida por los cambios en la abundancia y diversidad de los grupos funcionales (Diaz y Cabido 2001, Meiners et al. 2009) que por los cambios en las composición y diversidad de especies, ya que éstas pueden ser redundantes (Hooper y Vitousek 1997, Tilman et al. 1997). Existe consenso en que una alta diversidad de grupos funcionales contribuye en mayor medida a la integridad ecológica (Pokorny et al. 2005) y conduce a una mayor estabilidad en las propiedades de los ecosistemas que una alta diversidad de especies ya que asegura el mantenimiento de las funciones del ecosistema (Hooper et al. 2005). En los ecosistemas de pastizales, se ha investigado exhaustivamente el efecto del pastoreo de herbívoros domésticos sobre atributos de determinados niveles de organización tales como poblaciones y grupos funcionales (Noy-Meir y Briske 1996, 2002, Jacobo et al. 2000, Noy-Meir y Kaplan 2002) o comunidades (Milchunas 2006, Jacobo et al. 2006), o sobre procesos del ecosistema, como la PPNA (Milchunas y Lauenroth 1993, Rush et al. 1997, Frank 2005), el ciclo de nutrientes (Chaneton et al. 1996, Garibaldi et al. 2007, Harrison y Bardgett 2008) o el del agua (Wilcox y Thurow 2006, Zhao et al. 2007,

Sanjari et al. 2009) y sobre las relaciones entre los distintos niveles de organización (Hooper y Vitousek 1997, Bardgett y Shine 1999, Bagchi y Ritchie 2010). Respecto de la aplicación de herbicidas, no hay antecedentes que indaguen los efectos en diferentes niveles de organización y los relacionen entre sí en un modelo integral que explique los cambios en el funcionamiento del pastizal como consecuencia de ese disturbio.

La teoría sucesional ofrece un marco apropiado para el estudio de los efectos de los disturbios sobre los atributos y procesos de los ecosistemas. En este marco se han desarrollado diversos modelos que explican la dinámica de los cambios generados por los disturbios naturales o antrópicos sobre los ecosistemas (Pickett et al. 1987). El modelo sucesional clásico propuesto por Clements (1916) plantea que el reestablecimiento de la composición de especies y el funcionamiento de una comunidad vegetal luego de haber sido eliminada total o parcialmente por un disturbio sigue una secuencia de etapas predecibles a través del tiempo hasta volver a la situación inicial (clímax), previa a la ocurrencia del disturbio. Este modelo determinístico fue discutido por Gleason (1926), argumentando que la secuencia de etapas, o trayectoria de la sucesión, no es predecible ya que depende de eventos imprevistos siendo, por lo tanto un proceso estocástico. Los aportes posteriores de diversos investigadores (Egler 1954, Connell y Slatyer 1977, Pickett et al. 1987, Tilman 1988) llevan actualmente a considerar que la trayectoria de la sucesión ecológica depende tanto de procesos estocásticos como determinísticos. En este marco conceptual, Westoby y colaboradores (1989) propusieron el “modelo de estados y transiciones” aplicado a ecosistemas pastoriles naturales o seminaturales, que plantea la ocurrencia de cambios o transiciones reversibles o irreversibles generados por la combinación de distintos eventos previsible o estocásticos, que pueden dar lugar a estados estables alternativos. Este modelo permite explicar los estados alternativos en que puede encontrarse una comunidad vegetal y sus posibles transiciones en función de la combinación de distintos tipos, intensidades y frecuencias de disturbios y ha sido utilizado ampliamente en la literatura relacionada a la ecología y al manejo de pastizales (Milton y Hoffman 1994, Llorens 1995, Pucheta et al. 1997, Aguilera et al. 1998, León y Burkart, 1988, Briske et al. 2005, Jacobo et al. 2006, Briske et al. 2008). Como aporte fundamental a la teoría ecológica de los ecosistemas bajo pastoreo, se reconoce que la resiliencia de éstos está relacionada positivamente con su productividad y con su historia evolutiva de herbivoría por grandes ungulados (Milchunas et al. 1988, Cingolani et al. 2005). También hay consenso en que la diversidad ecológica contribuye sustancialmente a la resiliencia de los ecosistemas terrestres ante disturbios como el laboreo del suelo, el corte mecánico, el fuego o el pastoreo, (Tilman 1996, Lavorel 1999). En cambio, no hay estudios que documenten la respuesta de los ecosistemas pastoriles ante un disturbio como la aplicación de herbicidas.

1.3. EL SISTEMA DE ESTUDIO

1.3.1. Cambios en el uso de la tierra en la Región Pampeana y sus consecuencias en los pastizales de la Pampa Deprimida

La Pampa Deprimida constituye la unidad fitogeográfica con predominio de pastizales naturales más extensa de la Región Pampeana. Estos pastizales son comunidades florísticamente diversas (León et al. 1979, León y Bertiller 1982, Burkart et al. 1989) que sustentan una gran cantidad de especies vegetales y animales y proveen

importantes servicios para el hombre, como el mantenimiento de la biodiversidad, el control biológico de plagas, la recreación, el secuestro de carbono, la regulación hidrológica, entre otros (Sala y Paruelo 1997, Bilenca y Miñarro 2004).

Desde hace más de 200 años, la Región Pampeana ha sufrido un proceso de transformación antrópica que amenaza la biodiversidad. Los cambios en el uso del suelo comenzaron lentamente en la década de 1960 y se aceleraron hacia finales de la década de 1970 (Barsky y Gelman 2009, Manuel-Navarrete et al. 2009). La innovación tecnológica más impactante ocurrió en 1996 con la introducción de la soja transgénica tolerante al glifosato (Trigo y Cap 2003) y el reemplazo de la labranza tradicional por la siembra directa (Satorre 2005). Las pasturas y verdeos fueron reemplazados por cultivos de cosecha como trigo, soja, maíz y girasol. Actualmente son escasos los sitios en los que persiste la vegetación original (León et al. 1984, Ghersa y León 1999). La sub-región Pampa Deprimida es una de las excepciones ya que, al presentar fuertes limitantes ambientales para la agricultura, mantiene aún la mayor parte de su extensión con muy bajo grado de alteración, destinada a la cría de ganado vacuno (Deregibus et al. 1995). Como consecuencia directa de la reducción de la superficie destinada a la producción de forraje en la zona más fértil de la Región Pampeana, en la última década la ganadería se concentró gradualmente en esta sub-región, soportando una carga animal creciente, con la consiguiente aplicación de nuevas prácticas para incrementar la productividad primaria y secundaria.

La Pampa Deprimida es una extensa planicie de 90.000 km² en la parte oriental de la Región Pampeana, cubierta, en su mayor parte, por pastizales naturales o seminaturales donde la cría de ganado vacuno es la principal actividad económica (Soriano et al. 1991). Las condiciones climáticas permiten el crecimiento secuencial de pastos de ciclo otoño-invierno-primaveral y primavera-estivo-otoñal (de síndrome fotosintético C₃ y C₄, respectivamente). Sin embargo, la producción de forraje sigue un patrón estacional, ya que la máxima tasa de crecimiento (30-80 kg MS ha⁻¹ d⁻¹) se produce a finales de la primavera y la mínima (3-10 kg MS ha⁻¹ d⁻¹) en invierno (Sala et al. 1981, Oosterheld y León, 1987). La principal limitante de la producción secundaria es la escasa oferta de forraje durante el invierno, que restringe la capacidad de carga de este sistema (Deregibus et al. 1995). Para superar esta limitante procurando aumentar la producción de forraje de alta calidad durante el invierno se han desarrollado diversas prácticas como: a) la implementación de pastoreo rotativo con descansos ajustados a las tasas de crecimiento de las distintas comunidades, que promueve el establecimiento temprano de pastos invernales como el raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam) (Jacobo et al. 2000, 2006), b) la fertilización fosforada, que aumenta la productividad tanto de pastos como de leguminosas (Rodríguez et al. 2007), c) la fertilización nitrogenada (Fernández Greco y Agnusdei 2004), que aumenta la contribución de los pastos anuales invernales en detrimento de las leguminosas y d) la pulverización con glifosato a fin de verano.

1.3.2. La aplicación de glifosato en los pastizales de la Pampa Deprimida: posibles impactos

Una de las prácticas que se difundió extensamente fue la aplicación del herbicida glifosato en cobertura total a fin de verano para eliminar la vegetación activa, compuesta por pastos y malezas estivales y así favorecer la germinación y el establecimiento de los pastos anuales invernales, cuyo principal componente es *Lolium multiflorum* Lam. “raigrás anual” (Arzadun y Mestelan 2009). Sin embargo, no hay antecedentes que hayan evaluado los efectos de esta práctica sobre los cambios la

composición florística, la riqueza y la diversidad de la comunidad vegetal y del banco de semillas o sobre la dinámica y el funcionamiento de la vegetación, a pesar de que se ha demostrado que este herbicida causa efectos adversos sobre la biodiversidad de los agroecosistemas (Schütte 2003, Sullivan y Sullivan 2003).

En virtud de los antecedentes enunciados y siendo los pastizales de la Pampa Deprimida comunidades vegetales funcionalmente diversas, donde existe una gran variedad en la fenología de las distintas especies y grupos funcionales, la aplicación de glifosato en un momento determinado a) dañaría en forma directa e inmediata a los grupos funcionales en activo crecimiento, b) modificaría las relaciones de competencia entre especies o grupos funcionales, c) afectaría la viabilidad de los propágulos vegetativos y/o reproductivos de los grupos funcionales más expuestos, y d) al incorporarse al suelo, podría afectar negativamente la germinación de las semillas y el desarrollo de plántulas de los grupos funcionales que germinan en ese período. Estos efectos en los niveles de poblaciones vegetales y grupos funcionales conducirían a un cambio drástico de la composición florística y en la diversidad de la comunidad vegetal y de su banco de semillas. A su vez, e) los cambios en la estructura de la comunidad vegetal tendrían consecuencias en procesos y atributos propios de niveles de organización superiores tales como la captación de energía y la productividad primaria neta aérea (PPNA) y en la disponibilidad de nutrientes.

Sustentándose en el “modelo de estados y transiciones” (Westoby et al., 1989), se puede predecir que cuando la aplicación recurrente de glifosato ocurre a fin de verano, se provocaría la transición del pastizal de un estado dominado por grupos funcionales de ciclo de crecimiento otoño-primaveral (C_3) y primavero-estival (C_4), de alta diversidad florística y de alta productividad estival, a otro estado, característico de las etapas tempranas de la sucesión secundaria, dominado por grupos funcionales de ciclo de vida corto y alta tasa de crecimiento (según Grime 2001), de menor diversidad florística, mayor productividad invernal y menor productividad estival. Esta transición estaría modulada por la disponibilidad de propágulos vegetativos y reproductivos de los grupos funcionales involucrados (Tilman et al. 1997, Levine y Murrell 2003).

1.4. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral es estudiar los efectos de la aplicación de un herbicida sistémico no selectivo, el glifosato, sobre procesos y atributos de pastizales naturales pastoreados por grandes herbívoros domésticos.

Los objetivos específicos abordados en este trabajo son:

Objetivo 1. Evaluar los cambios en la composición y en la diversidad específica y funcional de la comunidad vegetal y del banco de semillas de pastizales sometidos a la aplicación recurrente de glifosato.

Objetivo 2. Determinar qué procesos del ciclo biológico de las poblaciones afectadas por la aplicación de glifosato se relacionan con los cambios en los atributos de la comunidad vegetal y del banco de semillas.

Objetivo 3. Evaluar los cambios en la dinámica de la captación de energía, de la PPNA y en el contenido total de carbono, N y P del suelo en pastizales sometidos a la aplicación recurrente de glifosato y relacionarlos con los cambios en el nivel de comunidad.

Objetivo 4. Desarrollar un modelo conceptual describiendo los estados alternativos y las transiciones del pastizal sometido a la aplicación de glifosato.

1.5. HIPÓTESIS

Para abordar los tres primeros objetivos se postularon una serie de *hipótesis* y se diseñaron experimentos mensurativos o manipulativos, según la naturaleza del problema, para ponerlas a prueba. En el caso del objetivo 4 no se plantearon hipótesis por tratarse del desarrollo de un modelo conceptual que describe los estados alternativos y las transiciones del pastizal sometido a la aplicación recurrente de glifosato, surgido de la integración de los resultados de los experimentos, bajo el enfoque del modelo de estados y transiciones.

Hipótesis relacionadas con el objetivo 1

Hipótesis 1. Los cambios en la proporción relativa de los grupos funcionales causados por la aplicación recurrente de glifosato a fin de verano modifican los atributos funcionales de la comunidad. Se predice que la comunidad vegetal y el banco de semillas presentarán mayor contribución relativa de grupos funcionales otoño-invernales y menor de grupos primavero-estivales, menor riqueza, diversidad, equitatividad y cobertura total durante el verano que las de pastizales no sometidos a este disturbio.

Hipótesis 2: La composición florística de los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato es explicada en mayor medida por la composición de su banco de semillas que la de los pastizales no pulverizados. Se predice que la similitud entre la vegetación y el banco de semillas será mayor en los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato que en los no disturbados.

Hipótesis 3: El establecimiento de los pastos perennes invernales está limitado por la competencia ejercida por los pastos anuales invernales. Se predice que la aplicación de glifosato promoverá la germinación de ambos grupos funcionales pero que la contribución relativa de los pastos perennes invernales al stand de plantas establecidas estará inversamente relacionada con la de los pastos anuales invernales.

Hipótesis relacionadas con el objetivo 2

Hipótesis 4: La pulverización con glifosato, al reducir la viabilidad de los propágulos vegetativos, impide el rebrote y el posterior desarrollo reproductivo. Se predice que la aplicación de glifosato eliminará una alta proporción de módulos (macollos o tallos), disminuirá la proporción de módulos que rebroten post-aplicación, que alcancen la etapa reproductiva y que produzcan semillas y que la magnitud de esta respuesta dependerá de la dosis aplicada.

Hipótesis 5: La presencia de glifosato residual en el suelo afecta negativamente la germinación y el establecimiento de plántulas. Se predice que el tiempo transcurrido entre la pulverización y la germinación de las semillas estará positivamente relacionado con la germinación, emergencia y crecimiento de plántulas. También se espera un mayor efecto negativo sobre estos procesos cuando la pulverización es sobre la vegetación existente que sobre suelo.

Hipótesis relacionada con el objetivo 3

Hipótesis 6: Los cambios estructurales provocados por la aplicación recurrente de glifosato modifican el patrón estacional de captación de energía y PPNA y el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo en el mediano a largo plazo. Se predice que la captación de energía y la PPNA será mayor en invierno-primavera y menor en verano respecto de los pastizales no pulverizados. También se espera, en el largo plazo, una disminución en el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo.

1.6. ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

Esta tesis comprende tres capítulos con datos aportados por los experimentos mensurativos y manipulativos realizados (Capítulos II, III y IV) y un capítulo final (Capítulo V) que integra los resultados originales de los capítulos previos en un modelo conceptual que describe los efectos del glifosato en los distintos niveles de organización del pastizal y propone un modelo de estados y transiciones según distintos escenarios.

El Capítulo II documenta los efectos de la aplicación recurrente de glifosato a nivel de comunidad vegetal, describiendo los cambios en la dinámica estacional de la cobertura de la vegetación, en la composición florística y la diversidad específica y funcional de la vegetación y del banco de semillas (Hipótesis 1), en la similitud entre la composición del banco de semillas y de la vegetación (Hipótesis 2) y en las relaciones de competencia entre grupos funcionales (Hipótesis 3).

Los resultados surgidos de los experimentos del Capítulo II permitieron conocer las especies y grupos funcionales más afectados por la aplicación recurrente de glifosato. El Capítulo III aborda los efectos de la aplicación de glifosato sobre dos procesos claves del ciclo biológico de algunas de las especies más afectadas: la regeneración vegetativa y reproductiva (Hipótesis 4) y la germinación de las semillas y el desarrollo de plántulas (Hipótesis 5), mediante dos experimentos manipulativos en condiciones controladas. Los resultados de estos experimentos permiten determinar en qué medida estos procesos explican los cambios en la composición de la comunidad vegetal y del banco de semillas documentados en el Capítulo II.

El Capítulo IV documenta los efectos de la aplicación recurrente de glifosato sobre algunos procesos del ecosistema mediante los cambios en la dinámica estacional de la captación de energía y de la productividad primaria neta aérea y en el contenido de N y P edáficos (Hipótesis 6) y relacionándolos con los efectos a nivel comunidad descritos en el Capítulo II.

Finalmente, en el Capítulo V desarrollo una discusión general de la tesis en la que hago una síntesis de los resultados más importantes, destaco los aportes más novedosos, los integro en un modelo conceptual de la teoría de los sistemas y propongo un modelo de estados y transiciones que describe los estados alternativos y las transiciones del pastizal sometido a la aplicación recurrente de glifosato en distintos escenarios.

CAPÍTULO II

EFFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA COMPOSICIÓN FLORÍSTICA Y LA DIVERSIDAD ESPECÍFICA Y FUNCIONAL DE LA VEGETACIÓN Y DEL BANCO DE SEMILLAS

2.1. INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción animal, los herbicidas se utilizan para aumentar la producción de forraje, principalmente en pasturas cultivadas o verdes, pero es poco frecuente su aplicación en pastizales naturales o semi-naturales. En pastizales de América del Norte se aplican herbicidas selectivos para controlar las malezas herbáceas y arbustivas (Ortmann et al. 1998, Fuhlendorf et al. 2002, Kreuter et al. 2005, Mónaco et al. 2005, Cummings et al. 2007, Lulow 2007, Sellers y Mullahey 2008). En pastizales de Europa y EE.UU. también se utiliza este tipo de herbicidas con fines de conservación y/o restauración, procurando erradicar las especies exóticas e invasoras o reducir la competencia de las especies dominantes y así aumentar la diversidad florística (Milligan et al. 2003, Mau Crimmins 2007, Westbury y Dunnett 2008). En los pastizales de América del Sur, el uso de herbicidas es menos frecuente y prácticamente no hay estudios de los efectos de este disturbio sobre la productividad y la biodiversidad de estos ecosistemas. Sin embargo, el uso de herbicidas en los pastizales de la Región Pampeana de Argentina aumentó en la última década como consecuencia de la expansión e intensificación de la agricultura. Este proceso redujo la superficie destinada a la producción de forraje en la zona más fértil de la Región Pampeana, concentrando la producción ganadera en las áreas menos fértiles, como la Pampa Deprimida. En consecuencia, para sostener la creciente demanda animal, se desarrollaron prácticas para incrementar la oferta de forraje por unidad de superficie, en especial durante el invierno, que es el período en que el déficit de forraje restringe la capacidad de carga de este sistema (Deregibus et al. 1995).

Una de las prácticas más difundidas en la última década consiste en la aplicación de glifosato conjuntamente con la fertilización nitrogenada para aumentar la productividad invernal del pastizal en la Pampa Deprimida. El glifosato se pulveriza a fin de verano para eliminar la vegetación compuesta principalmente por pastos C_4 y dicotiledóneas estivo-otoñales, y así favorecer la germinación y el establecimiento de pastos anuales invierno-primaverales (C_3), cuyo principal componente es *Lolium multiflorum*. Esta práctica aumenta la producción de forraje en invierno y permite incrementar la carga animal y la producción de carne (Bilello y Zeberio 2002). Sin embargo, la aplicación recurrente de glifosato a fin de verano puede causar un efecto negativo directo a los grupos funcionales en activo crecimiento al momento de la pulverización, reduciendo la contribución relativa de los pastos C_4 y de otros grupos de ciclo estivo-otoñal. Por otro lado, al aumentar la dominancia de una especie anual invierno-primaveral, puede disminuir la riqueza y la diversidad florística y modificar drásticamente la composición del pastizal (Crawley 1987, D'Antonio y Vitousek 1992, Corbin y D'Antonio 2004, Davis 2011). Además de los efectos directos sobre la vegetación, la aplicación de glifosato puede modificar las interacciones bióticas, como por ejemplo la competencia entre grupos funcionales o especies vegetales. En este sentido, en un pastizal de California se halló que la remoción total del tapiz luego de la pulverización promovió la germinación tanto de pastos anuales como perennes, pero favoreció la competencia de los primeros sobre los segundos, que redujeron sustancialmente su productividad en presencia de especies anuales (Corbin y D'Antonio 2004). Esta ventaja competitiva de los pastos anuales sobre los perennes durante el establecimiento está ampliamente documentada (D'Antonio y Vitousek 1992, Dyer y Rice 1999, Hamilton et al. 1999, Corbin y D'Antonio 2004, Davies 2011, Wainwright et al. 2012) y sugiere que la aplicación de glifosato en un pastizal donde coexisten pastos anuales y perennes podría producir un efecto indirecto negativo sobre la población de pastos perennes debido a la alta competencia inicial que ejercen los pastos anuales. Estos cambios estructurales pueden alterar el funcionamiento y los procesos de

este ecosistema, como por ejemplo, el patrón estacional de la productividad primaria o el ciclo de carbono y nutrientes.

La regeneración de la comunidad vegetal luego de un disturbio que elimina la vegetación depende de la dispersión (Fenner y Thompson 2005) y de la disponibilidad de semillas (Bakker y Berendse 1999, Bossuyt y Honnay 2008) y de propágulos vegetativos en el suelo (Vesk y Westoby 2004). La aplicación de un herbicida sistémico total, como el glifosato, constituye un disturbio severo que puede suprimir la capacidad de rebrote del banco de propágulos vegetativos (Latzel et al. 2008) y, por lo tanto, la regeneración de la vegetación podría depender casi exclusivamente del banco de semillas del suelo. A su vez, los disturbios que alteran la composición florística de la vegetación pueden modificar el tamaño y la composición del banco de semillas debido a que el aporte de semillas al banco depende principalmente de la producción de semillas (Simpson et al. 1989). La similitud de la composición específica entre el banco de semillas y la vegetación es generalmente mayor en los pastizales que en otros ecosistemas terrestres (Hopfensperger 2007). A su vez, la mayor similitud entre la vegetación y el banco de semillas se registra en pastizales sometidos a disturbios frecuentes, que están dominados por especies anuales, pioneras en la sucesión, mientras que en los pastizales poco o no disturbados, dominados por gramíneas perennes, tardías en la sucesión secundaria, la similitud es menor (Moore 1980, Lavorel y Lebreton 1992). Sustentando esta afirmación, diversos estudios que evaluaron las trayectorias de sucesión secundaria en los pastizales hallaron menor similitud a mayor tiempo sucesional (Jensen 1998, Kalamees y Zobel 1998, Wagner et al. 2003). Dado que el banco de semillas se considera una importante fuente de propágulos para restaurar las comunidades vegetales disturbadas, determinar su densidad, composición y similitud con la vegetación permite predecir el potencial de recuperación de la comunidad (Bossuyt y Honnay 2008).

El objetivo de este capítulo fue evaluar los efectos de la aplicación recurrente de glifosato sobre la composición y la diversidad específica y funcional de la comunidad vegetal y del banco de semillas de los pastizales de la Pampa Deprimida. En virtud de los antecedentes citados se postularon tres hipótesis:

Hipótesis 1. Los cambios en la proporción relativa de los grupos funcionales causados por la aplicación recurrente de glifosato a fin de verano modifican los atributos funcionales de la comunidad. Se predice que la comunidad vegetal y el banco de semillas presentarán mayor contribución relativa de grupos funcionales otoño-invernales y menor de grupos primavero-estivales, menor riqueza, diversidad, equitatividad y cobertura total durante el verano que las de pastizales no sometidos a este disturbio.

Hipótesis 2: La composición florística de los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato es explicada en mayor medida por la composición de su banco de semillas que la de los pastizales no pulverizados. Se predice que la similitud entre la vegetación y el banco de semillas será mayor en los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato que en los no disturbados.

Hipótesis 3: El establecimiento de los pastos perennes invernales está limitado por la competencia ejercida por los pastos anuales invernales. Se predice que la aplicación de glifosato promoverá la germinación de ambos grupos funcionales pero que la contribución relativa de los pastos perennes invernales al stand de plantas establecidas estará inversamente relacionada con la de los pastos anuales invernales.

Para poner a prueba las predicciones asociadas a las hipótesis planteadas se condujeron cuatro experimentos en un mismo sitio experimental (Estancia Montenegro) entre los años 2006 y 2010. La hipótesis 1 se corroboró mediante dos experimentos mensurativos, relevando la vegetación (Experimento 1) y el banco de semillas (Experimento 2) en tres lotes sometidos recurrentemente a la aplicación de glifosato y en otros tres lotes que nunca fueron tratados. Para poner a prueba la hipótesis 2, en los mismos lotes se relacionó la composición del banco de semillas con la de la vegetación emergente durante dos períodos consecutivos (Experimento 3). Finalmente, para corroborar la hipótesis 3 se llevó a cabo un experimento manipulativo (Experimento 4) en los lotes no tratados del sitio experimental.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Área de estudio

La Pampa Deprimida es una planicie de 90.000 km² ubicada en el este de la Región Pampeana (se extiende entre los 35° a 38° de latitud Sur y entre los 58° a 61° de longitud Oeste), cubierta en su mayor parte por pastizales naturales o semi-naturales. El clima es templado subhúmedo con precipitaciones medias anuales que varían de 1000 mm en el norte a 850 mm en el sur, con un régimen isohigro. Las temperaturas medias mensuales más bajas son de 6.8 °C en julio-agosto, y las más altas se registran en enero, alcanzando 21.8 °C. Debido a la baja fertilidad de los suelos y a las frecuentes inundaciones, que desalentaron el reemplazo por cultivos (Soriano et al. 1991), la principal actividad agropecuaria es la cría de ganado vacuno. Si bien las condiciones climáticas favorables permiten el crecimiento secuencial de pastos invernales (C₃) y estivales (C₄), la productividad primaria neta aérea presenta un patrón estacional, siendo diez veces superior a fin de primavera que en invierno (Sala et al. 1981).

La heterogeneidad de la vegetación de los pastizales de la Pampa Deprimida está fuertemente asociada a las variaciones topográficas, que determinan la frecuencia y duración de las inundaciones, y a la salinidad/sodicidad de los suelos, los cuales en interacción con el pastoreo controlan la estructura de la comunidad (Perelman et al. 2001). Las lomas convexas, originadas en depósitos sedimentarios arrastrados por el viento, representan los ambientes extremos no hidromórficos y no salinos, con suelos de buen drenaje interno, poligenéticos, profundos y ácidos (Hapludoles thaptoárgicos). En ellos se desarrolla la comunidad vegetal denominada “praderas de mesófitas”. En las posiciones topográficas intermedias del paisaje se extienden planicies con pendientes muy leves (menores al 3%) sobre suelos ligeramente alcalinos e hidromórficos subsuperficialmente (Natracuoles y Natralboles), cuya vegetación es la comunidad denominada “praderas húmedas de mesófitas”. En las posiciones más bajas del paisaje dominan tres tipos de ambientes: los bajos de recarga hídrica con suelos hidromórficos no salinos (Argiacuoles o Argialboles), los bajos de descarga hídrica con suelos hidromórficos y nátricos (Natracualfes típicos) y las planicies aluviales. En estos bajos se desarrollan respectivamente las comunidades denominadas “pradera de higrófitas”, “estepas de halófitas” y “estepas húmedas de halófitas” (Batista et al. 2005).

La pradera húmeda de mesófitas es una de las comunidades más extendidas, incluye pastos de crecimiento otoño-invernal y primavero-estival de alta calidad nutritiva y ha sido la más frecuentemente intervenida con distintas prácticas que procuran incrementar o mejorar la calidad de la oferta forrajera (intersiembras, fertilizaciones, aplicación de herbicidas), incluyendo el tratamiento con glifosato a fin

de verano. En ese momento, las especies primavero-estivales están creciendo activamente y las especies perennes invierno-primaverales están comenzado su ciclo de crecimiento (León y Bertiller 1982). Esta comunidad presenta como especies dominantes a *Lolium multiflorum* Lam., *Paspalum dilatatum* Poir., *Bothriochloa laguroides* (DC.) Herter, *Sporobolus indicus* (L.) R. Br., *Panicum milioides* Nees ex Trin., *Nassella neesiana* (Trin. and Rupr.) Barkworth., *Briza subaristata* Lam., *Piptochaetium montevidensis* (Spreng.) Parodi, y *Danthonia montevidensis* Hack. and Arechav. (Perelman et al. 2001). También es común encontrar entre sus componentes una alta contribución de especies introducidas hace más de 50 años, tales *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort. (festuca alta), *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd. (lotus) y *Trifolium repens* L. (trébol blanco), que suelen representar el principal componente de los grupos funcionales que los incluyen (Jacobo et al. 2006, Rodríguez et al. 2007). Presenta además cierta heterogeneidad propia, dado que a lo largo de la leve pendiente que la caracteriza, la posición topográfica más alta y la más baja muestran diferencias en la profundidad del horizonte A₁, el contenido de materia orgánica del suelo (Batista et al. 2005), el momento y la duración de los anegamientos (Paruelo y Sala 1990), la composición florística y la diversidad. Tales diferencias ambientales permiten distinguir distintas variantes florísticas de la misma comunidad a lo largo del gradiente topográfico (León 1975).

2.2.2. Sitio experimental

Los experimentos 1, 2, 3 y 4 se llevaron a cabo en la Estancia Montenegro, ubicada en el Partido de Azul, en la parte central de la Pampa Deprimida (36°40'S, 59°32'W, 80 msnm). En este establecimiento agrícola-ganadero de 1600 ha, la principal actividad es la cría de vacunos de razas Aberdeen Angus y Hereford y, eventualmente, el engorde de una porción de los terneros, siendo los pastizales la principal fuente de forraje para la alimentación del ganado. El pastoreo se efectúa en forma rotativa en lotes de 60 has en promedio. Algunos de estos lotes comenzaron a ser pulverizados ininterrumpidamente con glifosato a fin de verano a partir del año 2000-2002. El herbicida se aplicaba con una pulverizadora terrestre en una sola aplicación durante la primera semana de marzo de cada año, con una dosis de 1440 g ácido equivalente ha⁻¹ de la formulación comercial de glifosato (Roundup Full II®) en 100 litros de agua ha⁻¹. Esta dosis, formulación y momento de aplicación son las habituales en toda la región.

Se seleccionaron seis lotes que integraban el circuito de pastoreo del establecimiento, dominados por la comunidad de praderas húmedas de mesófitas. Tres de los seis lotes correspondían a los sometidos anualmente a pulverización con glifosato a fin de verano, mientras que los tres lotes restantes nunca recibieron este tratamiento (lotes testigo). Dado que la pradera húmeda de mesófitas podría responder diferencialmente a la pulverización con glifosato según la posición topográfica, se seleccionaron sitios de muestreo en la posición alta y en la posición baja de la comunidad en cada lote.

2.2.3. Precipitaciones

Se registraron mensualmente las precipitaciones en la Ea. Montenegro durante los períodos experimentales correspondientes a los experimentos 1, 2, 3 y 4 con un pluviómetro Hellman (Fig. 2.1.).

Las precipitaciones mensuales ocurridas en junio y octubre de 2006, enero y septiembre de 2007, febrero de 2008 y mayo, noviembre y diciembre de 2009 fueron superiores en al menos un 25% respecto de las precipitaciones promedio mensuales del período 1999-2009 en el sitio experimental. En cambio las precipitaciones ocurridas en marzo, abril, mayo, julio, agosto, septiembre y noviembre de 2006, febrero, mayo, junio, julio, agosto, noviembre y diciembre de 2007, enero, abril, mayo, septiembre, noviembre y diciembre de 2008, enero, febrero, abril, agosto y octubre de 2009 y enero de 2010 fueron inferiores en al menos un 25% de las precipitaciones promedio mensuales del período 1999-2009 (Fig. 2.1.).

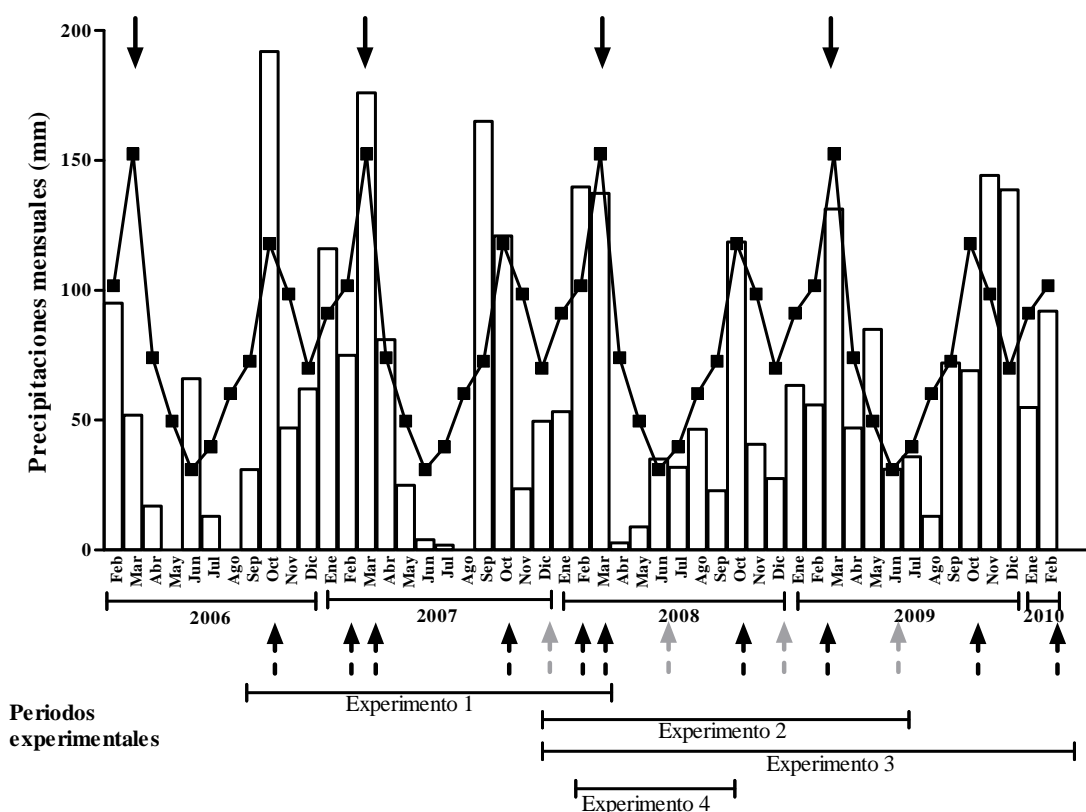


Figura 2.1. Precipitaciones mensuales (mm) registradas durante los períodos experimentales correspondientes a los cuatro experimentos (barras) y precipitaciones promedio mensuales del período 1999–2009 registradas en la Ea. Montenegro (línea entera). Las flechas enteras indican los momentos de pulverización con glifosato, las flechas punteadas negras indican las fechas de relevamiento de la vegetación y las flechas punteadas grises indican las fechas de relevamiento del banco de semillas. Las barras horizontales indican la duración de los períodos experimentales correspondientes a los experimentos 1, 2, 3 y 4.

2.2.4. Experimento 1: Efecto del glifosato sobre la vegetación

2.2.4.1. Relevamiento de la vegetación

En las posiciones altas y bajas de los lotes seleccionados se realizaron mediciones de la estructura de la vegetación durante dos años consecutivos (octubre de 2006 a marzo de 2008) en seis oportunidades: primavera (octubre), verano (febrero) y fin de verano (marzo, antes de la pulverización). La cobertura basal de cada especie, la de suelo desnudo, broza y material seco en pie se estimaron mediante el método del

punto al paso (step-point method, Mueller-Dombois y Ellenberg 1974) a lo largo de cinco transectas de diez metros de longitud (200 puntos por transecta) dispuestas al azar en cada evaluación (transectas no permanentes) en la posición más alta y en la más baja de cada lote.

La nomenclatura de género y especies y sus autorías responden a la base de datos Flora del Cono Sur, del Instituto de Botánica Darwinion (2013).

2.2.4.2. Diversidad florística

Se estimó la riqueza florística como el número total de especies por posición en cada lote. Para estimar la dominancia se utilizó el índice de Berger Parker (d) por ser una medida simple y de fácil interpretación ya que expresa la abundancia relativa de la especie más abundante: $d = N_{\max}/N$, siendo N_{\max} la cobertura de la especie más abundante y N la cobertura total. Este índice varía de 0 a 1 y el valor se incrementa a medida que la vegetación es dominada por pocas especies con alta abundancia. La diversidad de especies se estimó mediante el índice de diversidad de Gini-Simpson, $1-D = 1 - \sum p_i^2$, siendo p la proporción de cada especie en ambas posiciones topográficas de cada lote. Este índice provee una buena estimación de la diversidad cuando el tamaño de la muestra es relativamente pequeño y es fácilmente interpretable dado que varía de 0 a 1 y el valor se incrementa a medida que la comunidad es más rica y equitativa (Magurran 2004).

2.2.4.3. Grupos funcionales

Se clasificaron las especies según una aproximación jerárquica (Lavorel et al. 1997) de acuerdo a su forma de crecimiento (pastos, ciperáceas, dicotiledóneas), longevidad (anual, perenne), síndrome fotosintético (C_3 , C_4), morfología (cespitosas, rastreras), fijación simbiótica de nitrógeno (leguminosas, otras dicotiledóneas) y estación de crecimiento (otoño-invernal o primavera-estival) (Jacobo et al., 2006). Los grupos funcionales resultantes fueron: pastos otoño-invernales (C_3) anuales, pastos otoño-invernales (C_3) perennes, pastos primavera-estivales (C_4) cespitosos, pastos primavera-estivales (C_4) rastreros, graminoides, leguminosas otoño-invernales, leguminosas primavera-estivales, otras dicotiledóneas otoño-invernales, otras dicotiledóneas primavera-estivales y ciperáceas. Las principales especies que integran cada grupo funcional se enumeran en la tabla 2.2. Se calculó la cobertura basal de cada grupo funcional como la suma de las coberturas basales de las especies que los integraban. De esta manera, la cobertura basal representa el porcentaje de suelo cubierto por cada grupo funcional, por la broza, por el material seco en pie y por el suelo desnudo.

2.2.4.4. Calidad forrajera

Se estimó el Índice de Calidad Forrajera (ICF) en cada fecha de relevamiento para determinar los cambios en la calidad de la oferta forrajera asociada con la aplicación de glifosato. El ICF se calculó usando la ecuación propuesta por Daget y Poissonnet, 1971: $ICF = \sum p_i \times q_i$, donde p_i es la proporción de cada especie en la muestra y q_i es el valor forrajero de la especie. Los valores q_i de las especies de los pastizales de la Pampa Deprimida fueron propuestos por Cahuepe et al. (1985), variando de 0 (sin valor forrajero) a 5 (excelente calidad forrajera).

2.2.5. Experimento 2: Efecto del glifosato sobre el banco de semillas

2.2.5.1. Relevamiento del banco de semillas

En los mismos lotes y posiciones dentro de los lotes entre diciembre de 2007 y diciembre de 2009, se extrajeron muestras del banco de semillas en dos momentos del año: a principios de verano, luego de la dispersión de las semillas de las especies invierno-primaverales (Diciembre) y a fin de otoño, luego de la dispersión de las semillas de las especies primavero-estivales (Junio) durante dos períodos sucesivos (diciembre 2007-junio 2008 y diciembre 2008-junio 2009). En cada momento de muestreo, se extrajeron al azar 30 submuestras de suelo con un cilindro de 3.5 cm de diámetro (6.5 cm^2 de superficie) de los primeros 7 cm de profundidad. El muestreo se realizó tomando las submuestras cada dos metros trazando una W que abarcó toda la superficie de cada sitio. El volumen total de suelo extraído de cada sitio fue 1365 cm^3 (30 sub-muestras de 6.5 cm diámetro por 7.0 cm de profundidad), que excede el volumen mínimo recomendado por Hayashi y Numata (1971) y Roberts (1981). El tamaño y número de submuestras, el modo y la época de muestreo se establecieron según las consideraciones metodológicas propuestas por Csonos (2007).

Para estimar la densidad y composición del banco de semillas se aplicó el método de “emergencia de plántulas” propuesto por Roberts (1981). A tal efecto, inmediatamente después de la extracción, las sub-muestras se tamizaron para eliminar los restos de vegetación y broza. El suelo con las semillas recuperadas se esparció sobre una base de suelo esterilizado (15 cm de altura) en bandejas plásticas (20 x 20 cm), se regaron y colocaron en una cámara de cultivo (95 x 120 x 80 cm. BS 890, Bioamerican Science, Argentina) durante cinco días. El régimen térmico en la cámara fue de 25–35°C para las muestras extraídas a fin de otoño y de 10–20 °C para las extraídas a fin de primavera. Luego las bandejas fueron trasladadas a un invernáculo con temperatura y humedad controladas. Semanalmente se registró el número de plántulas emergidas y se identificó la especie mediante claves sistemáticas de reconocimiento (Burkart 1969, 1974, 1979, 1987, Marzocca et al. 1976, Cabrera y Zardini 1979, Alonso y Peretti 2006), y comparación con los ejemplares del Herbario Gaspar Suarez (FAUBA). Luego de haber transcurrido 30 días sin observarse nuevas emergencias, lo que se cumplió luego de aproximadamente cinco meses desde la extracción de las muestras, se tamizó el suelo para recuperar las semillas remanentes no germinadas. Estas semillas se colocaron en cajas de Petri sobre algodón embebido en agua destilada y se llevaron a la cámara de cultivo para favorecer la germinación. Las semillas que aún así no germinaron se las sometió al test de viabilidad con cloruro de tetrazolio (ISTA 2003).

2.2.5.2. Densidad y composición del banco de semillas

La densidad total del banco de semillas y la de cada especie para el primer (Diciembre 2007–Junio 2008) y segundo (Diciembre 2008–Junio 2009) período se calculó como la suma de las semillas germinadas de las muestras de suelo de cada período y se expresó como la cantidad de semillas germinadas m^{-2} . Como la superficie total de suelo extraída de cada sitio fue 840 cm^2 , el factor de conversión para expresar la densidad de semillas por m^{-2} fue 11.9. La composición del banco de semillas de cada período se calculó como la proporción relativa de semillas de cada especie (cantidad de semillas germinadas de cada especie dividida por la cantidad de semillas germinadas totales).

2.2.5.3. Diversidad del banco de semillas

La diversidad del banco de semillas se estimó mediante los mismos índices utilizados para caracterizar la diversidad de la vegetación (ver ítem 2.2.4.2). La riqueza del banco de semillas (S) se estimó como el número total de especies encontradas en el banco de semillas de cada lote.

2.2.6. Experimento 3: Similitud entre el banco de semillas y la vegetación

Para poner a prueba la predicción asociada a la hipótesis 2, se evaluó en qué medida la composición del banco de semillas determinaba la composición de la vegetación aérea. Para ello se relevó la cobertura basal de cada especie en los mismos sitios de donde se extrajeron las muestras para la determinación de los bancos de semillas, en octubre 2008 y febrero 2009 y en octubre 2009 y febrero 2010, aplicando la metodología descrita en el ítem 2.2.4.1. Se eligieron estas fechas de relevamiento para relacionar la composición de la vegetación con la de los bancos de semillas: el banco de semillas extraído en el primer período experimental diciembre 2007-junio 2008 se relacionó con la vegetación registrada en octubre 2008 y febrero 2009, mientras que el banco de semillas extraído en el segundo período experimental diciembre 2008-junio 2009 se relacionó con la vegetación relevada en octubre 2009 y febrero 2010.

2.2.7. Experimento 4: Efectos indirectos del glifosato. Competencia entre pastos invernales (C₃) anuales y perennes

Para poner a prueba la predicción asociada a la hipótesis 3, se evaluó si la aplicación de glifosato, al aumentar la contribución relativa de los pastos anuales invernales, produce como efecto indirecto la limitación del establecimiento de los pastos perennes invernales como consecuencia de la competencia asimétrica ejercida por los primeros.

En una primera etapa se evaluó si la aplicación de glifosato promovía la germinación tanto de pastos invernales anuales como perennes. Para evitar el efecto confundido de la aplicación recurrente de glifosato sobre la composición del banco de semillas, se colocaron 10 marcos fijos de 1 m² en la posición alta del gradiente topográfico de los tres lotes testigo. Se asignaron al azar los tratamientos (pulverización con glifosato o testigo sin pulverizar) y se pulverizaron cinco marcos con glifosato utilizando una mochila manual en la misma dosis que la descrita en el ítem 2.2.2 (1440 g ácido equivalente ha⁻¹ de la formulación comercial de glifosato (Roundup Full II®) en 100 litros de agua ha⁻¹) el 2 de marzo de 2008, mientras que los otros cinco marcos no fueron pulverizados. Previamente, en diciembre de 2007, se evaluó el banco de semillas (ver 2.2.5.1). Se relevó periódicamente la cantidad de plántulas de gramíneas invernales anuales y perennes en el período marzo-junio de 2008, asumiendo que durante ese período la competencia intra e interespecífica entre plántulas resultaría irrelevante. Se estimó el porcentaje de emergencia de ambos grupos funcionales como el cociente entre la cantidad de plántulas relevadas en junio de 2008 y la cantidad de semillas registradas en el banco en diciembre de 2007 (ver ítem 2.2.5.1).

En una segunda etapa se determinó si el establecimiento de los pastos perennes invernales estaba limitado por la competencia ejercida por los pastos anuales invernales. Para ello, luego del último relevamiento del mes de junio, se ralearon los marcos que habían sido pulverizados (1) cortando al ras las plantas excedentes, dejando 150 plantas totales en cinco combinaciones de gramíneas invernales anuales y perennes: 25-125, 50-

100, 75-75, 100-50 y 125-25. Se registró periódicamente la cantidad de plantas y macollos de estos dos grupos funcionales hasta fin de septiembre del año 2008.

(1) Los marcos no pulverizados se descartaron para la segunda etapa porque en algunos casos no alcanzaban a presentar la cantidad necesaria de plantas de cada grupo funcional para establecer las combinaciones o porque el tamaño de las plantas era muy desuniforme.

2.2.8 Análisis estadísticos

Para describir la variación en la composición florística de la vegetación (Experimento 1) y del banco de semillas (Experimento 2) se utilizaron técnicas multivariadas de ordenamiento y clasificación. Mediante Análisis de Correspondencia (Greenacre 1984), usando datos de frecuencia de especies en cada unidad experimental (sitio o banco de semillas), se describió la variación en la composición de especies y del banco de semillas entre tratamientos (aplicación de glifosato vs. testigo) y entre períodos experimentales en cada posición. El Análisis de Correspondencia utiliza la medida de distancia chi-cuadrado (ter Braak 1985), que es la medida de distancia apropiada para las variables expresadas como medidas relativas (ponderadas por sus totales) y puede ser aplicado para matrices de datos de dimensiones homogéneas si las dimensiones físicas de las variables son las mismas (Perelman et al. 2003), como es el caso de las matrices de datos de cobertura relativa de cada especie y de proporción relativa de semillas de cada especie analizadas en este capítulo. Para evitar darle demasiada relevancia a las especies con baja abundancia en las matrices de datos, se excluyeron aquellas cuya constancia fue menor al 5%. Las diferencias multivariadas entre tratamientos se pusieron a prueba mediante el test MRPP (Multi-response permutation procedure, Biondini et al. 1988) y para identificar las especies responsables de las diferencias entre tratamientos, se aplicó el Análisis de Especies Indicadoras y el test Monte Carlo (Dufrene y Legendre 1997).

Para analizar la relación entre la composición del banco de semillas y la de la vegetación resultante (Experimento 3) se calculó el índice de similitud de Sørensen (Looman y Campbell 1960). Para ello se llevó a cabo el ordenamiento Bray-Curtis con dos ejes usando la medida de distancia de Sørensen y la proyección geométrica Euclidiana. La medida de distancia de Sørensen obtenida para cada tratamiento, posición y período experimental representaba el índice de disimilitud de Sørensen. Por lo tanto, se usó el recíproco de estas medidas para obtener el índice de similitud de Sørensen.

Las variables cobertura vegetal total, cobertura relativa de cada grupo funcional (Experimento 1), y la proporción relativa de plántulas y macollos de gramíneas invernales anuales y perennes dentro de los marcos fijos (Experimento 4) fueron transformadas angularmente (arco seno de la raíz cuadrada), en tanto que la variable densidad de semillas (Experimento 2) fue transformada logarítmicamente para cumplir con el supuesto de homogeneidad del análisis de varianza. El efecto de la aplicación de glifosato en cada posición topográfica sobre estas variables, sobre el índice de calidad forrajera, sobre la riqueza, dominancia y diversidad de la vegetación y del banco de semillas y sobre el índice de similitud de Sørensen se analizó mediante un análisis de varianza con un arreglo de medidas repetidas, tomando como efecto intra-sujeto (medidas repetidas) las fechas de relevamiento de los períodos experimentales. Cuando el efecto intra-sujeto y su interacción no resultaron significativos, se promediaron los datos de las fechas de relevamiento o de los períodos, según correspondió y cuando fueron significativos, se compararon las medias mediante el test de Tukey ($p < 0.05$) o se calcularon los contrastes de interés.

Para evaluar si la aplicación de glifosato promovía la germinación de gramíneas invernales tanto anuales como perennes (Experimento 4) se realizó un análisis de varianza con un arreglo de medidas repetidas para cada grupo funcional, siendo el factor principal el tratamiento de aplicación de glifosato (TRAT) a dos niveles (con o sin pulverización) y el efecto intra-sujeto (medidas repetidas) las fechas de relevamiento (MES). Cuando la interacción resultó significativa, se compararon las medias mediante el test de Tukey ($P < 0.05$). Para evaluar el efecto de la competencia entre ambos grupos funcionales, se llevó a cabo un análisis de varianza para cada grupo funcional, siendo el factor principal los tratamientos de competencia (COMP) a cinco niveles, según la combinación de cantidad de plantas iniciales (junio) de gramíneas invernales anuales y perennes (25-125, 50-100, 75-75, 100-50 y 125-25) y las variables respuesta fueron la cantidad de plantas y la cantidad de macollos establecidos en septiembre. Adicionalmente se efectuaron regresiones lineales entre la cantidad de plantas de gramíneas invernales anuales y perennes y entre la cantidad de macollos de gramíneas invernales anuales y perennes establecidas a fin de septiembre.

Se usó el software Statistica (StatSoft, Inc.) para llevar a cabo los análisis univariados paramétricos y el software PC-ORD TM versión 4 (MjM Software, Inc.) para los análisis multivariados.

Como medida de dispersión de los datos se usó el error estándar de la media (EE), representado por las barras verticales en las figuras o por su valor entre paréntesis a continuación de las medias en las tablas.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Efecto del glifosato sobre la vegetación

2.3.1.1. Cobertura basal total

La aplicación de glifosato redujo la cobertura basal total en forma diferencial según la fecha de relevamiento (TRAT: $F_1=23.26$, $P=0.008$, FECHA: $F_5=66.56$, $P < 0.001$, TRAT x FECHA $F_5=12.22$, $P < 0.001$) en la posición alta de la comunidad. La cobertura en los lotes pulverizados se redujo entre un 60 a 70% respecto de la de los lotes testigo tanto en el verano del año 2007 (contraste $F_1=17.99$, $P=0.013$) como en el del año 2008 (contraste $F_1=31.03$, $P=0.005$), mientras que no hubo diferencias en la primavera ni a fin de verano (Fig. 2.2 a). En la posición baja de la comunidad, la cobertura total fue inferior en los lotes pulverizados y alcanzó los valores más bajos en verano y los más altos a fin de verano (TRAT: $F_1=21.12$, $P=0.010$, FECHA: $F_5=37.52$, $P < 0.001$, TRAT x FECHA $F_5=1.52$, $P=0.226$) (Fig. 2.2 b). Mientras que en los lotes no pulverizados la cobertura basal total es en promedio 90% en primavera y fin de verano y se reduce al 63% en verano tanto en la posición alta como en la posición baja de la comunidad, en los lotes pulverizados alcanza al 84% en primavera y fin de verano pero se reduce al 22% en verano en la posición alta y al 42% en la posición baja (Fig. 2.2).

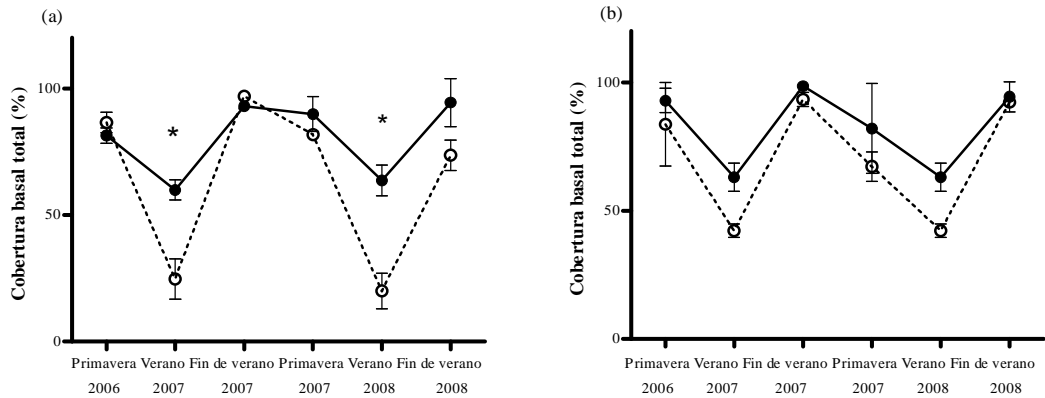


Figura 2.2. Cobertura basal total de la vegetación en la posición alta (a) y baja (b) de la comunidad de pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo no pulverizados (línea entera) y en los lotes pulverizados con glifosato (líneas punteadas) en los períodos 2006-2007 y 2007-2008. Las barras verticales indican 1 EE de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas surgidas de los contrastes ($P < 0.05$).

2.3.1.2. Valor forrajero

El valor forrajero varió a lo largo del período experimental en forma diferencial en ambos tratamientos, tanto en la posición alta (TRAT: $F_1=0.05$, $P=0.827$, FECHA: $F_5=14.40$, $P < 0.001$, TRAT x FECHA $F_5=5.67$, $P=0.002$) como en la posición baja (TRAT: $F_1=0.105$, $P=0.761$, FECHA: $F_5=10.84$, $P < 0.001$, TRAT x FECHA $F_5=4.070$, $P=0.010$) de la pradera húmeda de mesófitas. Mientras que en los lotes testigo el valor forrajero se mantuvo constante durante los dos períodos, en los lotes pulverizados con glifosato el valor forrajero fue mucho más variable, llegando a superar al de los lotes testigo en la primavera del 2007 en la posición alta (Fig. 2.3 a) y también en la posición baja de la comunidad, aunque en esta posición el valor forrajero de los lotes testigo superó al de los lotes pulverizados en el verano del 2007 y del 2008 (Fig. 2.3. b).

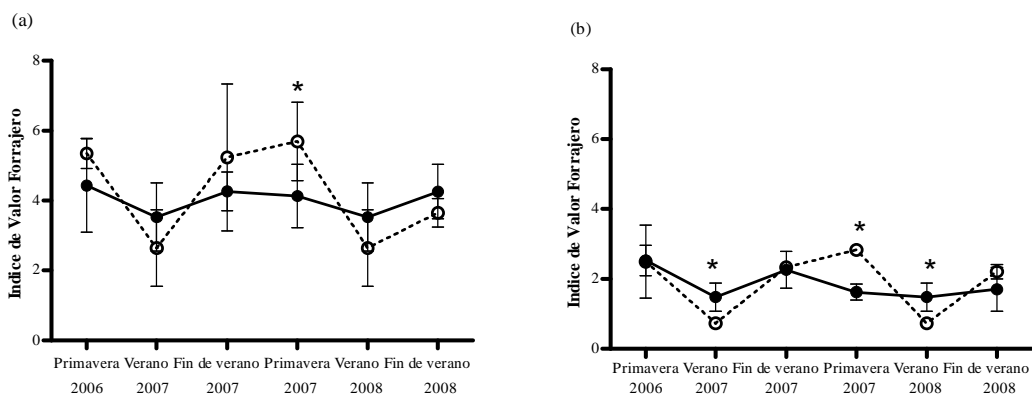


Figura 2.3. Valor forrajero de la vegetación en la posición alta (a) y baja (b) de la comunidad de pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo no pulverizados (línea entera) y en los lotes pulverizados con glifosato (líneas punteadas) en los períodos 2006-2007 y 2007-2008. Las barras verticales indican 1 EE de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas surgidas de los contrastes ($P < 0.05$).

2.3.1.3. Cobertura basal de los grupos funcionales

La cobertura basal de los pastos anuales invernales en los lotes pulverizados con glifosato fue de cinco a seis veces mayor en la posición alta y de dos a cinco veces mayor en la posición baja respecto de los lotes testigo. Por el contrario, la cobertura basal de los pastos perennes invernales, de los pastos estivales erectos, de las leguminosas estivales y de las ciperáceas en los lotes tratados con glifosato fue menor que las halladas en los lotes testigo, tanto en la posición alta como en la posición baja de la comunidad. La cobertura basal de las leguminosas invernales y de las malezas dicotiledóneas estivales e invernales fue similar entre los lotes tratados o no tratados con glifosato en ambas posiciones. La cobertura basal de los pastos estivales rastreros fue mayor en los lotes pulverizados con glifosato que en los no tratados en la posición baja, mientras que en la posición alta, la cobertura basal de ese grupo funcional fue similar en los lotes tratados y en los no tratados (Tabla 2.1).

Tabla 2.1: Cobertura basal (%) de los grupos funcionales en la posición topográfica alta y baja de la pradera húmeda de mesofitas en lotes testigo y en lotes pulverizados con glifosato en los periodos 2006/2007 y 2007/2008.

Grupo funcional	Posición topográfica alta						Posición topográfica baja								
	2006/2007		2007/2008		2006/2007		2007/2008		2006/2007		2007/2008				
	Tratamiento	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato	F	gl	P	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato	F	gl	P
Pastos anuales invernales	T	9.6	51.6	9.0	64.2	125.1	1	<0.01	13.2	30.8	8.6	43.1	7.6	1	0.1
	P	(3.2)	(10.7)	(4.5)	(4.9)	6.5	1	0.5	(3.8)	(17.3)	(4.5)	(9.7)	0.1	1	0.7
	TxP					6.7	1	0.5					0.6	1	0.5
Pastos perennes invernales	T	28.2	0.8	27.3	0.6	99.5	1	<0.01	16.8	2.0	19.6	5.0	33.9	1	<0.01
	P	(4.1)	(0.8)	(3.2)	(0.5)	6.1	1	0.7	(5.4)	(-.7)	(-.1)	(3.5)	0.5	1	0.5
	TxP					6.0	1	0.8					0.0	1	0.9
Leguminosas invernales	T	0.6	3.8	9.2	11.9	1.2	1	0.3	7.9	-.1	4.1	3.8	2.7	1	0.2
	P	(0.3)	(2.4)	(2.7)	(2.8)	19.9	1	<0.05	(2.1)	(-.1)	(2.2)	(-.4)	0.2	1	0.7
	TxP					6.0	1	0.9					6.7	1	0.1
Dicotiledóneas invernales	T	12.2	9.4	28.2	5.2	7.0	1	0.1	11.9	11.9	22.5	8.8	1.2	1	0.3
	P	(3.5)	(5.3)	(4.8)	(1.0)	2.0	1	0.2	(5.1)	(6.8)	(6.4)	(7.4)	0.3	1	0.6
	TxP					5.9	1	0.1					0.9	1	0.4
Pastos estivales erectos	T	36.7	8.9	28.1	1.0	75.3	1	<0.01	14.8	3.4	24.8	6.4	145.3	1	<0.01
	P	(2.4)	(4.0)	(6.3)	(1.0)	3.2	1	0.1	(2.8)	(-.9)	(7.4)	(0.9)	6.4	1	0.1
	TxP					6.0	1	0.9					1.9	1	0.3
Pastos estivales rastreros	T	8.8	2.8	5.0	3.1	6.6	1	0.5	13.3	42.0	6.3	18.6	27.9	1	<0.01
	P	(3.1)	(2.8)	(3.0)	(2.0)	6.6	1	0.5	(4.6)	(4.6)	(-.3)	(3.9)	15.2	1	<0.05
	TxP					6.8	1	0.1					4.1	1	0.1
Leguminosas estivales	T	14.7	1.7	4.3	0.6	80.8	1	<0.01	18.2	6.2	8.8	0.7	9.4	1	<0.05
	P	(1.4)	(1.2)	(0.5)	(0.5)	34.4	1	<0.01	(4.4)	(4.8)	(2.8)	(0.1)	3.8	1	0.1
	TxP					22.0	1	<0.01					0.3	1	0.6
Dicotiledóneas estivales	T	22.7	18.3	26.7	23.9	6.2	1	0.7	31.4	17.1	26.8	25.7	1.5	1	0.2
	P	(8.9)	(7.7)	(6.9)	(6.5)	4.4	1	0.6	(4.5)	(10.2)	(4.7)	(3.8)	0.1	1	0.7
	TxP					6.0	1	0.9					1.1	1	0.3
Ciperáceas	T	1.9	0.6	1.6	0.6	10.9	1	<0.05	13.2	30.8	8.7	43.1	7.6	1	0.1
	P	(0.3)	(0.3)	(0.2)	(0.3)	1.5	1	0.3	(3.8)	(17.4)	(4.5)	(9.7)	0.1	1	0.7
	TxP					6.7	1	0.4					0.6	1	0.5

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis. F: grados de libertad (gl) y P: resultados del análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (T: tratamiento, P: periodo, TxP: interacción entre tratamiento y periodo) en cada posición topográfica

El efecto de las diferencias en el patrón de precipitaciones registradas en cada período de medición (2006-2007 y 2007-2008, Fig. 2.1) sobre la cobertura de los grupos funcionales se refleja en el resultado del factor Período (P, medidas repetidas) y su interacción con el factor Tratamiento (TxP) (Tabla 2.1.). La mayoría de los grupos funcionales no mostraron cambios en su cobertura entre períodos (Tabla 2.1), sugiriendo que las diferencias en el patrón de precipitaciones no fueron suficientes como para afectar la contribución de la mayoría de estos grupos. Sólo las leguminosas mostraron diferencias entre los dos períodos en la posición alta. La cobertura de leguminosas invernales en la primavera del año 2007 fue superior a la de la primavera del año 2006 (Tabla 2.1), concomitantemente con las mayores precipitaciones registradas en septiembre de 2007 respecto de septiembre de 2006 (Fig. 2.1). La cobertura basal de leguminosas estivales en los lotes testigo en el verano del año 2008 fue inferior a la registrada en el verano del año 2007 (Tabla 2.1), siendo las precipitaciones en enero del año 2008 mucho menores que las ocurridas en enero del año 2007 (Fig. 2.1).

2.3.1.4. Composición florística

El ordenamiento de las especies de la posición alta y baja del gradiente topográfico demostró que la aplicación de glifosato determina una drástica diferencia en la composición florística (Fig. 2.4). En la posición alta, los dos primeros ejes del análisis de correspondencias explicaron el 55 % de la varianza total (Fig. 2.4 a). El primer eje contribuyó con el 43 % de la varianza total y refleja un cambio en la composición de la comunidad en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo. El segundo eje representó el 12 % de la varianza total y sugiere un gradiente asociado con el aumento de la proporción de *Nassella neesiana* en los lotes testigo. El procedimiento MRPP confirmó la diferencia entre el grupo de lotes pulverizados con glifosato y el grupo de los lotes testigo ($P < 0.001$), con una distancia promedio similar entre miembros de cada grupo (0.30 y 0.32 respectivamente). Al aplicar este procedimiento para evaluar si la composición florística cambió entre períodos (2006-2007 vs. 2007-2008) para cada tratamiento, no se hallaron diferencias en la composición de los lotes testigo ($P = 0.158$) ni en la de los lotes pulverizados ($P = 0.471$), sugiriendo que la variación de las precipitaciones no afectó este atributo. En la posición baja, los dos primeros ejes del análisis de correspondencia explicaron el 50 % de la varianza total (Fig. 2.4 b). El primer eje contribuyó con el 35% de la varianza total y también refleja un cambio en la composición de la comunidad en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo. El segundo eje representó el 17% de la varianza total y mostró una mayor heterogeneidad en la composición florística entre los lotes pulverizados con glifosato que entre los lotes testigo. El procedimiento MRPP confirmó la diferencia entre el grupo de lotes pulverizados con glifosato y el grupo de los lotes testigo ($P = 0.002$) y una mayor heterogeneidad de la composición florística entre los lotes tratados con glifosato, dado que la distancia media entre los miembros de este grupo fue mayor que la distancia media entre los miembros del grupo de lotes testigo (0.39 y 0.24 respectivamente) (Fig. 2.4 b). Tampoco se hallaron diferencias en la composición florística entre períodos (2006-2007 vs. 2007-2008) en los lotes testigo ($P = 0.098$) ni en los lotes pulverizados ($P = 0.121$) al aplicar el procedimiento MRPP para evaluar cambios relacionados con la variación de las precipitaciones.

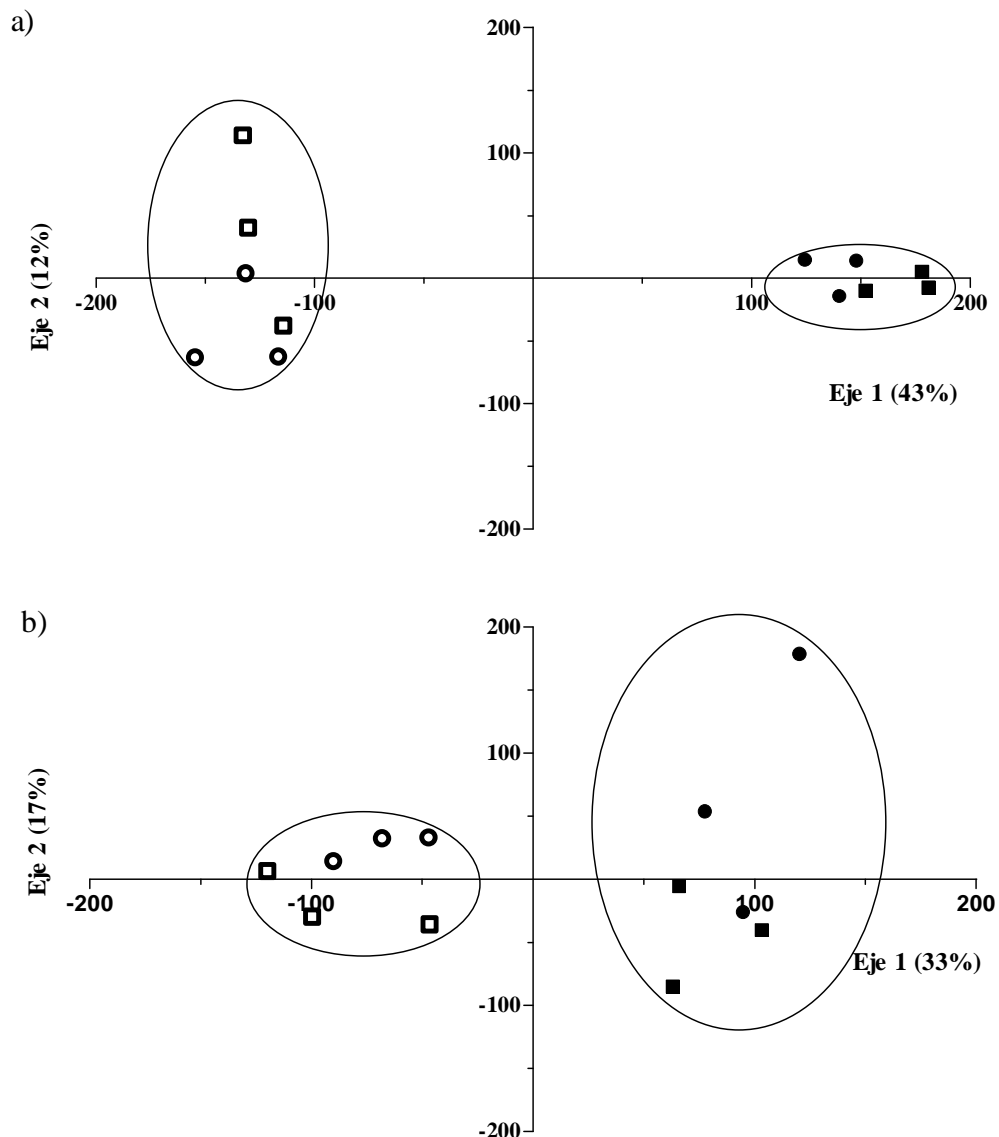


Figura 2.4. Ordenamiento (Análisis de Correspondencia) de la vegetación relevada en los lotes testigo (símbolos blancos) y en los lotes pulverizados con glifosato (símbolos negros) en la posición alta (a) y baja (b) del gradiente topográfico en los periodos 2006/2007 (círculos) y 2007/2008 (cuadrados) Las elipses representan los grupos derivados del procedimiento MRPP.

En la posición alta del gradiente, las especies responsables de las diferencias entre los lotes pulverizados con glifosato y los lotes testigo fueron identificadas a través de análisis de especies indicadoras y la prueba de Monte Carlo, siendo *Lolium multiflorum*, *Bromus catarthicus* Vahl, *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort, *Nassella neesiana*, *Paspalum dilatatum* Poir., *Bothriochloa laguroides* (DC.) Herter, *Sporobolus indicus* (L.) R. Br., *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd., *Phyla canescens* (Kunth) Greene, *Ambrosia tenuifolia* Spreng. y *Cyclosporum leptophyllum* (Pers.) Sprague (Tabla 2.2 a). La aplicación de glifosato aumentó la cobertura basal de los pastos anuales invernales *L. multiflorum* y *B. catarthicus*, de la dicotiledónea *C. leptophyllum* en tanto que redujo la cobertura basal de los pastos invernales perennes *S. arundinaceus* y *N. neesiana*, de los pastos estivales erectos *P. dilatatum*, *B. laguroides* y *S. indicus*, de la leguminosa *L. tenuis* y de las dicotiledóneas *P. canescens* y *A.*

tenuifolia (Tabla 2.2 a). En la posición baja, las especies responsables de las diferencias entre los lotes pulverizados con glifosato y los lotes testigo fueron *Schedonorus arundinaceus*, *Paspalum dilatatum*, *Glyceria multiflora* Steud, *Panicum bergii* Arechav., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Distichlis spicata* (L.) Greene, *Medicago lupulina* L., *Lotus tenuis*, *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb, *Phyla canescens* y *Oxalis articulata* Savigny (Tabla 2.2 b). La aplicación de glifosato aumentó la cobertura basal de los pastos estivales rastreros *C. dactylon* y *D. spicata*, en tanto que redujo la cobertura basal del pasto invernal perenne *S. arundinaceus*, de los pastos estivales perennes *P. dilatatum*, *G. multiflora* y *P. bergii*, de las leguminosas *M. lupulina* y *L. tenuis* y de las dicotiledóneas *A. philoxeroides*, *P. canescens* y *O. articulata*. En esta posición, *Lolium multiflorum* no fue responsable de las diferencias entre lotes pulverizados o no con glifosato, lo que sugiere que esta especie presenta una respuesta errática a la aplicación del herbicida.

Tabla 2.2: Cobertura basal (%) de las especies en la posición topográfica alta (a) y baja (b) de la pradera húmeda de mesófitas en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato.

a) Posición alta

Tratamiento	Período	2006/2007		2007/2008		VI	P	CV	O	Q
		Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato					
Pastos anuales invernales										
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.		4.7 (1.3)	37.9 (3.9)	2.0 (0.6)	45.2 (5.3)	90	<0.01	A	E	5
<i>Bromus catharticus</i> Vahl		0.8 (0.6)	11.9 (6.4)	0.5 (0.4)	10.9 (2.3)	92	<0.01	A/B	N	5
<i>Hordeum murinum</i> L.		0.5 (0.4)	2.4 (1.9)	1.1 (0.9)	1.9 (3.4)	24	0.70	A	E	2
<i>Vulpia bromoides</i> (L.) Gray		0.5 (0.4)		2.2 (1.8)		33	0.45	A	N	2
<i>Poa annua</i> L.		0.3 (0.3)		0.9 (0.7)		33	0.47	A	E	4
Pastos perennes invernales										
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.		15.2 (1.5)	0.1 (0.1)	7.5 (1.1)		99	<0.01	P	E	4
<i>Danthonia montevidensis</i> Hack. & Arechav		1.7 (0.9)				33	0.45	P	N	3
<i>Nassella neesiana</i> (Trin. & Rupr.) Barkworth		1.5 (0.3)	0.3 (0.2)	7.5 (1.1)		97	<0.01	P	N	2
<i>Briza minor</i> L.		0.5 (0.4)		0.5 (0.4)		33	0.43	P	N	3
<i>Dactylis glomerata</i> L.		0.4 (0.3)		0.8 (0.7)		33	0.46	P	E	5
<i>Polypogon elongatus</i> Kunth		0.4 (0.2)	0.3 (0.2)	0.5 (0.4)	0.4 (0.3)	29	0.78	P	N	3
<i>Piptochaetium bicolor</i> (Vahl) E. Desv.		0.3 (0.2)		1.5 (0.7)		50	0.17	P	N	2
<i>Piptochaetium montevidense</i> (Spreng.) Parodi		0.2 (0.2)		0.7 (0.3)		50	0.18	P	N	2
<i>Leersia hexandra</i> Sw.		0.1 (0.1)		0.1 (0.1)		33	0.43	P	N	4
Leguminosas invernales										
<i>Medicago lupulina</i> L.		0.3 (0.1)		2.9 (1.3)		67	0.06	A/P	E	2
<i>Trifolium repens</i> L.		0.2 (0.1)	4.0 (2.3)	3.8 (1.3)	10.8 (2.30)	61	0.26	P	E	4
Dicotiledóneas invernales										
<i>Centaurea melitensis</i> L.		1.4 (0.9)		3.2 (1.4)		67	0.07	A/B	E	0
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat		1.4 (0.9)		1.2 (1.0)		50	0.19	A/B	E	1
<i>Chevreulia acuminata</i> Less		1.3 (0.9)		0.4 (0.3)		50	0.20	P	N	0
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.		1.2 (0.9)		0.6 (0.5)		33	0.47	A	N	0
<i>Capsella bursa-pastoris</i> L. Medik.		1.1 (0.8)		2.3 (0.9)		50	0.17	A/B	E	1
<i>Anthemis cotula</i> L.		0.5 (0.4)	1.9 (1.6)	0.6 (0.5)	0.7 (0.5)	20	0.99	A	E	0
<i>Gamochaeta americana</i> (Mill.) Wedd.		0.5 (0.4)	1.4 (1.1)	2.4 (1.0)	2.7 (1.1)	32	0.86	B/P	N	0
<i>Fumaria officinalis</i> L.		0.5 (0.4)	1.4 (1.1)	0.7 (0.6)	0.3 (0.2)	18	0.99	A	E	0
<i>Stellaria media</i> (L.) Cirillo		0.4 (0.3)	2.4 (1.1)	1.1 (0.8)	0.5 (0.4)	29	0.62	A	E	0
<i>Plantago lanceolata</i> L.		0.3 (0.2)		0.6 (0.5)		33	0.46	P	E	2
<i>Plantago major</i> L.		0.3 (0.2)		2.9 (1.2)		50	0.19	P	E	2
<i>Carduus acanthoides</i> L.		0.2 (0.2)	4.5 (2.1)	2.0 (0.1)	0.6 (0.5)	29	0.90	A	E	0
<i>Taraxacum officinale</i> G. Weber ex F.H. Wigg.		0.2 (0.2)		1.2 (0.5)		50	0.17	P	E	1
<i>Dichondra microcalyx</i> (Hallier f.) Fabris		0.2 (0.2)		1.2 (1.0)		33	0.43	P	N	0
Pastos estivales erectos										
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir		21.7 (1.0)	0.5 (0.4)	13.7 (2.3)		99	<0.01	P	N	4
<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen		2.1 (0.5)	7.7 (1.7)	2.1 (0.5)	1.0 (0.8)	42	0.96	P	N	2
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter		1.8 (0.1)		2.0 (0.3)		100	<0.01	P	N	4
<i>Panicum gouinii</i> E. Fourn.		0.9 (0.8)		0.5 (0.4)		33	0.47	P	N	2
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.		0.5 (0.1)		0.5 (0.1)		100	<0.01	P	N	3
<i>Sporobolus pyramidatus</i> (Lam.) Hitchc		>0.1		0.2 (0.2)		50	0.17	P	N	3
<i>Panicum bergii</i> Arechav.		>0.1		0.7 (0.6)		33	0.43	P	N	2
Pastos estivales rastreros										
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers		4.7 (2.4)	2.3 (1.9)	1.5 (1.2)	2.3 (1.8)	34	0.53	P	E	2
<i>Paspalum distichum</i> L.		0.6 (0.5)		0.6 (0.5)		33	0.47	P	N	2
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene		0.5 (0.4)		0.3 (0.2)		33	0.47	P	N	1
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.		0.4 (0.3)	1.2 (0.9)	0.6 (0.5)	0.6 (0.5)	18	0.85	A	E	1
<i>Stenotaphrum secundatum</i> (Walter) Kuntze		0.2 (0.1)		0.2 (0.2)		33	0.43	P	E	2
Leguminosas estivales										
<i>Lotus tenuis</i> Waldst. & Kit. ex Willd.		10.8 (0.9)	2.1 (1.4)	3.1 (0.1)	0.6 (0.2)	89	<0.01	P	E	3
Dicotiledóneas invernales										
<i>Eryngium echinatum</i> Urb.		4.0 (2.4)		2.5 (1.0)		67	0.06	P	N	0
<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene		3.5 (0.9)		2.7 (1.2)		83	0.03	P	N	0
<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.		3.2 (1.5)		8.0 (3.4)		100	<0.01	P	N	0
<i>Cichorium intybus</i> L.		1.6 (0.8)		1.1 (0.8)		50	0.18	B/P	E	2
<i>Oxalis articulata</i> Savigny		1.6 (0.7)		1.1 (0.8)		50	0.18	P	N	0
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam		1.5 (0.3)	4.3 (1.8)	1.2 (1.0)		29	0.86	A	E	0
<i>Cyclosporum leptophyllum</i> (Pers.) Sprague		0.7 (0.3)	12.9 (3.2)	1.0 (0.8)	20.7 (4.8)	93	0.01	A	N	0
<i>Eryngium ebracteatum</i> Lam.		0.5 (0.4)		1.7 (1.4)		50	0.19	P	N	0
Ciperáceas										
<i>Juncus imbricatus</i> Laharpe		0.5 (0.2)		0.5 (0.2)		67	0.07	P	N	1
<i>Carex phalaroides</i> Kunth		0.5 (0.2)		0.5 (0.2)		67	0.05	P	N	1
<i>Eleocharis montevidensis</i> Kunth		0.5 (0.2)	0.6 (0.3)	0.5 (0.2)	0.6 (0.2)	33	0.99	P	N	1
<i>Cyperus rotundus</i> L.		0.5 (0.2)		0.2 (0.2)		50	0.19	P	N	1

Tabla 2.2. continuación

b) Posición baja

Tratamiento	2006/2007		2007/2008		VI	P	CV	O	Q	
	Período	Testigo	Glifosato	Testigo						Glifosato
Pastos anuales invernales										
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.		7.6 (0.9)	19.1 (10.2)	5.4 (2.9)	32.1 (6.4)	66	0.12	A	E	5
<i>Bromus molis</i> L.		1.4 (0.7)	0.8 (0.5)			13	0.99	A	N	2
<i>Bromus catharticus</i> Vahl		0.9 (0.6)			5.1 (2.5)	42	0.35	A/B	N	5
<i>Hordeum murinum</i> L.		0.2 (0.1)	0.8 (0.5)			27	0.45	A	E	2
<i>Poa annua</i> L.				1.4 (0.7)		33	0.45	A	E	4
Pastos perennes invernales										
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.	11.4 (3.6)	3.2 (1.3)	9.9 (2.9)	0.9 (0.6)		90	<0.01	P	E	4
<i>Nassella neesiana</i> (Trin. & Rupr.) Barkworth	0.6 (0.3)	0.2 (0.1)	2.8 (0.7)	1.5 (0.7)		46	0.27	P	N	2
<i>Polygonum elongatum</i> Kunth	0.5 (0.2)		1.6 (1.2)	2.1 (1.6)		26	0.84	P	N	3
<i>Briza minor</i> L.	0.2 (0.1)					33	0.44	P	N	3
<i>Dactylis glomerata</i> L.			0.4 (0.2)			17	0.99	P	E	5
<i>Piptochaetium montevidense</i> (Spreng.) Parodi			1.4 (0.7)			33	0.45	P	N	2
Leguminosas invernales										
<i>Trifolium repens</i> L.	5.1 (1.6)	0.9 (0.4)	2.5 (1.2)	3.3 (1.3)		67	0.11	P	E	4
<i>Medicago lupulina</i> L.	0.8 (0.7)		0.7 (0.4)			84	0.01	A/P	E	2
Dicotiledóneas invernales										
<i>Stellaria media</i> (L.) Cirillo	1.5 (0.8)	0.7 (0.4)	0.6 (0.4)			47	0.25	A	E	0
<i>Plantago lanceolata</i> L.	1.2 (0.8)	0.5 (0.3)	4.7 (2.5)	2.9 (2.0)		52	0.35	P	E	2
<i>Gamochaeta americana</i> (Mill.) Wedd.	1.1 (0.6)	0.4 (0.2)	0.8 (0.4)	0.3 (0.1)		47	0.22	B/P	N	0
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat	0.9 (0.5)	0.3 (0.2)	0.5 (0.2)	0.4 (0.2)		45	0.29	A/B	E	1
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.0.877 (0.539)	0.9 (0.5)	1.9 (1.2)	1.3 (0.9)	>0.1		26	0.96	A	N	0
<i>Carduus nutans</i> L.	0.6 (0.4)	0.3 (0.1)	1.8 (1.0)	0.3 (0.1)		40	0.73	A	E	0
<i>Capsella bursa-pastoris</i> L. Medik.	0.6 (0.3)	0.3 (0.1)	1.6 (1.2)	>0.1		57	0.16	A/B	E	1
<i>Plantago major</i> L.	0.5 (0.3)		0.9 (0.5)			50	0.18	P	E	2
<i>Centaurea melitensis</i> L.	0.5 (0.3)	0.7 (0.3)	1.5 (1.2)	0.3 (0.1)		33	0.67	A/B	E	0
<i>Dichondra microcalyx</i> (Hallier f.) Fabris	0.5 (0.2)	1.0 (0.7)	21.0 (0.8)	1.3 (0.8)		41	0.52	P	N	0
<i>Carduus acanthoides</i> L.	0.5 (0.2)	1.5 (0.9)	1.0 (0.3)	0.6 (0.5)		40	0.73	A	E	0
<i>Rumex crispus</i> L.	0.3 (0.1)	0.3 (0.2)	11.0 (0.7)	0.8 (0.4)		26	0.92	P	E	0
Pastos estivales perennes										
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir	6.0 (0.8)		6.5 (3.0)			100	<0.01	P	N	4
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter	0.8 (0.5)					33	0.45	P	N	4
<i>Glyceria multiflora</i> Steud.	0.6 (0.3)		1.7 (0.4)			83	0.01	P	N	4
<i>Panicum bergii</i> Arechav.	0.5 (0.3)		1.1 (0.4)			83	0.01	P	N	2
<i>Eragrotis lugens</i> Ness	0.4 (0.2)					33	0.44	P	N	2
<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguelen	0.3 (0.2)	1.4 (1.0)	2.2 (1.0)	1.6 (0.9)		47	0.50	P	N	2
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	0.2 (0.1)	1.5 (0.8)		0.7 (0.3)		42	0.30	P	N	3
<i>Sporobolus pyramidatus</i> (Lam.) Hitchc	0.2 (0.1)	0.3 (0.1)	1.2 (0.5)	2.0 (1.1)		40	0.75	P	N	3
<i>Paspalidium paludivagum</i> (Hitchc. & Chase) Parodi	>0.1		0.9 (0.5)			50	0.17	P	N	4
<i>Echinochloa helodes</i> (Hack.) Parodi				1.0 (0.5)		33	0.43	P	N	3
<i>Paspalum vaginatum</i> Sw.			1.4 (0.6)	0.4 (0.2)		25	0.45	P	N	2
Pastos estivales rastreros										
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers	4.9 (1.1)	34.5 (13.2)	1.4 (0.3)	11.2 (2.9)		85	<0.01	P	E	2
<i>Distichlis scoparia</i> (Kunth) Arechav.	1.8 (0.9)	6.7 (4.1)		2.4 (0.8)		77	0.05	P	N	1
<i>Paspalum distichum</i> L.	1.8 (1.0)		0.29 (0.12)			50	0.18	P	N	2
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	0.9 (0.7)	5.5 (2.1)	0.29 (0.12)	2.9 (0.4)		85	<0.01	P	N	1
<i>Stenotaphrum secundatum</i> (Walter) Kuntze	0.8 (0.4)		0.25 (0.12)			67	0.06	P	E	2
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.			2.80 (0.83)			50	0.18	A	E	1
Leguminosas estivales										
<i>Lotus tenuis</i> Waldst. & Kit. ex Willd.	13.9 (3.5)	5.3 (3.6)	7.4 (2.7)	0.6 (0.1)		79	0.02	P	E	3
Dicotiledóneas estivales										
<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	4.3 (1.0)		2.1 (1.1)			83	0.01	P	N	0
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb	3.8 (0.4)		2.3 (1.2)			83	0.02	P	N	0
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam	3.5 (0.9)	1.1 (0.7)	1.8 (0.8)	3.7 (0.5)		36	0.77	A	E	0
<i>Ammi majus</i> L.	2.7 (0.2)	0.8 (0.4)	3.8 (0.4)	3.5 (1.8)		62	0.15	A	E	0
<i>Eryngium paniculatum</i> Cav. & Dombey ex F. Delaroche	2.7 (0.8)	6.4 (4.5)	3.7 (0.6)	12.1 (2.8)		62	0.29	P	N	0
<i>Oxalis articulata</i> Savigny	2.3 (0.0)		5.1 (1.1)			100	<0.01	P	N	0
<i>Apium sellowianum</i> H. Wolff.	2.3 (0.5)	2.9 (1.8)	1.9 (1.1)	3.3 (2.5)		40	0.62	P	N	0
<i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.	2.0 (0.6)		1.2 (0.8)			67	0.05	P	N	0
Cyperaceas										
<i>Eleocharis montevidensis</i> Kunth	1.7 (0.8)	0.7 (0.3)	1.8 (0.5)	0.8 (0.5)		58	0.19	P	N	1
<i>Cyperus rotundus</i> L.	1.7 (0.8)		1.6 (0.7)			67	0.07	P	N	1
<i>Lilaea</i> sp.	0.8 (0.4)		1.7 (0.9)			50	0.18	P	N	1
<i>Juncus imbricatus</i> Laharpe	0.8 (0.5)		2.1 (0.7)	1.8 (0.9)		40	0.24	P	N	1

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis.

VI: valores de indicación (como porcentaje de indicación perfecta) y P resultantes del Análisis de Especies Indicadoras del test Monte Carlo. CV: Ciclo de vida de cada especie (A: anuales, B: bianuales, P: perennes), O: origen (N: nativas, E: exóticas) y Q: Valor forrajero de cada especie.

En la posición alta se observó la ausencia de 36 especies en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo, 23 de ellas son especies nativas, de las cuales 13 son pastos. En la posición baja, se registró la ausencia de 17 especies en los lotes pulverizados, siendo 16 especies nativas de las cuales 10 son pastos. La mayoría de las dicotiledóneas registradas en los lotes pulverizados con glifosato, tanto en la posición alta como en la baja, son anuales (Tabla 2.2.).

2.3.1.5. Diversidad florística

La aplicación de glifosato redujo la riqueza y la diversidad y aumentó la dominancia de la vegetación tanto en la posición alta como en la posición baja del gradiente topográfico, independientemente del período analizado (Tabla 2.3). Por lo tanto, los lotes pulverizados con glifosato presentaron una comunidad menos rica, dominada por una especie, *Lolium multiflorum*, con alta abundancia (32-45%, Tabla 2.2.) y, en consecuencia, menos diversa que la de los lotes testigo.

Tabla 2.3: Índices de diversidad para la posición topográfica alta y baja de los lotes testigo y de los lotes pulverizados con glifosato en los períodos 2006/2007 y 2007/2008.

a) Posición alta

Período	2006/2007		2007/2008		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Riqueza (S)					T	365.6	1	<0.01
	55 (2.6)	20 (2.1)	54 (1.0)	16 (1.20)	P	1.7	1	0.3
					PxT	0.5	1	0.5
Dominancia (Índice Berger-Parker, d)					T	67.7	1	<0.01
	0.22 (0.01)	0.38 (0.05)	0.14 (0.03)	0.5 (0.07)	P	0.0	1	1.0
					PxT	2.0	1	0.2
Diversidad (Índice Gini-Simpson, 1-D)					T	150.7	1	<0.01
	0.90 (0.01)	0.78 (0.03)	0.93 (0.01)	0.71 (0.04)	P	0.4	1	0.5
					PxT	3.6	1	0.1

b) Posición baja

Período	2006/2007		2007/2008		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Riqueza (S)					T	49.8	1	<0.01
	33 (0.9)	17 (5.2)	35 (1.5)	19 (1.8)	P	0.3	1	0.6
					PxT	0.0	1	1.0
Dominancia (Índice Berger-Parker, d)					T	14.4	1	<0.05
	0.17 (0.02)	0.42 (0.09)	0.123 (0.02)	0.32 (0.06)	P	1.8	1	0.2
					PxT	0.2	1	0.7
Diversidad (Índice Gini-Simpson, 1-D)					T	14.6	1	<0.05
	0.93 (0.01)	0.76 (0.12)	0.95 (0.01)	0.84 (0.07)	P	1.2	1	0.3
					PxT	0.6	1	0.5

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis. F, grados de libertad (gl) y P resultantes del análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (T: tratamiento, P: período, TxP: interacción entre tratamiento y período). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos y períodos (P<0.05) para cada índice.

2.3.2. Efecto del glifosato sobre el banco de semillas

2.3.2.1. Densidad del banco de semillas

La densidad de semillas del banco no fue afectada por la aplicación de glifosato ni varió entre los dos períodos analizados en la posición alta (TRAT: $F_1=0.005$, $P=0.94$, Período: $F_1=0.17$, $P=0.69$, TRAT x P: $F_1=0.32$, $P=0.60$) ni en la posición baja (TRAT: $F_1=2.26$, $P=0.20$, Período: $F_1=1.42$, $P=0.29$, TRAT x P: $F_1=0.03$, $P=0.87$) de la pradera húmeda de mesófitas. La densidad del banco en la posición alta resultó siete veces superior que en la posición baja (42400 ± 4121 semillas m^{-2} vs. 5760 ± 961 semillas m^{-2} respectivamente).

2.3.2.2. Composición del banco de semillas

El ordenamiento del banco de semillas mostró que la aplicación de glifosato es el principal factor que determina su composición, dado que en la posición alta del gradiente topográfico el eje 1 explicó el 59.8 % de la variación total (Fig. 2.5 a) y en la posición baja explicó el 34.8% de esta variación (Fig. 2.5 b).

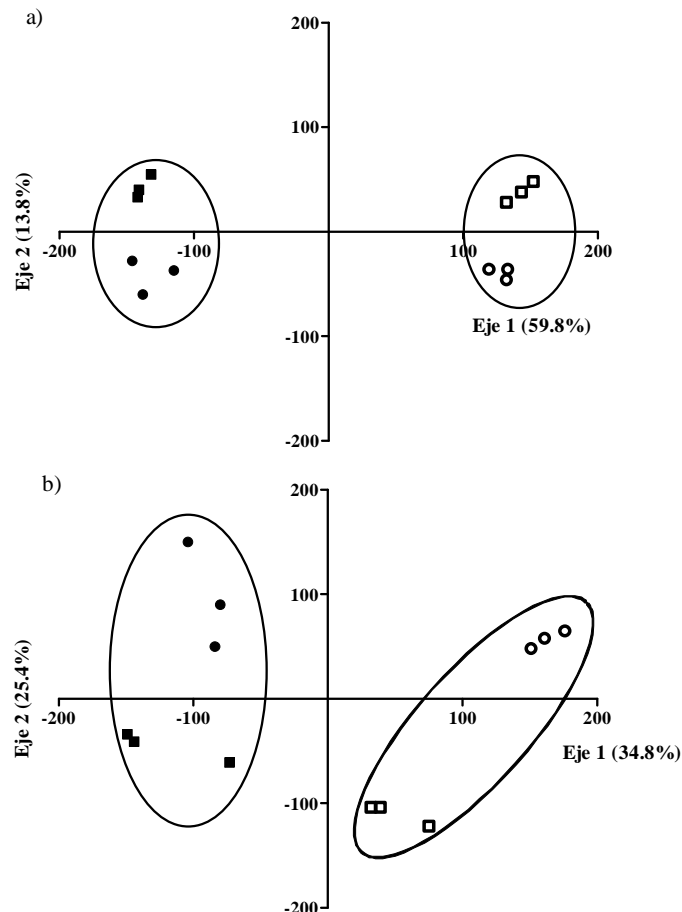


Figura 2.5. Ordenamiento (Análisis de correspondencia) de la composición del banco de semillas relevada en los lotes testigo (símbolos blancos) y en los lotes pulverizados con glifosato (símbolos negros) en la posición alta (a) y baja (b) del gradiente topográfico en los períodos 2006/2007 (círculos) y 2007/2008 (cuadrados) Las elipses representan los grupos derivados del procedimiento MRPP.

En ambas posiciones topográficas, el eje 2 distinguió diferencias interanuales en la composición del banco de semillas (Fig. 2.5). El procedimiento MRPP confirmó la diferencia en la composición del banco de semillas de la posición alta del gradiente topográfico entre el grupo de lotes pulverizados con glifosato y el grupo de los lotes testigo ($P < 0.001$), con una distancia promedio entre miembros de cada grupo de 0.20 y 0.12 respectivamente (Fig. 2.5 a). Las especies del banco de semillas responsables de las diferencias entre los lotes pulverizados con glifosato y los lotes testigo, identificadas a través de análisis de especies indicadoras y la prueba de Monte Carlo, fueron *Lolium multiflorum*, *Bromus catharticus*, *Leersia hexandra*, *Paspalum dilatatum*, *Digitaria sanguinalis*, *Cyperus rotundus*, *Juncus imbricatus*, *Lotus tenuis*, *Leontodon taraxacoides*, *Centaurea melitensis*, *Dichondra microcalys* y *Plantago lanceolata* (Tabla 2.4. a). También en la posición baja del gradiente topográfico el procedimiento MRPP confirmó la diferencia en la composición florística entre el grupo de lotes pulverizados con glifosato y el grupo de los lotes testigo ($P < 0.001$), con una distancia promedio entre miembros de cada grupo de 0.71 y 0.84 respectivamente (Fig. 2.5 b). En esta posición, las especies responsables de las diferencias en la composición florística entre los lotes testigo y los pulverizados con glifosato fueron *Lolium multiflorum*, *Bromus catharticus*, *Schedonorus arundinaceus*, *Paspalum dilatatum*, *Cyperus rotundus*, *Eleocharis montevidensis*, *Lotus tenuis*, *Leontodon taraxacoides*, *Centaurea melitensis* y *Stellaria media* (Tabla 2.4. b).

Tabla 2.4: Número promedio de semillas (semillas m⁻²) de cada especie en la posición alta (a) y baja (b) del gradiente topográfico en los lotes testigo y en los lotes pulverizados con glifosato.

a) Posición alta

Tratamiento	2007/2008		2008/2009		VI	P	CV	O
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Pastos anuales invernales								
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	1246 (214)	22116 (3933)	2255 (345)	25990 (4911)	93	>0.01	A	E
<i>Bromus catharticus</i> Vahl	184 (171)	2868 (493)	138 (99)	1467 (1106)	92	>0.01	AB	N
<i>Poa annua</i> L.			247 (117)	450 (328)	33	0.68	A	E
Pastos perennes invernales								
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.			98 (48)		50	0.18	P	E
<i>Nassella neesiana</i> (Trin. & Rupr.) Barkworth			72 (52)		50	0.18	P	N
<i>Polypogon elongatus</i> Kunth			132 (137)	73 (32)	32	0.75	P	N
<i>Leersia hexandra</i> Sw.	1246 (214)		70 (35)		100	>0.01	P	N
Pastos perennes estivales								
<i>Agrostis stolonifera</i> L.			305 (386)		50	0.18	P	E
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir	4659 (350)	159 (275)	4659 (350)	15 (26)	98	>0.01	P	N
<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	2399 (430)		1100 (377)	2011 (1592)	64	0.12	P	N
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter			962 (534)		50	0.18	P	N
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	462 (138)		2767 (913)	1340 (89)	58	0.19	P	N
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene			17 (29)		17	0.99	P	N
Pastos anuales estivales								
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.		1626 (342)	68 (76)	1626 (342)	98	>0.01	P	N
Ciperáceas								
<i>Cyperus rotundus</i> L.	6460 (1302)	383 (346)	6460 (1302)	383 (346)	86	0.01	P	N
<i>Carex</i> sp.	2538 (827)		2205 (470)		17	1.00	P	N
<i>Sisyrinchium platense</i> I.M. Johnst.	784 (276)	159 (275)	220 (286)		33	0.47	P	N
<i>Juncus imbricatus</i> Laharpe			70 (79)		100	>0.01	P	E
<i>Juncus</i> sp.			37 (64)		17	1.00	P	N
Leguminosas								
<i>Lotus tenuis</i> Waldst. & Kit. ex Willd.	5030 (1252)	383 (346)	5363 (757)	400 (319)	93	>0.01	P	N
<i>Medicago lupulina</i> L.		224 (389)	583 (1010)	224 (389)	14	1.00	P	E
Malezas dicotiledóneas								
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.		542 (490)			33	0.47	AB	E
<i>Apium sellowianum</i> H. Wolff.		383 (346)	18 (32)	18 (32)	48	0.16	AB	E
<i>Gamochaeta americana</i> (Mill.) Wedd.		635 (1100)			17	1.00	BP	N
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.		383 (346)			33	0.44	AB	E
<i>Carduus acanthoides</i> L.		317 (275)	55 (55)		29	0.56	A	E
<i>Anthemis cotula</i> L.		224 (386)			17	1.00	A	E
<i>Cichorium intybus</i> L.		159 (275)			17	1.00	AB	E
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat	1108 (784)		1441 (421)		100	>0.01	AB	E
<i>Centaurea melitensis</i> L.	784 (276)		784 (276)		100	>0.01	AB	E
<i>Taraxacum officinale</i> G. Wever ex F.H. Wigg.			55 (55)		33	0.46	P	E
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	184 (171)				33	0.46	AB	E
<i>Stellaria media</i> (L.) Cirillo	231 (238)	317 (550)	364 (134)	317 (550)	39	0.51	A	E
<i>Dichondra microcalys</i> (Hallier f.) Fabris	231 (238)		91 (31)	37 (32)	74	>0.01	P	N
<i>Fumaria officinalis</i> L.		383 (346)			33	0.47	A	E
<i>Centaurium pulchellum</i> (Sw.) Druce			92 (114)		33	0.47	A	E
<i>Mentha pulegium</i> L.			1892 (519)	3455 (1854)	33	0.67	P	E
<i>Oxalis articulata</i> Savigny			183 (176)	12 (21)	47	0.18	P	N
<i>Plantago major</i> L.	877 (546)	1018 (382)	458 (746)		46	0.48	P	E
<i>Plantago lanceolata</i> L.	3367 (873)		652 (517)		100	>0.01	P	E
<i>Veronica polita</i> Fr.			457 (168)	18 (32)	48	0.18	A	E
<i>Polygonum aviculare</i> L.			458 (168)	18 (32)	48	0.18	AB	E
<i>Portulaca oleracea</i> L.			18 (32)	18 (32)	9	1.00	A	E
<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene			303 (150)		50	0.18	P	N

b) Posición baja

Tratamiento	Período	2007/2008		2008/2009		VI	P	CV	O
		Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Pastos anuales invernales									
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.		219 (123)	3545 (1182)	156 (52)	1581 (398)	94	>0.01	A	E
<i>Bromus catharticus</i> Vahl		173 (100)	291 (33)	21 (17)	204 (153)	72	0.04	AB	N
<i>Poa annua</i> L.				37 (20)	98 (21)	38	0.52	A	E
Pastos perennes invernales									
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.		561 (101)		77 (38)		100	>0.01	P	E
<i>Nassella neesiana</i> (Trin. & Rupr.) Barkworth				11 (9)		50	0.20	P	N
<i>Polygona elongatus</i> Kunth				20 (23)	45 (57)	36	0.62	P	N
<i>Leersia hexandra</i> Sw.				469 (43)		50	0.20	P	N
Pastos perennes estivales									
<i>Agrostis stolonifera</i> L.		71 (123)		48 (63)		67	0.06	P	E
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir		29 (31)		688 (72)	21 (30)	81	0.02	P	N
<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguelen		108 (145)	39 (37)	165 (69)	422 (86)	54	0.45	P	N
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter				146 (91)		50	0.20	P	N
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.				405 (121)	190 (19)	33	0.62	P	N
<i>Paspalum distichum</i> L.		69 (119)				17	1.00	P	N
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene		46 (43)		3 (5)		50	0.17	P	N
Pastos anuales estivales									
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.				11 (12)	1196 (914)	49	0.25	A	E
Ciperáceas									
<i>Cyperus rotundus</i> L.		137 (66)		945 (139)	53 (48)	100	>0.01	P	N
<i>Eleocharis montevidensis</i> Kunth				322 (47)		95	>0.01	P	N
<i>Sisyrinchium platense</i> I.M. Johnst.		197 (90)		35 (47)		33	0.48	P	E
<i>Juncus imbricatus</i> Laharpe				11 (13)		50	0.20	P	N
<i>Juncus sp.</i>		172 (145)		6 (10)		67	0.06	P	N
Leguminosas									
<i>Lotus tenuis</i> Waldst. & Kit. ex Willd..		323 (211)	104 (150)	788 (85)	56 (44)	84	>0.01	P	N
<i>Medicago lupulina</i> L.		10 (18)	65 (27)	94 (162)	31 (54)	37	0.45	P	E
Malezas dicotiledóneas									
<i>Apium sellowianum</i> H. Wolff.		43 (11)		3 (5)	3 (5)	63	0.11	AB	E
<i>Gamochoa americana</i> (Mill.) Wedd.		93 (78)	15 (26)			43	1.00	BP	N
<i>Carduus acanthoides</i> L.		32 (55)		8 (9)		50	0.19	A	E
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat		151 (134)	23 (40)	213 (61)		92	>0.01	AB	E
<i>Centaurea melitensis</i> L.		194 (107)	46 (80)	117 (47)		84	0.01	AB	E
<i>Taraxacum officinale</i> G. Wever ex F.H. Wigg.				9 (9)		33	0.47	P	E
<i>Carduus nutans</i> L.			11 (20)			50	1.00	B	E
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.		162 (113)	34 (60)			33	0.31	AB	E
<i>Stellaria media</i> (L.) Cirillo		101 (71)		54 (21)	43 (75)	78	>0.01	A	E
<i>Dichondra microcalys</i> (Hallier f.) Fabris		307 (51)	101 (10)	14 (5)	63 (102)	64	0.22	P	N
<i>Centaureum pulchellum</i> (Sw.) Druce				14 (19)		33	0.48	A	E
<i>Mentha pulegium</i> L.				276 (62)	457 (301)	33	0.70	P	E
<i>Oxalis articulata</i> Savigny		52 (48)	39 (37)	27 (25)	2 (3)	55	0.26	P	N
<i>Plantago major</i> L.		73 (42)	39 (6)	100 (125)	147 (64)	54	0.51	P	E
<i>Plantago lanceolata</i> L.		455 (215)	183 (100)	99 (79)		73	0.07	P	E
<i>Veronica polita</i> Fr.				66 (20)	37 (64)	31	0.54	A	E
<i>Polygonum aviculare</i> L.				66 (20)		50	0.20	AB	E
<i>Rumex crispus</i> L.			11 (20)			17	1.00	P	E
<i>Portulaca oleracea</i> L.				3 (5)	3 (4)	9	1.00	A	E
<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene				44 (21)	90 (156)	15	1.00	P	N

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis. VI: valores de indicación (como porcentaje de indicación perfecta) y P resultantes del Análisis de Especies Indicadoras del test Monte Carlo. CV: Ciclo de vida de cada especie (A: anuales, B: bianuales, P: perennes), O: origen (N: nativas, E: exóticas)

2.3.2.3. Diversidad del banco de semillas

La aplicación de glifosato redujo la riqueza y la diversidad y aumentó la dominancia del banco de semillas en la posición alta del gradiente (Tabla 2.5).

Tabla 2.5. Índices de diversidad del banco de semillas para la posición topográfica alta (a) y baja (b) de los lotes testigo y de los lotes pulverizados con glifosato en los períodos 2006/2007 y 2007/2008.

a) Posición alta

Período	2007/2008		2009/2010		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Riqueza (S)	18.3 (1.5)	13.3 (2.1)	24.0 (1.0)	13.7 (0.58)	T	96.2	1	>0.01
					P	12.4	1	0.02
					T x P	9.8	1	0.03
Dominancia (Índice Berger-Parker, d)	0.16 (0.01)	0.52 (0.04)	0.15 (0.02)	0.62 (0.14)	T	99.7	1	>0.01
					P	1.4	1	0.31
					T x P	1.5	1	0.29
Diversidad (Índice Gini-Simpson, 1-D)	0.91 (0.01)	0.69 (0.03)	0.92 (0.02)	0.58 (0.14)	T	43.8	1	>0.01
					P	1.6	1	0.28
					T x P	2.2	1	0.21

b) Posición baja

Período	2007/2008		2009/2010		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Riqueza (S)	23.0 (1.0)	12.0 (2.6)	25.3 (4.9)	11.3 (1.5)	T	95.3	1	>0.01
					P	0.17	1	0.70
					T x P	0.54	1	0.50
Dominancia (Índice Berger-Parker, d)	0.15 (0.04)	0.69 (0.16)	0.15 (0.02)	0.31 (0.05)	T	33.7	1	>0.01
					P	30.2	1	>0.01
					T x P	26.3	1	>0.01
Diversidad (Índice Gini-Simpson, 1-D)	0.92 (0.01)	0.49 (0.19)	0.93 (0.01)	0.81 (0.03)	T	19.3	1	0.01
					P	11.9	1	0.03
					T x P	10.1	1	0.03

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis. F, grados de libertad (gl) y P resultantes del análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (T: tratamiento, P: período, TxP: interacción entre tratamiento y período). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos y períodos ($P < 0.05$) para cada índice.

Se registró una variación interanual en la riqueza del banco de los lotes testigo, que fue mayor en el período 2008/2009 respecto del período 2007/2008 (Tabla 2.5). En la posición baja del gradiente topográfico, la pulverización con glifosato redujo la riqueza del banco de semillas independientemente del período analizado, en tanto que aumentó la dominancia y redujo la diversidad sólo en el período 2007/2008 (Tabla 2.5).

2.3.2.4. Similitud entre el banco de semillas y la vegetación

Para establecer la relación entre la composición del banco de semillas y la vegetación, se calculó el índice de similitud de Sørensen. En la posición alta del

gradiente topográfico, la similitud entre la composición del banco de semillas y la de la vegetación fue superior en los lotes tratados con glifosato que en los no tratados, mientras que el número de especies relevadas tanto en el banco de semillas como en la vegetación fue inferior en los lotes pulverizados con glifosato que en los lotes testigo. Por lo tanto, la aplicación de glifosato aumentó la similitud entre el banco y la vegetación porque sólo unas pocas especies (4 a 5) contribuyeron con más del 40% de la cobertura aérea (Tabla 2.6). En cambio, en la posición baja del gradiente topográfico la aplicación de glifosato no afectó la similitud entre la composición del banco de semillas y la de la vegetación aunque redujo el número de especies relevadas tanto en el banco de semillas como en la vegetación (Tabla 2.6).

Tabla 2.6. Índice de similitud de Sørensen, número de especies y cobertura basal (%) de especies relevadas tanto en el banco de semillas como en la vegetación en la posición alta y baja del gradiente topográfico durante los períodos 2007/2008 y 2008/2009.

a) Posición alta

Período	2007/2008		2008/2009		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Índice de similitud de Sørensen	0.34 (0.05)	0.50 (0.06)	0.26 (0.02)	0.52 (0.13)	T	42.95	1	<0.01
					P	0.23	1	0.65
					T x P	0.82	1	0.41
Número de especies	9.67 (1.53)	5.0 (1.0)	12.66 (2.08)	4.0 (1.0)	T	40.00	1	<0.01
					P	3.00	1	0.15
					T x P	12.00	1	0.02
Cobertura basal (%) de especies	50.03 (9.31)	64.97 (9.93)	57.43 (13.33)	41.87 (19.13)	T	0.002	1	0.96
					P	0.85	1	0.40
					T x P	3.20	1	0.14

b) Posición baja

Período	2007/2008		2008/2009		F	gl	P	
	Testigo	Glifosato	Testigo	Glifosato				
Índice de similitud de Sørensen	0.33 (0.03)	0.22 (0.20)	0.25 (0.04)	0.39 (0.09)	T	0.08	1	0.78
					P	0.52	1	0.50
					T x P	2.96	1	0.16
Número de especies	14.0 (4.58)	4.0 (2.65)	17.33 (1.52)	6.33 (0.57)	T	43.14	1	<0.01
					P	3.14	1	0.15
					T x P	0.10	1	0.77
Cobertura basal (%) de especies	53.57 (7.70)	41.87 (19.13)	62.67 (5.08)	53.43 (11.30)	T	1.98	1	0.23
					P	2.59	1	0.18
					T x P	0.03	1	0.85

Los valores son las medias de los lotes y los errores estándar de las medias se muestran entre paréntesis. F, grados de libertad (gl) y P resultantes del análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (T: tratamiento, P: período, TxP: interacción entre tratamiento y período).

Para predecir en qué medida el banco de semillas de los lotes pulverizados con glifosato podría permitir la recuperación de la composición florística de la vegetación, se calculó el índice de similitud de Sørensen entre la composición del banco de semillas de los lotes pulverizados y la composición florística de la vegetación de los lotes testigo en la posición alta y baja del gradiente topográfico. El índice de similitud predicho en la

posición alta fue de 0.12 ± 0.03 y en la posición baja fue 0.16 ± 0.03 . Estas similitudes predichas resultaron muy bajas e inferiores a las estimadas, en promedio para los dos períodos, para los lotes testigo tanto en la posición alta (0.30 ± 0.05) como en la posición baja (0.29 ± 0.05) del gradiente topográfico (contraste, $P < 0.05$).

2.3.3. Efecto indirecto del glifosato: competencia entre pastos invernales perennes y anuales

La aplicación de glifosato a fin de verano sobre la vegetación de la comunidad que nunca había sido pulverizada promovió la emergencia de los pastos invernales anuales (TRAT: $F_1 = 18.88$, $P = 0.012$, MES: $F_2 = 16.69$, $P < 0.001$; MES x TRAT: $F_2 = 1.49$, $P = 0.28$) y perennes (TRAT: $F_1 = 23.41$, $P = 0.008$; MES: $F_2 = 39.45$, $P < 0.001$; MES x TRAT: $F_2 = 6.59$, $P = 0.02$), con una dinámica de emergencia de plántulas diferente para cada grupo funcional en según el tratamiento (Fig. 2.6).

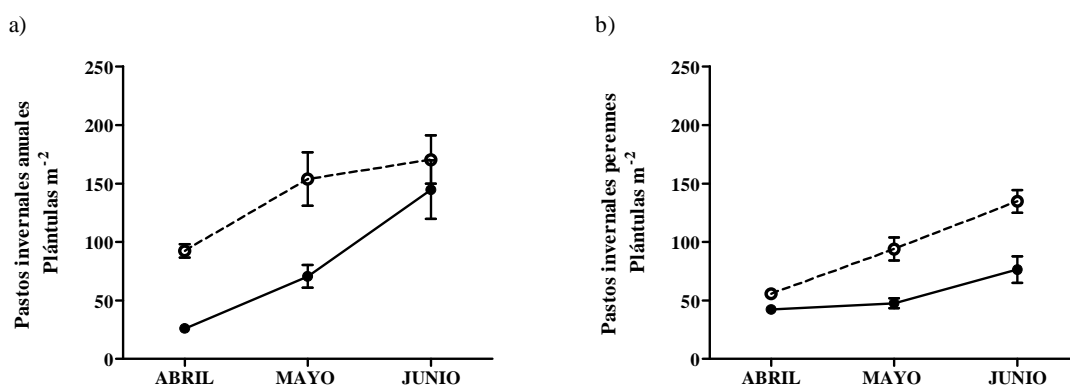


Figura 2.6. Cantidad de plántulas de pastos invernales anuales (a) y perennes (b) relevadas entre abril y junio del año 2008 luego de haber pulverizado con glifosato en marzo (líneas punteadas) o sin haber pulverizado (líneas enteras). Las barras verticales indican 1 EE de la media.

El porcentaje de emergencia final de los pastos anuales invernales fue similar entre tratamientos (Testigo: $10.12 \pm 3.02\%$ vs. Glifosato: $11.91 \pm 12.51\%$, $F_1 = 0.62$, $P = 0.47$), en tanto que el porcentaje de emergencia de los pastos perennes invernales fue superior cuando se pulverizó con glifosato respecto del tratamiento testigo ($10.8 \pm 1.37\%$ vs. $6.13 \pm 1.56\%$, $F_1 = 15.31$, $P = 0.017$).

La cantidad de plantas establecidas en septiembre dependió de la cantidad relativa de plantas de cada grupo funcional impuesta en junio (Anuales: $F_4 = 48.70$, $P < 0.001$; Perennes: $F_4 = 90.84$, $P < 0.001$). A medida que se incrementó la cantidad de plantas de pastos anuales impuesta en junio, la cantidad de plantas de pastos perennes registrados en septiembre disminuyó respecto de la cantidad de plantas establecidas inicialmente (Fig. 2.7 a). Cuando la densidad inicial de pastos anuales fue igual o superior a 75 plantas m^{-2} se alcanzó un límite máximo en la cantidad de plantas de este grupo funcional y se redujo la densidad de plantas pastos perennes entre un 40 a 60%. En consecuencia, la cantidad total de plantas de pastos invernales fue menor cuando la densidad inicial de pastos anuales fue máxima que cuando fue mínima ($F_4 = 5.85$, $P < 0.01$) (Fig. 2.7 a). La fuerte relación negativa entre la cantidad de plantas de pastos anuales y perennes establecidos en septiembre ($a = 140.8$, $b = -1.67$, $r^2 = 0.92$, $F_1 = 162.3$, $P < 0.0001$) difirió significativamente ($F_1 = 7.13$, $P = 0.016$) de la relación entre la cantidad de plantas de pastos anuales y perennes impuesta en junio, que representa la relación

esperada si no hubiera habido competencia en el período junio-septiembre ($a=150$, $b=-1$) (Fig. 2.7 b). Siendo la pendiente de la relación entre los datos observados de mayor magnitud que la de los esperados, se corrobora que a mayores valores iniciales de plantas de pastos anuales ocurrió una disminución más que proporcional de los pastos perennes (Fig. 2.7 b).

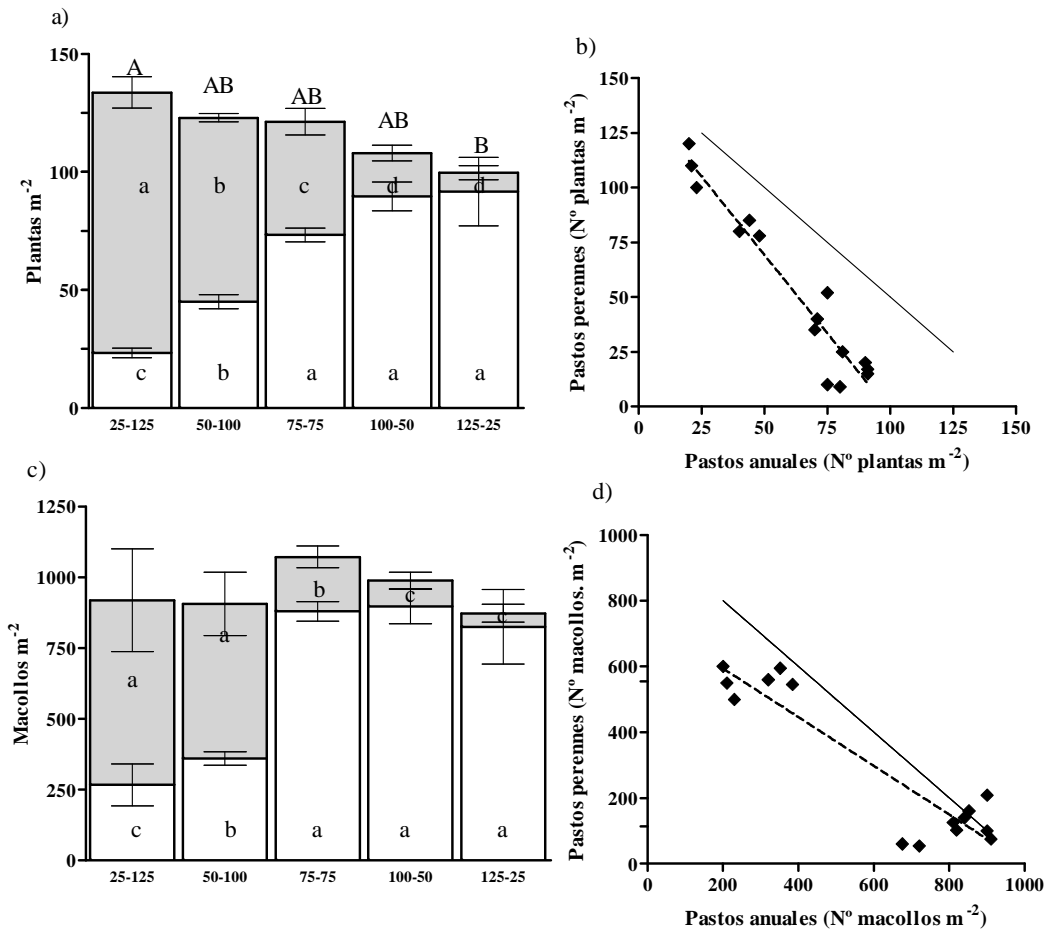


Figura 2.7. Cantidad de plantas (a) y de macollos (c) de gramíneas invernales anuales (barras blancas) y de gramíneas invernales perennes (barras grises) establecidas a fin de septiembre bajo los cinco tratamientos de competencia generados en junio variando la cantidad de plantas m⁻² de cada grupo funcional: 25-125, 50-100, 75-75, 100-50 y 125-25 plantas m⁻² de gramíneas invernales anuales y de gramíneas invernales perennes respectivamente. Letras minúsculas distintas indican diferencias entre las medias del mismo grupo funcional ($P < 0.05$) y letras mayúsculas indican diferencias entre plantas totales o macollos totales. Las barras verticales indican 1 EE de la media. Relación entre la cantidad de plantas (b) y de macollos (d) de gramíneas invernales anuales y de gramíneas invernales perennes establecidas a fin de septiembre (rombos negros, línea punteada) y relación 1:1 (línea entera).

La cantidad de macollos de pastos anuales y perennes también dependió de la cantidad relativa de plantas de cada grupo funcional impuesta en junio (Anuales: $F_4=65.05$, $P < 0.001$; Perennes: $F=129.89$, $P < 0.001$). La cantidad de macollos de pastos anuales relevados en septiembre aumentó a medida que la cantidad inicial de plantas de este grupo funcional se incrementó de 25 a 75, y alcanzó un máximo que se mantuvo constante aunque la cantidad inicial de plantas se incrementó de 75 a 125 (Fig. 2.7 c). La cantidad de macollos de pastos perennes fue máxima cuando cantidad inicial de

plantas de este grupo fue igual o superior a 100, y disminuyó drásticamente cuando la cantidad de plantas iniciales de este grupo fue inferior a 100, concomitantemente con densidades iniciales de pastos anuales iguales o superiores a 75 (Fig. 2.7 c). Cuando la cantidad inicial de plantas de ambos grupos funcionales fue igual (75-75), la contribución relativa de macollos de los pastos anuales fue del 82.5% y la de los pastos perennes del 17.5%. La cantidad total de macollos fue similar independientemente de la densidad inicial de plantas ($F=1.9$, $P=0.17$) (Fig. 2.7 c). La relación entre la cantidad de macollos de pastos anuales y perennes también resultó fuertemente negativa ($a=742$, $b=-0.74$, $r^2=0.85$, $F_1=74.5$, $P<0.0001$) aunque no difirió significativamente de la relación 1:1 ($F_1=2.42$, $P=0.14$) (Fig. 2.7 d).

2.4. DISCUSIÓN

Tal como planteé en la hipótesis 1, la estructura de la vegetación y del banco de semillas fue drásticamente afectada por la aplicación de glifosato, en tanto que la posición topográfica y la variación interanual de las precipitaciones entre los dos períodos sucesivos tuvieron un efecto menos relevante. La pulverización recurrente de glifosato a fin de verano produjo un drástico cambio de la composición florística aumentando la contribución relativa de los pastos anuales invernales, representado principalmente por *Lolium multiflorum* y disminuyendo la de los pastos perennes tanto invernales como estivales así como la de las leguminosas estivales, asimismo redujo la riqueza y la diversidad de especies en la vegetación y el banco de semillas y disminuyó la cobertura y la calidad forrajera estival de la pradera húmeda de mesófitas de la Pampa Deprimida. También demostré, según lo propuesto en la hipótesis 2, que la similitud entre la vegetación y el banco de semillas resultó mayor en los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato que en la de los pastizales no pulverizados. Finalmente, tal como planteé en la hipótesis 3, la aplicación recurrente de glifosato provocó indirectamente la disminución de la contribución relativa de los pastos invernales perennes al aumentar dramáticamente la población de pastos anuales invernales que ejercen una intensa competencia durante la implantación de ese grupo funcional.

2.4.1. Efectos directos e indirectos del glifosato sobre la composición florística de la vegetación y del banco de semillas

La estructura de la comunidad vegetal fue afectada por el glifosato a través de efectos directos e indirectos, es decir aquellos mediados por los cambios que provoca un disturbio sobre la composición florística de la comunidad (Golluscio et al. 2009). Los efectos directos variarán de acuerdo con la tolerancia de las especies y la actividad fisiológica de la plantas al momento de aplicación (ver Cap. III). Los efectos indirectos pueden producirse cuando los grupos funcionales tolerantes o que evaden la aplicación del herbicida, quedan en condiciones ventajosas para competir con los grupos funcionales sensibles, que pueden estar aún más comprometidos si están sometidos a pastoreo.

La pulverización con glifosato aumentó la cobertura basal de los pastos anuales invernales, principalmente de *Lolium multiflorum*, como una respuesta indirecta ya que el herbicida eliminó la vegetación existente a fines de verano (efecto directo) lo cual, a su vez promovió la germinación de semillas y la instalación de plántulas durante el otoño. Tal como se demostró cuando la cobertura aérea fue eliminada mediante pastoreo intenso o cortes mecánicos, al aumentar la relación rojo/rojo lejano de la luz que llega a la superficie del suelo se promueve la germinación de *Lolium multiflorum* (Deregibus et

al. 1994; Rodríguez et al. 1998) y se restringe la competencia favoreciendo el establecimiento de las plántulas y el crecimiento de las plantas de esta especie (Jacobo et al. 2000). Estas condiciones favorables para el establecimiento y la alta tasa de crecimiento inicial, superior a la de la mayoría de los pastos invernales perennes de la comunidad (Lemaire y Agnusdei 2000) explican su dominancia y la fuerte competencia que ejerce sobre otros grupos funcionales. Otro efecto indirecto es causado por la competencia que *Lolium multiflorum* ejerce sobre los pastos invernales perennes, que también germinan y rebrotan en otoño, provocando una drástica reducción de la contribución de este grupo funcional, que, como se demostró en este mismo capítulo. En este sentido, se corroboró que a mayor densidad inicial de plantas de pastos anuales ocurrió una disminución más que proporcional de la densidad de plantas y de macollos de pastos perennes, dando cuenta de la competencia asimétrica entre ambos grupos funcionales (Freckleton y Watkinson 2001). Cuando la densidad inicial de plantas de pastos anuales fue igual o mayor a la de pastos perennes habría ocurrido una fuerte competencia intra-específica que impuso un límite máximo a la cantidad de plantas y macollos de este grupo funcional, como así también una intensa competencia inter-específica que redujo la densidad de plantas y macollos de los pastos perennes. Sin embargo, la densidad total de macollos fue similar como consecuencia de la capacidad de compensación mediante el macollaje que manifiestan los principales componentes de ambos grupos funcionales, *Lolium multiflorum* y *Schedonorus arundinaceus* (Lemaire y Chapman 1996, Lemaire y Agnusdei, 2000). Dado que el ciclo completo de *Lolium multiflorum* y el de otros pastos anuales invernales como *Bromus catharticus* no es interrumpido por la aplicación de glifosato, logran producir una gran cantidad de semillas que a fin de primavera maduran e incrementan progresivamente el banco del suelo, generando una retroalimentación positiva que conduce a la alta dominancia observada en la vegetación y en el banco de semillas. Esta especie es altamente competitiva y predomina aún en estadios avanzados de la sucesión secundaria del pastizal (Tognetti et al. 2010) como así también cuando es sembrada en inter-cultivos o en pasturas consociadas con otras forrajeras, en particular con pastos perennes que, aún tratándose de variedades mejoradas de alta productividad, son desplazadas competitivamente por esta especie (McKell y Duncan 1969, Hashem et al. 1998, Kemp y King 2001). Estas características se magnifican cuando se aplica recurrentemente glifosato a fin de verano.

Al momento de aplicación del glifosato, los pastos estivales perennes y las leguminosas estivales están creciendo más activamente que otros grupos funcionales invernales, por lo que se verían afectados directamente y en mayor medida porque la tasa de translocación de este herbicida sistémico dentro de la planta es mayor a mayor tasa de crecimiento (Tworkoski y Sterrett 1987). Estos grupos funcionales estivales pueden ser también afectados indirectamente por la competencia de las gramíneas anuales invernales (Jacobo et al. 2000, 2006). Además, la mayoría de las gramíneas perennes, tanto invernales como estivales, tienen menor producción de semillas que las especies anuales (Bogdan 1991, Bewley y Black 1994, Campbell 1999, Ferrari y López 2000), por lo cual la recuperación de la población podría retrasarse luego de la suspensión de la práctica. En especial *Paspalum dilatatum*, el componente principal de los pastos perennes estivales erectos, es extremadamente sensible al glifosato (Manuja et al. 2005) y es altamente preferido por el ganado (Lemcoff et al. 1978). La combinación de varios años de aplicación del herbicida con el pastoreo selectivo y la baja producción de semillas puede explicar la gran reducción de su población de plantas y de semillas en el banco. En el caso de las especies cuya principal estrategia de regeneración es vegetativa mediante el macollaje, como los pastos perennes *Leersia*

hexandra, *Schedonorus arundinaceus* y *Paspalum dilatatum*, o mediante el rebrote de yemas y órganos de reserva subterráneos como las ciperáceas *Cyperus rotundus* y *Eleocharis montevidensis*, la aplicación recurrente de glifosato puede reducir indirectamente la producción de semillas mediante la disminución de su capacidad de regeneración vegetativa (Latzel et al. 2008; Webster et al. 2008; Reddy y Bryson 2009). Entre los pastos estivales, sólo una especie anual, *Digitaria sanguinalis*, aumentó su contribución en el banco debido a que dispersa sus semillas antes de la pulverización con glifosato, convirtiéndose en una especie invasora tanto en pastizales como en cultivos de soja transgénica resistente al glifosato (Vitta et al. 2004; Scursoni y Satorre 2010). En el caso de las leguminosas estivales, *Lotus tenuis* tiene una muy alta capacidad de producción de semillas (Montes 1988), pero la aplicación de glifosato ocurre durante el período de semillazón, reduciendo en forma directa su contribución al banco. La cobertura basal de las leguminosas invernales, cuyo principal representante fue *Trifolium repens*, resultó similar en lotes tratados y no tratados con glifosato, probablemente debido a que presentó muy baja tasa de crecimiento a fin de verano, lo que es habitual dada su alta susceptibilidad al déficit hídrico (Scheneiter 2001). La cobertura de los pastos estivales rastreros tampoco fue afectada por la aplicación de glifosato. Esta respuesta puede ser explicada tanto por efectos directos como indirectos: el principal componentes de este grupo, *Cynodon dactylon*, es tolerante al glifosato (Bedmar 1992, Dinelli 2000, Mau Crimmins 2007), no está sometido a la competencia de los pastos estivales erectos que fueron severamente afectados por la pulverización, y es capaz de evadir el pastoreo.

La cobertura basal total mostró un patrón estacional, registrando valores menores en verano respecto de primavera y de fin de verano en ambas posiciones topográficas, tanto en los lotes testigo como en los lotes pulverizados. Sin embargo, la magnitud de la disminución de la cobertura basal total fue muy superior en los lotes pulverizados, reduciéndose en verano al 22% en la posición alta y al 42% en la posición baja. Como consecuencia, el porcentaje de suelo desnudo en verano alcanzó valores del 78 y 58% respectivamente en la posición alta y baja de la comunidad. Es probable que la disminución de la cobertura basal total en verano se relacione con el déficit hídrico estival, que es habitual en esta región (Soriano et al. 1991). Pero además de este factor, en los lotes sometidos a la aplicación recurrente de glifosato, la dramática disminución de la cobertura de los los pastos estivales erectos explicarían la mayor magnitud de la reducción de la cobertura basal total respecto de los lotes testigo.

La riqueza y diversidad florística de la vegetación y del banco de semillas fue inferior y la dominancia fue mayor en los lotes tratados con glifosato, lo que resultó en una comunidad y un banco de semillas menos ricos y diversos, dominados por *L. multiflorum*, que logró una cobertura basal del 40-50 % y una contribución al banco de semillas del 50-60% en la posición alta y del 30 al 60% en la posición baja. El número de especies nativas registradas en los lotes testigo en la posición alta y baja del gradiente topográfico fue de 32 y 33 respectivamente, mientras que en los lotes pulverizados con glifosato sólo se hallaron 8 y 17 especies nativas respectivamente. En los lotes pulverizados, más de la mitad de las especies nativas no registradas eran pastos y casi todas las dicotiledóneas no registradas eran perennes. Esta respuesta sugiere que algunas dicotiledóneas perennes fueron dañadas directamente por el glifosato, lo que permitió un aumento de la cobertura basal de especies anuales. Se encontró un patrón similar en el cambio florístico de la comunidad de malezas de los cultivos en siembra directa de soja resistente al glifosato, caracterizada por la disminución de la diversidad florística y una mayor proporción de especies anuales (de la Fuente et al. 2006). La aplicación de glifosato provocó la extinción local de semillas de varias especies: 16

especies en la posición alta (cuatro pastos perennes nativos, dos pastos perennes exóticos, tres ciperáceas perennes nativas y seis latifoliadas exóticas) y 12 especies en la posición baja (cinco pastos perennes nativos, tres ciperáceas perennes nativas y cuatro latifoliadas exóticas). El dramático incremento de diez veces de la densidad de semillas de *Lolium multiflorum* y la disminución de la densidad de semillas de casi todas las restantes especies explica el aumento de la dominancia en la comunidad. Cuando la dominancia es alta y la riqueza es baja, la conservación de la diversidad de comunidades vegetales se pone en riesgo (Fisher et al. 2009). Por lo tanto, la aplicación recurrente de glifosato debe considerarse como un disturbio severo responsable de la pérdida de riqueza y diversidad de la vegetación y del banco de semillas, comparable con el sobrepastoreo, la deforestación, el fuego o las labranzas (Freemark y Boutin 1995; Kalamees y Zobel 1998; Feng-Rui et al. 2009; Kassahun et al. 2009).

La posición en el gradiente topográfico, que expresó la diferente calidad de cada sitio, fue el factor que determinó diferencias en la densidad total de semillas y que afectó la magnitud del efecto de la aplicación de glifosato sobre la cobertura relativa de algunos grupos funcionales o especies. Mientras que la aplicación de glifosato no tuvo efecto sobre la densidad total de semillas del banco porque la disminución de la cantidad de semillas de los grupos funcionales dañados por el herbicida fue compensada por el aumento de la cantidad de semillas de *Lolium multiflorum*, la densidad de semillas en la posición baja resultó diez veces menor que en la posición alta. En el caso de la cobertura basal de los pastos anuales invernales, siendo similar en los lotes testigo en la posición alta y baja del gradiente (alrededor del 10%), la aplicación de glifosato incrementó su cobertura en mayor medida en la posición alta que en la posición baja del gradiente. Ambas respuestas, la menor densidad total de semillas y la menor magnitud del efecto de la aplicación del glifosato sobre la cobertura basal de los pastos anuales invernales en la posición baja del gradiente pueden atribuirse a las características edáficas y topografía: un horizonte A₁ menos profundo (> 12 cm de profundidad) con un contenido de materia orgánica inferior y menor capacidad de retención de agua que en la posición alta del gradiente (Batista et al. 2005), que determinan una menor calidad del sitio en la posición baja respecto de la posición alta. Estas condiciones son más restrictivas para el crecimiento de la mayoría de las especies y, por lo tanto, limitan su capacidad de producir semillas y reponer el banco, coincidiendo con varios estudios conducidos en diferentes ecosistemas que también encontraron una relación positiva entre las condiciones ambientales y la densidad del banco de semillas (Osem et al. 2006; Feng-Rui et al. 2009; Kassahun et al. 2009). Esta limitación para el crecimiento de *Lolium multiflorum* en la posición baja del gradiente conducirían a resultados más erráticos en su reinstalación cuando se aplica glifosato como así también a una competencia más débil, explicando la mayor cobertura basal de los pastos estivales rastreros. Esta respuesta errática a la práctica puede estar también asociada a la mayor heterogeneidad de la composición florística en la posición baja de los lotes.

La variación interanual de las precipitaciones tuvo poca participación en la respuesta de los grupos funcionales y de la composición de las especies, a pesar de la diferencia registrada en los patrones de precipitaciones de los períodos experimentales. Sin embargo, en los pastizales de América del Norte, Fuhlendorf et al. (2009) encontró que la variación en la cobertura de dicotiledóneas y pastos se explicó mejor por la variación interanual de las precipitaciones que por el efecto de la mezcla de herbicidas aplicada 2,4 – D y Picloram. Sólo la cobertura de las leguminosas en la posición alta varió entre años, en forma directa a la precipitación registrada en el mes anterior a la fecha de relevamiento, poniendo en evidencia que tanto *Trifolium repens* como *Lotus tenuis* son altamente dependientes de la disponibilidad hídrica (Scheneiter 2001,

Vignolio y Fernández 2006). Respecto del banco de semillas, la variación interanual afectó la diversidad y dominancia en la posición baja del gradiente. Esta respuesta puede atribuirse a la sequía registrada en otoño y primavera del año 2008, que pudo haber reducido el macollaje, la floración y la producción de semillas de *L. multiflorum*. Este efecto resultó evidente sólo en la posición baja del gradiente probablemente debido a la menor capacidad de retención hídrica del suelo por ser más somero, arcilloso y con menor contenido de materia orgánica (Batista et al. 2005), determinando un déficit hídrico más severo que en la posición alta.

2.4.2. Relación entre la composición del banco de semillas y de la vegetación

La similitud entre la composición del banco de semillas y de la vegetación permitió determinar en qué medida el banco de semillas determina la composición de la vegetación en los pastizales sometidos a la aplicación de glifosato. El mayor índice de similitud en los lotes tratados con glifosato respecto de los lotes testigo (50 a 30% respectivamente) se relacionó con el incremento de la dominancia de *Lolium multiflorum* y sustenta la idea de que la similitud entre el banco de semillas y la vegetación es mayor en pastizales frecuentemente disturbados, que se encuentran en estadios sucesionales tempranos, en comparación con pastizales poco disturbados, propios de estadios sucesionales tardíos (Thompson y Grime 1979; Kalamees y Zobel 1998; Wagner et al. 2003). Muchos ecosistemas dominados originalmente por pastos perennes nativos han sufrido invasiones de pastos anuales exóticos, provocando abruptos cambios en la composición de la vegetación (Dyer y Rice 1999; Hamilton et al. 1999; Crall et al. 2006; DeFalco et al. 2007; Davies 2011; McGlone et al. 2012). En general, las invasiones de especies exóticas son facilitadas por la ocurrencia de disturbios como el pastoreo, el fuego o las labranzas (Crawley 1987; Hobbs 1989; Hobbs y Huenneke 1992; Burke y Grime 1996) y estos disturbios deben ser de cierta intensidad, frecuencia y escala (Corbin y D'Antonio 2004). En coincidencia con estas afirmaciones, mis resultados sugieren que la alta dominancia de *Lolium multiflorum* se mantiene por el disturbio intenso y frecuente que implica la aplicación recurrente de glifosato y que el banco de semillas de los lotes testigo podrían ser el repositorio de las especies que aparecen luego del disturbio en los pastizales de la Pampa Deprimida.

Al relacionar el banco de semillas de los lotes tratados con glifosato con la vegetación de los lotes testigo para predecir si la composición del banco de semillas de los lotes tratados tiene el potencial para restaurar la composición de la vegetación original, obtuve un índice de similitud muy bajo (17%). Desde la perspectiva de la restauración, el principal papel del banco de semillas es proveer los propágulos de las especies clave que dominaban la comunidad no disturbada (Honnay et al. 2002). Luego de la aplicación de glifosato, las semillas de las especies clave en este pastizal, los pastos perennes nativos, están ausentes o en una proporción extremadamente baja en el banco. Por lo tanto el banco de semillas jugaría un papel irrelevante en la recuperación de la vegetación. Entonces la restauración de la composición florística del pastizal dependerá principalmente de la dispersión de los propágulos desde áreas adyacentes no disturbadas, a través de vectores como el ganado, los mamíferos silvestres, aves, insectos o viento (Fenner y Thompson 2005). La potencial dispersión de las especies clave dependen también de la propia habilidad de cada especie para dispersarse, de la distancia entre la fuente de propágulos y el sitio a restaurar y de la presencia de vectores a escala de paisaje (Donath et al. 2003). Si los propágulos no llegan al sitio, se iniciaría una sucesión secundaria luego de la aplicación de glifosato que conduciría a una composición de la vegetación muy diferente a la de la comunidad original.

2.4.3. Implicancias para los procesos del ecosistema

Mis resultados sugieren que esta práctica puede tener impacto en otros procesos del ecosistema. La cobertura basal total en verano fue inferior en los lotes pulverizados, es decir que la proporción de suelo desnudo fue mayor. El suelo desnudo en verano, cuando es habitual la ocurrencia de déficit hídricos, promueve la salinización del suelo debido al ascenso capilar de las sales solubles del horizonte B (Lavado y Taboada 1985, 1987). Este proceso puede ser más intenso en la posición baja del gradiente debido a la menor profundidad del horizonte superficial. La mayor cobertura basal de *Distichlis spicata*, un pasto adaptado a ambientes salinos (Batista et al. 2005), en los lotes pulverizados con glifosato apoya esta idea. El pisoteo del ganado, sobre todo en el suelo desnudo, afecta negativamente la estructura del suelo a través del aumento de la densidad aparente, causando una reducción de la infiltración del agua (Taboada et al. 1999). Además, la menor cobertura vegetal en verano podría determinar pérdidas de agua por evaporación (Lavado y Taboada 1987), afectando la circulación del agua. El funcionamiento del ecosistema también puede ser alterado teniendo en cuenta que el cambio en la composición florística determinaría un cambio concomitante en el patrón estacional de la productividad, pudiendo esperarse una productividad mayor en invierno y primavera pero mucho más baja en verano (ver Cap. IV).

La pérdida de riqueza y diversidad de la vegetación y del banco de semillas mediada por la aplicación recurrente de glifosato puede alterar las poblaciones de otros niveles tróficos como los microorganismos del suelo, insectos, artrópodos y vertebrados (Freemark y Boutin 1995). En un estudio reciente bajo condiciones similares a las de estos experimentos, Druille et al. (2013 a) hallaron una drástica disminución de la viabilidad de las esporas de hongos micorrízicos arbusculares y de su capacidad de colonización de raíces en pastizales pulverizados con glifosato respecto de los no tratados. En consecuencia, la aplicación de glifosato afectó negativamente la funcionalidad de la simbiosis y, por lo tanto, el acceso a nutrientes poco móviles en el suelo, y eventualmente la tolerancia a las sequías y la resistencia a patógenos por parte de las plantas (Augé 2001; Smith and Read 2008). A su vez, la disminución de diversidad florística por efecto del glifosato podría reducir la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares y vice-versa, lo que podría afectar la productividad del ecosistema (van der Heijden et al. 1998, Druille et al. 2013 b).

Por otra parte, existe un amplio consenso en la ciencia ecológica en que a medida que disminuye la diversidad funcional o florística se incrementa la vulnerabilidad de la comunidad a cualquier estrés o disturbio (sequías, inundaciones, plagas) y a la invasión de especies exóticas (Grime 1998), reduciendo la productividad y la eficiencia en el uso de los recursos del ecosistema (Zavaleta y Hulvey 2007).

2.4.4. Implicancias para la producción ganadera

Los resultados obtenidos también tienen importantes implicancias para la producción ganadera. La mayor contribución de *Lolium multiflorum* en primavera explica la mayor calidad del forraje de la comunidad en esta estación. Sin embargo, estos lotes presentaron menor cobertura vegetal y calidad forrajera en verano debido principalmente a la menor contribución de gramíneas cespitosas estivales. Las especies de este grupo funcional que determinaron las diferencias entre lotes tratados con glifosato y lotes testigo eran nativos perennes: *Paspalum dilatatum*, *Bothriochloa laguroides*, *Sporobolus indicus*, *Glyceria multiflora* y *Panicum bergii* que son la principal fuente de forraje en verano y otoño (Deregibus et al. 1995), en especial los

componentes mayoritarios *Paspalum dilatatum* y *Bothriochloa laguroides* que tienen una alta calidad forrajera (Cahuepe et al 1985, Jacobo et al. 2006). La reducción de la contribución relativa de *Lotus tenuis* en los lotes pulverizados con glifosato contribuyó a disminuir la calidad del forraje en verano, teniendo en cuenta que este grupo proporciona un contenido de proteína que mejora la calidad de la alimentación para el ganado. Si bien es mayor la oferta en cantidad y calidad de forraje obtenida en el invierno y primavera, esta oferta es altamente dependiente de la ocurrencia de lluvias en otoño, que es muy variable en la región, para asegurar la germinación y el establecimiento de *Lolium multiflorum*. Esta situación encierra un alto riesgo para la producción de forraje invernal, que es uno de los procesos determinantes de la eficiencia productiva en sistemas de cría en esta región (Deregibus et al. 1995). Además, la mayor oferta forrajera en invierno y primavera es contrarrestada por la reducción en el verano, lo que puede explicar la tendencia a aumentar la superficie del suelo cultivado con verdeos de verano en los últimos años en la región pampeana (Spara et al. 2007, Martín y Cechetti 2010). Existen otras prácticas para incrementar la producción de forraje invernal en esta región que han demostrado ser ecológica y económicamente sustentables, tales como el pastoreo controlado, que promueve el establecimiento temprano de pastos invernales anuales y perennes (Jacobo et al. 2000, 2006) o la fertilización fosforada que aumenta la productividad de pastos C₃ y de leguminosas (Rodríguez et al. 2007). Ambas alternativas reducen la variabilidad estacional de la producción de la comunidad aumentando la producción de forraje de invierno, y si bien modifican la proporción relativa de los grupos funcionales mediante cambios en las relaciones de competencia, no conllevarían a extinciones locales de especies como en el caso de la aplicación recurrente de glifosato. El pastoreo controlado además aumenta la proporción de especies de alto valor forrajero, mantiene una alta diversidad florística e incrementa la receptividad del sistema, permitiendo aumentar la capacidad de carga de 0.6 a 1.0 equivalente vaca ha⁻¹ (Jacobo et al. 2006).

CAPÍTULO III

EFFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA Y LA EMERGENCIA Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS

3.1. INTRODUCCIÓN

El glifosato ($\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-PO}_3\text{H}_2$) es un herbicida sistémico de amplio espectro. Es absorbido en forma activa a través de la cutícula de las hojas, con la intervención de un transportador fosfatado ubicado en las membranas celulares, que transporta a la molécula del herbicida hacia el interior de las células (Denis and Deiot 1993). Se transloca de célula a célula principalmente por el floema hasta alcanzar el blanco bioquímico más relevante: la enzima 5-enol-piruvil-shikimato 3-fosfato sintetasa (EPSP), ubicada principalmente en los cloroplastos. Existen dos pools de EPSP sintetasa: las hojas -órganos fuente donde se sintetizan en mayor medida los aminoácidos aromáticos-, los meristemas apicales y radicales, las hojas muy jóvenes y, en los pastos, los coleoptiles, que son los órganos destino. El glifosato inhibe la EPSP sintetasa, impidiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos y disminuye la producción de metabolitos del ciclo del carbono en la fase oscura de la fotosíntesis (Geiger et al. 1999). Esta alteración del metabolismo del carbono en las hojas inhibe la fotosíntesis, la acumulación de almidón y la exportación de carbono desde las hojas fuente (Shaner 2009), provocando la aparición de síntomas de toxicidad en las plantas pocas horas después de la aplicación del herbicida. Si bien el principal blanco de acción del glifosato es la inhibición de la EPSP sintetasa, provocando la reducción de la fotosíntesis, también afecta otros procesos físico-químicos y fisiológicos: promueve la degradación de la clorofila, inhibe el transporte de auxinas y aumenta su oxidación (Baylis, 2000, Blackburn and Boutin, 2003).

Las especies difieren en su susceptibilidad al glifosato debido a diferencias morfo-fisiológicas en la retención, absorción y traslocación del herbicida (Boutin et al. 2004), aunque existe un amplio rango de niveles de sensibilidad entre especies del mismo género y entre biotipos de una misma especie (Westwood et al. 1997, Baylis 2000) y dicha sensibilidad varía a lo largo del desarrollo de la planta (Pline et al. 2002). Por ser un proceso de transporte activo, las condiciones ambientales que deprimen la actividad metabólica de las plantas afectan en forma directa la absorción del glifosato, tales como el stress hídrico y las temperaturas subóptimas o excesivamente altas (Price 1983), encontrándose una fuerte relación directa entre la tasa fotosintética al momento de la aplicación y la tasa de absorción del herbicida (Waltz et al. 2004). La traslocación hacia los órganos de alta actividad metabólica (por ejemplo, la corona) es uno de los principales procesos que explica la eficacia de la acción del herbicida, la que aumenta a mayor actividad metabólica de los órganos (Koger y Reddy 2005), y por lo tanto está directamente relacionada con las condiciones ambientales a través de su efecto sobre la tasa de crecimiento de las plantas (Jordan 1977, Adkins et al. 1998). El glifosato no se transloca equitativamente a todos los tejidos, ya que este proceso ocurre desde los tejidos fuente a los destino siguiendo el gradiente de sacarosa, con prioridad hacia los órganos en activo crecimiento, que son los destinos más fuertes. La cantidad de glifosato que llega a cada tejido es linealmente proporcional a la dosis aplicada, por lo tanto la dosis no determina cómo se distribuye el glifosato entre los tejidos si no cuánto llega a cada tejido. En definitiva, una planta completa muere si mueren todos sus tejidos al ser alcanzados por una concentración de glifosato suficiente para inhibir a la EPSP sintetasa. Si algún tejido sobrevive, le confiere a la planta la posibilidad de rebrotar en condiciones ambientales favorables (Feng et al. 2003 a). En consecuencia, puede esperarse una respuesta diferencial de las distintas especies de la pradera húmeda de mesófitas de la Pampa Deprimida a la aplicación de distintas dosis glifosato respecto de la supervivencia de los propágulos vegetativos y, consecuentemente, de la posibilidad de rebrotar post-pulverización, alcanzar el estado reproductivo y producir semillas.

Respecto de la actividad del glifosato en el suelo, numerosos trabajos afirman que el glifosato se desactiva en el suelo (Kennedy y Jordan 1985, Hurst y John 1999, Baylis 2000). El glifosato es un compuesto polar que se adsorbe fuertemente a los óxidos de hierro y aluminio y a las arcillas (Morillo et al. 2000). Por lo tanto se inmoviliza en el suelo al fijarse a las partículas y a los complejos metálicos, reduciendo drásticamente el pool de glifosato lábil en el suelo que pueda ser absorbido por las raíces de otras plantas (Busse et al. 2001). Una vez fijado a las partículas del suelo, es rápidamente metabolizado por los microorganismos a ácido aminometilfosfónico (AMPA), el principal metabolito del glifosato, y eventualmente es degradado a ácido fosfórico, amonio y dióxido de carbono (Baylis 2000, Blackburn y Boutin 2003). Por estas razones se considera, en general, que la toxicidad del glifosato sobre las plantas que no son objeto de control es insignificante dado que el herbicida en la solución del suelo sufre una rápida degradación por parte de los microorganismos o es casi instantáneamente desactivado por la adsorción en la matriz del suelo (Piccolo et al. 1992, Giesy et al. 2000). Sin embargo, hay trabajos que contradicen estas afirmaciones. Se detectaron residuos de glifosato y de AMPA disponibles para la absorción de las plantas hasta seis meses posteriores a la pulverización (Simonsen et al. 2008). Una parte de estos residuos de glifosato en el suelo provendrían del absorbido por las plantas y traslocado hacia las raíces y órganos subterráneos, que se exuda hacia la solución circundante (Coupland y Caseley 1979, Laitinen et al. 2007). El glifosato liberado al suelo mediante la exudación de las raíces, tanto de las plantas tratadas mientras mueren como de las plantas resistentes, puede ser absorbido por las plantas vecinas no tratadas, causando toxicidad y reduciendo su crecimiento. Existen evidencias de que las radículas de las semillas que germinan con posterioridad a la pulverización podrían absorber el glifosato o sus metabolitos secundarios, principalmente AMPA, exudados por las raíces de las plantas tratadas con el herbicida (Rodrigues et al. 1982). Así, la incorporación directa de glifosato en un suelo argiudol vértico previo a la siembra de *Lotus corniculatus* redujo el contenido de clorofila y el crecimiento aéreo y radical de las plantas (Clua et al. 2012). Un efecto similar se observó cuando se incorporó glifosato en un medio de cultivo hidropónico, causando efectos adversos en el desarrollo de plántulas de algodón que germinaron en ese sustrato (Pline et al. 2002). A su vez, la degradación del glifosato en el suelo es más lenta cuando fue previamente absorbido por plantas que cuando el herbicida es aplicado directamente al suelo y, en esas condiciones, la persistencia del glifosato en el suelo puede ser de dos a seis veces mayor (Doublet et al. 2009). También se ha demostrado que la aplicación prolongada de glifosato provoca efectos secundarios negativos en organismos que no son objeto de control, como la inhibición de la absorción de los micronutrientes Mn, Zn, Fe y B, que están involucrados en los mecanismos de resistencia a enfermedades de las plantas (Neumann et al. 2006) o la reducción de la fijación biológica de nitrógeno (Bellaloui et al. 2006, Zablotowicz y Reddy 2007, Zobiole et al. 2011). En consecuencia, podría esperarse una respuesta diferencial si la germinación ocurre en suelos con o sin historia de aplicación recurrente de glifosato.

Los cambios en los atributos de la vegetación y del banco de semillas causados por la pulverización con glifosato (Cap. II) son consecuencia de los efectos que el herbicida provocaría en algunos de los principales procesos del ciclo biológico de las especies del pastizal más afectadas por esta práctica. Los antecedentes citados precedentemente respecto del modo de acción del glifosato sugieren que la regeneración vegetativa y la emergencia - establecimiento de plántulas podrían ser los principales procesos involucrados en las respuestas halladas en los atributos de la vegetación y del banco de semillas. En consecuencia, en este capítulo pongo a prueba las hipótesis 4 y 5 y sus correspondientes predicciones (ver Cap. I). La hipótesis 4 postula que la

pulverización con glifosato reduce la viabilidad de los propágulos vegetativos afectando negativamente la producción de nuevos módulos (regeneración vegetativa) post-pulverización. Se predice que la aplicación de glifosato eliminará una mayor proporción de módulos (macollos o tallos) y disminuirá la cantidad de nuevos módulos que rebroten post-pulverización en función de la dosis aplicada. Si se confirma que la regeneración vegetativa es uno de los procesos más fuertemente afectados por la aplicación de glifosato, se lo podrá relacionar con los cambios en la composición florística de la vegetación y también del banco de semillas, ya que al reducirse la capacidad de regeneración vegetativa, se reduce concomitantemente la proporción de módulos que alcanzan la etapa reproductiva y producen semillas. La hipótesis 5 propone que la presencia de glifosato residual en el suelo afecta negativamente la germinación y el establecimiento de plántulas. Se predice que el tiempo transcurrido entre la pulverización y la germinación de las semillas estará positivamente relacionado con la germinación, emergencia y crecimiento de plántulas. También se espera un mayor efecto negativo sobre estos procesos cuando la pulverización es sobre la vegetación existente que sobre suelo.

Este capítulo está organizado en dos secciones. En la primera sección evalué el efecto del glifosato sobre la regeneración vegetativa poniendo a prueba la hipótesis 4 mediante un experimento manipulativo (Experimento 5) con plantas extraídas del sitio experimental donde se llevaron a cabo los experimentos del Cap. II. En la segunda sección estudio los efectos del glifosato sobre la germinación, emergencia y crecimiento de plántulas mediante otro experimento manipulativo (Experimento 6) utilizando semillas de las mismas especies que las evaluadas en el experimento 5.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Criterios de selección de especies

Para poner a prueba las hipótesis 4 y 5 seleccioné cuatro grupos funcionales de alta relevancia en la estructura y funcionamiento de la pradera húmeda de mesófitas (Jacobó et al. 2006) que fueron sensiblemente afectadas por la aplicación de glifosato según los resultados obtenidos en el capítulo II. De esta selección surgieron los pastos perennes estivales, pastos perennes invernales, leguminosas perennes estivales y leguminosas perennes invernales. Dentro de cada uno de estos grupos, seleccioné la especie que contribuyó en mayor medida a la cobertura total del grupo (según los resultados del capítulo II) y que fueran de alto valor forrajero, resultando *Paspalum dilatatum* Poir. (pasto miel), *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort (festuca), *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd. (lotus) y *Trifolium repens* L. (trébol blanco) respectivamente.

3.2.2. Experimento 5: Efecto del glifosato sobre la regeneración vegetativa

3.2.2.1. Obtención de las plantas

Las plantas de las cuatro especies seleccionadas fueron extraídas de los lotes testigo del Establecimiento Montenegro, donde se llevaron a cabo los experimentos del capítulo II, durante el invierno del año 2010. Se extrajeron 15 plantas enteras de cada especie, de similar cantidad y tamaño de módulos, con su pan de tierra, se las colocó

individualmente en macetas y se las cultivó en invernáculo con temperatura controlada (15-25°C) y riego hasta la aplicación de los tratamientos, en marzo del año 2011.

3.2.2.2. Diseño experimental e implementación de los tratamientos

En marzo de 2011 se aplicaron los tratamientos de pulverización con diferentes dosis de glifosato: la dosis habitualmente usada para promover el establecimiento de *L. multiflorum* en estos pastizales (1440 gr a.e. ha⁻¹), la mitad de la dosis habitual (720 gr a.e. ha⁻¹) y un testigo sin pulverizar. La aplicación del herbicida se efectuó con una cámara presurizada con CO₂ ajustada para pulverizar 100 L.ha⁻¹ a 200 kPa (Vila Aiub et al., 2007). De esta manera se estableció un experimento completamente aleatorizado (n=5) para cada especie. Luego de la aplicación de los tratamientos, se restituyeron las macetas al invernáculo con las mismas condiciones de temperatura y riego.

3.2.2.3. Variables de respuesta

Inmediatamente antes de la aplicación de los tratamientos y durante los primeros 25 días se registró periódicamente el número de macollos o tallos/estolones vegetativos y reproductivos vivos de cada especie y el contenido de clorofila de diez láminas de la última hoja expandida de cada especie por maceta (submuestras), con un medidor de clorofila SPAD 502, Minolta. A los 25 días posteriores a la aplicación de los tratamientos, se cortó la biomasa aérea dejando un remanente de cinco centímetros de altura. La biomasa cortada se separó en material seco y verde, se secó en estufa hasta peso constante y se pesó. Durante los tres meses posteriores al corte se registró periódicamente la aparición de nuevas hojas y macollos o tallos en cada tratamiento y especie.

3.2.2.4. Análisis estadísticos

Se comparó el efecto de los tratamientos (Dosis de glifosato 1440, 720 y 0 gr. a.e. ha⁻¹) sobre las variables bajo estudio mediante análisis de varianza cuando se trató de una sola medición en el tiempo (por ejemplo, biomasa). En este caso, cuando el factor principal (TRAT) resultó significativo, se aplicó el test de Tukey para determinar las diferencias entre las medias. Cuando se trató de mediciones reiteradas temporalmente (contenido de clorofila, cantidad de módulos) se aplicó análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas tomando como factor principal a los tratamientos de aplicación de glifosato (TRAT), como factor intra-sujeto o de medidas repetidas a las fechas en las que se realizaron las mediciones (FECHA) y la interacción entre ambos factores (TRAT x FECHA). Cuando alguno de estos factores o la interacción resultaron significativos, se aplicó el test de Tukey para hallar las diferencias entre medias de tratamientos y fechas.

La variable contenido de clorofila fue transformada angularmente (arco seno de la raíz cuadrada), en tanto que las variables número de módulos y biomasa fue transformada a su raíz cuadrada para cumplir con el supuesto de homogeneidad del análisis de varianza. Se usó el software Statistica (StatSoft, Inc.) para llevar a cabo los análisis de varianza y test de Tukey.

3.2.3. Experimento 6: Efecto del glifosato en el suelo sobre la emergencia y crecimiento de plántulas

3.2.3.1. Obtención de las semillas

Las semillas de *Paspalum dilatatum* Poir., *Schedonorus arundinaceus* (Schreb.) Dumort., *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd. y *Trifolium repens* provinieron de un semillero comercial, debido a la dificultad de reunir la cantidad de semillas viables necesarias para el experimento cosechándolas de lotes de campo natural como consecuencia de la dispersión temporal en la maduración de semillas. Muestras de semillas de cada especie se sometieron al test de tetrazolio (ISTA 2003) para determinar su viabilidad antes de la siembra.

Las semillas de *L. multiflorum* utilizadas para generar la cobertura sobre la que aplicar el glifosato fueron cosechadas de poblaciones naturalizadas en lotes testigo del Establecimiento Montenegro.

3.2.3.2. Diseño experimental

Para evaluar las respuestas de la germinación, establecimiento y crecimiento de plántulas de las cuatro especies seleccionadas a) si se siembran en suelos con distinta historia de aplicación recurrente de glifosato b) si la pulverización de glifosato se efectúa sobre la vegetación existente o sobre suelo sin cobertura vegetal y c) según el tiempo transcurrido desde la pulverización, se realizó un experimento completamente aleatorizado (n=5) con un diseño factorial (2 x 2 x 5) con tres factores: PROCEDENCIA DEL SUELO (a dos niveles: suelo con o sin historia de aplicación recurrente de glifosato), COBERTURA (a 2 niveles: pulverización sobre vegetación o sobre suelo sin cobertura) y TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA PULVERIZACIÓN (a 5 niveles: aplicación de glifosato 90, 60, 30 y 1 día antes de la siembra y testigo sin aplicación), para cada una de las especies seleccionadas.

Los suelos de distinta procedencia en función de su historia de aplicación de glifosato (PROCEDENCIA DEL SUELO) se extrajeron a fin de invierno del año 2009 de uno de los lotes tratados recurrentemente con glifosato y de uno de los lotes testigo del Establecimiento Montenegro donde se llevaron a cabo los experimentos del capítulo II. Luego de ser tamizados para eliminar restos de vegetación y semillas, el suelo de cada procedencia (SG: suelo proveniente del lote tratado con glifosato y ST: suelo proveniente del lote testigo) se distribuyó en 200 recipientes plásticos de 13 x 17 x 25 cm. Los recipientes fueron mantenidos durante todo el experimento en invernáculo con temperatura controlada (20-25°C) y riego periódico.

Para generar cobertura herbácea sobre la que aplicar el glifosato en las fechas previstas y compararla con la pulverización sobre el suelo sin cobertura (COBERTURA), se sembraron 25 semillas de *L. multiflorum* (en 100 recipientes con suelo SG y en 100 recipientes con suelo ST) escalonadamente en 40 recipientes (20 SG y 20 ST) 45 días antes de cada fecha de pulverización previstas (10 de enero, 9 de febrero, 11 de marzo y 9 de abril del año 2010) y se mantuvieron sin cobertura los otros 100 recipientes de cada procedencia de suelo. Para que todos los tratamientos tuvieran una condición similar respecto de la densidad y altura de la cobertura vegetal sobre la cual se aplicó o no glifosato, se ralearon las plantas de *L. multiflorum* cuando fue necesario y se cortaron para mantener una altura de 12 cm. Los otros 200 recipientes (100 SG y 100 ST) se mantuvieron sin vegetación hasta las correspondientes fechas de pulverización con glifosato, que se aplicó sobre el suelo sin cobertura a la misma dosis (1440 g. e.a. ha⁻¹). El tratamiento testigo sin aplicación de glifosato constó de 40 recipientes (20 SG y 20 ST) que se mantuvieron sin cobertura y otros 40 recipientes (20

SG y 20 ST) donde se sembraron 25 semillas de *L. multiflorum* 120 días antes de la siembra de las especies seleccionadas.

Para generar períodos de 90, 60, 30 y 1 día entre la aplicación de glifosato en dosis de 1440 g. e.a. ha⁻¹ y la germinación de las semillas (TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA PULVERIZACIÓN), se pulverizaron 80 recipientes (40 con suelo SG y 40 con suelo ST) en cada una de las fechas de pulverización enunciadas en el párrafo anterior. La siembra de las especies seleccionadas se efectuó simultáneamente en todos los recipientes el día 10 de abril de 2010 colocando 20 semillas de cada especie por recipiente (cinco recipientes por especie).

3.2.3.3. Variables de respuesta

A partir de la siembra, se registró periódicamente el número de plántulas emergidas, hasta que luego de 20 días consecutivos no se observaron nuevas emergencias, período que promedió los 40 días desde la siembra. La proporción de plántulas establecidas hasta ese momento en relación a las semillas sembradas de cada especie constituyó la variable “Emergencia final de plántulas” y se la expresó en porcentaje.

Luego de 60 días desde la siembra, se extrajeron las plántulas enteras. Se determinó el número y longitud de hojas en pasto miel y festuca, el número y longitud de brotes en lotus y el número de hojas y la longitud del pecíolo en trébol blanco. También se midió la longitud de las raíces en las cuatro especies. Todas las mediciones de longitud se efectuaron con calibre mecánico INSIZE. Posteriormente se separó la parte aérea de la radical y se secó en estufa hasta constancia de peso para determinar la producción de biomasa por plántula.

Al momento de extraer las plántulas, se exhumaron las semillas remanentes de los recipientes plásticos, se las examinó bajo lupa electrónica y se las sometió al test de tetrazolio (ISTA 2003) para determinar su viabilidad. Del examen visual y del test de tetrazolio, las semillas exhumadas se clasificaron en tres categorías: semillas que iniciaron la germinación pero murieron antes de registrarse la emergencia final de plántulas (germinadas muertas), semillas intactas viables y semillas intactas no viables.

3.2.3.3. Análisis estadísticos

El efecto de los tratamientos sobre las variables bajo estudio se evaluaron mediante análisis de varianza con arreglo factorial y mediante test de Tukey se compararon las diferencias entre medias de los tratamientos.

Las variables emergencia final de plántulas, semillas intactas viables, no viables y germinadas muertas fueron transformada angularmente (arco seno de la raíz cuadrada), en tanto que las variables número de hojas o brotes, longitud de hojas, brotes o pecíolos, longitud de raíces y biomasa aérea, radical y total fueron transformadas a su raíz cuadrada para cumplir con el supuesto de homogeneidad del análisis de varianza. Se usó el software Statística (StatSoft, Inc.) para llevar a cabo los análisis de varianza y test de Tukey.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Efecto del glifosato sobre la regeneración vegetativa

El contenido de clorofila de las láminas de las cuatro especies se redujo drásticamente como consecuencia de la aplicación de glifosato y la magnitud de la reducción aumentó a lo largo del tiempo (Fig. 3.1). En efecto, diez días luego de la

pulverización se observó una reducción a menos de la mitad del contenido de clorofila inicial en lotus, pasto miel y festuca (Fig. 3.1 a, b y d). En trébol blanco no se observó disminución del contenido de clorofila a los diez días posteriores a la pulverización con la menor dosis de glifosato, mientras que con la mayor dosis el contenido descendió en un 30% (Fig. 3.1 c). Posteriormente, entre 15 a 20 días a partir de la pulverización el contenido de clorofila alcanzó valores menores o iguales al 7% en las cuatro especies independientemente de la dosis, mientras que el tratamiento testigo mantuvo un nivel constante de clorofila durante todo el período experimental.

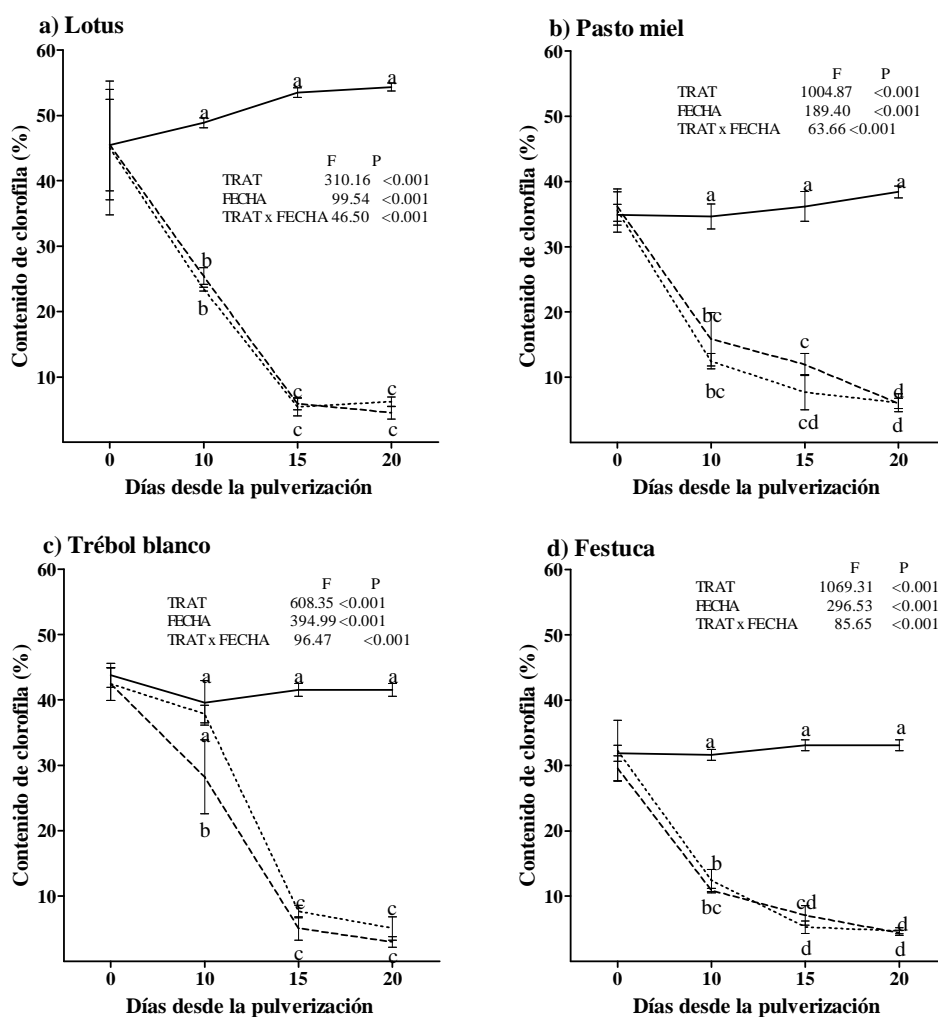


Figura 3.1. Evolución del contenido de clorofila en las láminas de Lotus (a), Pasto miel (b), Trébol blanco (c) y Festuca (d) luego de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 (---) 720 (···) g. e.a ha⁻¹ o sin aplicación de glifosato (Testigo —). Las barras verticales indican 1 EE de las medias. Se insertaron los valores de F y P del ANOVA con arreglo de medidas repetidas. Letras distintas indican diferencias significativas surgidas del análisis post-hoc de la interacción TRAT x FECHA (P<0.05).

Antes de la pulverización se registraron 24.4±3.5 tallos vegetativos en lotus; 13±2.5 macollos vegetativos en festuca; 44.8±2.6 estolones vegetativos en trébol blanco y 9.0±3.3 macollos vegetativos y 6.2±2.3 macollos reproductivos en pasto miel. El número de módulos vivos totales de las cuatro especies se redujo drásticamente 20 días

después de la aplicación de glifosato, sin hallarse diferencias entre las dosis de 1440 y 720 g. e.a ha⁻¹, hasta producirse la senescencia de la totalidad de los módulos al cabo de 25 días Fig. 3.2).

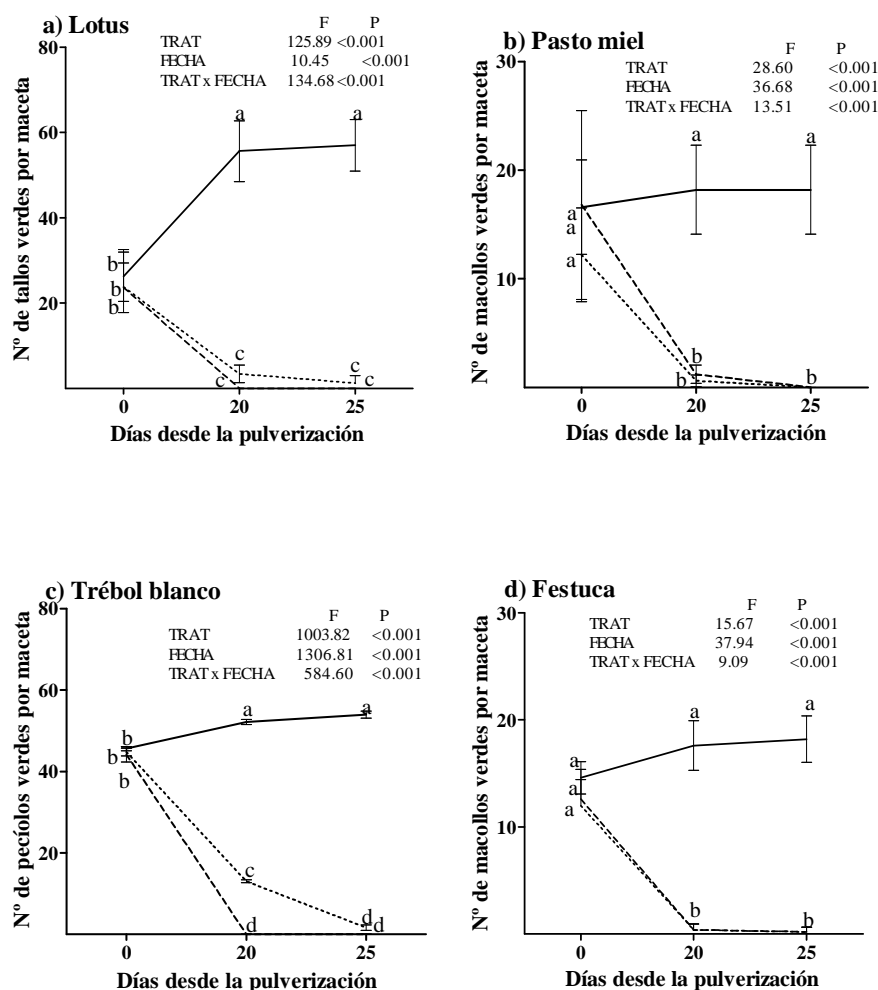


Figura 3.2. Evolución de la cantidad de módulos verdes de Lotus (a), Pasto miel (b), Trébol blanco (c) y Festuca (d) luego de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 (---) 720 (···) g. e.a ha⁻¹ o sin aplicación de glifosato (Testigo (—)). Las barras verticales indican 1 EE de las medias (n=5). Se insertaron los valores de F y P del ANVA con arreglo de medidas repetidas. Letras distintas indican diferencias significativas surgidas del análisis post-hoc de la interacción TRAT x FECHA (P<0.05).

A los 25 días después de la aplicación de glifosato, la biomasa total de lotus (Fig. 3.3 a) y trébol blanco (Fig. 3.3 c) de los tratamientos testigo resultó superior a la de los tratamientos pulverizados con glifosato independientemente de la dosis, mientras que la biomasa total de pasto miel (Fig. 3.3 b) y festuca (Fig. 3.3 d) fue similar entre tratamientos.

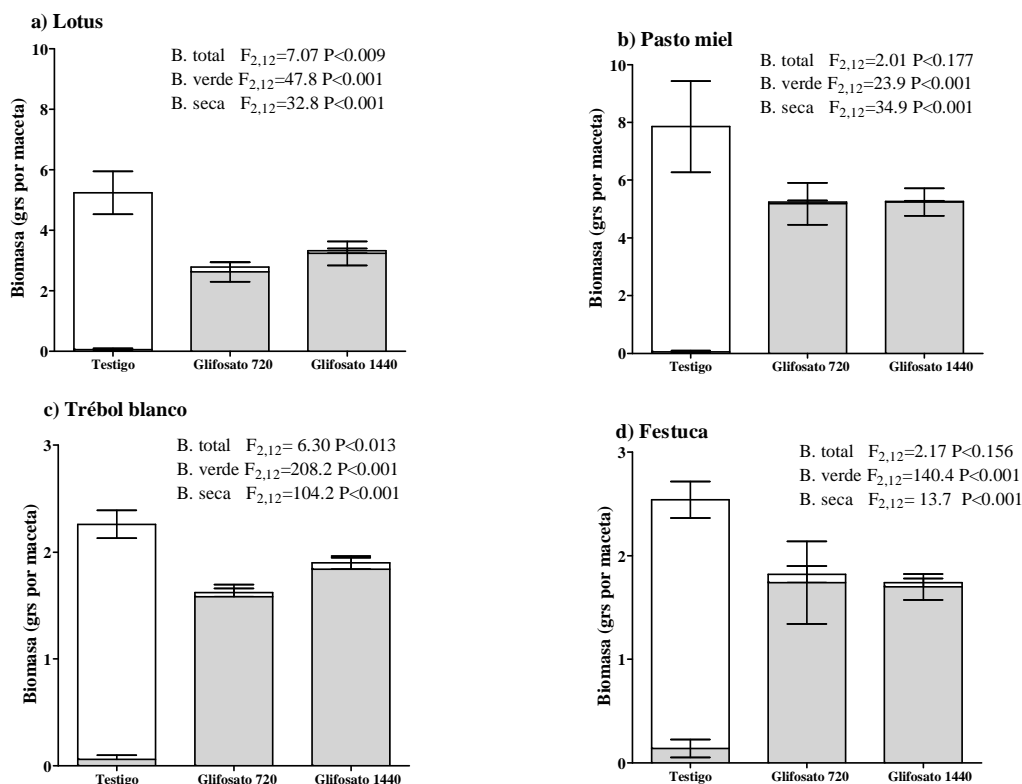


Figura 3.3. Biomasa verde (barras blancas) y seca (barras grises) cosechada 25 días después de la aplicación de glifosato en dosis de 1440 y 720 g. e.a ha⁻¹ o sin aplicación de glifosato (Testigo) de Lotus (a), Pasto miel (b), Festuca (c) y Trébol blanco (d). Las barras verticales indican 1 EE de las medias. Se insertaron los valores F y P de los ANVA para las variables biomasa total, biomasa verde y biomasa seca.

La biomasa aérea de las plantas de las cuatro especies de los tratamientos testigo presentó más de un 95% de biomasa verde mientras que la biomasa aérea total de las plantas que fueron pulverizadas con glifosato presentó al menos un 95% de su biomasa seca, independientemente de la dosis. En consecuencia, la biomasa verde del tratamiento testigo fue superior y la biomasa seca resultó inferior a la de los tratamientos pulverizados con glifosato, independientemente de la dosis en las cuatro especies ($P<0.05$) (Fig. 3.3).

A partir del corte y durante los tres meses siguientes no se registró la aparición de ningún órgano verde en las plantas de las cuatro especies que fueron sometidas a la aplicación de 1440 o 720 g. e.a ha⁻¹ de glifosato (Foto 3.1 a, b y c), indicando entonces que estas plantas no tuvieron la capacidad de rebrotar vegetativamente luego de la aplicación de glifosato.

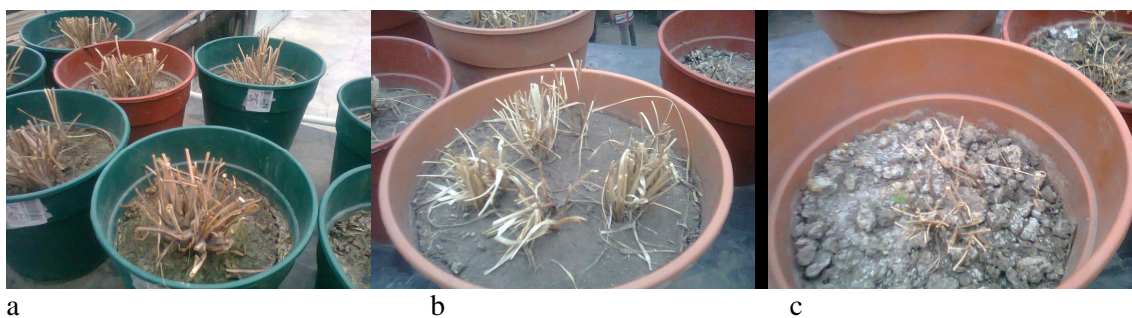


Foto 3.1: Plantas de pasto miel (a), festuca (b) y lotus (c) pulverizadas con 1440 o 720 g e.a. ha⁻¹ de glifosato, 90 días después del corte realizado a los 25 días posteriores a la aplicación del herbicida.

En cambio, en el tratamiento testigo sin aplicación de glifosato, al cabo de tres meses se registró la aparición de 32 (± 5) módulos de lotus, 17 (± 4) macollos de pasto miel, 24 (± 7) macollos de festuca y 28 (± 6) módulos de trébol blanco (Foto 3.2 a, b y c).



Foto 3.2: Plantas de trébol blanco (a), lotus (b) y pasto miel testigo (no pulverizadas con glifosato) 90 días después del corte realizado a los 25 días posteriores a la aplicación del herbicida.

3.3.2. Efecto del glifosato en el suelo sobre la emergencia y crecimiento de plántulas

La emergencia final de plántulas de las cuatro especies tuvo una respuesta cualitativamente similar a los factores analizados. La procedencia del suelo (P. SUELO) no afectó la emergencia de plántulas de ninguna de las especies, en cambio la cobertura (COB.) sobre la que se pulverizó, el tiempo transcurrido entre la aplicación y la siembra (TIEMPO P-S) y la interacción entre estos dos factores afectó el porcentaje de emergencia de las cuatro especies (Tabla 3.1).

Para las cuatro especies, cuando la siembra se realizó dentro de los sesenta días posteriores a la aplicación del herbicida, la emergencia de plántulas fue notablemente inferior cuando se pulverizó sobre la cobertura vegetal que cuando se pulverizó sobre suelo sin cobertura vegetal. Las diferencias desaparecieron cuando la siembra se efectuó noventa días después de la pulverización, obteniendo similares porcentajes de emergencia final que las plantas no pulverizadas (Fig. 3.4).

Tabla 3.1: Grados de libertad (gl), F y P resultantes de los análisis de varianza factorial (2x2 x5, n=5) para la emergencia final de plántulas de lotus, pasto miel, trébol blanco y festuca.

FACTORES	gl	Lotus		Pasto miel		Trébol blanco		Festuca	
		F	P	F	P	F	P	F	P
P. SUELO	1	0.001	0.964	0.01	0.898	0.19	0.664	1.51	0.221
COB.	1	25.75	<0.001	29.05	<0.001	160.05	<0.001	22.38	<0.001
TIEMPO P-S	4	8.05	<0.001	9.08	<0.001	32.16	<0.001	8.38	<0.001
P. SUELO * COB.	1	0.003	0.958	2.78	0.099	0.33	0.566	1.38	0.242
P. SUELO * TIEMPO P-S	4	0.24	0.913	1.164	0.332	0.42	0.792	1.16	0.332
COB. * TIEMPO P-S.	4	7.32	<0.001	8.26	<0.001	31.78	<0.001	6.02	<0.001
COB.* P. SUELO *	4	1.11	0.358	1,45	0,221	0,06	0,992	0,21	0,931
TIEMPO P-S.									

Los ANVA para cada especie se establecieron con tres factores principales. Procedencia del suelo (P. SUELO): suelo proveniente de lotes con o sin pulverización recurrente de glifosato), Cobertura (COB.): aplicación de glifosato sobre cobertura vegetal o sobre suelo desnudo, y Tiempo transcurrido entre la pulverización de glifosato y la siembra (TIEMPO P-S): 90, 60, 30 y 1 día antes de la siembra y testigo sin pulverizar, y sus correspondientes interacciones.

Si bien las cuatro especies respondieron cualitativamente en forma similar, el efecto negativo del glifosato sobre la emergencia de plántulas cuando se lo aplicó sobre la cobertura vegetal dentro de los 60 días de la siembra fue relativamente superior en trébol blanco, que redujo la emergencia en un 53%, seguido por lotus, que la redujo en un 46%; mientras que las gramíneas sufrieron una reducción relativamente menor, de 39% en festuca y 35% en pasto miel.

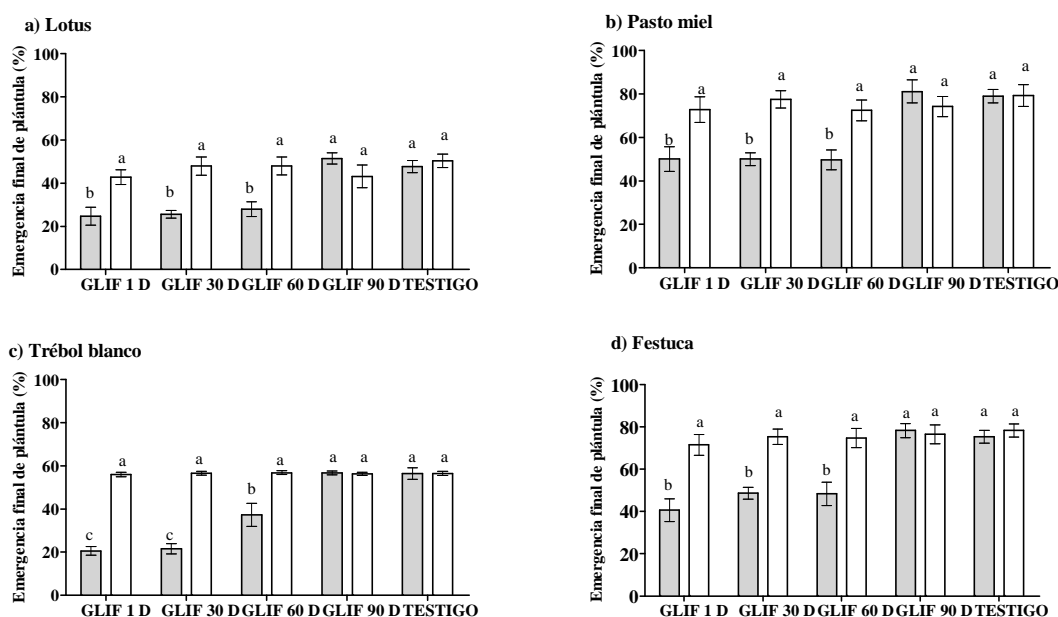


Figura 3.4: Emergencia final de plántulas (%) de lotus (a), pasto miel (b), trébol blanco (c) y festuca (d) bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal (barras grises) y sobre suelo sin cobertura vegetal (barras blancas) 90 (GLIF 90 D), 60 (GLIF 60 D), 30 (GLIF 30 D), 1 (GLIF 1 D) días antes de la siembra y el testigo sin pulverizar. Dado que el factor principal SUELO y sus interacciones no fueron significativos, se promediaron los valores correspondientes a los suelos de distinta procedencia. Las barras verticales indican 1 EE de las medias. Letras distintas indican diferencias significativas surgidas del análisis post-hoc de la interacción COBERTURA X TRATAMIENTO (P < 0.05).

La diferencia entre las plántulas emergidas respecto de las semillas sembradas se clasificó en tres componentes: semillas intactas (que no germinaron) viables, semillas intactas no viables y semillas que iniciaron el proceso de germinación pero murieron antes de registrarse la emergencia final de plántulas consideradas “germinadas muertas”. En ninguna de la especies se observó efecto de los factores principales ni de sus interacciones sobre la proporción de semillas intactas viables y no viables que no germinaron (Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Grados de libertad (gl), F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para el porcentaje de semillas intactas viables, semillas intactas no viables y semillas germinadas muertas de lotus, pasto miel, trébol blanco y festuca.

FACTORES	Lotus		Pasto miel		Trébol blanco		Festuca		
	gl	F	P	F	P	F	P	F	P
Semillas intactas viables									
P. SUELO	1	1.47	0.228	0.16	0.692	0.09	0.756	1.00	0.321
COB.	1	0.13	0.717	2.49	0.118	0.09	0.763	0.97	0.327
TIEMPO P-S	4	0.67	0.616	0.02	0.999	0.36	0.836	0.30	0.877
P. SUELO * COB.	1	0.51	0.478	1.48	0.226	0.01	0.906	2.80	0.097
P. SUELO*TIEMPO P-S	4	0.23	0.919	2.07	0.091	1.81	0.133	1.75	0.147
COB. *TIEMPO P-S.	4	1.06	0.382	1.23	0.303	0.30	0.877	0.66	0.621
COB.*SUELO*TRAT.	4	1.05	0.388	1.42	0.232	1.36	0.254	0.71	0.585
Semillas intactas no viables									
P. SUELO	1	3.31	0.072	0.17	0.685	1.25	0.266	0.13	0.723
COB.	1	2.61	0.110	0.29	0.593	0.11	0.745	0.21	0.650
TIEMPO P-S	4	0.23	0.922	0.11	0.979	0.13	0.969	0.42	0.791
P. SUELO * COB.	1	1.15	0.287	0.25	0.618	0.10	0.753	0.34	0.563
P. SUELO*TIEMPO P-S	4	0.69	0.603	1.65	0.168	0.28	0.890	0.56	0.692
COB. *TIEMPO P-S.	4	0.19	0.943	0.06	0.993	0.24	0.914	0.74	0.565
COB.*SUELO*TRAT.	4	0.78	0.539	0.13	0.972	1.85	0.126	0.53	0.712
Semillas germinadas muertas									
P. SUELO	1	1.88	0.174	0.42	0.518	0.00	0.954	0.37	0.545
COB.	1	63.32	<0.001	96.06	<0.001	171.00	<0.001	75.97	<0.001
TIEMPO P-S	4	12.30	<0.001	17.08	<0.001	28.63	<0.001	13.53	<0.001
P. SUELO * COB.	1	0.93	0.337	0.43	0.512	0.08	0.780	0.12	0.725
P. SUELO*TIEMPO P-S	4	0.59	0.673	0.59	0.672	0.42	0.791	2.12	0.084
COB. *TIEMPO P-S.	4	13.62	<0.001	17.47	<0.001	29.61	<0.001	14.58	<0.001
COB.*SUELO*TRAT.	4	0.82	0.516	0.53	0.711	0.58	0.675	2.00	0.101

El porcentaje promedio de semillas viables fue de 34.3 ± 11.5 , 10.5 ± 10.1 , 24.7 ± 5.6 y 13.1 ± 10.8 y el de semillas no viables fue de 15.0 ± 1.8 , 12.3 ± 6.8 , 18.2 ± 3.4 , 9.8 ± 3.2 para lotus, pasto miel, trébol blanco y festuca respectivamente. Por lo tanto, la presencia de glifosato no afectó la germinación en sí, dado que el porcentaje de semillas que germinaron (emergidas más germinadas muertas antes del registro final), de las semillas viables y no viables fue similar entre tratamientos. En cambio, la proporción de semillas que germinaron pero murieron antes de la emergencia final respondió de manera similar a la emergencia de plántulas dado que, para las cuatro especies, fue altamente afectada por los factores principales cobertura sobre la que se aplicó el herbicida (COBERTURA) y tiempo transcurrido entre la aplicación y la siembra (TIEMPO P-S) y la interacción entre ambos factores (Tabla 3.2).

Al igual que lo hallado para la variable emergencia final de plántulas, el porcentaje de semillas que germinaron pero murieron antes de la emergencia final de plántulas fue superior cuando el glifosato se pulverizó sobre la cobertura vegetal y se sembró dentro de los sesenta días posteriores a la aplicación del herbicida respecto de la

pulverización sobre suelo sin cobertura vegetal, del tratamiento testigo sin pulverizar y del tratamiento de pulverización noventa días antes de la siembra, independientemente de la procedencia del suelo, siendo esta respuesta similar para las cuatro especies (Fig. 3.5).

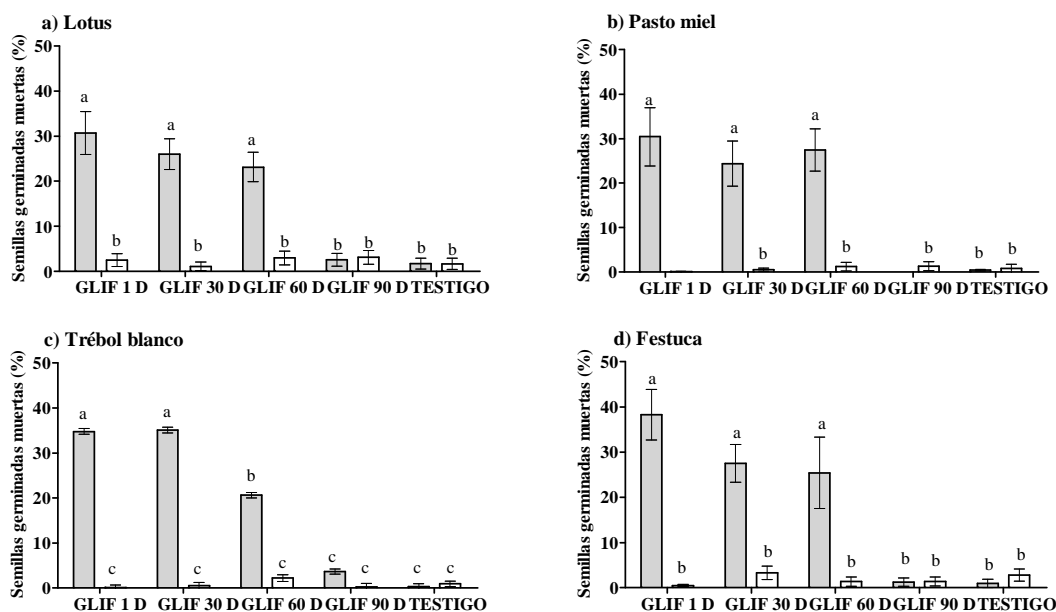


Figura 3.5. Proporción de semillas germinadas muertas (%) de lotus (a), pasto miel (b), trébol blanco (c) y festuca (d) bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal (barras grises) y sobre suelo sin cobertura vegetal (barras blancas) 90 (GLIF 90 D), 60 (GLIF 60 D), 30 (GLIF 30 D), 1 (GLIF 1 D) días antes de la siembra y el testigo sin pulverizar (TESTIGO). Dado que el factor principal P. SUELO y sus interacciones no fueron significativos, se promediaron los valores correspondientes a los suelos de distinta procedencia. Las barras verticales indican 1 EE de las medias. Letras distintas indican diferencias significativas surgidas del análisis post-hoc de la interacción COBERTURA X TIEMPO P-S ($P < 0.05$).

El vigor de las plántulas que sobrevivieron una vez emergidas, estimado mediante la biomasa aérea y radical producida, fue afectado por el tiempo transcurrido entre la aplicación de glifosato y la siembra y por la cobertura sobre la que se pulverizó, y resultó independiente de la procedencia del suelo. Tanto la biomasa aérea como la biomasa total de las plántulas de las leguminosas y la biomasa radical de trébol blanco fueron afectadas por la interacción entre la cobertura sobre la que se aplicó el herbicida (COBERTURA) y por el tiempo transcurrido entre la pulverización y la siembra (TIEMPO P-S), en tanto que la biomasa radical de lotus respondió a ambos factores independientemente. En cambio, la biomasa aérea de las plántulas de las gramíneas no respondió a ninguno de los factores, la biomasa radical de pasto miel fue afectada por la cobertura sobre la que se aplicó el herbicida (COBERTURA) y por el tiempo transcurrido entre la pulverización y la siembra (TIEMPO P-S) y la de festuca por la interacción entre ambos factores, y sólo la biomasa total de pasto miel fue afectada por la cobertura sobre la que se pulverizó (Tabla 3.3).

Tabla 3.3: Grados de libertad (gl), F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para la biomasa total, la biomasa aérea y la biomasa de raíces por plántula de lotus, pasto miel, trébol blanco y festuca.

FACTORES	g l	Lotus		Pasto miel		Trébol blanco		Festuca	
		F	P	F	P	F	P	F	P
Biomasa total por plántula									
P. SUELO	1	0,51	0,478	0,00	0,991	1,09	0,303	0,07	0,796
COBERTURA	1	31,02	< 0,001	11,32	0,002	32,79	< 0,001	1,88	0,178
TIEMPO P-S	4	5,65	0,001	1,50	0,221	4,99	0,002	0,24	0,913
P. SUELO * COB.	1	0,36	0,550	0,00	0,989	0,03	0,872	0,00	0,982
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0,73	0,574	0,67	0,619	1,10	0,371	0,19	0,943
COB. * TIEMPO P-S.	4	4,58	0,004	2,50	0,058	7,81	< 0,001	0,81	0,525
COB.*P. SUELO*TIEMPO P-S.	4	0,08	0,989	0,65	0,634	2,13	0,095	0,56	0,691
Biomasa aérea por plántula									
P. SUELO	1	0,41	0,524	0,00	0,947	0,29	0,594	0,03	0,871
COBERTURA	1	26,02	< 0,001	2,35	0,133	24,30	< 0,001	0,78	0,383
TIEMPO P-S	4	3,32	0,019	0,98	0,429	4,10	0,007	0,46	0,767
P. SUELO * COB.	1	0,03	0,867	0,00	0,997	0,00	0,993	0,00	0,946
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0,43	0,787	0,34	0,850	0,77	0,549	0,31	0,873
COB. * TIEMPO P-S.	4	4,46	0,004	1,73	0,163	4,54	0,004	0,52	0,722
COB.*P. SUELO*TIEMPO P-S.	4	0,02	0,999	0,81	0,524	1,15	0,349	0,94	0,448
Biomasa radical por plántula									
P. SUELO	1	0,25	0,620	0,17	0,681	1,12	0,297	0,34	0,565
COBERTURA	1	13,74	0,001	13,90	0,001	15,42	< 0,001	8,84	0,005
TIEMPO P-S	4	5,33	0,002	3,13	0,025	2,52	0,057	3,06	0,027
P. SUELO * COB.	1	1,29	0,263	0,09	0,763	0,02	0,896	0,17	0,678
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0,75	0,566	0,51	0,729	0,80	0,531	0,51	0,730
COB. * TIEMPO P-S.	4	1,82	0,145	2,32	0,074	5,77	0,001	5,51	0,001
COB.*P. SUELO*TIEMPO P-S.	4	0,62	0,650	0,55	0,697	1,39	0,256	0,61	0,659

La aplicación de glifosato sobre el suelo cubierto por vegetación hasta sesenta días antes de la siembra redujo sensiblemente la biomasa total y aérea de las dos leguminosas y la biomasa radical de trébol blanco respecto de la pulverización sobre suelo sin cobertura vegetal, del tratamiento testigo sin pulverizar y del tratamiento de pulverización noventa días antes de la siembra. La magnitud de esta reducción de la biomasa de las plántulas fue relativamente mayor en lotus, que disminuyó su biomasa aérea en un 79% y la radical en un 64%, mientras que en trébol blanco la biomasa aérea se redujo en un 53% y la radical en un 55% (Fig. 3.6 a y c).

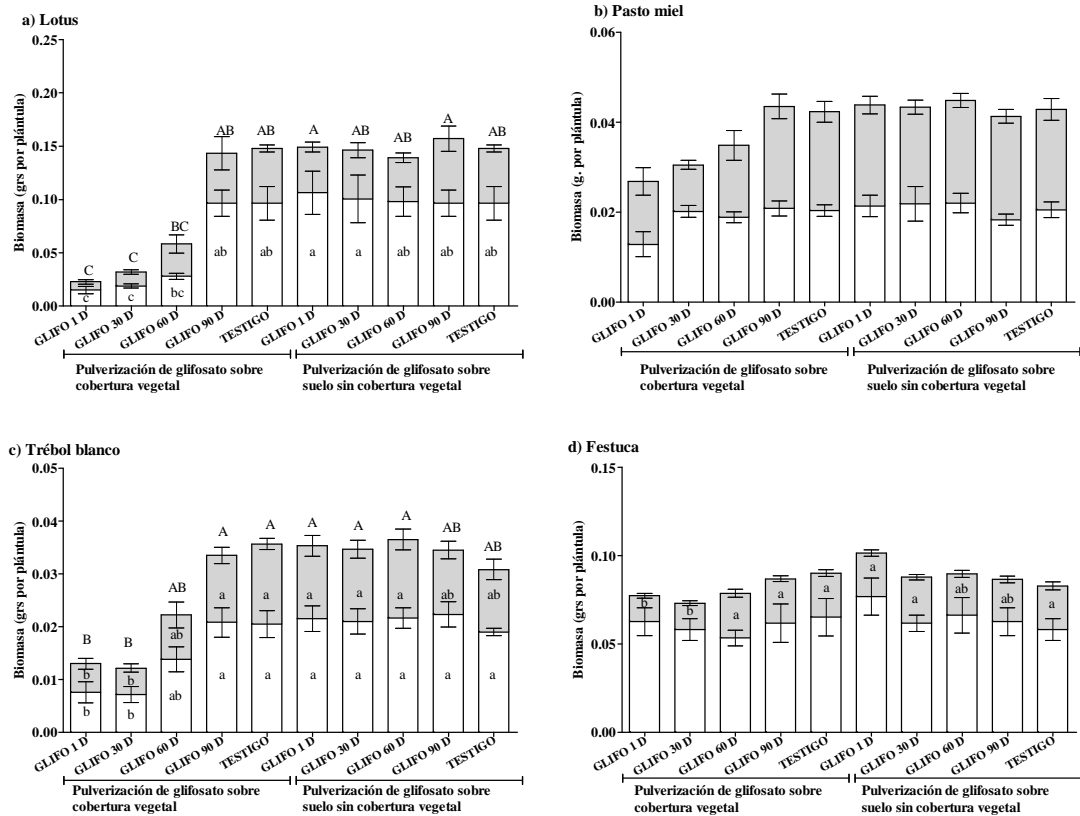


Figura 3.6: Biomasa total, aérea (barras blancas) y radical (barras grises) (g. por plántula) de Lotus (a), Pasto miel (b), Trébol blanco (c) y Festuca (d) bajo los tratamientos de pulverización con glifosato sobre cobertura vegetal o sobre suelo sin cobertura 90 (GLIF 90 D), 60 (GLIF 60 D), 30 (GLIF 30 D), 1 (GLIF 1 D) días antes de la siembra y el testigo sin pulverizar (SIN GLIF). Dado que el factor principal Procedencia del suelo (P. SUELO) y sus interacciones no fueron significativos, se promediaron los valores correspondientes a los suelos de distinta procedencia. Las barras verticales indican 1 EE de las medias. Las letras distintas minúsculas señalan diferencias significativas entre tratamientos en la biomasa aérea o radical y las letras mayúsculas en la biomasa total cuando la interacción COBERTURA X TIEMPO P-S resultó significativa ($P < 0.05$).

En cambio, la aplicación de glifosato no afectó la biomasa aérea y la biomasa total de las gramíneas, pero redujo la biomasa radical promedio de pasto miel cuando se aplicó sobre cobertura vegetal respecto de la pulverización sobre suelo desnudo (Fig. 3.6 b) y afectó negativamente la de festuca en un 40 -45% cuando se aplicó sobre cobertura vegetal hasta treinta días antes de la siembra y y (Fig. 3.6 d).

Las variables morfológicas de las plántulas de leguminosas, número de brotes en lotus, longitud de pecíolos en trébol blanco y longitud de raíces en ambas especies, también fueron afectadas por la cobertura sobre la que se aplicó el herbicida (COBERTURA) y/o al tiempo transcurrido entre la aplicación y la siembra (TIEMPO P-S), y a la interacción entre ambos factores (Tabla 3.4). La aplicación de glifosato sobre el suelo cubierto por vegetación hasta sesenta días antes de la siembra redujo el número de brotes en lotus, la longitud de pecíolos en trébol blanco y la longitud de las raíces de las dos especies respecto de la pulverización sobre suelo sin cobertura vegetal, del tratamiento testigo sin pulverizar y del tratamiento de pulverización noventa días antes de la siembra (Tabla 3.5), de manera similar a lo hallado para la biomasa aérea y radical en ambas especies. En el caso de las gramíneas, no hubo efecto de ninguno de

los factores sobre el número y la longitud de las hojas (Tabla 3.4), que promediaron 4.4 ±0.67 hojas por plántula de pasto miel con una longitud de 4.6±0.76 cm y 4.3±0.68 hojas por plántula de festuca con una longitud de 9.4±1.50 cm (Tabla 3.5). En cambio, la longitud de raíces en ambas especies fue afectada por la cobertura sobre la que se aplicó el herbicida (COBERTURA), por el tiempo transcurrido entre la aplicación y la siembra (TRATAMIENTO) y por la interacción entre ambos factores (Tabla 3.4). Coincidentemente con la respuesta de la biomasa radical de las gramíneas, la aplicación de glifosato sobre el suelo cubierto por vegetación hasta treinta días antes de la siembra redujo la longitud de las raíces de pasto miel y festuca respecto de la pulverización sobre suelo sin cobertura vegetal, del tratamiento testigo sin pulverizar y del tratamiento de pulverización sesenta a noventa días antes de la siembra (Tabla 3.5)

Tabla 3.4: Grados de libertad (gl), F y P resultantes de los análisis de varianza factorial para el número de brotes, la longitud de brotes y la longitud de raíces por plántula de lotus; el número de hojas, la longitud de pecíolos y la longitud de raíces por plántula de trébol blanco, y el número de hojas, a longitud de hojas y la longitud de raíces de pasto miel y festuca.

Lotus		Nro de brotes		Longitud de brotes		Longitud de raíces	
FACTORES	gl	F	P	F	P	F	P
P. SUELO	1	0.01	0.929	0.65	0.423	0.97	0.331
COBERTURA	1	54.37	<0.001	1.46	0.234	28.76	<0.001
TIEMPO P-S	4	10.70	<0.001	1.47	0.229	4.16	0.007
P. SUELO * COB.	1	0.08	0.782	1.73	0.196	0.01	0.935
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	1.07	0.384	0.37	0.826	0.09	0.986
COB. * TIEMPO P-S.	4	6.91	<0.001	0.62	0.652	6.12	0.001
COB.*P. SUELO* TIEMPO P-S.	4	0.72	0.586	0.33	0.858	0.20	0.939

Trébol blanco		Nro de hojas		Longitud de pecíolos		Longitud de raíces	
FACTORES	gl	F	P	F	P	F	P
P. SUELO	1	0.02	0.901	0.49	0.490	0.31	0.583
COBERTURA	1	0.01	0.922	11.83	0.001	19.28	<0.001
TIEMPO P-S	4	0.06	0.994	5.79	0.001	9.19	<0.001
P. SUELO * COB.	1	0.35	0.556	1.43	0.239	0.43	0.518
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0.50	0.736	0.62	0.649	0.14	0.968
COB. * TIEMPO P-S.	4	0.09	0.985	4.86	0.003	6.50	<0.001
COB.*P. SUELO* TIEMPO P-S.	4	0.31	0.867	0.15	0.961	0.18	0.945

Pasto miel		Nro de hojas		Longitud de hojas		Longitud de raíces	
FACTORES	gl	F	P	F	P	F	P
P. SUELO	1	0.24	0.626	0.23	0.633	0.01	0.916
COBERTURA	1	1.10	0.301	0.61	0.441	9.91	0.003
TIEMPO P-S	4	1.09	0.375	0.05	0.995	3.36	0.018
P. SUELO * COB.	1	0.13	0.723	0.01	0.907	0.16	0.695
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0.04	0.996	0.50	0.735	0.13	0.970
COB. * TIEMPO P-S.	4	0.17	0.953	0.24	0.913	3.10	0.026
COB.*P. SUELO* TIEMPO P-S.	4	1.94	0.123	0.20	0.939	0.02	0.999

Festuca		Nro de hojas		Longitud de hojas		Longitud de raíces	
FACTORES	gl	F	P	F	P	F	P
P. SUELO	1	0.46	0.503	0.23	0.633	0.04	0.839
COBERTURA	1	1.47	0.232	0.16	0.693	5.06	0.030
TIEMPO P-S	4	0.95	0.445	0.05	0.995	2.70	0.044
P. SUELO * COB.	1	0.26	0.616	0.46	0.499	0.10	0.755
P. SUELO* TIEMPO P-S	4	0.26	0.904	0.50	0.735	0.32	0.860
COB. * TIEMPO P-S.	4	0.27	0.898	0.35	0.840	3.20	0.023
COB.*P. SUELO* TIEMPO P-S.	4	1.75	0.158	0.08	0.987	0.03	0.998

Tabla 3.5: Media y EE de variables morfológicas de lotus, trébol blanco, pasto miel y festuca según los factores Cobertura y Tiempo transcurrido entre la pulverización con glifosato y la siembra (TIEMPO P-S).

		Lotus					
COBERTURA	TIEMPO P-S	Nro de brotes		Longitud de brotes		Longitud de raíces	
		Media	EE	Media	EE	Media	EE
Pulverización de glifosato sobre cobertura vegetal	Glif. 1 día	2.36	0.54 b	4.99	0.51	8.58	2.42 b
	Glif. 30 días	2.42	0.59 b	5.38	0.51	8.80	0.88 b
	Glif. 60 días	2.88	0.30 ab	5.28	0.42	8.38	1.94 a
	Glif 90 días	3.60	0.23 a	4.96	0.51	14.33	1.81 a
	Testigo	3.60	0.25 a	5.49	0.43	14.61	2.40 a
Pulverización de glifosato sobre suelo sin cobertura	Glif. 1 día	3.46	0.40 a	4.93	0.14	14.56	1.56 a
	Glif. 30 días	3.64	0.19 a	5.22	0.63	14.41	2.95 a
	Glif. 60 días	3.80	0.24 a	5.28	0.43	14.85	2.26 a
	Glif 90 días	3.66	0.19 a	4.96	0.35	13.75	3.00 a
	Testigo	3.74	0.31 a	4.96	0.51	14.33	2.70 a
		Trébol blanco					
COBERTURA	TIEMPO P-S	Nro de hojas		Longitud de pecíolo		Longitud de raíces	
		Media	EE	Media	EE	Media	EE
Pulverización de glifosato sobre cobertura vegetal	Glif. 1 día	4.58	1.20	2.10	0.57 b	3.69	1.60 b
	Glif. 30 días	4.61	0.86	2.27	0.61 b	3.89	2.01 b
	Glif. 60 días	4.58	1.50	2.30	0.70 b	11.03	2.74 ab
	Glif 90 días	4.89	1.47	3.68	0.60 a	15.46	5.58 a
	Testigo	4.64	0.83	3.62	0.54 a	16.96	4.79 a
Pulverización de glifosato sobre suelo sin cobertura	Glif. 1 día	4.61	0.80	3.60	0.58 a	14.23	3.49 a
	Glif. 30 días	4.66	0.82	4.66	0.82 a	15.93	6.17 a
	Glif. 60 días	4.64	1.31	3.54	0.59 a	13.89	4.79 a
	Glif 90 días	4.59	0.52	3.60	0.58 a	14.86	1.93 a
	Testigo	4.96	1.78	3.64	0.53 a	16.68	1.69 a
		Pasto miel					
COBERTURA	TIEMPO P-S	Nro de hojas		Longitud de hojas		Longitud de raíces	
		Media	EE	Media	EE	Media	EE
Pulverización de glifosato sobre cobertura vegetal	Glif. 1 día	4.50	0.67	4.82	1.60	9.37	3.79 b
	Glif. 30 días	4.39	0.57	4.77	1.15	9.28	3.81 b
	Glif. 60 días	4.00	0.62	4.52	0.37	19.43	2.70 a
	Glif 90 días	4.17	0.75	4.60	0.60	17.70	1.44 ab
	Testigo	4.17	0.75	4.60	0.60	17.70	1.44 ab
Pulverización de glifosato sobre suelo sin cobertura	Glif. 1 día	4.50	0.84	4.47	0.86	18.77	5.09 a
	Glif. 30 días	4.83	0.75	4.41	0.35	18.38	4.36 a
	Glif. 60 días	4.11	0.70	4.74	0.62	18.71	2.79 a
	Glif 90 días	4.37	0.59	4.53	0.85	18.95	7.10 a
	Testigo	4.43	0.46	4.53	0.65	18.64	5.86 a

Tabla 3.5. *continuación*

COBERTURA	TIEMPO P-S	Festuca					
		Nro de hojas		Longitud de hojas		Longitud de raíces	
		Media	EE	Media	EE	Media	EE
Pulverización de glifosato sobre cobertura vegetal	Glif. 1 día	4.17	0.75	9.00	0.73	7.24	2.46 b
	Glif. 30 días	4.50	0.84	8.57	1.49	7.65	3.52 b
	Glif. 60 días	4.83	0.75	9.03	1.21	13.56	2.12 a
	Glif 90 días	4.44	0.52	9.63	1.72	13.41	2.90 a
	Testigo	4.37	0.59	9.90	0.71	13.38	5.91 a
Pulverización de glifosato sobre suelo sin cobertura	Glif. 1 día	4.09	0.65	9.30	1.24	12.26	2.22 a
	Glif. 30 días	4.50	0.51	9.43	1.69	13.94	2.55 a
	Glif. 60 días	4.47	0.61	10.40	1.00	13.16	1.08 a
	Glif 90 días	4.00	0.61	9.43	3.21	12.98	3.63 a
	Testigo	4.22	0.75	9.53	2.31	13.28	2.78 a

La longitud de brotes, de pecíolos, de hojas y de raíces se midió en cm. Las letras distintas en la misma columna de cada especie señalan diferencias significativas entre tratamientos cuando la interacción COBERTURA X TIEMPO P-S resultó significativa ($P < 0.05$).

3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. Efecto del glifosato sobre la propagación vegetativa

Las cuatro especies representativas de los distintos grupos funcionales sufrieron la misma intensidad de daño en su capacidad de regeneración vegetativa independientemente de la dosis de glifosato aplicada. La intensidad del daño fue máxima, dado que ningún tejido de ninguna de las cuatro especies, aún con la mitad de la dosis habitualmente usada, sobrevivió a la aplicación del herbicida. Por lo tanto, la pulverización con glifosato redujo la viabilidad de los propágulos vegetativos afectando negativamente la regeneración vegetativa, como se postula en la hipótesis 4. Sin embargo la predicción asociada a esta hipótesis respecto de que la magnitud de la respuesta dependería de la dosis aplicada, no se pudo corroborar – al menos con las dos dosis utilizadas en este experimento- ya que la aplicación de glifosato eliminó todos los módulos (macollos o tallos) e impidió el rebrote post-pulverización de nuevos módulos de las cuatro especies, tanto a la dosis habitualmente usada ($1440 \text{ g. a.e. ha}^{-1}$) como a la mitad de esta dosis ($720 \text{ g. a.e. ha}^{-1}$). Es entonces la regeneración vegetativa uno de los procesos más fuertemente afectados por la aplicación de glifosato, que permite explicar los cambios en la composición florística de la vegetación y del banco de semillas, ya que al impedirse la regeneración vegetativa, se inhibe la reproducción y producción de semillas.

Existe una fuerte relación directa entre la tasa fotosintética al momento de la aplicación y la tasa de absorción y de traslocación del herbicida (Waltz et al. 2004) como así también entre la actividad metabólica de los tejidos y la traslocación hacia los sitios que concentran estos tejidos, especialmente los meristemáticos como la corona o la base de los macollos (Koger y Reddy 2005, Shaner, 2009). Por ejemplo, en *Abutilon theophrasti* Medic, cuando la tasa de fotosíntesis fue alta ($\approx 1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la aplicación de $840 \text{ gr pa ha}^{-1}$ de glifosato tuvo una efectividad del 100%, pero cuando la tasa fotosintética se redujo a la mitad ($\approx 800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) la efectividad de la misma dosis fue del 60% (Waltz et al. 2004). Mis resultados demostraron que la actividad fotosintética, estimada a través del contenido de clorofila de las láminas, se detuvo

luego de 20 a 25 días posteriores a la aplicación del herbicida en las cuatro especies y sugieren que la tasa fotosintética al momento de la pulverización era suficientemente alta y de similar magnitud, favoreciendo la tasa de absorción y de traslocación del glifosato y provocando la muerte de los tejidos aéreos en las cuatro especies. Mis resultados también indican que la dosis más baja aplicada en el experimento alcanzaría una concentración de glifosato suficiente para inhibir a la EPSP sintetasa en los tejidos más resistentes en cada una de las especies evaluadas. Por ejemplo, en la misma especie *A. theophrasti* se demostró que para matar los tejidos más resistentes, como la porción basal de los tallos, se requiere una concentración de glifosato 42 veces superior a la que se requiere para matar los tejidos más susceptibles, como los meristemas apicales y radicales (Feng et al. 2003 a), siendo la dosis letal diez veces inferior a la menor dosis utilizada en este experimento. Con dosis de glifosato de 600 g. a.e. ha⁻¹ se obtuvo el control total de pasto miel como maleza de cultivos florícolas (Manuja et al. 2005), en tanto que con dosis iguales o mayores a 1000 g. a.e. ha⁻¹ aplicadas a fin de verano a pasturas dominadas por esta especie, se logró la eliminación total de la biomasa aérea (Evers 2002). Con dosis muy bajas de glifosato (<150 g. a.e. ha⁻¹) aplicadas a pasturas dominadas por la gramínea perenne *Agrostis castellana* se suprimió el desarrollo de las inflorescencias sin afectar el desarrollo vegetativo (Hill et al. 1996). En el caso de otra gramínea perenne, *Nassella trichotoma*, dosis entre 200 a 1675 g. a.e. ha⁻¹ también disminuyeron la formación de inflorescencias aunque no afectaron la germinación de las que alcanzaron a producir semillas (Campbell et al. 1998). En consecuencia, la dosis de glifosato habitualmente utilizada en los pastizales de la Pampa Deprimida, y aún la mitad de esta dosis (que también es utilizada en algunos casos), son suficientemente altas para producir la muerte de todos los órganos de las cuatro especies estudiadas y serían superiores a aquéllas que sólo interrumpen la floración y la formación de semillas, sin matar por completo la planta.

3.4.2. Efecto del glifosato sobre la emergencia y el crecimiento de plántulas

Respecto de la presencia de glifosato residual en el suelo, mis resultados comprueban que afecta negativamente la emergencia y el establecimiento de plántulas, tal como postulé en la hipótesis 5. Como predije, este efecto negativo ocurrió cuando se pulverizó sobre vegetación pre-existente y no sobre el suelo sin cobertura vegetal, y estuvo directamente relacionado con el tiempo transcurrido entre la aplicación de glifosato y la siembra. La respuesta de la germinación, emergencia y crecimiento de plántulas al tiempo transcurrido entre la aplicación de glifosato y la germinación fue de tipo umbral, ya que el efecto negativo se evidenció cuando el lapso entre pulverización y siembra fue menor o igual a sesenta días, y desapareció a los noventa días.

La reducción del porcentaje de emergencia final de plántulas ocurrió exclusivamente cuando el glifosato se pulverizó sobre la vegetación pre-existente hasta sesenta días previos a la siembra, sugiriendo que las radículas de las semillas que germinan en esa ventana de tiempo podrían haber absorbido el glifosato o su principal metabolito secundario (AMPA), que son exudados por las raíces de las plantas tratadas con el herbicida (Rodrigues et al. 1982), causando toxicidad y provocando la muerte de los individuos. La ausencia de respuesta cuando el glifosato fue pulverizado directamente sobre el suelo sin cobertura vegetal puede deberse a que, en esas condiciones su degradación en el suelo es más rápida, casi inmediata y, en cambio, cuando es previamente absorbido por plantas la degradación es más lenta y su persistencia en el suelo puede duplicarse a sextuplicarse (Doublet et al. 2009, Bott et al. 2011). Los resultados de este experimento indican que, cuando el glifosato es absorbido

previamente por la vegetación, su persistencia en el suelo sería de al menos sesenta días, período en el cual resulta tóxico para las semillas que germinan, causando la muerte de alrededor del 50% de las plántulas de leguminosas y de un 35-40% de las plántulas de gramíneas antes de que se haya determinado la emergencia final. Durante los sesenta días desde la pulverización, comenzaría la degradación por parte de los microorganismos, y ésta se completaría antes de los noventa días, explicando la ausencia de efectos negativos cuando el tiempo transcurrido entre la pulverización y la siembra fue de dicho lapso. Esta información es altamente relevante tomando en cuenta que la siembra e intersiembra de especies forrajeras suele realizarse en lapsos menores a treinta y sesenta días desde la aplicación del glifosato sobre la cobertura vegetal.

Las plántulas que sobrevivieron a la pulverización con glifosato sobre la vegetación pre-existente dentro de los sesenta días previos a la siembra, sufrieron una disminución en su crecimiento. Tanto en las leguminosas como en las gramíneas se comprobó la disminución de la biomasa radical y de la longitud de sus raíces, pero sólo las leguminosas sufrieron también la disminución de la biomasa aérea cuando la pulverización fue dentro de los treinta a sesenta días previos a la siembra, relacionándose con la menor cantidad de brotes en lotus y con el menor tamaño foliar en trébol blanco. Los patrones de distribución de glifosato dentro de las plantas dependen de qué tejidos fueron expuestos: cuando la aplicación es foliar, el 80% del glifosato aplicado se trasloca a los meristemas de los tallos y a las hojas jóvenes, mientras que si el glifosato se suministra a través del suelo, más del 75% permanece en los meristemas radicales y tejidos jóvenes de las raíces (Allister et al. 2005). Por lo tanto, los síntomas de toxicidad en las plantas son más directos e inmediatos cuando la aplicación es foliar, causando clorosis y necrosis de los tejidos aéreos en pocos días, como se demostró en el capítulo anterior. En cambio, cuando las raíces están expuestas al herbicida, los síntomas son indirectos y se expresan a través de impedimentos al funcionamiento de la raíz, como la absorción de agua (Zobiolo et al. 2011) y nutrientes (Neumann et al. 2006), que derivan en restricciones al crecimiento radical y aéreo. Está ampliamente demostrado que las especies, y aún los biotipos de una misma especie, difieren en su susceptibilidad al glifosato debido a diferencias morfo-fisiológicas en la retención, absorción y traslocación del herbicida (Baylis 2000, Boutin et al. 2004). Los resultados de este experimento indican que las leguminosas, lotus en primer término y trébol blanco en menor medida, serían más susceptibles que las gramíneas a la exposición de sus raíces al glifosato. La más severa disminución del crecimiento radical en las leguminosas determinó, probablemente, la disminución de la biomasa aérea. En cambio, en las gramíneas fue menor el efecto negativo sobre el crecimiento radical, lo que no alcanzó a afectar el crecimiento aéreo.

El tiempo transcurrido entre la aplicación de glifosato y la siembra-germinación de las semillas también afectó el crecimiento de las plántulas, observándose una declinación del efecto negativo sobre el crecimiento al aumentar el lapso de tiempo desde la pulverización. Una respuesta similar se encontró en plántulas de girasol, observándose que el efecto inhibitorio del glifosato sobre el crecimiento de las plántulas declinaba al aumentar el tiempo transcurrido entre la pulverización sobre la cobertura vegetal y la siembra de las semillas de girasol (1, 7, 14 y 21 días), aunque aún era detectable con el mayor tiempo de espera (Tefamariam et al. 2009). Los resultados señalarían períodos de persistencia del glifosato diferentes según el estadio de las plántulas: desde que se inicia el proceso de germinación, con la emergencia de la radícula, hasta que se estabiliza la emergencia de las plántulas (alrededor de 40 días desde la siembra en este experimento) la toxicidad del glifosato se mantuvo durante al menos sesenta días desde su aplicación, causando la muerte del 35- 50% de los individuos. En cambio, una vez que la emergencia de plántulas se estabilizó (a partir de

los 40 días desde la siembra y hasta los 60 días), no se observó mortandad de individuos pero sí un efecto detrimental sobre la producción de biomasa que persistió durante los primeros treinta días desde su aplicación. Este efecto diferencial sería consecuencia de la mayor susceptibilidad al herbicida en tejidos más jóvenes y plantas de menor tamaño, susceptibilidad que disminuye a medida que aumenta el tamaño o el estado de desarrollo de las plantas (Ahmadi et al 1980, Hunter 1995, Vanlieshout y Loux 2000, Koger et al. 2004).

La ausencia de respuesta cuando el glifosato fue pulverizado directamente sobre el suelo sin cobertura vegetal se contradice con otros trabajos que hallaron que la incorporación directa de glifosato en un medio de cultivo o en el suelo tuvo efectos adversos en el crecimiento y desarrollo de plántulas de algodón y de lotus (Pline et al. 2002, Clua et al. 2012), aunque de menor magnitud con respecto a la aplicación sobre cobertura vegetal (Tsfamariam et al. 2009). Sin embargo, en los casos citados, el glifosato fue mezclado con el suelo o con el medio de cultivo, a diferencia de la forma de aplicación en este experimento, donde fue pulverizado sobre el suelo desnudo, determinando una menor incorporación del herbicida al suelo.

La procedencia del suelo, según su historia de aplicación de glifosato, prolongada o sin ninguna aplicación, no produjo ningún efecto sobre la emergencia y crecimiento de plántulas de las especies estudiadas. Este resultado es consistente con lo demostrado en este mismo experimento, que cuando el tiempo transcurrido entre la aplicación de glifosato y la siembra es mayor a sesenta días desaparecen los efectos negativos sobre la emergencia y crecimiento de plántulas, dado que el suelo con prolongada historia de aplicación de glifosato recibió su última pulverización en marzo de 2009, se extrajo luego de seis meses y la siembra ocurrió en abril de 2010, un año después de la última aplicación. Sin embargo, se podría esperar que el suelo con historia prolongada de aplicación de glifosato afecte negativamente el crecimiento de plantas adultas, ya que se demostró que el uso prolongado de este herbicida durante 9 a 13 años, puede provocar efectos secundarios negativos (Busse et al. 20019, como la inhibición de la absorción de micronutrientes (Neumann et al. 2006) o la reducción de la fijación biológica de nitrógeno (Bellaloui et al. 2006, Zablotowicz y Reddy 2007, Zobiole et al. 2011), que afectaron el crecimiento de plantas en inicio de floración.

3.4.3. Implicancias para la producción ganadera

Mis resultados son concluyentes respecto del efecto negativo del glifosato, cuando se aplica a la vegetación activa, sobre la emergencia y el crecimiento de plántulas en el pastizal y corrobora lo informado por otros autores (Pline et al. 2002, Clua et al. 2012). En este sentido, advierten sobre un aspecto no considerado hasta el momento en la siembra directa de pasturas y verdeos, ya que si el tiempo que media entre la última aplicación de glifosato y la siembra es menor a 60 días, puede producirse mortandad de plántulas durante la emergencia y menor crecimiento de plántulas durante el establecimiento. Es común que se recomiende aplicar glifosato entre febrero y marzo para controlar las malezas estivales previo a la siembra directa de una pastura o un verdeo y sembrar temprano en el otoño (Llamosas 2005). De esta manera no se cumpliría el período de carencia necesario para evitar el efecto negativo del glifosato, contribuyendo a disminuir la eficiencia de implantación de la pastura o verdeo, sin conocer esta causa.

Por otro lado, además de afectarse dramáticamente la regeneración vegetativa y, en consecuencia la reproductiva de estas cuatro especies, disminuyendo el aporte de propágulos al banco, las evidencias aportadas por este experimento permiten afirmar que el efecto deletéreo de la pulverización de la vegetación pre-existente con glifosato

sobre la emergencia y crecimiento de plántulas de poblaciones que no son objeto de control también contribuye a los cambios florísticos en la comunidad vegetal y en el banco de semillas, señalados en el capítulo II. No sólo es menor la contribución relativa de semillas de estas especies y de otras de sus mismos grupos funcionales, sino que además la emergencia se reduciría en un 35 a 50%, como así también el tamaño de las plántulas, en particular de sus raíces. Considerando que estas especies germinan durante el período de crecimiento de *Lolium multiflorum*, al efecto negativo de la presencia de glifosato en el suelo sobre el crecimiento de las plántulas, debe adicionarse la fuerte competencia que esta especie ejercerá sobre las plántulas afectadas de lotus, festuca, trébol blanco o pasto miel, de menor tasa de crecimiento. Es probable que la presencia de glifosato en el suelo también afecte la emergencia y el crecimiento de las plántulas de *Lolium multiflorum*. Sin embargo, aún cuando disminuya en un 50% la emergencia de plántulas, la inmensa cantidad de semillas de esta especie que contienen los bancos de los suelos tratados recurrentemente con glifosato (25 000 semillas m⁻², capítulo II, Rodríguez y Jacobo 2013) haría poco relevante este efecto.

CAPÍTULO IV

EFECTOS DEL GLIFOSATO SOBRE LA CAPTACIÓN DE ENERGÍA, LA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA NETA AÉREA Y EL CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO, NITRÓGENO Y FÓSFORO TOTAL DEL SUELO

4.1. INTRODUCCIÓN

Son muy escasos los trabajos que evalúan el efecto de la aplicación de herbicidas sobre la productividad primaria de los pastizales y los procesos ecosistémicos afectados en el mediano o largo plazo, y son inexistentes los que indagan las consecuencias sobre atributos del suelo el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo. La mayoría de los trabajos que evalúan el efecto de la aplicación de herbicidas en pastizales son “estudios de eficacia” del producto sobre la población objetivo en parcelas experimentales pequeñas, sin pastoreo, durante períodos menores a una estación de crecimiento y con una escala que limita la relevancia de sus resultados (Kettenring y Reinhardt Adams 2011, Endress et al. 2012, Weir et al. 2013). Sólo un trabajo evaluó los cambios en la composición y disponibilidad estacional de la biomasa aérea de un pastizal templado pulverizado con glifosato durante dos estaciones de crecimiento (Arzadum y Mestelan 2009). Este trabajo mostró que la aplicación del herbicida modificó la composición de la vegetación aumentando la contribución relativa de los pastos invernales anuales y reduciendo la de leguminosas y pastos estivales, a la vez que redujo la producción de biomasa aérea entre otoño y primavera respecto del pastizal no pulverizado. Respecto de los efectos de la pulverización con glifosato sobre atributos del suelo tales como el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo, no hay antecedentes que sugieran que el herbicida *per se* pueda alterarlos en forma directa (Duke et al. 2012).

En cambio, está ampliamente documentado que disturbios como el pastoreo de herbívoros domésticos o el fuego causan profundos impactos sobre el funcionamiento de los pastizales. El pastoreo puede modificar la productividad primaria neta aérea o su dinámica estacional (Milchunas y Lauenroth 1993, Rush et al. 1997, Jacobo et al. 2000, Frank et al. 2005, Briske et al. 2008, Teague et al. 2011), las propiedades físicas de los suelos (Taboada et al. 1999, 2001, Zhao et al. 2007, Taboada y Micucci 2009), el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo (Frank et al. 1995, Augustine 2003, Sanjari et al. 2009, Schnyder et al. 2010), el ciclo de nutrientes (Chaneton et al. 1996, Garibaldi et al. 2007, Harrison y Bardgett 2008) o el ciclo del agua (Wilcox y Thurow 2006, Zhao et al. 2007, Sanjari et al. 2009) de estos ecosistemas. El fuego, por su parte, es considerado como un modelador importante de los procesos ecológicos (Bond y Keeley 2005) que recicla los nutrientes inmovilizados en la broza, puede modificar el contenido de carbono orgánico y nutrientes del suelo (De Bano et al. 1998, Snyman 2003, Granged et al. 2011, Augustine et al. 2014), regula las tendencias sucesionales (Pyne 1982, Miller y Chamberlain 2008) y aumenta la diversidad (Brockway et al. 2002) y la productividad primaria (Alhamad et al. 2011).

Un disturbio puede alterar las interacciones entre los componentes del pastizal, explicando los cambios en los atributos propios de la comunidad vegetal, como la composición florística, la diversidad de la vegetación y del banco de semillas, entre otros (Tilman 1982). A su vez, cambios en los atributos de la comunidad pueden explicar cambios en procesos propios del nivel de ecosistema, como la captación de energía y la productividad primaria neta aérea. La relación entre estos dos procesos es explicada por un modelo teórico ampliamente aceptado, propuesto por Monteith (1972), según el cual la vegetación genera nueva biomasa en la medida que absorbe radiación solar fotosintéticamente activa y la convierte en biomasa. Matemáticamente, este modelo establece que la productividad primaria neta aérea (PPNA) es el resultado del triple producto entre la radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA), la fracción de ésta que es absorbida por la vegetación (fRFA) y el coeficiente de conversión de energía en biomasa aérea, llamado “eficiencia en el uso de la radiación” (EUR). A su

vez, del producto entre la radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA) y la fracción de ésta que es absorbida por la vegetación (fRFA) se obtiene la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) (Pineiro et al. 2006), que permite estimar la captación de energía de la vegetación. La EUR depende de la identidad de las especies y de la estructura de la comunidad vegetal, como así también de las condiciones ambientales, principalmente la temperatura y el agua disponible (Nouvellon et al. 2000, Bradford et al. 2005). La EUR está fuertemente ligada al metabolismo fotosintético, presentando, en general, más altos valores las especies C₄ que las C₃, aunque existen diferencias entre especies dentro de cada tipo de metabolismo fotosintético (Sinclair y Muchow 1999). Por lo tanto, si un disturbio modifica la contribución relativa de los grupos funcionales o especies, podría modificar la EUR de la comunidad y, por lo tanto su PPNA.

Los cambios en la magnitud y en la dinámica de la productividad primaria neta aérea y en su composición pueden alterar el ciclo de carbono que, a su vez, ejerce un control importante sobre los ciclos y la disponibilidad de nitrógeno y fósforo del ecosistema (Detling 1988, Hobbs et al. 1991, Wedin 1996, Chanton et al. 1996, Bardgett y Wardle 2003). Está ampliamente aceptado que numerosos procesos del ecosistema dependen de la biodiversidad (Hector et al. 1999; Loreau et al. 2001; Tilman et al. 2001; Hooper et al. 2005), como así también de la presencia de determinados grupos funcionales claves, como los pastos y leguminosas (Hooper et al. 2005). En este sentido, la identidad de las especies vegetales o grupos funcionales, con distinta composición química de sus tejidos, modifica la tasa de descomposición de la broza (Bardgett y Shine 1999, Hector et al. 2000, Smith et al. 2003), que a su vez regula el contenido de carbono orgánico y la disponibilidad de nitrógeno en el suelo (Briske y Heitschmidt 1991, Shariff et al. 1994). Muy recientemente, Allan et al. (2013) demostraron que la riqueza florística está positivamente correlacionada con procesos como la producción de biomasa, el ciclo de carbono, el contenido de carbono orgánico, el contenido hídrico del suelo del horizonte superficial, la abundancia de descomponedores y la de animales; en tanto que la presencia de leguminosas se relacionó positivamente con la concentración de nitrógeno en las plantas, en los microorganismos y en el pool de nitratos del suelo. Si bien no hay trabajos que exploren los efectos directos o indirectos de la aplicación de glifosato sobre el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo, los antecedentes citados sugieren que pueden esperarse efectos indirectos negativos a largo plazo sobre estos atributos, mediados por los cambios en la magnitud, estacionalidad y composición de la biomasa aérea.

En los pastizales de la Pampa Deprimida ya he comprobado que la aplicación recurrente de glifosato a fin de verano redujo la cobertura de la vegetación en los meses estivales y alteró la composición florística, aumentando la contribución relativa de los pastos anuales invierno-primaverales y reduciendo la de los pastos invierno-primaverales perennes, estivo-otoñales y leguminosas y provocando la disminución de la riqueza y diversidad florística (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II). Estos cambios en los atributos de la comunidad podrían afectar el funcionamiento del ecosistema, alterado la dinámica estacional de la captación de energía y, por lo tanto, de la productividad primaria, como así también podrían afectar negativamente los ciclos del carbono y de los nutrientes. En este contexto, el objetivo de este capítulo es evaluar los cambios en la dinámica de la captación de energía y de la productividad primaria neta aérea y describir el contenido total de carbono, N y P del suelo en pastizales sometidos a la aplicación recurrente de glifosato. Para ello, he planteado la hipótesis 6, que propone que los cambios estructurales provocados por la aplicación recurrente de glifosato modifican el

patrón estacional de la captación de energía y de la productividad primaria neta aérea y el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo en el mediano o largo plazo. Como predicciones asociadas propongo que i) en los pastizales sometidos a la aplicación recurrente de glifosato la captación de energía y la productividad primaria neta aérea serán mayores en invierno-primavera y menores en verano y que ii) en el mediano a largo plazo, el contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo serán menores que en los pastizales no pulverizados.

Para atender al objetivo e hipótesis enunciados, este capítulo está organizado en tres secciones. En la primera sección comparo la dinámica de la captación de energía, estimada mediante la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) a escala establecimiento, en los lotes sometidos a la aplicación recurrente de glifosato y los lotes no pulverizados del sitio experimental donde se llevaron a cabo los experimentos del Cap. II (Experimento 7), y a escala regional, en lotes sometidos a ambos tratamientos de catorce establecimientos de la misma región, durante nueve años consecutivos (Experimento 8). En la segunda sección evaluo el efecto de la aplicación recurrente de glifosato sobre la productividad primaria neta aérea mediante un experimento de cortes periódicos de biomasa durante dos años consecutivos, en los mismos lotes y durante el mismo período en que se llevó a cabo el experimento 1 del Cap. II (Experimento 9), y relaciono la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) con la productividad primaria neta aérea (PPNA) para analizar la eficiencia en el uso de la radiación (EUR). Finalmente, en la tercera sección evaluo el efecto de la aplicación recurrente de glifosato sobre el contenido total de carbono, N y P del suelo de los lotes donde se llevaron a cabo los experimentos del Cap. II, durante seis años (Experimento 10).

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Sitios de relevamiento

Los experimentos 7, 9 y 10 se condujeron en la Estancia Montenegro (Partido de Azul, centro de la Pampa Deprimida, 36°40'S, 59°32'W, 80 msnm), en los mismos lotes donde se llevaron a cabo los experimentos del capítulo II. Adicionalmente, el experimento 8 tuvo como objetivo indagar si el efecto de la aplicación recurrente del glifosato sobre la dinámica de la captación de energía a escala lote y establecimiento (Experimento 7) también ocurría a escala regional, por lo tanto los sitios de relevamiento de la RFAa fueron los lotes sometidos la aplicación de glifosato y los no disturbados de correspondientes a catorce establecimientos ganaderos de los Partidos Azul-Tapalqué, nucleados en el grupo CREA Tapalqué II, donde está incluida la Ea. Montenegro.

4.2.2. Precipitaciones

Las precipitaciones mensuales en la Ea. Montenegro se registraron entre abril del año 2000 hasta marzo del año 2008 (Fig. 4.1 a) con un pluviómetro Hellman. Las precipitaciones mensuales de la región Azul-Tapalqué para el mismo período (Fig. 4.1. b) fueron suministradas por el Centro Regional Agrometeorológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Ambas series de datos estuvieron significativamente correlacionadas ($r^2=0.867$, $P<0.001$). Por lo tanto, la dinámica de las precipitaciones en la Ea. Montenegro fue representativa de la dinámica regional y los efectos de la disponibilidad hídrica sobre las

variables de la vegetación serían similares en ambas escalas espaciales. Comparando las precipitaciones registradas mensualmente durante el período de estudio con las medias históricas de los últimos 30 años (1979-2008), tanto en la Ea. Montenegro como en la región ocurrieron excedente hídricos en octubre de 2000, marzo y octubre de 2001, marzo y noviembre de 2002, enero, octubre y diciembre de 2006 y septiembre de 2007, mientras que los mayores déficit hídricos se registraron en noviembre de 2000, febrero de 2001, diciembre de 2002, enero y octubre de 2004, abril y octubre de 2005, mayo y agosto de 2006, julio, agosto y noviembre de 2007 y enero de 2008 (Fig. 4.1).

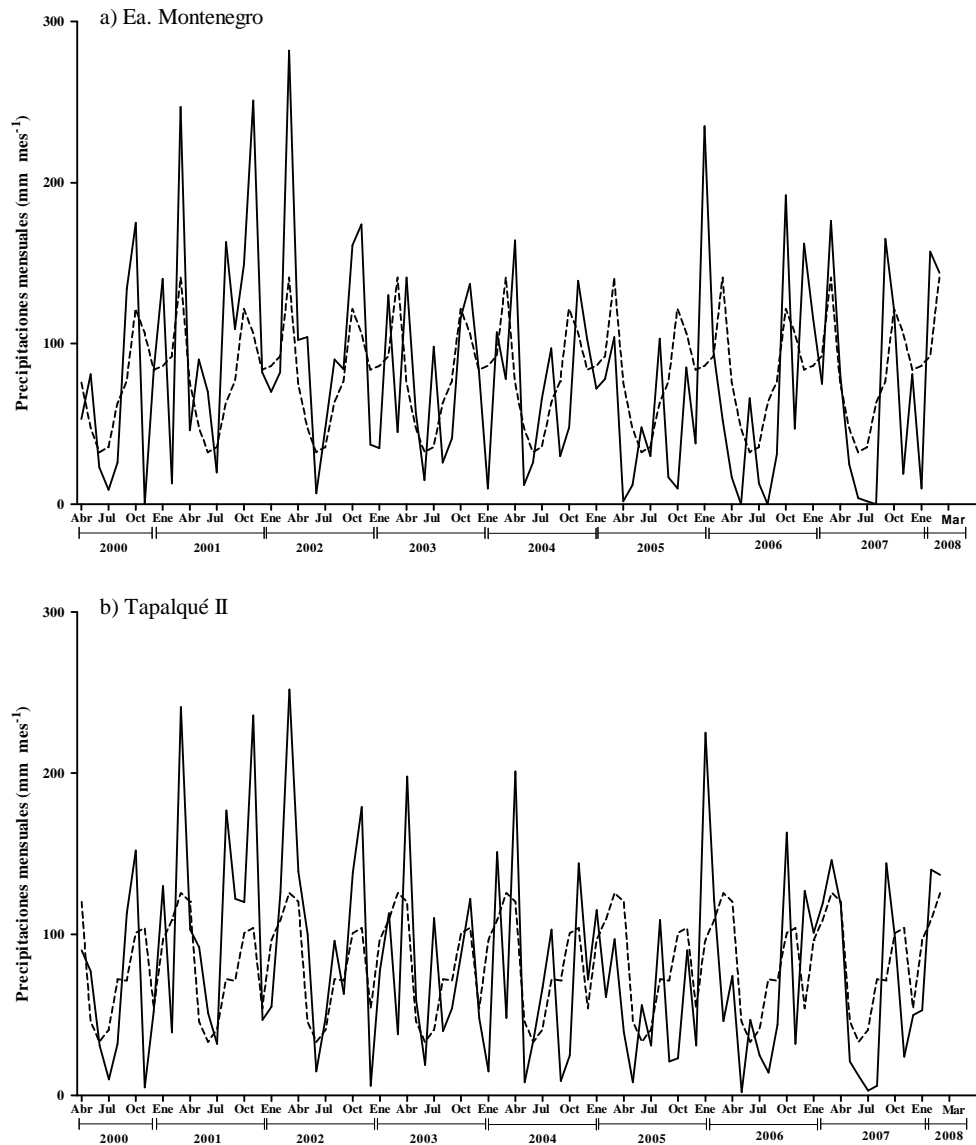


Figura 4.1. Precipitaciones mensuales de abril del año 2000 a marzo del año 2008 (línea entera) y precipitaciones promedio mensuales del período 1979-2008 (línea punteada) registradas en la Estancia Montenegro (a) y en la región Azul Tapalqué (b).

4.2.3. Efecto del glifosato sobre la captación de energía de la vegetación

4.2.3.1. Experimento 7: Efecto del glifosato sobre la radiación absorbida a escala lote

Todos los lotes de la Ea. Montenegro integran la base de datos del Sistema de Seguimiento Forrajero (SSF) del Laboratorio de Análisis Regional y Teledetección (LART) de la Facultad de Agronomía-IFEVA-UBA/CONICET. El SSF utiliza información provista por el sensor MODIS (Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer), a bordo de los satélites Terra y Aqua de la NASA, que opera con una resolución espacial de 5.3 has (pixel) y temporal cada 16 días (Paruelo et al. 2010). El SSF provee el valor de Índice Verde Normalizado (IVN), a partir del cual se calcula la fracción de la radiación fotosintéticamente activa que es absorbida por la vegetación (fRFA) (Piñeiro et al. 2006, Grigera et al. 2007). Dicha fracción se multiplica por la radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA), que se registra en las estaciones meteorológicas, para obtener la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) siguiendo el modelo de Monteith (1972). Estas variables son procesadas para ofrecer los datos con base mensual y esta información está disponible desde febrero de 2000 hasta la actualidad (Grigera et al. 2007).

La dinámica de la captación de energía para los lotes sometidos a la aplicación de glifosato y los no disturbados en la Ea. Montenegro se estimó utilizando la variable RFAa para dos períodos consecutivos: abril 2006-marzo 2007 y abril 2007-marzo 2008, coincidiendo con los relevamientos de la vegetación efectuados en el experimento del capítulo II. Se calculó la RFAa durante cada período completo mediante la sumatoria de los valores mensuales desde abril 2006 a marzo 2007 y desde abril 2007 a marzo 2008.

4.2.3.2. Experimento 8: Efecto del glifosato sobre la radiación absorbida a escala establecimiento y regional

Dada la disponibilidad datos de RFAa desde febrero del año 2000 de la Ea. Montenegro y de los restantes establecimientos ganaderos que integran el grupo CREA Tapalqué II (14 establecimientos en total), donde también se aplicaba la pulverización con glifosato en los pastizales, se amplió el análisis de la variabilidad temporal y espacial de la RFAa. Para ello se comparó la RFAa desde abril del año 2000 a marzo de 2008 de todos los lotes de pastizal natural de la Ea. Montenegro sometidos a la aplicación de glifosato (n=13) con la de los lotes no pulverizados (n=12) y también se comparó la RFAa de la totalidad de los lotes de los 14 establecimientos del grupo CREA sometidos a la pulverización con glifosato (n=45) o no pulverizados (n=82).

4.2.4. Experimento 9: Efecto del glifosato sobre la productividad primaria neta aérea (PPNA)

Para estimar la productividad primaria neta aérea (PPNA), en diciembre de 2006 se instalaron al azar tres jaulas de 1 m² para impedir el acceso del ganado a cada uno de los seis lotes donde se llevó a cabo el experimento del capítulo II. Dentro de las jaulas se cortó periódicamente la biomasa al ras del suelo con tijeras eléctricas. La frecuencia de cortes dependió de la estación del año, de forma tal de evitar pérdidas de biomasa por senescencia, totalizando 6 cortes por año. El período experimental abarcó dos períodos consecutivos completos: abril 2006-marzo 2007 y abril 2007-marzo 2008, coincidiendo con los relevamientos de vegetación del experimento 1 del capítulo II, y con la estimación de la RFAa de estos lotes detallada en el ítem anterior. La biomasa cortada

se separó en grupos funcionales (pastos invernales anuales, pastos invernales perennes, pastos estivales erectos, pastos estivales rastreros, leguminosas, dicotiledóneas y ciperáceas, además del material seco en pie), se secó en estufa hasta peso constante y se pesó. De esta manera se obtuvieron las tasas de crecimiento entre cortes como los incrementos de biomasa entre dos cortes sucesivos, lo cual permitió establecer la dinámica de la PPNA durante dos años. Se calculó la PPNA de cada período mediante la sumatoria de los valores mensuales de PPNA ponderada por la cantidad de días de cada mes, desde abril 2006 a marzo 2007 y desde abril 2007 a marzo 2008.

Se analizó también la contribución relativa de los grupos funcionales a la PPNA de invierno-primavera (julio a diciembre) y a la de verano-otoño (enero a junio) en cada período (abril 2006-marzo 2007 y abril 2007-marzo 2008) en los lotes con y sin aplicación recurrente de glifosato.

4.2.5. Efecto del glifosato sobre la eficiencia del uso de la radiación (EUR)

Al disponer de estimaciones independientes de la productividad primaria (Experimento 9) y de la radiación absorbida (Experimento 8), fue posible calcular la eficiencia en el uso de la radiación (EUR) como el cociente entre la PPNA y la RFAa (Ecuación 2). La EUR así obtenida (Ecuación 2) surge de un despeje algebraico de la ecuación propuesta por Monteith (1972; Ecuación 1).

$$PPNA(g\ m^{-1}\ mes^{-1}) = RFA(MJ\ m^{-1}\ mes^{-1}) \times fRFAA \times EUR(g\ MJ^{-1}) \quad (\text{Ecuación 1})$$

y siendo $RFAa(MJ\ m^{-1}\ mes^{-1}) = RFA(MJ\ m^{-1}\ mes^{-1}) \times fRFAA$, entonces:

$PPNA(g\ m^{-1}\ mes^{-1}) = RFAa(MJ\ m^{-1}\ mes^{-1}) \times EUR(g\ MJ^{-1})$, y despejando EUR de esta ecuación:

$$EUR(g\ MJ^{-1}) = \frac{PPNA(g\ m^{-1}\ mes^{-1})}{RFAa(MJ\ m^{-1}\ mes^{-1})} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Para el cálculo de la EUR mediante la ecuación 2 se utilizó los datos de productividad primaria neta aérea mensual obtenida mediante cortes (Experimento 9), y los correspondientes valores de RFAa (Experimento 7) para cada mes de los seis lotes de la Ea. Montenegro (tres lotes sometidos a la aplicación recurrente de glifosato y tres lotes no disturbados) entre abril de 2006 y marzo de 2008.

También se estimó la EUR mediante un modelo de ajuste entre la PPNA y la RFAa (Oyarzabal et al. 2010) utilizando un modelo de regresión lineal simple con la PPNA como variable dependiente y la RFAa como variable independiente (Le Roux et al., 1997). Este modo de cálculo de la EUR se aplica cuando, a partir de un grupo de datos independientes de PPNA y la RFAa, se desea calibrar el modelo de Monteith (1972) para estimar la PPNA a partir de RFAa y EUR (Oyarzabal et al. 2010). En este caso, cuando la ordenada al origen de la regresión lineal obtenida resulta igual o no significativamente distinta de cero, la pendiente del modelo es la EUR (Verón et al. 2005). En cambio, cuando la ordenada al origen es distinta de cero y positiva, la pendiente es una subestimación de la EUR porque el modelo predice productividad positiva con radiación absorbida igual a cero, y cuando la ordenada es negativa, la pendiente sobreestima la EUR porque el modelo predice productividad igual a cero con radiación absorbida positiva. En ambos casos, el error de estimación de la EUR es mayor con valores bajos de radiación absorbida que con valores altos (Verón et al., 2005).

4.2.5. Experimento 10: Propiedades químicas de los suelos

Para determinar el contenido de carbono orgánico y el de N y P totales de los suelos, se extrajeron 10 sub-muestras de suelo, con barreno de 4 cm de diámetro y 12 cm de profundidad en cada uno de los tres lotes sometidos a la aplicación recurrente de glifosato y en los otros tres lotes testigo donde se midió la PPNA. Las sub-muestras se secaron al aire, se tamizaron por un tamiz de 2 mm y se mezclaron en una muestra compuesta por lote para determinar el contenido de carbono orgánico (CO) por el método de Walkley y Black, el de N total por el método Kjeldahl y el de P total mediante digestión con ácido perclórico (Page et al. 1982). Estas muestras fueron extraídas una vez por año en los años 2008, 2010 y 2012, ya que la variación intranual de los pools totales es baja (Lavado y Taboada 1985, Chaneton y Lavado 1996, Chaneton et al. 1996). Los análisis químicos de suelos fueron realizados por el Laboratorio de Suelos de la Cátedra de Edafología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.

4.2.6. Análisis estadísticos

El efecto de la aplicación de glifosato sobre la RFAa y la PPNA de los períodos consecutivos se analizó mediante un análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (períodos). El efecto de la aplicación de glifosato sobre la dinámica de la RFAa y de la PPNA se analizó mediante un análisis de varianza con arreglo de dobles medidas repetidas (período y mes). Las diferencias entre las medias cuando las interacciones resultaron significativas se compararon mediante Test de Tukey.

La contribución relativa a la PPNA de los distintos grupos funcionales en invierno-primavera y verano-otoño se analizó mediante un análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas (períodos). Mediante regresiones lineales simples se relacionó la PPNA obtenida por cortes con la RFAa mensual de cada lote durante los dos períodos de evaluación (abril 2006-marzo 2007 y abril 2007-marzo 2008).

Las variables edáficas contenido de carbono orgánico, N y P totales se analizaron mediante análisis de varianza con un arreglo de medidas repetidas (años) luego de ser transformadas a su raíz cuadrada. Adicionalmente, para el último año de medición (2012) se realizó un análisis multivariado tomando las tres variables conjuntamente.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Efecto del glifosato sobre la captación de energía de la vegetación

La dinámica mensual de la captación de energía del pastizal fue afectada por la aplicación de glifosato en forma similar en los dos períodos (Tabla 4.1).

Tabla 4.1: Grados de libertad (gl), F y P surgidos del ANVA para el factor principal (Tratamiento) con arreglo de dobles medidas repetidas (período y mes) para las variables RFAa y la PPNA mensual desde abril 2006 a marzo 2008.

Factor	RFAa mensual			PPNA mensual	
	gl	F	P	F	p
Tratamiento	1	18.92	0.012	35.40	0.004
Período	1	2.50	0.189	4.62	0.098
Período x Tratamiento	1	0.53	0.508	1.27	0.323
Mes	11	180.45	<0.001	44.97	<0.001
Mes x Tratamiento	11	16.93	<0.001	10.33	<0.001
Período x Mes	11	6.81	<0.001	0.60	0.816
Período x Mes x Tratamiento	11	3.17	0.003	2.05	0.045

Los lotes de pastizal natural donde no se pulverizó glifosato absorbieron, en general, más radiación fotosintética en los meses cálidos que los lotes pulverizados, mientras que estos últimos absorbieron más radiación en los meses fríos (Fig. 4.2).

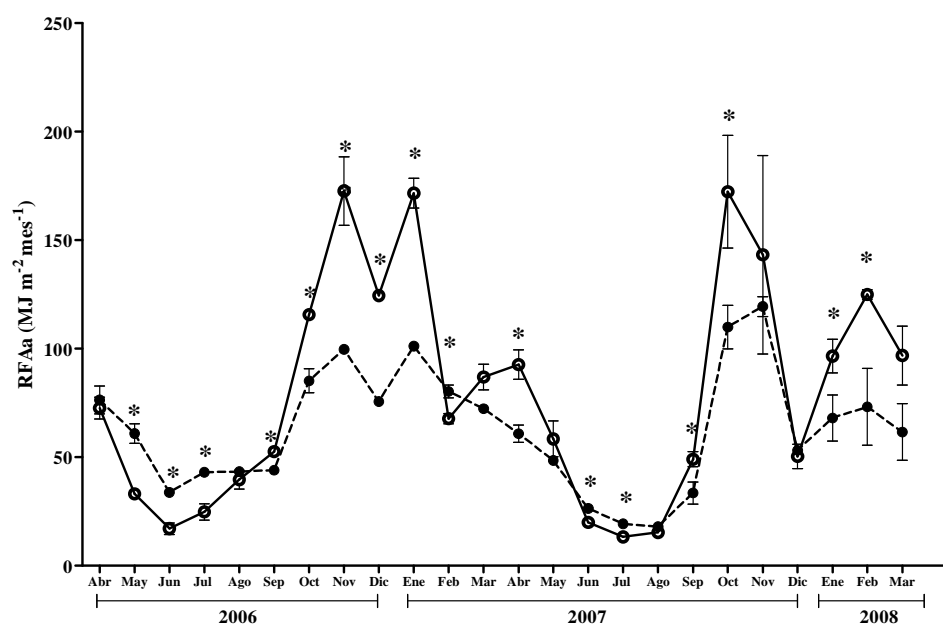


Figura 4.2: Dinámica mensual de la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) para los lotes de pastizal natural sin pulverizar con glifosato (línea entera) y para los lotes pulverizados con glifosato (línea punteada) entre abril de 2006 a marzo de 2008. Barras verticales indican 1 EE de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para cada mes ($P < 0.05$).

Al comparar la RFAa desde abril del año 2000 a marzo de 2008 de todos los lotes de pastizal natural sometidos a la aplicación de glifosato ($n=13$) con la de todos los lotes de pastizal no pulverizados ($n=12$) de la Ea. Montenegro también se corroboró que los lotes pulverizados con glifosato absorbieron más radiación fotosintética en los meses fríos y menos en los meses cálidos que los lotes no pulverizados, y que esta diferencia se observó desde el inicio de la implementación de la práctica, en el año 2000 (Fig. 4.3 a). El mismo patrón se obtuvo cuando se comparó la RFAa de todos los lotes de pastizal

tratado con glifosato de los 14 establecimientos del CREA Tapalqué II (n=45) con la de los lotes de pastizal no pulverizado (n=82) (Fig. 4.3 b).

El balance de estos efectos contrapuestos dio como resultado que la radiación absorbida (RFAa) promedio en los lotes pulverizados con glifosato fue inferior a la de los lotes testigo tanto durante el período abril 2006-marzo 2007 (815.6 ± 16.6 vs. 978.9 ± 21.0 MJ m⁻² período⁻¹) como durante el período abril 2007-marzo 2008 (691.5 ± 68.3 vs. 932.9 ± 158.0 MJ m⁻² período⁻¹) (TRAT: F=18.91, P=0.012, PERÍODO: F=2.4, P=0.18, TRAT x PERÍODO F=0.5, P=0.50).

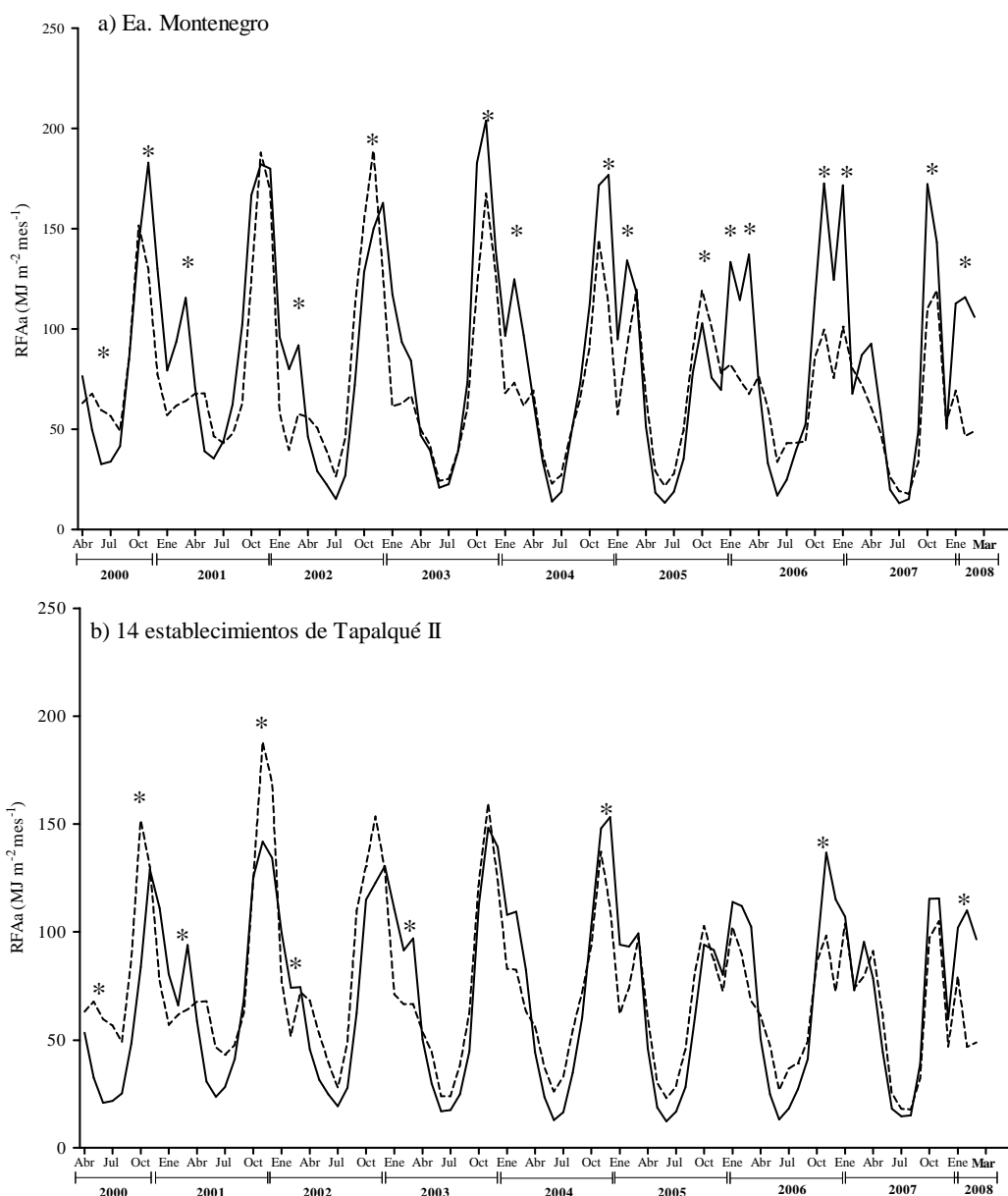


Figura 4.3: Dinámica mensual de la radiación fotosintéticamente activa absorbida (RFAa) entre abril de 2000 a marzo de 2008 de a) los 13 lotes de pastizal natural sin pulverizar con glifosato (línea entera) y de los 12 lotes pulverizados con glifosato (línea punteada) y la Ea. Montenegro de y b) los 82 lotes de pastizal natural sin pulverizar con glifosato (línea entera) y de los 45 lotes pulverizados con glifosato (línea punteada) de los 14 establecimientos del CREA Tapalqué II. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para cada mes (P<0.05).

4.3.2. Efecto del glifosato sobre la productividad primaria neta aérea

La dinámica de la PPNA mensual fue afectada por la pulverización con glifosato en los dos períodos (Tabla 4.1) y siguió un patrón similar al hallado para la absorción de radiación dado que la PPNA de los lotes pulverizados con glifosato en los meses de cálidos fueron inferiores mientras que las de los meses frescos fueron superiores respecto del testigo no pulverizado (Fig. 4.4).

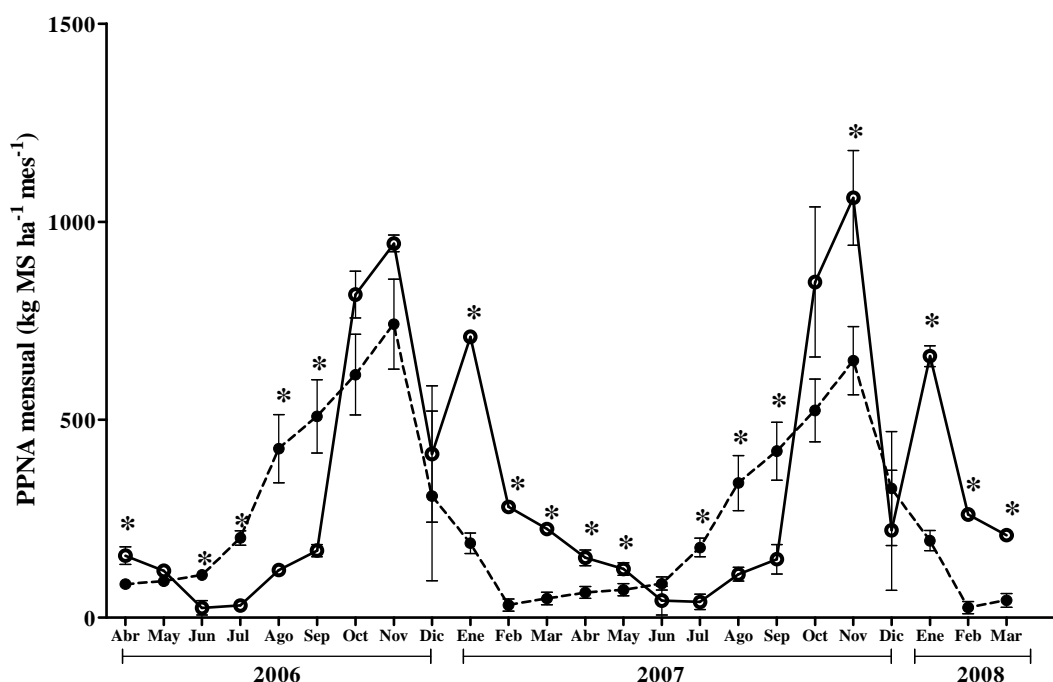


Figura 4.4: Dinámica mensual de la productividad primaria neta aérea (PPNA) para los lotes de pastizal natural testigo sin pulverizar (línea entera) y para los lotes pulverizados con glifosato (línea punteada) entre abril de 2006 a marzo de 2008. Las barras verticales indican 1DS de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para cada mes ($p < 0.05$) derivadas del análisis de contrastes.

En promedio, la PPNA resultó inferior en el pastizal pulverizado con glifosato respecto del pastizal testigo, tanto en el período abril 2006-marzo 2007 como en el período abril 2007-marzo 2008 (3349.62 ± 189.56 y 2918.06 ± 206.97 vs. 4005.28 ± 96.83 y 3870.64 ± 354.22 $\text{kg MS ha}^{-1} \text{ período}^{-1}$) (TRAT: $F=35.4$, $P=0.004$, PERÍODO: $F=4.6$, $P=0.09$, TRAT. X PERÍODO: $F=1.2$, $P=0.32$).

La contribución relativa y absoluta a la PPNA de los distintos grupos funcionales en los períodos invierno-primaveral (julio a diciembre) y estivo-otoñal (enero a junio) también fue afectada por la pulverización con glifosato pero no difirió significativamente entre años (Tabla 4.2). Durante invierno-primavera, tanto la contribución relativa (Tabla 4.2 a) como la contribución absoluta (Tabla 4.2 b) de los pastos anuales invernales, cuyo principal componente fue el raigrás anual, fue superior mientras que la contribución de los pastos invernales perennes fue inferior en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo. Durante verano-otoño, la contribución relativa y absoluta de los pastos invernales perennes, de los pastos estivales erectos y de las leguminosas fue inferior mientras que la de las dicotiledóneas fue superior en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo. En este

período, los pastos anuales invernales mostraron una similar contribución relativa pero menor contribución absoluta y los pastos estivales rastreros y el material seco en pie mostraron mayor contribución relativa pero igual contribución absoluta en los lotes pulverizados con glifosato respecto de los lotes testigo (Tabla 4.2 a y b).

Tabla 4.2: Contribución relativa (a) y absoluta (b) a la PPNA de los grupos funcionales en invierno-primavera (julio a diciembre) y en verano-otoño (enero a junio) de los lotes testigo no pulverizados y de los lotes pulverizados con glifosato.

a) Contribución relativa (%)												
GRUPOS FUNCIONALES	INVIERNO-PRIMAVERA						VERANO-OTOÑO					
	TESTIGO		GLIFOSATO		F	P	TESTIGO		GLIFOSATO		F	P
	MEDIA	EE	MEDIA	EE			MEDIA	EE	MEDIA	EE		
PASTOS ANUALES	5.03	5.23	85.66	6.80	265.01	<0.001	9.36	1.16	4.96	2.50	7.63	0.051
PASTOS PERENNES	28.28	2.32	0.62	0.74	386.01	<0.001	19.58	10.42	0.36	0.09	10.21	0.033
PASTOS ESTIVALES ERECTOS	0.51	0.61	0.01	0.00	2.01	0.229	32.61	3.09	6.84	5.00	57.70	0.002
PASTOS ESTIVALES RASTREROS	0.85	0.85	0.01	0.01	2.93	0.162	5.16	3.68	21.04	0.43	55.11	0.002
LEGUMINOSAS	20.88	12.45	0.21	0.17	5.00	0.111	8.10	2.63	1.50	1.50	14.27	0.019
CIPERACEAS	3.56	3.72	0.29	0.48	2.28	0.205	7.67	4.71	0.66	0.66	6.52	0.063
DICOTS	28.18	19.14	0.15	0.25	6.43	0.064	0.26	0.09	18.65	0.65	23.58	<0.001
MATERIAL SECO EN PIE	12.61	3.27	13.07	7.92	0.01	0.930	17.26	0.52	46.00	6.97	50.81	0.002

b) Contribución absoluta (kg MS·ha ⁻¹ ·periodo)												
GRUPOS FUNCIONALES	INVIERNO-PRIMAVERA						VERANO-OTOÑO					
	TESTIGO		GLIFOSATO		F	P	TESTIGO		GLIFOSATO		F	P
	MEDIA	EE	MEDIA	EE			MEDIA	EE	MEDIA	EE		
PASTOS ANUALES	124	43	2248	104	119.00	<0.001	137	2	26	4	162.523	<0.001
PASTOS PERENNES	695	19	16	6	400.72	<0.001	281	45	2	0	13.071	0.022
PASTOS ESTIVALES ERECTOS	13	5	0	0	2.01	0.229	484	29	35	9	74.915	0.001
PASTOS ESTIVALES RASTREROS	21	7	0	0	2.94	0.161	79	21	109	1	0.694	0.452
LEGUMINOSAS	514	102	5	1	8.22	0.046	121	15	8	3	18.406	0.013
CIPERACEAS	88	31	7	4	2.26	0.208	116	24	3	1	7.028	0.057
DICOTS	692	156	4	2	6.49	0.063	4	0	96	2	1029.683	<0.001
MATERIAL SECO EN PIE	310	27	336	62	0.05	0.836	256	10	238	12	0.454	0.538

Dado que del análisis de varianza con arreglo de medidas repetidas para cada grupo funcional surgió que el factor período no fue significativo, se promediaron los datos de invierno-primavera y verano-otoño de cada período. Se indican las medias \pm 1ES y los valores F y P correspondientes al factor principal Tratamiento.

4.3.3. Efecto del glifosato sobre la eficiencia en el uso de la radiación

La eficiencia en el uso de la radiación (EUR) calculada como el cociente entre la PPNA y la RFAa (Ecuación 2) varió estacionalmente siguiendo un patrón diferente en los lotes sometidos a la aplicación de glifosato respecto de los lotes testigo (TRAT: F=27.91, P=0.0062, MES: F=16.75 P<0.001, TRAT x MES: F=9.255, P<0.001; Fig. 4.5). En los lotes pulverizados, la máxima EUR se alcanzó en los meses de agosto y septiembre, superando a la EUR de los lotes testigo. En cambio, en los lotes no

pulverizados la máxima EUR se registró en los meses cálidos y resultó mayor a la de los lotes pulverizados (Fig. 4.5). La variabilidad de los valores de EUR fue superior en los lotes pulverizados respecto de los lotes testigo (rango 0.01-2.30, varianza=0.23 vs. rango 0.03-1.29, varianza=0.07 respectivamente).

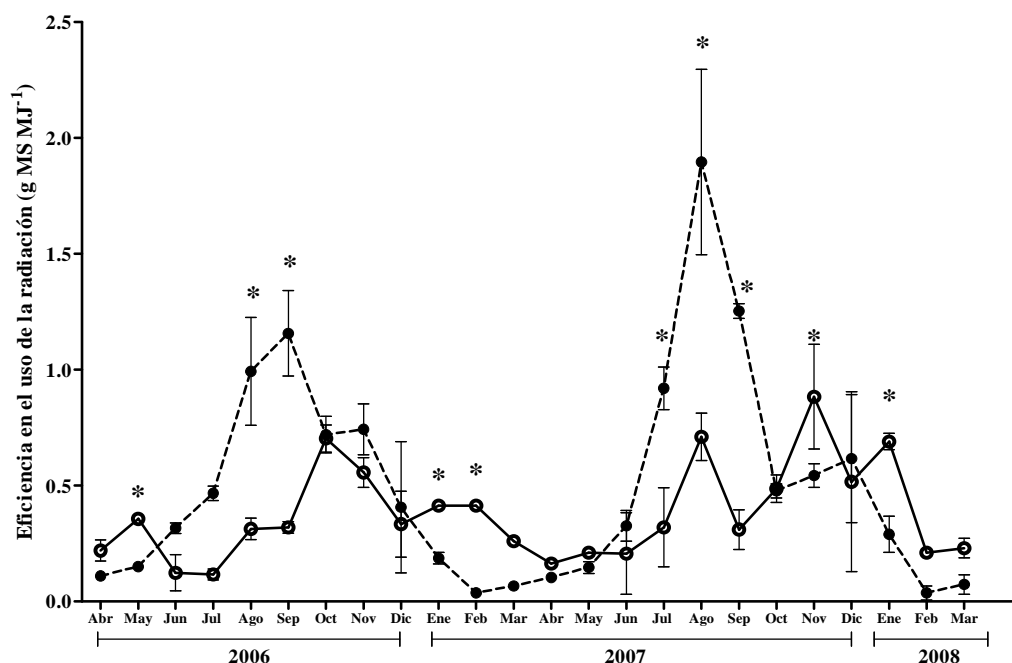


Figura 4.5. Eficiencia en el uso de la radiación para los lotes de pastizal natural testigo sin pulverizar (línea entera) y para los lotes pulverizados con glifosato (línea punteada) entre abril de 2006 a marzo de 2008. Las barras verticales indican 1DS de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para cada mes ($p < 0.05$) derivadas del análisis de contrastes.

Cuando se estimó la EUR del pastizal testigo no pulverizado mediante un modelo de regresión lineal simple entre la PPNA y la RFAa, los datos se agruparon en dos conjuntos según el período considerado, uno de octubre a enero y otro de febrero a septiembre (Fig. 4.6 a). Se obtuvo una relación lineal significativa tanto para el período octubre-enero ($y=0.248x+45.74$; $r^2=0.33$, $F=42.44$, $P=0.0064$) como para el período febrero-septiembre ($y=0.160x+4.48$; $r^2=0.464$, $P < 0.0001$). No se hallaron diferencias significativas entre las pendientes ($F=1.81$, $P=0.1819$) que representan la tasa de incremento de la PPNA en función del aumento de la RFAa. Las ordenadas al origen fueron significativamente distintas de cero (período octubre-enero: $F=14.97$, $P=0.001$, período febrero-septiembre $F=7.82$, $P=0.007$) y diferentes entre sí ($F=171.46$, $p < 0.0001$), indicando que para un mismo valor de RFAa, la PPNA fue aproximadamente 40 g MS m^{-2} mayor en el período octubre-enero que en el período febrero-septiembre (Fig. 4.6 a). En los lotes pulverizados con glifosato también surgieron dos grupos de datos al aplicar el mismo modelo. En el período agosto-diciembre, cuando la radiación es absorbida mayoritariamente por ryegrass anual, se obtuvo una relación lineal significativa ($y=0.297x+30.87$, $r^2=0.534$, $p < 0.0001$), con una ordenada al origen distinta de cero ($F=54.92$, $P < 0.001$). En el período enero-julio que no se halló relación entre la PPNA y la RFAa ($y=0.050x+13.10$, $r^2=0.0324$, $p=0.242$) (Fig. 4.6 b). La pendiente y la ordenada al origen de la regresión del pastizal pulverizado con glifosato de agosto a diciembre fueron similares a las del pastizal no

pulverizado de octubre a enero (Pendiente: $F=0.205$, $P=0.615$; Ordenada al origen: $F=3.847$, $P=0.055$). En cambio, la pendiente de la regresión del pastizal pulverizado con glifosato de agosto a diciembre resultó mayor que la del pastizal no pulverizado de febrero a septiembre ($F=6.98$, $P=0.010$).

El rango de valores de RFAa del pastizal testigo en el período octubre-enero ($40-222 \text{ MJ m}^{-2} \text{ mes}^{-1}$) resultó más amplio y alcanzó valores más altos, duplicando al rango registrado en el período febrero-septiembre en el mismo pastizal ($12-128 \text{ MJ m}^{-2} \text{ mes}^{-1}$) y a los rangos registrados en el pastizal pulverizado con glifosato durante el período enero-junio ($18-124 \text{ MJ m}^{-2} \text{ mes}^{-1}$) y agosto-diciembre ($18-101 \text{ MJ m}^{-2} \text{ mes}^{-1}$) (Fig. 4.6)

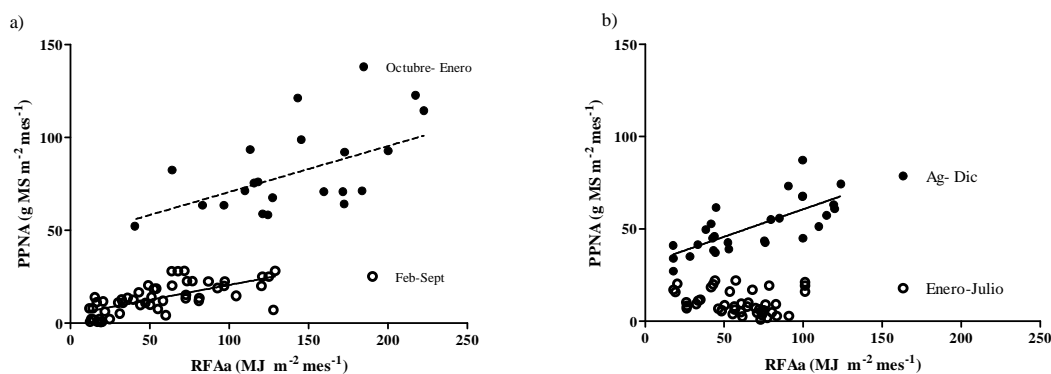


Figura 4.6: Regresiones lineales simples entre la productividad primaria neta aérea (PPNA), estimada mediante cortes de biomasa y la radiación fotosintéticamente activa absorbida mensual (RFAa) obtenida mediante imágenes satelitales, desde abril de 2006 a marzo de 2008 (24 meses) para los tres lotes de pastizal testigo no pulverizado (a) y para los tres lotes pulverizados con glifosato (b). Se presenta la recta de regresión lineal cuando resultó significativa.

4.3.4. Efecto del glifosato sobre las propiedades químicas de los suelos

La pulverización recurrente con glifosato redujo, en promedio, el contenido de carbono orgánico y de fósforo del suelo y no produjo un efecto significativo sobre el contenido de nitrógeno, aunque los valores medios fueron inferiores durante los años de estudio. No se hallaron diferencias entre años ni interacción con el tratamiento en ninguna de las tres variables (Fig. 4.7).

El contenido de carbono orgánico se redujo paulatinamente en los lotes pulverizados, encontrándose en el año 2012 un contenido menor que en los lotes testigo (Contraste $F_1= 36.7$, $P= 0.003$) (Fig. 4.7 a). Si bien el contenido de N del suelo no evidenció diferencias significativas entre tratamientos en el período evaluado (Fig. 4.7 b) en el año 2012 se observó una tendencia a disminuir en los lotes pulverizados (Contraste $F_1= 6.5$ $P= 0.08$). Respecto del contenido de P, si bien no hubo diferencias entre tratamientos en cada año de muestreo, el contenido de P promedio del período analizado en los lotes pulverizados fue inferior al de los lotes testigo (5.4 vs 6.1 ppm respectivamente).

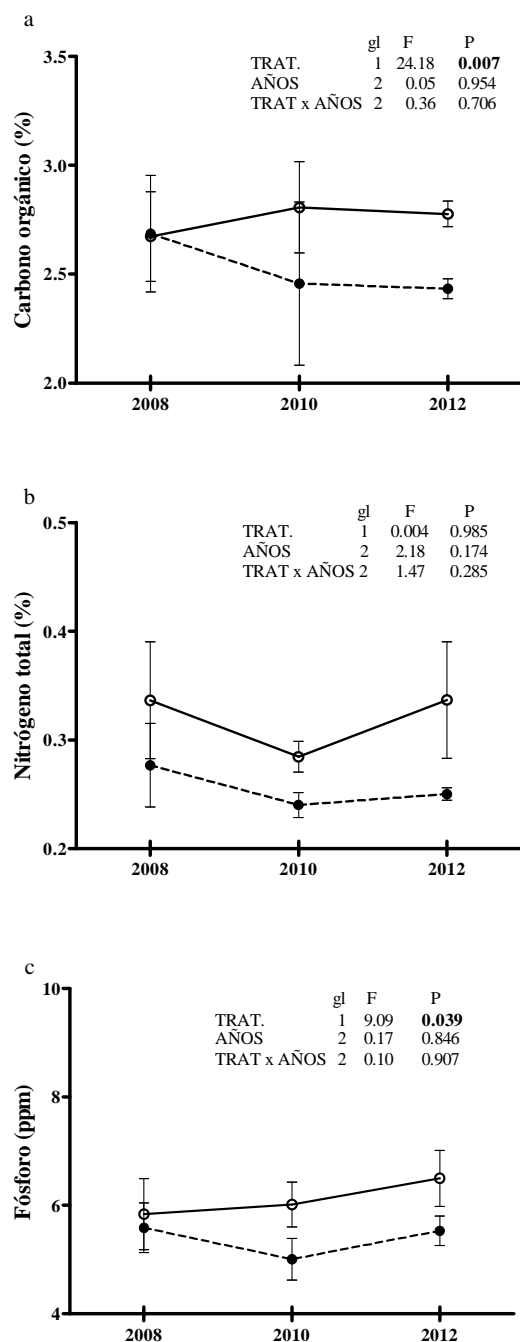


Figura 4.7: Evolución del contenido de carbono orgánico (a), de nitrógeno total (b) y de fósforo total (c) de los suelos de los lotes pulverizados recurrentemente con glifosato (línea punteada) y de los suelos de los lotes de pastizal natural no pulverizado (línea entera) entre los años 2008 a 2012. Las barras horizontales indican 1ES de las medias. Se insertaron los valores F y P del ANVA con arreglo de medidas repetidas.

4.4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sustentan la hipótesis propuesta en lo referido a la predicción de que los cambios estructurales provocados por la aplicación recurrente de glifosato modificaron el patrón estacional de la captación de energía (estimada mediante

la radiación fotosintéticamente activa absorbida) y de la productividad primaria neta aérea, que se incrementaron durante invierno-primavera y se redujeron en verano respecto de los pastizales no pulverizados. Respecto de la predicción sobre la disminución, en el mediano a largo plazo, del contenido de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo del suelo en los pastizales no pulverizados, mis resultados corroboran la reducción en el contenido de carbono orgánico y fósforo luego de diez años de aplicación recurrente de glifosato, pero no permiten aseverar la misma respuesta con el contenido de nitrógeno.

La reducción de la captación de energía durante el verano en los pastizales pulverizados con glifosato sería consecuencia de la drástica disminución de la cobertura basal en esa estación, que disminuyó a menos del 20%, debido principalmente a la importante disminución de la contribución relativa de pastos y leguminosas estivo-otoñales (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II). El incremento de la captación de energía durante invierno-primavera en los lotes pulverizados con glifosato no alcanzó a compensar la disminución en verano, resultando en una menor captación anual de energía. La aplicación recurrente de glifosato disminuyó drásticamente la proporción relativa de los pastos y leguminosas estivales (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II), que son los grupos funcionales que contribuyen en mayor medida a la generación del índice de área foliar en verano, explicando la reducción de la captación de energía en esta estación. En cambio, durante los meses fríos, entre mayo a agosto o septiembre, la captación de energía resultó superior en los los pastizales pulverizados con glifosato debido al fuerte incremento de la cobertura de *L. multiflorum* (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II), cuyas tasas de crecimiento en invierno son superiores a la de los pastos perennes nativos del pastizal o naturalizados (Lemaire y Agnusdei 2000). Debido a eso, cuando esta especie domina la comunidad, el índice de área foliar resultaría superior a la de los pastizales no disturbados. Los resultados de este trabajo demuestran además que el cambio en el patrón de captación de energía ocurrió tanto a escala lote, a escala establecimiento y a escala regional y, con pocas variaciones, se repitió en los ocho períodos analizados (abril 2000 a marzo de 2008), poniendo de relevancia el impacto de esta práctica para los pastizales de la región.

La productividad primaria está fuertemente relacionada con la radiación absorbida (Monteith 1972) y, más precisamente, con el índice de área foliar que determina la fracción de la radiación fotosintéticamente activa absorbida por los tejidos verdes (Baret y Guyot 1991, Sellers et al. 1992, Gamon et al. 1995, Asner 1998, Gower et al. 1999, Reeves et al. 2001, Nemani et al. 2003, Asner et al. 2004, Paruelo et al. 2004). En particular para los pastizales del Río de La Plata se verificó que la productividad primaria neta aérea esta significativamente asociada a la radiación fotosintéticamente activa absorbida (Piñeiro 2006). Por esta razón, los cambios en la productividad primaria neta aérea anual y en su dinámica estacional causados por la aplicación recurrente de glifosato siguieron el mismo patrón de respuesta que los cambios en la captación de energía. Así como ocurrió con la captación de energía, la productividad primaria neta aérea durante invierno-primavera en los lotes pulverizados con glifosato no alcanzó a compensar la disminución en verano, resultando en una menor productividad primaria neta aérea anual.

La drástica reducción de la contribución de los pastos C_4 cespitosos, que aportan mayoritariamente a la generación del área foliar en verano, no fue compensada con el incremento de los pastos anuales C_3 para mantener una producción primaria anual similar entre los pastizales pulverizados y los testigos. Arzadum y Mestelan (2009) informaron respuestas similares al comparar el efecto de la aplicación de glifosato a fin

de verano en parcelas experimentales pequeñas (8 m²) en un pastizal de la Pampa Deprimida. Estos autores hallaron que el incremento de contribución en materia seca de *Lolium multiflorum* no compensó la disminución de *Lotus tenuis* y de los pastos estivales, resultando en una disminución de casi el 30% de la producción de materia seca total anual. Esta respuesta puede explicarse por las diferencias entre los metabolismos C₃ y C₄, que reúnen un conjunto de características que les confieren beneficios ecológicos para ocupar o coexistir en diversos hábitats del paisaje (Johnston 1996), entendiendo que la diversidad de hábitats también involucra las variaciones climáticas estacionales. Es ampliamente conocido que, en las condiciones climáticas del verano, con altas temperaturas, mayor intensidad de luz y demanda atmosférica, los pastos C₄ son más eficientes en el uso del agua que los pastos C₃ debido a que el metabolismo C₄ opera con bajas conductancias estomáticas permitiendo la fijación de carbono a potenciales agua más bajos que el metabolismo C₃. En cambio, en las especies C₃ la fotorespiración aumenta a mayor intensidad de luz y a temperaturas superiores a 25°C (Black 1971, Osmond et al. 1982), reduciendo la fijación neta de carbono (Black et al. 1969). Además, la temperatura óptima para la fotosíntesis en las plantas C₄ es generalmente mayor que en las C₃ (30-40 versus 10-25°C) y la saturación lumínica en plantas C₄ se alcanza a mayor intensidad de luz y a mayor índice de área foliar en las plantas C₃, que requieren mantener los estomas abiertos y de un rápido intercambio gaseoso con la atmósfera a menores intensidades de luz y temperaturas para maximizar la tasa fotosintética (Black et al. 1969, Osmond et al. 1982). Por lo tanto, en la escala temporal de un año completo, que incluye las variaciones climáticas propias del período primavera-estival y del otoño-invernal, la drástica disminución de los pastos cespitosos C₄ no puede ser compensada por el incremento de los pastos anuales C₃.

La eficiencia en el uso de la radiación (EUR) representa la eficiencia de conversión de energía en biomasa, una medida de la cantidad neta de carbohidratos sintetizados o tejidos generados por unidad de energía solar absorbida (Oyarzabal et al. 2010). La EUR varía con el tipo de vegetación y depende de las temperaturas, de las precipitaciones y de la disponibilidad de nutrientes (Prince 1991, Field et al. 1995, Gamon et al. 1995, Gower et al. 1999, Nouvellon et al. 2000 en Piñeiro 2006), por lo tanto varía estacionalmente para un mismo sitio. Considerando la escala espacial y el diseño del experimento, las diferencias en la EUR entre los pastizales pulverizados y no pulverizados se deben exclusivamente a la aplicación de glifosato. Los valores promedio de EUR obtenidos mediante el cociente entre la PPNA y RFAa fueron similares a los informados por Piñeiro et al. (2006) para pastizales de la misma región: 0.2 a 1.2 g MS MJ⁻¹ en los meses fríos y cálidos respectivamente. Las diferencias en el patrón temporal de la EUR entre los pastizales pulverizados y no pulverizados responden a los cambios en la contribución relativa de los principales grupos florísticos y a su fenología. En invierno y principios de primavera (julio a septiembre) los lotes pulverizados con glifosato registraron EUR máximas y superiores a los de los lotes testigo, como resultado de la predominancia de los pastos C₃ anuales, en particular de *Lolium multiflorum*. Por el contrario, en los meses cálidos (enero, febrero) la drástica disminución de la contribución de los pastos C₄ erectos y C₃ perennes explican la significativa disminución de la EUR cuando se pulverizó con glifosato. Los drásticos cambios en la contribución relativa de estos grupos funcionales se reflejan también en la mayor variabilidad estacional de la EUR en los lotes pulverizados con glifosato.

De la aplicación del modelo de regresión lineal simple entre la RFAa y la PPNA surgió un agrupamiento diferencial de los datos según los tratamientos y los períodos del año, que también se explican por los cambios en la contribución relativa de los principales grupos florísticos y su fenología. En el pastizal testigo en el período octubre-

enero se registran las mayores tasas de crecimiento de los pastos invernales perennes (octubre-noviembre) y de los pastos estivales erectos (noviembre-enero) (León y Bertiller 1982), que son los dos grupos funcionales que predominan en este período en el pastizal. La alta contribución relativa de los pastos estivales erectos en este período se reflejó en la amplitud del rango de valores de RFAa, que duplicó al rango registrado en el período febrero-septiembre en el mismo pastizal y a los rangos registrados en el pastizal pulverizado con glifosato en los dos períodos. Asimismo, la alta contribución de este grupo determinaría la mayor ordenada al origen, que refleja la más alta eficiencia de conversión de energía absorbida en biomasa de los pastos C₄ respecto de los C₃ (Sinclair y Muchow 1999, Cruz y Boval 2000) y explica la mayor PPNA anual alcanzada en este pastizal respecto del pastizal pulverizado. En el período febrero-septiembre, si bien en los primeros meses predominan los pastos C₄, suele registrarse déficits hídricos (Soriano et al. 1991) que afectan el crecimiento de una de las especies que más contribuye a este grupo, *Paspalum dilatatum* (Loreti y Oesterheld 1996). Luego, a partir de marzo predominan los pastos C₃ perennes en condiciones ambientales de menor irradiancia y temperaturas, que se refleja en la menor ordenada al origen y en el menor rango de valores de RFAa, determinando una menor PPNA en este período. En el pastizal pulverizado con glifosato, los pares de datos RFAa-PPNA se agruparon en dos períodos distintos a los del pastizal testigo debido a la gran predominancia del grupo de pastos C₃ anuales, en particular de *L. multiflorum*, y a la drástica disminución de la contribución de otros grupos como los pastos C₃ perennes y C₄ erectos. Los datos del período agosto-diciembre reflejan la dinámica de crecimiento de *L. multiflorum*, desde el momento en que generó un área foliar suficiente para establecer una relación directa entre la RFAa y la tasa de crecimiento, lo que ocurriría luego de la instalación y establecimiento de las plántulas durante el otoño y principios de invierno, hasta que termina su ciclo en diciembre (Rodríguez 2004). En el período enero-julio no hubo correlación entre la RFAa y la PPNA en el pastizal pulverizado con glifosato y la eficiencia en el uso de la radiación fue muy baja (0.05 g MS MJ⁻¹), debido a que los pastos C₄ erectos y C₃ perennes tuvieron muy baja contribución y a que la cobertura vegetal fue extremadamente baja en verano (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II). Resulta interesante señalar que no hubo diferencias significativas entre las pendientes de las regresiones del pastizal pulverizado agosto-diciembre y del pastizal testigo octubre-enero, como así tampoco entre esta última y la del pastizal testigo febrero-septiembre, sugiriendo que la tasa a la que la radiación absorbida se convierte en biomasa es similar entre los grupos funcionales que predominan en cada período y tratamiento del pastizal, y que la diferencia en cada caso es un valor constante que dependería de la identidad del grupo funcional. Así, en el pastizal testigo en el período febrero-septiembre predominan los pastos C₃ perennes y en el período octubre-enero, los pastos C₄ erectos y en el pastizal pulverizado en agosto-diciembre predominan los pastos C₃ anuales, con constantes (ordenada al origen) de aproximadamente 5, 45 y 30 g MS MJ⁻¹ respectivamente. Por lo tanto, para un mismo valor de RFAa, se puede esperar que la tasa de crecimiento sea 25 g MS m⁻² mes⁻¹ mayor cuando predominan los pastos C₃ anuales y 40 g MS m⁻² mes⁻¹ cuando predominan los pastos C₄ erectos que cuando predominan los pastos C₃ perennes.

La estimación de la EUR mediante el modelo de regresión lineal simple entre la RFAa y la PPNA resultó limitada en su precisión ya que de las regresiones se obtuvieron ordenadas al origen distintas de cero y positivas tanto en el pastizal pulverizado como en el pastizal testigo. Por lo tanto, las pendientes de estas regresiones no estiman con precisión a la EUR, ya que sólo cuando la ordenada al origen es igual a cero, la pendiente del modelo es la EUR. En este caso, las pendientes obtenidas

subestimarían a la EUR porque el modelo predice productividad positiva con radiación absorbida igual a cero (Verón et al. 2005). Estos resultados alertan sobre las limitaciones en la estimación de la PPNA cuando la EUR se obtiene mediante este modo.

Luego de diez años de pulverización recurrente con glifosato, el contenido de carbono orgánico y de fósforo del suelo se redujo mientras que el contenido de nitrógeno tendió a ser inferior, aunque no significativamente, comparado con los pastizales no pulverizados. Esta respuesta puede ser atribuida a la disminución de la producción de biomasa estival y total y al cambio en la composición florística de la comunidad, dado que está ampliamente documentado que los cambios en la magnitud y en la dinámica de la PPNA y en su composición pueden alterar el ciclo de carbono que, a su vez, ejerce un control importante sobre la disponibilidad de nitrógeno y fósforo del ecosistema (Detling 1988, Hobbs et al. 1991, Wedin 1996, Chaneton et al. 1996). En los ecosistemas pastoriles, la descomposición de la broza y la mineralización de la materia orgánica del suelo son procesos clave en el ciclo del carbono y de los nutrientes (Wedin y Tilman 1990, Lambers et al. 1999), que dependen de factores abióticos como temperatura, disponibilidad hídrica y de nutrientes, y bióticos, principalmente de la abundancia y composición de la comunidad vegetal y de la de microorganismos del suelo (Smith et al. 2003). Tanto la cantidad de biomasa aérea producida que no es consumida por el ganado como la identidad y abundancia de las especies vegetales -que determina la calidad de la broza como resultante de la composición química de sus tejidos, ejercen un fuerte control sobre estos procesos (Bardgett y Shine 1999, Hector et al. 2000, Aerts and Chapin, 2000). Este control está regulado, al menos parcialmente, por la relación C:N y el contenido de lignina de los tejidos, que al aumentar afecta negativamente la tasa de descomposición de la broza (Melillo et al. 1982, Taylor et al. 1989, Vargas et al. 2006). La pulverización recurrente de glifosato no solo disminuyó la biomasa total producida durante el período estivo-otoñal, sino que casi la mitad de esta biomasa fue material seco en pie, constituido principalmente por varas florales muertas de *L. multiflorum*. Esta acumulación de tejido muerto sería consecuencia de la ausencia de pastoreo en los lotes pulverizados a partir de noviembre y hasta fin de otoño. En ausencia de pastoreo, no se produciría la reducción del tamaño de partículas del tejido vegetal y el mayor contacto de la broza con el suelo, generados por el pisoteo, que facilita la descomposición de la broza (Briske y Heitschmidt 1991). El uso pasturil de estos lotes pulverizados recurrentemente con glifosato se concentra en invierno-primavera, aprovechando las altas tasas de crecimiento de *L. multiflorum* con cargas animales que implican altas tasas de extracción de forraje (de la Vega et al. 2004). Puede especularse entonces que en esta situación ocurre un mayor consumo animal que deriva en menor biomasa aérea remanente que se transforme en broza (Briske y Heitschmidt 1991), como a sí también que la dominancia de un pasto anual en detrimento de los pastos perennes implicaría una importante reducción de la biomasa radical respecto de los lotes no pulverizados, ya que la biomasa radical puede ser hasta tres veces menor en los pastos anuales respecto de los perennes (Mapfumo et al. 2002). Además, la pulverización con glifosato redujo dramáticamente la contribución relativa y absoluta de leguminosas, que presentan altas tasas de descomposición como resultado del mayor contenido de N inicial en sus tejidos (Montané et al. 2010). Estos factores conducirían a una restricción en la cantidad y calidad del sustrato a descomponer, explicando la disminución del contenido de carbono orgánico y de P del suelo (Knops et al. 2010). En cambio, la mineralización de la materia orgánica del suelo es mucho más importante que la mineralización de la broza en el ciclo del N, ya que el 98% del pool de N de los pastizales está contenido en la materia orgánica del suelo (Knops y Bradley,

2009) lo que podría explicar que luego de diez años de aplicación recurrente de glifosato el contenido de N del suelo no haya evidenciado cambios significativos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES GENERALES

En este capítulo desarrollo las conclusiones generales de la tesis a partir de los resultados más importantes y de los aportes más novedosos, integrados en un modelo conceptual de la teoría de los sistemas (Bertalanffy 1968) y propongo un modelo de estados y transiciones (Westoby et al. 1989) que describe los estados alternativos y las transiciones del pastizal bajo pastoreo sometido a la aplicación recurrente de glifosato. Finalmente planteo perspectivas y líneas de investigación que se abren a partir de esta tesis.

5.1.1. Un modelo conceptual de los efectos del glifosato sobre el pastizal

La integración de los resultados de los experimentos manipulativos y mensurativos discutidos en los capítulos II, III y IV me permiten proponer un modelo conceptual que describe los efectos del glifosato en los distintos niveles de organización del pastizal con un enfoque jerárquico (Allen y Starr 1982, O'Neill et al. 1986, Allen y Hoekstra 1992). La pulverización con glifosato a fin de verano, con la dosis habitualmente usada y con la mitad de esta dosis, tuvo un efecto deletéreo directo total sobre la regeneración vegetativa (Fig. 5.1, I) al provocar la muerte de los tejidos de las poblaciones que vegetaban al momento de la pulverización y un efecto deletéreo directo parcial sobre la emergencia y crecimiento de plántulas (Fig. 5.1, II) de cuatro especies perennes representativas de los grupos funcionales más importantes de estos pastizales. A su vez, la mortandad de todos los módulos y propágulos vegetativos impidió el rebrote posterior a la pulverización, causando como efecto negativo indirecto la supresión de la reproducción y producción de semillas (Fig. 5.1, III) (Cap. III). En este nivel jerárquico, las poblaciones vegetales interactúan entre sí mediante diversos procesos biológicos que pueden ser alterados por los disturbios, explicando los cambios en los atributos propios de la comunidad vegetal, como la composición florística, la diversidad de la vegetación y del banco de semillas. En efecto, la aplicación de glifosato a fin de verano, al provocar la muerte de los tejidos de las poblaciones que vegetaban al momento de la pulverización, en su mayoría pastos perennes, eliminó la competencia generando condiciones ventajosas para la germinación de especies otoño-invierno-primaverales tanto perennes como anuales (Fig. 5.1, IV). Las relaciones de competencia entre pastos invernales anuales y perennes se alteran durante la etapa de establecimiento (Corbin y D'Antonio, 2004), cuando los pastos anuales, en particular de *L. multiflorum* al tener mayor tasa de crecimiento, desplazaron competitivamente a los pastos perennes (Fig. 5.1, V) (Cap. II). Estos efectos directos e indirectos del glifosato sobre las poblaciones vegetales alteraron procesos que determinaron los cambios en la composición de la vegetación (Fig. 5.1, i, ii, iii) y del banco de semillas (Fig. 5.1, iv, v) de la comunidad y en la similitud entre la composición del banco de semillas y de la vegetación (Fig. 5.1, VI) (Cap. II). Los atributos de la comunidad vegetal afectados por la aplicación recurrente de glifosato determinaron fuertes cambios en algunos procesos del ecosistema. La composición de la vegetación y su dinámica estacional, que presentó muy baja cobertura en verano, menor contribución relativa de pastos y leguminosas perennes estivales e invernales y una alta dominancia pastos anuales invernales, principalmente de *L. multiflorum* cuando se aplicó glifosato, explicaron la disminución en la cantidad de energía absorbida por año y los cambios en el patrón estacional de captación (Fig. 5.1, VII), que a su vez determinaron los cambios, en el mismo sentido, de la PPNA total anual y en su dinámica estacional (Fig. 5.1, VIII).

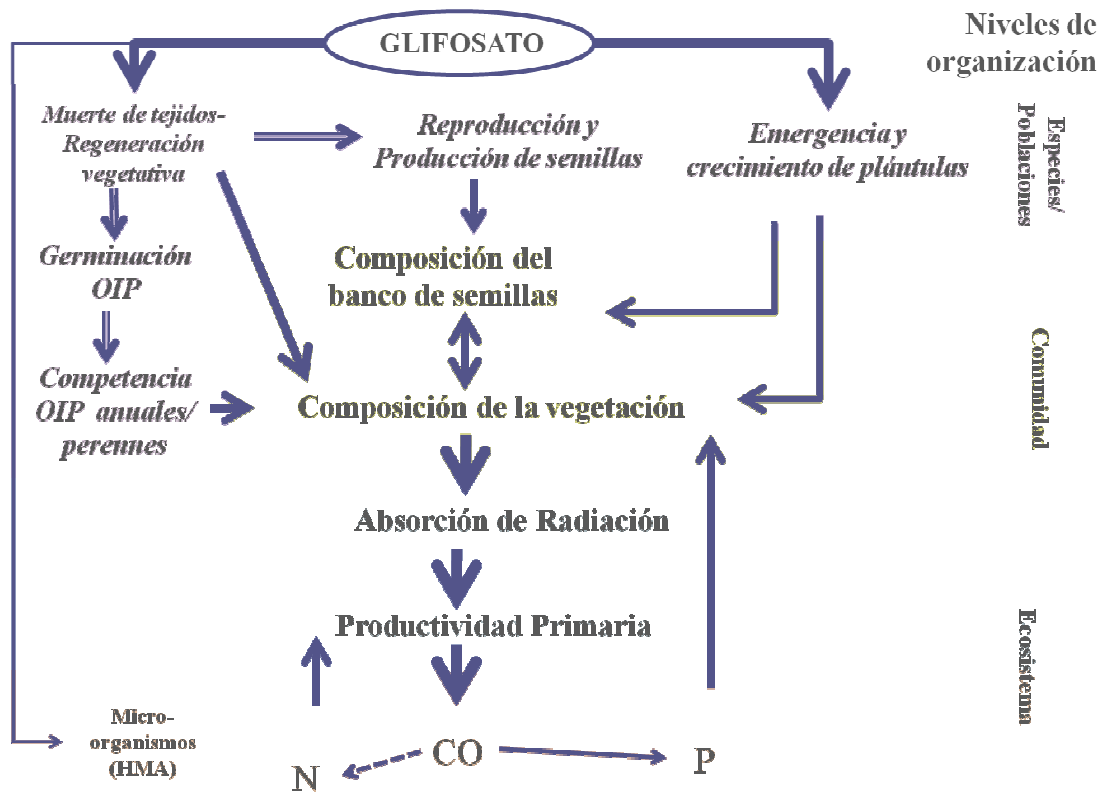


Figura 5.1. Modelo conceptual de los efectos del glifosato en los distintos niveles de organización del pastizal. OIP: grupo funcional de pastos C₃ otoño-invierno- primaverales, HMA: hongos micorríticos arbusculares, MO: materia orgánica, N: nitrógeno, P: fósforo. Los números de las flechas indican procesos que se explican en el texto.

La aplicación recurrente de glifosato, al disminuir la PPNA total anual, reduce concomitantemente el aporte de biomasa aérea y radical que senesce y se incorpora al suelo y, por lo tanto, el contenido de MO del suelo (Fig. 5.1, IX), sugiriendo un efecto detrimental sobre el flujo de carbono en este ecosistema (Detling 1988, Hobbs et al. 1991, Wedin 1996). Dado que el aporte de MO a través del flujo de carbono resulta relevante en el ciclo del N y P de los pastizales, su disminución estaría asociada a la tendencia a registrar menores contenidos de N (Fig. 5.1, X) y P (Fig. 5.1, XI) en el suelo (Chaneton et al. 1996) (Cap. IV). La disminución del contenido de MO, N y P del suelo podrían conducir a un cambio en la composición florística (Fig. 5.1, XII), caracterizado por la dominancia de especies más eficientes en el uso de los nutrientes en detrimento de las más productivas y menos eficientes y de las leguminosas y/o a una reducción de la productividad de las especies existentes (Fig. 5.1, XIII) debido a la menor disponibilidad de recursos. La aplicación de glifosato también ejerce un efecto indirecto sobre la diversidad de micorrizas (Druille et al. 2013) al reducir la diversidad florística de la población (Fig. 5.1, XIV).

Es frecuente el uso de herbicidas en experimentos de remoción diseñados para investigar los efectos de la extinción de alguna especie o grupo funcional sobre la dinámica de la vegetación, los atributos de la comunidad o el funcionamiento de los ecosistemas (Virágh 1986, 1987, 1989, Virágh y Gerencsér, 1988, Aarssen y Epp 1990, Campbell et al. 1991, Díaz et al. 2003, Eriksson et al 2006, Davies et al 2007, Cherwin

et al. 2009, Parfitt 2010, Skurski et al 2013). En estos experimentos se utilizan herbicidas selectivos (graminicidas o de hoja ancha) para erradicar o disminuir la dominancia de una especie o grupo funcional en particular (monocotiledóneas o dicotiledóneas), o herbicidas de amplio espectro aplicados individualmente a las plantas de las especies o grupos objeto de control o en pequeños parches. Además de producir un fuerte impacto sobre el grupo funcional a controlar (Pavlik et al. 1993, Cione et al. 2002), el tipo de herbicida, la dosis y frecuencia de aplicación producen respuestas diferentes en los grupos funcionales a preservar (Flory y Clay 2009). La aplicación de glifosato a fin de verano puede entenderse como un “tratamiento de remoción” que elimina o controla todos los grupos funcionales con actividad fotosintética al momento de la pulverización (monocotiledóneas y dicotiledóneas perennes), quedando excluidos sólo los grupos funcionales que reúnen especies anuales de ciclo otoño-invierno-primaveral, produciendo una marcada reducción de la diversidad funcional y florística (Cap. II). Este significativo cambio en la diversidad de los grupos funcionales explica en gran medida los cambios en las propiedades del ecosistema (Diaz y Cabido 2001, Meiners et al. 2009) (Fig. 5.1.). A su vez, puede preverse que la reducción de la diversidad de grupos funcionales conducirá a la pérdida de la integridad ecológica (Pokorny et al. 2005) y de la estabilidad en las propiedades de este ecosistema (Hooper et al. 2005). Si bien en pastizales se ha investigado exhaustivamente el efecto del pastoreo de herbívoros domésticos sobre los atributos de poblaciones y grupos funcionales (Noy-Meir y Briske 1996, 2002, Jacobo et al. 2000, Noy-Meir y Kaplan 2002) o comunidades (Milchunas 2006, Jacobo et al. 2006) y sobre procesos del ecosistema (Milchunas y Lauenroth 1993, Chaneton et al. 1996, Rush et al. 1997, Frank 2005, Garibaldi et al. 2007, Harrison y Bardgett 2008) y sobre las relaciones entre los distintos niveles de organización (Hooper y Vitousek 1997, Bardgett y Shine 1999, Bagchi y Ritchie 2010), esta tesis constituye el primer antecedente que indaga los efectos de un herbicida en diferentes niveles de organización y los relacionen entre sí en un modelo conceptual integral (Fig. 5.1.) que explica los cambios en el funcionamiento del pastizal.

5.1.2. Un modelo de estados y transiciones

En este marco de la teoría sucesional se han desarrollado diversos modelos que explican la dinámica de los cambios generados por los disturbios naturales o antrópicos sobre los ecosistemas (Pickett et al. 1987). El modelo sucesional clásico propuesto por Clements (1916) plantea que el reestablecimiento de la composición de especies y el funcionamiento de una comunidad vegetal luego de haber sido eliminada total o parcialmente por un disturbio sigue una secuencia de etapas predecibles a través del tiempo hasta volver a la situación inicial (clímax), previa a la ocurrencia del disturbio. Este modelo determinístico fue discutido por Gleason (1926), argumentando que la secuencia de etapas, o trayectoria de la sucesión, no es predecible ya que depende de eventos imprevistos siendo, por lo tanto un proceso estocástico. Los aportes posteriores de diversos investigadores (Egler 1954, Connell y Slatyer 1977, Pickett et al. 1987, Tilman 1988) llevan actualmente a considerar que la trayectoria de la sucesión ecológica depende tanto de procesos estocásticos como determinísticos. En este marco conceptual, Westoby y colaboradores (1989) propusieron el “modelo de estados y transiciones” aplicado a ecosistemas pastoriles naturales o seminaturales, que plantea la ocurrencia de cambios o transiciones reversibles o irreversibles generados por la combinación de distintos eventos previsible o estocásticos, que pueden dar lugar a estados estables alternativos. Este modelo permite explicar los estados alternativos en que puede encontrarse una comunidad vegetal y sus posibles transiciones en función de la combinación de distintos tipos, intensidades y frecuencias de disturbios y ha sido

utilizado ampliamente en la literatura relacionada a la ecología y al manejo de pastizales (Milton y Hoffman 1994, Llorens 1995, Pucheta et al. 1997, Aguilera et al. 1998, León y Burkart, 1988, Jacobo 2003, Briske et al. 2005, Briske et al. 2008).

Utilizando los resultados de los experimentos que componen esta tesis y los de otros autores (León y Burkart, 1998, Jacobo 2003, Jacobo et al. 2006, Arzadum y Mestelan 2009), propongo un modelo de estados y transiciones de la pradera húmeda de mesófitas del pastizal de la Pampa Deprimida sometido a distintas modalidades de pastoreo y a la aplicación única (un año) o recurrente (más de 6 años consecutivos) de glifosato a fin de verano (Fig. 5.2).

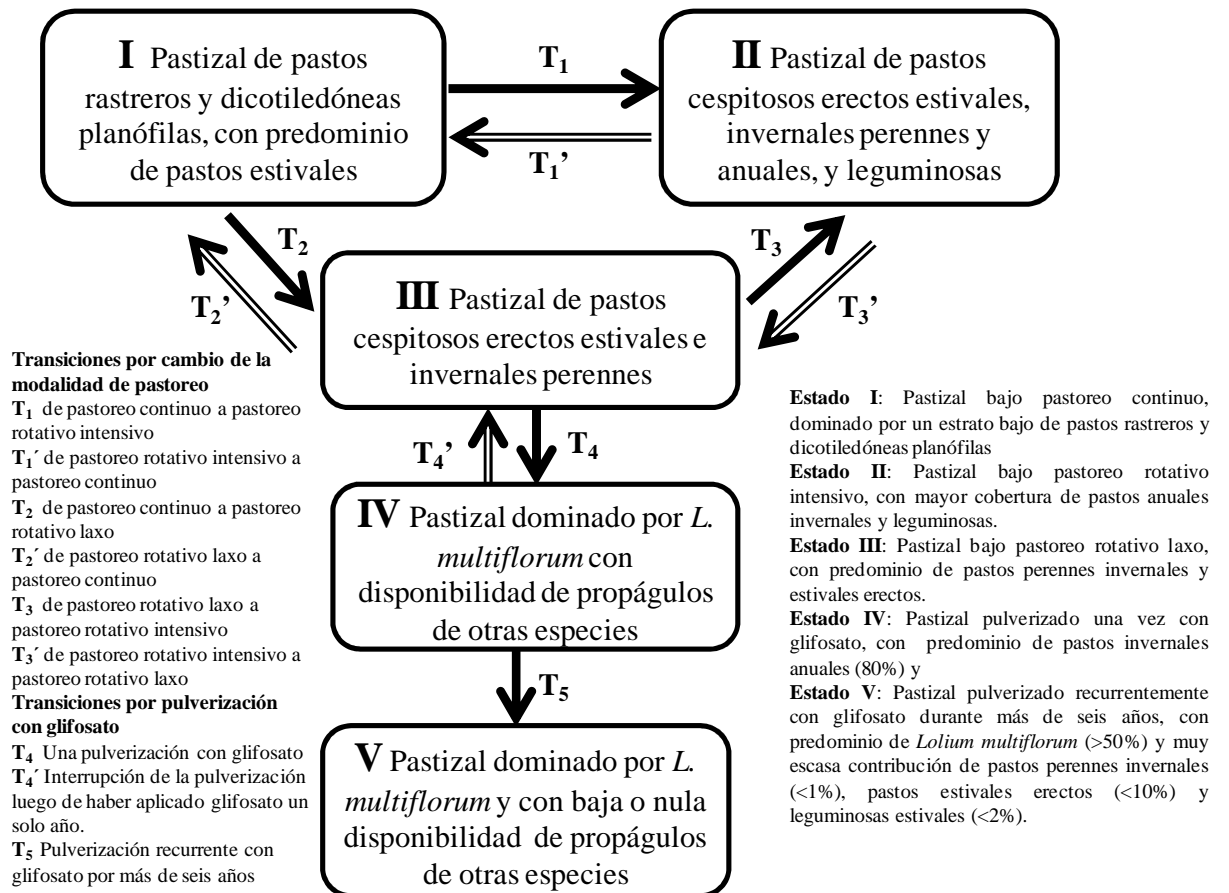


Figura 5.2. Estados (I a V) y transiciones (T_1 a T_5 , T_1' a T_4') de la pradera húmeda de mesófitas del pastizal de la Pampa Deprimida bajo distintas modalidades de pastoreo y de pulverización con glifosato a fin de verano. Flechas llenas indican transiciones observadas y flechas vacías indican transiciones hipotéticas.

Los **Estados I y III** constituyen las situaciones más frecuentes en la Pampa Deprimida como consecuencia del pastoreo continuo o del pastoreo rotativo “laxo”, es decir con períodos de ocupación y descanso e intensidades de pastoreo que no están estrictamente ajustados a los requerimientos eco-fisiológicos de las especies clave de la comunidad y que no incluye un pastoreo de alta intensidad a fin de verano para promover el establecimiento de los pastos invernales. En el **Estado I** la comunidad presenta dos estratos, uno de menos de 5 cm de altura compuesto por pastos rastreros (*Cynodon dactylon*, *Stenotaphrum secundatum*, *Paspalum vaginatum*) y dicotiledóneas planófilas (*Phyla cansescens*, *Gamochaeta spicata*, *Leontodon* sp.) y otro estrato de mayor altura compuesto por matas de pastos cespitosos (*Stipa* sp., *Danthonia montevidensis*, *Piptochaetium* sp., *Panicum* sp. *Sporobolus* sp.) (León y Burkart 1998). Los pastos y ciperáceas constituyen más del 50% de la cobertura y dentro de éstos,

predominan los que vegetan durante la estación cálida (gramíneas estivales erectas y rastreras > 30%), con menor proporción de gramíneas invernales anuales ($\approx 10\%$) y perennes (3%) (Jacobo 2003). Cuando en este estado la comunidad sufre sequías intensas, disminuye la proporción de pastos estivales erectos (<15%) aumentando la proporción de dicotiledóneas planófilas ($\approx 15\%$) y de pastos anuales invernales ($\approx 17\%$) (Jacobo 2003, Jacobo et al 2006). Modificando la modalidad de pastoreo al aplicar un pastoreo rotativo intensivo, que involucra un evento de pastoreo de alta intensidad a fin de verano para promover los pastos invernales (transición T_1), se conduce al pastizal al **Estado II**, caracterizado por una mayor cobertura relativa de pastos anuales invernales (>15% y de leguminosas ($\approx 7\%$) y menor contribución de las dicotiledóneas (<13%) y de los pastos estivales rastreros (<12%) cuando existen condiciones de adecuada disponibilidad hídrica (Jacobo et al. 2006). En condiciones de sequía, los pastos estivales erectos disminuyen (<9%) permitiendo el aumento de los pastos invernales anuales ($\approx 30\%$) y perennes ($\approx 16\%$) y de las leguminosas ($\approx 13\%$) (Jacobo 2003). Cuando el pastoreo continuo es reemplazado por un pastoreo rotativo “laxo”, que no incluye un pastoreo de alta intensidad a fin de verano (transición T_2), se alcanzaría el **Estado III**, caracterizado por un aumento importante de los pastos invernales perennes ($\approx 28\%$) y estivales erectos ($\approx 37\%$), la disminución de los pastos estivales rastreros (<9%) mientras que no se modifica la contribución de los pastos anuales invernales ($\approx 10\%$) en condiciones de adecuada disponibilidad hídrica. En años de déficit hídrico, el aumento de los pastos estivales erectos es menor ($\approx 28\%$), permitiendo el aumento de las dicotiledóneas (>50%) (Jacobo 2003). Ajustando los tiempos de ocupación y descanso y la intensidad de pastoreo del pastoreo rotativo “laxo” e incluyendo un evento de pastoreo intenso a fin de verano (transición T_3) se conduciría a la comunidad al **Estado III**, favoreciendo el establecimiento de los pastos anuales invernales y disminuyendo la contribución relativa de los perennes (Rodríguez y Jacobo 2012). Las transiciones T_1 , T_2 y T_3 serían reversibles al volver a modificar la modalidad de pastoreo (T'_1 , T'_2 y T'_3). Cuando el pastizal utilizado bajo pastoreo rotativo “laxo” se pulveriza por primera vez a fin de verano con glifosato (transición T_4) se conduce al pastizal al **Estado IV**, que presenta una muy alta contribución relativa de los pastos invernales anuales, particularmente *L. multiflorum* ($\approx 80\%$) y una drástica disminución de los pastos estivales ($\approx 14\%$) y de leguminosas ($\approx 1\%$) en los años con adecuada disponibilidad hídrica, mientras que en condiciones de déficit hídrico, se reduce aún más el aporte de los pastos estivales (<9%). En ambas condiciones hídricas, la PPNA total anual del pastizal es inferior a la del pastizal no pulverizado (Arzadum y Mestelán 2009) y su diversidad florística y funcional es baja. Si en los años sucesivos no se reitera la pulverización con glifosato a fin de verano, es posible que se revierta la trayectoria de la comunidad al Estado III (transición T'_4) ya que una sola aplicación del herbicida no eliminaría todos los propágulos vegetativos ni reduciría tan drásticamente el banco de semillas de algunos grupos funcionales, en particular de los pastos estivales y de las leguminosas. Cuando la pulverización con glifosato a fin de verano se reitera durante al menos seis años consecutivos (transición T_5) se alcanza el **Estado V** caracterizado por una muy alta contribución relativa de los pastos invernales anuales, principalmente *L. multiflorum* ($\approx 50\%$) y una drástica reducción de los pastos perennes invernales (<1%), de los pastos estivales erectos (<10%) y de las leguminosas estivales (<2%) en los años con adecuada disponibilidad hídrica, mientras que en condiciones de déficit hídrico es mayor la contribución de *L. multiflorum* (>60%) y menor aún la de los pastos estivales erectos (<1%) y las leguminosas estivales (<1%) y en ambas condiciones hídricas, la diversidad florística es baja (Rodríguez y Jacobo 2010, Cap. II). En este estado, la productividad invernal es mayor y la productividad estival es menor, generando una menor PPNA anual (Cap. IV). La aplicación recurrente de glifosato también redujo

drásticamente el banco de semillas de las principales especies de los grupos funcionales más afectados (Rodríguez y Jacobo 2013, Cap, II). Por lo tanto, si se suspendiera la pulverización de glifosato, la escasa disponibilidad de propágulos vegetativos (Cap. III) y reproductivos (Cap. II) limitará la posibilidad de reversión de este estado, que dependerá del arribo de propágulos de otras áreas aledañas cuya vegetación no haya sido modificada por la aplicación de glifosato o por agricultura. Los cambios en la estructura de la comunidad (cobertura, composición, diversidad funcional y florística) produjeron importantes cambios en el funcionamiento del ecosistema, alterando la dinámica de la captación de energía y de la PPNA y reduciéndolas en magnitud a escala anual, disminuyendo el contenido de carbono orgánico del suelo y tendiendo a disminuir el contenido de N y P total del suelo. En consecuencia, esta transición (T₅) sería irreversible ya que más de un proceso ecológico primario fue alterado y deberá ser restaurado para recuperar el estado previo (Stringham et al. 2003, Briske et al. 2005), lo que sugiere que se traspasó un umbral ecológico con la aplicación recurrente de glifosato durante al menos seis años consecutivos. Aún si la escala espacial del disturbio fuera pequeña y el hábitat estuviera poco fragmentado, permitiendo el arribo de los propágulos desde áreas aledañas, es probable que los cambios en las características químicas del suelo determinen un límite a la reinstalación de algunas de las especies representativas del estado previo (ej. leguminosas, pastos perennes invernales y estivales).

Si bien de los experimentos de esta tesis no surgen resultados que permitan aseverar a qué estado conduciría la aplicación de glifosato a fin de verano en un pastizal bajo pastoreo continuo (Estado I) o bajo pastoreo rotativo intensivo (Estado II), los antecedentes enunciados permitirían inferir algunas posibles respuestas a partir de estos estados. Dado que bajo pastoreo continuo (Estado I) es muy escasa la contribución de pastos anuales invernales –que justamente son los que sufren mayor presión de pastoreo (Deregibus et al. 1995)- es posible inferir que el banco de semillas de este grupo funcional también sea muy limitado, en particular si el pastizal presenta una larga historia de pastoreo continuo. La pulverización con glifosato a fin de verano en este estado del pastizal no promovería el establecimiento de pastos anuales invernales debido a la limitación de propágulos del banco. En cambio es altamente probable que aumente la contribución de las dicotiledóneas que germinan en otoño, en particular las planófilas anuales que dominan el estrato bajo en este estado del pastizal (León y Burkart 1998). Muchas especies de este grupo funcional, por ejemplo *Centaurea melitensis*, *Leontodon taraxacoides*, *Carduus acanthoides* o *Cirsium vulgare*, presentan forma de roseta en los primeros estadios y son características de pastizales sometidos a pastoreo continuo (Jacobo et al. 2006). Como estas especies son rechazadas por el ganado, es altamente probable que la densidad de semillas en el banco sea muy alta y que la aplicación de glifosato favorezca su establecimiento. Si la aplicación de glifosato a fin de verano ocurriera en un pastizal bajo pastoreo rotativo intensivo (Estado II), que presenta una muy alta densidad de semillas de pastos anuales invernales en el banco (Jacobo et al. 2000) debido a que involucra un pastoreo muy intenso a fin de verano para favorecer la germinación y el establecimiento de este grupo funcional (Rodríguez 2004), no se esperaría una diferencia significativa en la contribución de los pastos anuales invernales luego de pulverizar con glifosato. En cambio, podría inferirse una importante disminución de las leguminosas estivales y de los pastos estivales erectos más sensibles a este herbicida, como el *Paspalum dilatatum* (Manuja et al. 2005) y el concomitante aumento de los pastos estivales rastreros, en particular del *Cynodon dactylon* que ha demostrado ser resistente al glifosato (Bedmar 1992, Mau-Crimmins 2007).

5.3. Perspectivas y líneas de investigación

Esta tesis abordó los efectos de un herbicida sistémico total sobre los distintos niveles de organización de una comunidad de pastizal sometida a pastoreo y los procesos que los explican, aportando evidencias de que la reiteración de la aplicación de glifosato genera drásticos cambios en la estructura de la vegetación y en el funcionamiento del pastizal, que podrían ser irreversibles. Ante la perspectiva de que difícilmente se retrotraiga la superficie sobre la que se expandió la agricultura, para mantener la producción de carne en los niveles actuales o incrementarla según la demanda del mercado, es necesario explorar alternativas de intensificación sustentables de la producción ganadera. Los resultados de mi tesis indican que la práctica de pulverizar recurrentemente con glifosato, tal como se aplica actualmente, pone en riesgo la conservación de la diversidad florística y la productividad de estos pastizales e incluso sugieren efectos negativos en la disponibilidad de nutrientes del suelo. Surgen, en consecuencia, una serie de preguntas y alternativas de intensificación sustentable que podrían constituir líneas de investigación, en especial considerando la extendida adopción de esta práctica en la Pampa Deprimida

1. ¿Es posible la restauración de la vegetación del pastizal? ¿Luego de cuántos años consecutivos de aplicación de glifosato se alcanza un umbral irreversible para restaurar la comunidad vegetal? ¿Cuál sería la escala espacial del disturbio que imponga una limitación a la accesibilidad de los propágulos? Para ellos sería conducente evaluar la trayectoria de la vegetación luego de suspender la pulverización del herbicida tras haberlo aplicado con diferente recurrencia. A su vez, estas evaluaciones deberían efectuarse en distintos contextos de paisaje, donde se incorporen situaciones con distintas accesibilidad de los propágulos de las especies a eliminadas por la aplicación recurrente de glifosato.
2. ¿Los cambios en la contribución de los grupos funcionales afectaron la partición, dinámica y composición de la biomasa radical? ¿En qué medida los cambios en la biomasa aérea y, eventualmente, los cambios en la biomasa radical modifican el flujo de carbono y la circulación de nutrientes? ¿Cómo interactúa el pastoreo con la aplicación del herbicida en esos cambios en la productividad primaria total (aérea y radical) y en los principales procesos ecosistémicos?
3. Respecto de las alternativas agronómicas ¿Existe una dosis inferior a la mitad de la habitualmente utilizada que promueva el establecimiento de los pastos anuales invernales sin eliminar o afectar severamente a los otros grupos funcionales? ¿Con qué recurrencia o frecuencia podría pulverizarse con glifosato para no reducir la riqueza y diversidad florística? ¿Con qué técnica de aplicación (por ejemplo, aplicación en franjas, en manchones, etc.) podría pulverizarse con glifosato a fin de asegurar una alta densidad de semillas de los pastos anuales invernales y, a la vez, mantener la disponibilidad de propágulos del resto de las especies?

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aarssen, L, Epp, G. 1990. Neighbour manipulations in natural vegetation: a review. *Journal of Vegetation Science*, 1: 13–30.
- Adkins, S, Tanpipat, J, Swarbrick, T, Boersma, M. 1998. Influence of environmental factors on glyphosate when applied to *Avena fatua* or *Urochloa panicoides*. *Weed Research*, 38: 129–138.
- Aerts, R., Chapin, F.S., 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances In Ecological Research* 30, 1–67.
- Aguilera, M, Steinaker, D, Demaría, M, Avila, A. 1998. State and transition of *Sorghastrum pellitum* grasslands of the central sandy area of San Luis, Argentina. *Ecotrópicos*, 11: 107-120.
- Augustine, D. 2003. Long-term, livestock-mediated redistribution of nitrogen and phosphorus in an East African savanna. *Journal of Applied Ecology*, 40:137–149.
- Augustine, D, Brewer; P, Blumenthal, D, Derner, J, von Fischer, J. 2014. Prescribed fire, soil inorganic nitrogen dynamics, and plant responses in a semiarid grassland. *Journal of Arid Environments*, 104: 59-66
- Ahmadi, M, Haderlie, L, Wicks, G. 1980. Effect of growth stage and water stress on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) control and on glyphosate absorption and translocation. *Weed Science*, 28: 277-282.
- Alhamad, M, Alrababah, M, Gharaibeh, M. 2011. Impact of burning and fertilization on dry Mediterranean grassland productivity and diversity. *Acta Oecologica*, 40: 19-26.
- Allan, E, Weisser, W, Fischer, M, Detlef Schulze, E, Weigelt, A, Roscher, C, Baade, J, Barnard, R, Beßler, H, Buchmann, N, Ebeling, A, Eisenhauer, N, Engels, C, Fergus, A, Gleixner, G, Gubsch, M, Halle, S, Klein, A, Kertscher, I, Kuu, A, Lange, M, Le Roux, X, Meyer, S, Migunova, V, Milcu, A, Niklaus, P, Oelmann, Y, Pašalić, E, Petermann, J, Poly, F, Rottstock, T, Sabais, A, Scherber, C, Scherer-Lorenzen, M, Scheu, S, Steinbeiss, S, Schwichtenberg, G, Temperton, V, Tschamntke, T, Voigt, W, Wilcke, W, Wirth, C, Schmid, B. 2013. A comparison of the strength of biodiversity effects across multiple functions. *Oecologia*, 173: 223–237.
- Allen, T. y Hoekstra, T. 1992. *Toward a unified ecology*. Columbia University Press, New York, USA.
- Allen, T. y Starr, T. 1982. *Hierarchy: Perspectives for ecological complexity*. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Allister, C, Kogan, M, Pino, I. 2005. Differential phytotoxicity of glyphosate in maize seedlings following applications to roots or shoot. *Weed Research*, 45: 27-32.
- Alonso, S. y Peretti, A. 2006. *Malezas de las plagas de la agricultura*. Unidad Integrada Facultad de Ciencias Agrarias- INTA Balcarce/BASF. Argentina.
- Arzadun, M, Mestelan, S. 2009. Late summer management can improve forage yield distribution and nutritive value in temperate grassland. *Agronomy Journal*, 101: 584-591.

- Augé, R. 2001. Water relations, drought and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3–42.
- Aydin, I, Uzun, F. 2005. Nitrogen and phosphorus fertilization of rangelands affects yield, forage quality and the botanical composition. *European Journal of Agronomy*, 23: 8–14.
- Azlin, W, McWhorter, C. 1981. Preharvest effects of applying glyphosate to soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*, 29: 123–127.
- Bagchi, S, Ritchie, M. 2010. Herbivore effects on above- and belowground plant production and soil nitrogen availability in the Trans-Himalayan shrub-steppes. *Oecologia*, 164: 1075–1082.
- Bakker, J, Berendse, F. 1999. Constraints in the restoration of ecological diversity in grassland and heathland communities. *Trends in Ecology and Evolution*, 13: 63–68.
- Bardgett, R, Wardle, D. 2003. Herbivore-mediated linkages between aboveground and belowground communities. *Ecology*, 84: 2258–2268.
- Bardgett, R, Shine, A. 1999. Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 317–321.
- Barnes, T. 2007. Using herbicides to rehabilitate native grasslands. *Natural Areas Journal*, 27: 56–65.
- Barsky, O. y Gelman, J. 2009. *Historia del Agro Argentino. Desde la conquista hasta comienzos del siglo XXI*. Editorial Sudamericana, Buenos Aires, Argentina.
- Baskin, C. y Baskin, J. 1998. *Seeds, ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, San Diego, USA.
- Batista, W., Taboada, M., Lavado, R., Perelman, S. y León, R. 2005. Asociación entre comunidades vegetales y suelos de pastizal de la Pampa Deprimida. Pp. 113–129 en Oesterheld, M., Aguiar, M., Ghersa, C. y Paruelo, J. (eds.) *La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando J.C. León*. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Baur, J, Miller, F, Bovey, W. 1977. Effect of preharvest desiccation with glyphosate on grain sorghum seed. *Agronomy Journal*, 69: 1015–1018.
- Baylis, A. 2000. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest Management Science*, 56: 299–308.
- Bedmar F. 1992. Evaluation on postemergence grass herbicides against *Cynodon dactylon* in sunflower. *Annals of Applied Biology*, 120: 58–59.
- Bellaloui, N, Reddy, K, Zablotowicz, R, Mengistu, A. 2006. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 3357–3364.
- Bennett, A, Shaw, D. 2000. Effect of preharvest desiccants on Group IV *Glycine max* seed viability. *Weed Science*, 48: 426–430.
- Bennett, L, Judd, T, Adams, M. 2002. Growth and nutrient content of perennial grasslands following burning in semi-arid, sub-tropical Australia. *Plant Ecology*, 164: 185–199.

- Benton, T, Vickery, J, Wilson, J. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 182-188.
- Bertalanffy von, L. 1968. *General system theory: Foundations, development, applications*. George Braziller Inc., New York, USA.
- Bewley, J. y Black, M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Second Edition. Plenum Press, New York, USA.
- Bilello, G, Zeverio, G. 2002. Incorporación tecnológica en explotaciones ganaderas de tipo familiar de la Cuenca del Salado. Control de paja colorada (*Paspalum quadrifarium*) y rejuvenecimiento de rye-grass en pastizales naturales. *Revista Facultad de Agronomía*, 22: 107-120.
- Bilenca, D. y Miñarro, F. 2004. Identificación de áreas valiosas de pastizal (AVPs) en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil. *Fundación Vida Silvestre Argentina*, Buenos Aires, Argentina.
- Biondini, M, Mielke, P, Berry, K. 1988. Data-dependent permutation techniques for the analysis of ecological data. *Plant Ecology*, 75: 161-168.
- Blackburn, L, Boutin, C. 2003. Subtle effects of herbicide use in the context of genetic modified crops: A case study with Glyphosate (Roundup®). *Ecotoxicology*, 12: 271-285.
- Bogdan, A. 1991. *Tropical Pastures and Fodder Plants*. Longman, London, UK.
- Bond WJ, Keeley JE. 2005. Fire as global 'herbivore': the ecology and evolution of flammable ecosystems. *Trends in Ecology Evolution*, 20: 387-94.
- Bossuyt, B, Honnay, O. 2008. Can the seed bank be used for ecological restoration? An overview of seed bank characteristics in European communities. *Journal of Vegetation Science*, 19: 875-884.
- Bott, S, Tesfamariam, T, Kania, A, Eman, B, Aslan, N, Römheld, V, Neumann, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilization. *Plant Soil*, 342: 249-263.
- Boutin, C, Elmegaard, N, Kjær, C. 2004. Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: Implications for risk assessment. *Ecotoxicology*, 13: 349-369.
- Bradford, J, Hicke, J, Lauenroth, W. 2005. The relative importance of light-use efficiency modifications from environmental conditions and cultivation for estimation of large-scale net primary productivity. *Remote Sensing of Environment*, 96:246-255.
- Briske, D, Heitschmidt, R. 1991. An ecological Perspective. En *Grazing Management: An ecological perspective*. Heitschmidt, R, Stuth, J.(eds). Timber Press. Pag. 16-26.
- Briske, D, Derner, J, Brown, J, Fuhlendorf, S, Teague, W, Havstad, K, Gillen, L, Ash, A, Willms, W. 2008. Rotational grazing on rangelands: Reconciliation of perception and experimental evidence. *Rangeland Ecology and Management*, 61: 3-17.
- Briske, D, Funhendorf, S, Smeins, F. 2005. State and Transition models, thresholds and reangeland health: a synthesis of ecological concepts and perspectives. *Rangeland, Ecology and Management*, 58: 1-10.

- Brockway, D, Gatewood, R., Paris, R. 2002. Restoring fire as an ecological process in short grass steppe ecosystems, initial effects of prescribed burning during the dormant and growing seasons. *Journal of Environmental Management*, 65: 135-152.
- Burkart A. 1987 Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina) Parte III, Tomo VI. Colección Científica del INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Burkart, A. 1969 Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina) Parte II, Tomo VI. Colección Científica del INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Burkart, A. 1974. Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Tomo VI, B (Rubiales, Cucurbitales, Campanulales, incluso Compuestas). Colección Científica de INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Burkart, A. 1979. Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina) Parte V, Tomo VI. Colección Científica del INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Burkart, S, León, R, Movia, C. 1989. Inventario fitosociológico del pastizal de la Depresión del Salado (Prov. de Bs. As.) en un área representativa de sus principales ambientes. *Darwiniana*, 30: 27-69.
- Burke, M, Grime, J. 1996. An experimental study of plant community invasibility. *Ecology*, 77: 776-790.
- Busse, M, Ratcliff, A, Shestak, C, Powers, R. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil biology and Biochemistry*, 33: 1777-1789.
- Cabrera, A. y Zardini, M. 1979. Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Segunda edición. Editorial ACME, Buenos Aires, Argentina.
- Cahuepe, M, Hidalgo M, Galatoire, A. 1985. Aplicación de índice de valoración zootécnica en pastizales de la Depresión del Salado. *Revista Argentina de Producción Animal*, 5: 681-690.
- Campbell, B, Grime, J, Mackey, J, Jalili, A. 1991. The quest for a mechanistic understanding of resource competition in plant communities: The role of experiments. *Functional Ecology*, 5: 241-253.
- Campbell, L. 1999. *Paspalum dilatatum* and *Axonopus affinis* in Australia. Pp. 325-349 en Loch, D. y Ferguson J. (eds.) Forage Seed Production: Tropical and Subtropical Species, CABI Publishing, Oxon, UK.
- Campbell, M, Miller, L, Nicol, H. 1998. Effect of herbicides on seedhead production and control of serrated tussock (*Nassella trichotoma* (Ness) Arech.). *Plant Protection Quart.*, 13: 106-110.
- Cerkauskas, R, Dhingra, O, Sinclair, J, Foor, S. 1982. Effect of three desiccant herbicides on soybean (*Glycine max*) seed quality. *Weed Science*, 30: 484-490.
- Chaneton, E, Lavado, R. 1996. Soil nutrients and salinity after long-term grazing exclusion in a Flooding Pampa grassland. *Journal of Range Management*, 49: 182-187.
- Chaneton, E, Lemcoff, J, Lavado, R, 1996. Nitrogen and phosphorus cycling in grazed and ungrazed plots in a temperate subhumid grassland in Argentina. *Journal of Applied Ecology*, 33: 291-302.

- Chaneton, E. 2011. Linking grazing-induced changes in plant biodiversity to rangeland ecosystem function. *International Rangeland Congress IX*, 60: 25-32.
- Chapin, F, Bret-Harte, M, Hobbie, S, Zhong, H. 1996. Plant functional types as predictors of transient responses of arctic vegetation to global change. *Journal of Vegetation Science*, 7: 347-358.
- Chapin, F. 1993. Functional role of growth forms in ecosystem and global processes. Pp 287-312 en Ehleringer, J. y Field, C. (eds.) *Scaling physiological processes: leaf to globe*. Academic Press, San Diego, USA.
- Cherwin, K., Seastedt, T, Suding, K. 2009. Effects of nutrient manipulations and grass removal on cover, species composition, and invasibility of a novel grassland in Colorado. *Restoration Ecology*, 17: 818–826.
- Cingolani, A, Noy-Meir, I, Díaz, S. 2005. Grazing effects on rangeland diversity: a synthesis of contemporary models. *Ecological Applications*, 15: 757-773.
- Cione, N, Padgett, P, Allen, E. 2002. Restoration of a native shrubland impacted by exotic grasses, frequent fire, and nitrogen deposition in southern California. *Restoration Ecology*, 10: 376–384.
- Clay, P, Griffin, J. 2000. Weed seed production and seedling emergence response to late-season glyphosate applications. *Weed Science*, 48: 481-486.
- Clements, F. 1916. *Plant succession: an analysis of the development of vegetation*. Carnegie Institute Washington Publ., Washington, USA.
- Clua, A, Conti, M, Beltrano, J. 2012. The Effects of glyphosate on the growth of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and its interaction with different phosphorus contents in soil. *Journal of Agricultural Science*, 4: 208-218.
- Connell, J, Slatyer, R. 1977. Mechanisms of sucesión in natural communities and their role in community stability and organization. *The American Naturalist*, 111: 1119-1144.
- Corbin, J, D'Antonio, C. 2004. Competition between native perennial and exotic annual grasses: implications for an historical invasion. *Ecology*, 85: 1273–1283.
- Coupland, D, Caseley, J. 1979. Presence of ¹⁴C activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ¹⁴C-labelled glyphosate. *New Phytologist*, 83: 17–22.
- Crall, A, Newman, G, Stohlgren, T, Jarnevich, C, Evangelista, P, Guenther, D. 2006. Evaluating dominance as a component of non-native species invasions. *Diversity and Distributions*, 12: 195–204.
- Crawley, M. 1987. What makes a community invisable? Pp. 429-453 en Gray, A., Crawley, M. y Edwards, P. (eds.) *Colonization, succession and stability*, Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Csonos, P. 2007. Seed banks: ecological definitions and sampling considerations. *Community Ecology*, 8: 75-85.
- Cummings, D, Fuhlendorf, S, Ingle, D. 2007. Is altering grazing selectivity of invasive forage species with patch burning more effective than herbicide treatments? *Rangeland Ecology and Management*, 60 :253-260.
- D'Antonio, C, Vitousek, P. 1992. Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle, and global change. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23:63-87.

- Daget, P, Poissonnet, P. 1971. Une méthode d'analyse phytosociologique des prairies. Critères d'application. *Annales Agronomiques*, 22: 5-41.
- Darwent, A, Kirkland, K, Townlwy-Smith, L, Harker, K, Cessba, A, Lukow, O, Lefkovitch, L. 1994. Effect of preharvest application of glyphosate on the drying, yield and quality of wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 74: 221-230.
- Davies, K, Pokorny, M, Sheley, R, James, J. 2007. Influence of plant functional group removal on inorganic soil nitrogen concentrations in native grasslands. *Rangeland Ecology and Management*, 60: 304-310.
- Davies, K. 2011. Plant community diversity and native plant abundance decline with increasing abundance of an exotic annual grass. *Oecologia*, 167: 481–491.
- de la Fuente, E, Suarez, S, Ghersa, C. 2006. Soybean weed community composition and richness between 1995 and 2003 in the Rolling Pampas (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 115: 229-236.
- de la Vega, M., Parmigiani, E. y Chicatun, A. 2004. Medición de la producción de carne en promociones de Rye Grass. <http://inta.gob.ar/documentos/medicion-de-la-produccion-de-carne-en-promociones-de-rye-grass/>
- De Ruiter, H, Uffing, A, Meinen, E. 1996. Influence of surfactants and ammonium sulfate on glyphosate phytotoxicity to quackgrass (*Elytigia repens*). *Weed Technology*, 10: 803–808.
- DeBano, L., Neary, D. y Folliott, P. 1998. Fire's effects on ecosystems. John Wiley and Sons, Inc, New York, USA:
- DeFalco, L, Fernandez, G, Nowak, R. 2007. Variation in the establishment of a non-native annual grass influences competitive interactions with Mojave Desert perennials. *Biological Invasions*, 9: 293–307.
- Denis, M, Delrot S. 1997. Effects of salt and surfactants on foliar uptake and long distance transport of glyphosate. *Plant Physiol. Biochem.*, 35: 291–301.
- Denis, M, Delrot, S. 1993. Carrier-mediated uptake of glyphosate in broad bean (*Vicia faba*) via a phosphate transporter. *Physiologia Plantarum*, 87: 569–575.
- Deregibus, V, Casal, J, Jacobo, E, Gibson, D, Kauffman, M, Rodríguez, A. 1994. Evidence that heavy grazing may promote the germination of *Lolium multiflorum* seeds via phytochrome-mediated perception of high red/far-red ratios. *Functional Ecology*, 8: 536–542.
- Deregibus, V, Jacobo, E, Rodríguez, A. 1995. Improvement in rangeland condition of the Flooding Pampa of Argentina through controlled grazing. *African Journal of Range and Forage Science*, 12: 92-96.
- Detling, J. 1988. Grasslands and savannas: regulation of energy flow and nutrient cycling by herbivores. Pp 131-148 en Pomeroy L. y Alberts J. (eds.) *Concepts of ecosystem ecology: a comparative view*. Springer-Verlag, New York, USA.
- Devine, M, Bandeen, J. 1983. Fate of glyphosate in *Agropyron repens* (L.) Beauv. growing under low temperature conditions. *Weed Research*, 23: 69–75.
- Diaz S, Cabido, M. 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends Ecology and Evolution*, 16: 646–655.

- Díaz, S, Symstad, A, Chapin, F, Wardle, D, Huenneke, L. 2003. Functional diversity revealed by removal experiments. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 140-146.
- Dinelli, G. 2000. Response to glyphosate and electrophoretic variation of *Cynodon dactylon* (L) Pers. populations. *Pest Management Science*, 56: 327-335.
- DiTomaso, J. 2000. Invasive weeds in rangelands: Species, impacts, and management. *Weed Science*, 48: 255-265.
- Donath, T, Hölzel, N, Otte, A. 2003. The impact of site conditions and seed dispersal on restoration success in alluvial meadows. *Applied Vegetation Science*, 6: 13-22.
- Doublet, J, Mamy, L, Barriuso, E. 2009. Delayed degradation in soil of foliar herbicides glyphosate and sulcotrione previously absorbed by plants: Consequences on herbicide fate and risk assessment. *Chemosphere*, 77: 582-589.
- Druille, M, Cabello, M, Omacini, M, Golluscio, R. 2013 a. Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology*, 64: 99-103.
- Druille, M, Omacini, M, Golluscio, R, Cabello, M. 2013 b. Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application. *Applied Soil Ecology*, 72: 143-149
- Dufrene, M, Legendre, P. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs*, 67: 345-366.
- Duke, S, Lydon, J, Koskinen, W, Moorman, T, Chaney, R, Hammerschmidt, R. 2012. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate-resistant crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 10375-10397
- Dyer, A, Rice, K. 1999. Effects of competition on resource availability and growth of a California bunchgrass. *Ecology*, 80: 2697-2710.
- Egler, F. 1954. Initial floristic composition, a factor in old field vegetation. *Vegetation Science Concepts*, 23: 412-417.
- Ellis, E, Ramankutty, N. 2008. Putting people in the map: anthropogenic biomes of the world. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6: 439-447.
- Endress, B, Parks, C, Naylor, B, Radosevich, S, Porter, M. 2012. Grassland response to herbicides and seeding of native grasses 6 years post-treatment. *Invasive Plant Science and Management*, 5: 311-316.
- Eriksson, O, Wikström, S, Eriksson, A, Lindborg, R. 2006. Species-rich Scandinavian grasslands are inherently open to invasion. *Biological Invasions*, 8: 355-363.
- Evers, G. 2002. Herbicides for desiccating dallisgrass (*Paspalum dilatatum*)-bermudagrass (*Cynodon dactylon*) pasture sod prior to overseeding with annual ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Technology*, 16: 235-238.
- Feng, P, Chiu, T, Sammons, R, Ryerse, J. 2003 b. Droplet size affects glyphosate retention, absorption, and translocation in corn. *Weed Science*, 51: 443-448.
- Feng, P, Chiu, T, Sammons, R. 2003 a. Glyphosate efficacy is contributed by its tissue concentration and sensitivity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Pesticide, Biochemistry and Physiology*, 77: 83-91.

- Feng-Rui L, Li-Ya, Z, Hua, Z, Ji-Liang, L, Hai-Yan, L, Ling-Fen, K. 2009. Habitat degradation, topography and rainfall variability interact to determine seed distribution and recruitment in a sand dune grassland. *Journal of Vegetation Science*, 20: 847–859.
- Fenner, M. y Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge Press University, Cambridge, UK.
- Fernández Greco, R, Agnusdei, M, 2004. Fertilización nitrogenada en un pastizal de la Pampa Deprimida: acumulación de forraje y composición botánica. *Revista Argentina de Producción Animal*, 24: 199-206.
- Ferrari, L, López, C. 2000. Germination conditions for *Briza subaristata*: pretreatments and temperature effects. *Seed Science and Technology*, 28: 631-639.
- Fisher, J, Loneragan, W, Dixon, K, Veneklass, E. 2009. Soil seed bank compositional change constrains biodiversity in an invaded species-rich woodland. *Biological Conservation*, 142: 256-269.
- Flory, S, Clay, K. 2009. Invasive plant removal method determines native plant community responses. *Journal of Applied Ecology*, 46: 434–442.
- Frank, D. 2005. The interactive effects of grazing ungulates and aboveground production on grassland diversity. *Oecologia*, 143: 629–634.
- Freckleton R, Watkinson A, 2001. Asymmetric competition between plant species. *Functional Ecology*, 15: 615-623.
- Freemark, K, Boutin, C. 1995. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: a review with special reference to North America. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 52: 67–91.
- Fuhlerdorf, S, Engle, D, Arnold, D, Bidwell, T. 2002. Influence of herbicide application on forb and arthropod communities of North American tallgrass prairies. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 92: 251-259.
- Fuhlerdorf, S, Engle, D, O’Meilia, C, Weir, J, Cummings, D. 2009. Does herbicide weed control increase livestock production on non-equilibrium rangeland? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 132: 1–6.
- Garibaldi, L, Semmartin, M, Chaneton, E. 2007. Grazing-induced changes in plant composition affect litter quality and nutrient cycling in flooding Pampa grasslands. *Oecologia*, 151: 650-652.
- Geiger, D, Bestman H. 1990. Self-limitation of herbicide mobility by phytotoxic action. *Weed Science*, 38: 324–329.
- Geiger, D, Shieh, W, Fuchs, M. 1999. Causes of self-limited translocation of glyphosate in *Beta vulgaris* plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 64: 124–133.
- Gelbard, J. 2003. Grasslands at a crossroads: Protecting and enhancing resilience to climate change Pp: 15-42 en Hansen, L., Biringer, J. y Hoffmann, J. (eds) *A User's Manual for Building Resistance and Resilience to Climate Change in Natural Systems*. World Wildlife Foundation, Berlin, Germany.
- Ghersa, C. y León, R. 1999. Successional changes in agroecosystems of the Rolling Pampa. Pp 487-502 en Walker. L. (ed.) *Ecosystems of disturbed ground*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Gibson, D. 2009. *Grasses and grassland ecology*. Oxford University Press, Oxford, UK.

- Giesy, J, Dobson, S, Solomon, K. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167: 35-120.
- Gleason, H. 1926. The individualistic concept of the plant association. *Bulletin of the Torrey Club*, 53: 7-26.
- Golluscio, R, Austin, M, García Martínez, G, Gonzalez-Polo, M, Sala, O, Jackson, R. 2009. Sheep grazing decreases organic carbon and nitrogen pools in the Patagonian steppe: combination of direct and indirect effects. *Ecosystems*, 12: 686-697.
- Gougler, J, Geiger, D. 1984. Carbon partitioning and herbicide translocation in glyphosate treated sugar beet (*Beta vulgaris*). *Weed Science*, 32: 546-551.
- Granged, A, Jordán, A., Zavala, L, Muñoz-Rojas, M., Mataix-Solera, J. 2011. Short-term effects of experimental fire for a soil under eucalyptus forest (SE Australia), *Geoderma*, 167-168: 125-134.
- Greenacre, M. 1984. *Theory and Applications of Correspondence Analysis*. Academic Press, London, UK.
- Grigera, G, Oesterheld, M, Pacín, F. 2007. Monitoring forage production for farmers' decision making. *Agricultural Systems*, 94: 637-648.
- Grime, J. 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, 86: 902-910.
- Grime, J. 2001. *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. Second edition. Wiley and Sons Ltd, New Sussex, UK.
- Grossbard, E. y Atkinson D. 1985. *The Herbicide Glyphosate*. Butterworths, London, UK.
- Gubbels, G, Bonner, D, Kenaschuk, E. 1993. Effect of time of swathing and desiccation on plant drying, seed color and germination of flax. *Canadian Journal of Plant Science*, 73: 1001-1007.
- Guevara, J, Stasi, C, Estevez, O, Le Houérou, H. 2000. N and P fertilization on rangeland production in Midwest Argentina. *Journal of Range Management*, 53: 410-414.
- Hamilton, J, Holzapfel, C, Mahall, B. 1999. Coexistence and interference between a native perennial grass and non-native annual grasses in California. *Oecologia*, 121: 518-526.
- Harrison, K, Bardgett, R. 2008. Impacts of grazing and browsing by large herbivores on soils and soil biological properties. Pp: 201-216 en Gordon, I. y Prins, H (eds) *The Ecology of Browsing and Grazing*. Springer-Verlang, Berlin, Germany.
- Hashem, A, Radosevich, S, Roush, M. 1998. Effect of proximity factors on competition between winter wheat (*Triticum aestivum*) and italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Science*, 46: 181-190.
- Hayashi, I, Numata, M. 1971. Viable buried-seed population in the Miscanthus and Zoysia type grasslands in Japan: Ecological studies on the buried-seed population in the soil related to plant succession VI. *Japanese Journal of Ecology*, 20: 243-252.

- Hector, A, Joshi, J, Lawler, S, Spehn, E, Wilby, A. 2001. Conservation implications of the link between biodiversity and ecosystem functioning. *Oecologia*, 129: 624–628.
- Hector, A., Beale, A. J., Minns, A., Otway, S. J. and Lawton, J. H. 2000. Consequences of the reduction of plant diversity for litter decomposition: effects through litter quality and microenvironment. *Oikos*, 90: 357–371.
- Hendrickson, J, Lund, C. 2010. Plant community and target species affect responses to restoration strategies. *Rangeland Ecology and Management*, 63: 435-442.
- Henkin, Z, Noy-Meir, I, Kafkafi, U, Gutman, M, Seligman, N. 1996. Phosphate fertilization primes production of rangeland on brown rendzina soils in the Galilee, Israel. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 59: 43-53.
- Hill, R, Missen, D, Taylor, R. 1996. Use of glyphosate to prevent development of reproductive tillers and extend vegetative growth of bent grass (*Agrostis castellana*). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 36: 661-664.
- Hobbs, N, Schinel, D, Owensby, C, Ojima, D. 1991. Fire and grazing in the tallgrass prairie: contingent effects on nitrogen budgets. *Ecology*, 73: 1374-1382.
- Hobbs, R, Huenneke, L. 1992. Disturbance, diversity, and invasion: implications for conservation. *Conservation Biology*, 6: 324–337.
- Hobbs, R. 1989. The nature and effects of disturbance relative to invasions. Pp. 389–405 en Drake, J., Mooney, H., di Castri, F., Groves, R., Kruger, F., Rema'nek, M. y Williamson, M. (eds) *Biological invasions: a global perspective*, John Wiley and Sons, Chichester, UK.
- Honnay, O, Bossuyt, B, Verheyen, K, Butaye, J, Jacquemyn, H, Hermy M. 2002. Ecological perspectives for the restoration of plant communities in European temperate forests. *Biodiversity and Conservation*, 11: 213–242.
- Hooper, D, Chapin, F, Ewel, J, Hector, A, Inchausti, P, Lavorel, S, Lawton, J, Lodge, D, Loreau, M, Naeem, S, Schmid, B, Setá'la, H, Symstad, A, Vandermeer, J, Wardle, D. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75: 3–35.
- Hooper, D, Vitousek, P. 1997. The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science*, 277: 1302-1305.
- Hopfensperger, K. 2007. A review of similarity between seed bank and standing vegetation across ecosystems. *Oikos*, 116: 1438-1448.
- Hunter, J. 1995. Effect of bud vs. rosette growth stage on translocation of ¹⁴C-glyphosate in Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science*, 43: 347–351.
- Hurst, A, John, E. 1999. The effectiveness of glyphosate for controlling *Bracchipodium pinnatum* in chalk grassland. *Biology Conservation*, 89: 261-265.
- ISTA International Seed Testing Association. 1985. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology* 13: 1–513.
- ISTA International Seed Testing Association. 2003. Working Sheets on Tetrazolium Testing, Volume I, 1st Edition. The International Seed Testing Association. CH-Switzerland.
- ISTA International Seed Testing Association. 2005. International rules for seed testing. The International Seed Testing Association. CH-Switzerland.

- Jacobo, E, Rodríguez, A, Bartoloni, N, Deregibus, V. 2006. Rotational grazing effects on rangeland vegetation at a farm scale. *Rangeland Ecology and Management*, 59: 249-257.
- Jacobo, E, Rodríguez, A, Rossi, J, Salgado, L, Deregibus, V. 2000. Rotational stocking and production of Italian ryegrass on Argentinean rangelands. *Journal of Range Management*, 53: 483- 488.
- Jacobo, E. 2003. Evaluación de las variaciones en la estructura de la vegetación y en las características de los suelos causadas por una modificación del método de pastoreo en los pastizales de la Pampa Deprimida. Tesis Maestría en Recursos Naturales. EPG-FAUBA. Universidad de Buenos Aires.
- Jensen, K. 1998. Species composition of soil seed bank and seed rain of abandoned wet meadows and their relation to aboveground vegetation. *Flora*, 193: 345-359.
- Jordan, T. 1977. Effects of temperature and relative humidity on the toxicity of glyphosate to bermudagrass (*Cynodon dactylon*). *Weed Science*, 25: 448-451.
- Kalamees, R, Zobel, M. 1998. Soil seed bank composition in different successional stages of a species rich wooded meadow in Laelatu, western Estonia. *Acta Oecologica*, 1: 175-180.
- Kassahun, A, Snyman, H, Smit G. 2009. Soil seed bank evaluation along a degradation gradient in arid rangelands of the Somali region, eastern Ethiopia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129: 428-436.
- Kemp, D. y King W. 2001. Plant competition in pastures: Implication for management. Pp: 85-102 en Tow, P. y Lazenby, A. (eds.) *Competition and Succession in Pastures*. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Kennedy, E, Jordan, P. 1985. Glyphosate and 2,4-D: the impact of two herbicides on Moose browse in forest plantations. *Alces*, 21: 1-11.
- Kettenring, K, Reinhardt Adams, C. 2011. Lessons learned from invasive plant control experiments: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 48: 970-979.
- Knops, J, Wedin, D, Naeem, S. 2010. The role of litter quality feedbacks in terrestrial nitrogen and phosphorus cycling. *The Open Ecology Journal*, 3:14-25.
- Knops, J, Bradley, K. 2009. Soil carbon and nitrogen accumulation and vertical distribution across a 74-year chronosequence. *Soil Science Society of America Journal*, 73: 2096-2104.
- Koger, C, Poston, D, Reddy, K. 2004. Effect of glyphosate spray coverage on control of pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*). *Weed Technology*, 18: 124-130.
- Koger, C, Reddy, K. 2005. Glyphosate efficacy, absorption, and translocation in pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*). *Weed Science*, 53: 277-283.
- Kreuter, U, Amestoy, H, Kothmann, M, Ueckert, D, McGinty, W, Cummings, D. 2005. The use of brush management methods: A Texas landowner survey. *Rangeland Ecology and Management*, 58: 284-291.
- Kudsk, P, Olesen, T, Thonke, K. 1990. The influence of temperature, humidity and simulated rainfall on the performance of thiameturon-methyl. *Weed Research*, 30: 261-269.

- Laitinen, P, Rämö, S, Siimes, K. 2007. Glyphosate translocation from plants to soil: Does this constitute a significant proportion of residues in soil? *Plant Soil*, 300: 51–60.
- Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T., 1999. Decomposition. En: *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York, pp. 495–502.
- Lattera, P, Vignolio, O, Linares, M, Giaquinta, A, Maceira, N. 2003. Cumulative effects of fire on a tussock pampa grassland. *Journal of Vegetation Science*, 14: 43-54.
- Latzel, V, Mihulka, S, Klimešová, J. 2008. Plant traits and regeneration of urban plant communities after disturbance: Does the bud bank play any role? *Applied Vegetation Science*, 11: 387-394.
- Lavado, R, Taboada, M. 1985. Influencia del pastoreo sobre algunas propiedades químicas de un Natracuol de la Pampa Deprimida. *Ciencia del Suelo*, 3: 102-108.
- Lavado, R, Taboada, M. 1987. Soil salinization as an effect of grazing in a native soil in the Flooding Pampa of Argentina. *Soil Use and Management*, 3: 143-148.
- Lavorel, S, Lebreton, J. 1992. Evidence for lottery recruitment in Mediterranean old fields. *Journal of Vegetation Science*, 3: 91-100.
- Lavorel, S, McIntyre, S, Landsberg, J, Forbes, T. 1997. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology and Evolution*, 12: 474–478.
- Lavorel, S. 1999. Ecological diversity and resilience of Mediterranean vegetation to disturbance. *Diversity and Distributions*, 5: 3–13.
- Lemaire, G. y Agnusdei, M. 2000. Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilization. Pp: 265-287 en Lemaire, G, Hodgson, J., de Moraes, A., Carvalho, P. y Nabinger, C. (eds.) *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Lemaire, G. y Chapman, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. Pp: 13-29 en Hodgson, J. y Illius, A. (eds.) *The Ecology and Management of Grazing Systems*. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Lemcoff, J, Sala, O, Deregibus, V, León, R, Schlichter, T. 1978. Preferencia de los vacunos por los distintos componentes de un pastizal de la Depresión del Salado. *Monografías Comisión de Investigaciones Científicas*, 8: 57–70.
- León, R, Bertiller, M. 1982. Aspectos fenológicos de dos comunidades del pastizal de la Depresión del Salado (Prov. Bs. As.). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 20: 329-347.
- León, R, Burkart, S, Movia, C. 1979. Relevamiento fitosociológico del pastizal del norte de la Depresión del Salado. *Serie Fitogeográfica 17*, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina.
- León, R, Burkart, S. 1998. The Flooding Pampa grassland: Alternative states. *Ecotropicos*, 11: 121-130.
- León, R, Rusch, G, Oesterheld, M. 1984. Pastizales pampeanos – impacto agropecuario. *Phytocoenologia*, 12: 201-218.
- León, R. 1975. Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. *Monografías Comisión de Investigaciones Científicas*, 5: 75–107.

- Levine, J, Murriel, D. 2003. The community-level consequences of seed dispersal patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 34: 549-574.
- Liu, S, Campbell, R, Studens, J, Wagner, R. 1996. Absorption and translocation of glyphosate in Aspen (*Populus tremuloides* Michx.) as influenced by droplet size, droplet number, and herbicide concentration. *Weed Science*, 44: 482-488.
- Llamosas, C. 2005. Siembra directa de pasturas en suelos no agrícolas. Pp. 20-24 en *Planteos Ganaderos en Siembra Directa*, Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa (ed), Buenos Aires, Argentina.
- Llorens, E. 1995. Viewpoint: The state and transition model applied to the herbaceous layer of Argentina's calden forest. *Journal of Range Management*, 48: 442-447.
- Looman, J, Campbell, J. 1960. Adaptation of Sørensen's K (1948) for estimating unit affinities in prairie vegetation. *Ecology*, 41: 409-416.
- Loreau, M., Naeem, S, Inchausti, P, Bengtsson, J, Grime, P, Hector, A, Hooper, D, Huston, M, Raffaelli, D, Schmid, B, Tilman, D, Wardle, D. 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, 294: 804-808.
- Loreti, J, Oesterheld, M. 1996. Intraspecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions. *Oecologia*, 108: 279-284.
- Lulow, M. 2007. Restoration of California native grasses and clovers: the roles of clipping, broadleaf herbicide, and native grass density. *Restoration Ecology* 16: 584-593.
- Magurran, A. 2004. *Measuring biological diversity*. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Manuel-Navarrete, D, Gallopín, G, Blanco, M, Díaz-Zorita, M, Ferraro, D, Herzer, H, Laterra, P, Murmis, M, Podestá, G, Rabinovich, J, Satorre, E, Torres, F, Viglizzo, E. 2009. Multi-causal and integrated assessment of sustainability: the case of agriculturization in the Argentine Pampas. *Environment, Development and Sustainability*, 11: 621-638
- Manuja, S., Raja Ram R, Singh, D, Mukherjee, D. 2005. Evaluation of different herbicides for protection of gladiolus (*Gladiolus* spp.) crop from weeds. *Crop Protection*, 24: 921-926.
- Mapfumo, E., Naeth, M.A., Baron, V.S., Dick, A.C., Chanasyk, D.S. 2002. Grazing impacts on litter and roots: perennial versus annual grasses. *Journal of Range Management* 55:16-22.
- Martín, B, Cechetti, S. 2010. El cultivo de soja para pastoreo directo. *Revista Agromensajes*, 29: 9-10.
- Marzocca, A., Marsico, O. y Del Puerto, O. 1976. *Manual de Malezas*. Tercera edición. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Mau Crimmins, T. 2007. Effects of removing *Cynodon dactylon* from a recently abandoned agricultural field. *Weed Research*, 47: 212-221.
- McAllister, R, Haderlie, L. 1985. Translocation of ¹⁴C glyphosate and ¹⁴CO₂-labeled photoassimilates in Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science*, 33: 153-159.

- McGlone, C, Sieg, C, Kolb, T, Nietupsky, T. 2012. Established native perennial grasses out-compete an invasive annual grass regardless of soil water and nutrient availability. *Plant Ecology*, 213: 445–457.
- McKell, C, Duncan, C. 1969. Competitive relationships of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Ecology*, 50: 653–657.
- McLaughlin, A, Mineau, P. 1995. The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 55: 201–212.
- McNaughton, S. 1979. Grazing as an optimization process: grass-ungulate relationships in the Serengeti. *American Naturalist*, 113: 691–703.
- McNaughton, S. 1994. Biodiversity and function of grazing ecosystems. Pp: 361–384 en Schulze, E. y Mooney, H. (eds.) *Biodiversity and Ecosystem Function*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Meiners, S, Rye, T, Klass, J. 2009. On a lever field: The utility of studying native and non-native species in successional systems. *Applied Vegetation Science*, 12: 45–53.
- Melillo, J.M., Aber, J.D., Muratore, J.F., 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63, 621–626.
- Milchunas, D, Lauenroth, W. 1993. Quantitative effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecological Monographs*, 63: 327–366.
- Milchunas, D, Sala, O, Lauenroth, W. 1988. A generalized model of effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. *American Naturalist*, 132: 87–106.
- Milchunas, D. 2006. Responses of plant communities to grazing in the south-western United States. U.S. Department of Agriculture, Forest Service General Technical Report RMRS-GTR-169, Rocky Mountain Research Station, Fort Collins, USA.
- Miller, D, Chamberlain, M. 2008. Plant community response to burning and herbicide site preparation in Eastern Louisiana, USA. *Forest Ecology and Management*, 255: 774–780.
- Milligan, A, Putwain, P, Marrs, R. 2003. A field assessment of the role of selective herbicides in the restoration of British moorland dominated by *Molinia*. *Biological Conservation*, 109: 369–379.
- Milton, S, Hoffman, M. 1994. The application of state-and - transition models to rangeland research and management in arid succulent and semi - arid grassy Karoo, South Africa. *African Journal of Range and Forage Science*, 11: 18–26.
- Monaco, T, Osmond, T, Dewey, S. 2005. Medusahead control with fall- and spring-applied herbicides on northern Utah foothills. *Weed Technology*, 19: 653–658.
- Montané, F, Romanyà, J, Rovira, P, Casals, P. 2010. Aboveground litter quality changes may drive soil organic carbon increase after shrub encroachment into mountain grasslands. *Plant and Soil*, 337:151–165.
- Monteith, J. 1972. Solar radiation and productivity in tropical ecosystems. *Journal of Applied Ecology*, 9: 747–66.
- Montes, L. 1988. *Lotus tenuis*. *Revista Argentina de Producción Animal*, 8: 367–376.
- Moore, P. 1980. Soil seed banks. *Nature*, 284: 123–124.

- Morillo, E, Undabeytia, T, Maqueda, C, Ramos, A. 2000. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics. Influence of copper addition. *Chemosphere*, 40: 103-107.
- Morris, C, Monaco, T., Rigby, C. 2009. Variable impacts of imazapic rate on downy brome (*Bromus tectorum* L.) and seeded species in two rangeland communities. *Invasive Plant Science and Management*, 48: 255–265.
- Mueller-Dombois, D. y Ellenberg, H. 1974. Causal analytical inquiries into the origin of plant communities. Pp. 335–370 en Mueller-Dombois, D. y Ellenberg, H. (eds.) *Aims and Methods of Vegetation Ecology*. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Neumann, G, Kohls, S, Landsberg, E, Stock-Oliveira Souza, K, Yamada, T, Römheld, V. 2006. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 20: 963-969
- Newman, G, Redente, E. 2001. Long-term plant community development as influenced by revegetation techniques. *Journal of Range Management*, 54: 717-724.
- Norsworthy, J, Oliver, L, Purcell, L. 1999. Diurnal leaf movement effects on spray interception and glyphosate efficacy. *Weed Technology*, 13: 466–470.
- Nouvellon, Y, Lo Seen, D, Rambal, S, Be'gue', A, Moran, M, Kerr, Y, Qi, J. 2000. Time course of radiation use efficiency in a shortgrass ecosystem: consequences for remotely sensed estimation of primary production. *Remote Sensing of Environment*, 71:43–55.
- Noy-Meir, I, Briske, D. 1996. Fitness components of grazing-induced population reduction in a dominant annual, *Triticum dicoccoides* (wild wheat). *Journal of Ecology*, 84: 439-448.
- Noy-Meir, I, Briske, D. 2002. Response of wild wheat populations to grazing in Mediterranean grasslands: the relative influence of defoliation, competition, mulch and genotype. *Journal of Applied Ecology*, 39: 259-278.
- Noy-Meir, I, Kaplan, D. 2002. Species richness of annual legumes in relation to grazing in Mediterranean vegetation in northern Israel. *Israel Journal of Plant Sciences*, 50: 95-109.
- Oesterheld, M, León, R. 1987. El envejecimiento de pasturas implantadas: su efecto sobre la productividad primaria. *Turrialba*, 37: 29-35.
- O'Neill, R., DeAngelis, D., Waide, J. y Allen, T. 1986. A hierarchical concept of ecosystems. Princeton University Press, New Jersey, UK:
- Ortmann, J, Stubbendieck, J, Masters, R, Pfeiffer, G, Bragg T. 1998. Efficacy and costs of controlling eastern redcedar. *Journal of Range Management*, 51: 158-63.
- Osem, J, Perevolotsky, A, Kigel, J. 2006. Similarity between seed bank and vegetation in a semi-arid annual plant community: The role of productivity and grazing. *Journal of Vegetation Science*, 17: 29-36.
- Oyarzabal, M., Oesterheld, M. y Grigera, G. 2010. ¿Cómo estimar la eficiencia en el uso de la radación mediante sensores remotos y cosechas de biomasa? Pp: 119-131 en Altesor, A., W. Ayala y J. M. Paruelo (eds.) *Bases Ecológicas y Tecnológicas para el Manejo de Pastizales*, Serie: FPTA 26, INIA, Montevideo, Uruguay.

- Page, A., Miller, D. y Keeney, D. 1982. *Methods of Soil Analysis, Part 2*. Soil Science Society of America, Inc. Publisher, Madison, USA Madison.
- Parfitt, R., Yeates, G., Ross, D., Schon, L., Mackay, A., Wardle, D. 2010. Effect of fertilizer, herbicide and grazing management of pastures on plant and soil communities. *Applied Soil Ecology*, 45: 175–186.
- Paruelo, J., Guerschman, J., Verón, S. 2005. Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia Hoy*, 15: 14-23.
- Paruelo, J., Sala, O. 1990. Caracterización de las inundaciones en la Depresión del Salado: dinámica de la capa freática. *Turrialba*, 40: 5-11.
- Paruelo, J., Oyarzabal, M. y Oesterheld, M. 2010. El seguimiento de los recursos forrajeros mediante sensores remotos: bases y aplicaciones. Pp: 133-144 en Altésor, A., W. Ayala y J. M. Paruelo (eds.) *Bases Ecológicas y Tecnológicas para el Manejo de Pastizales*, Serie: FPTA 26, INIA, Montevideo, Uruguay.
- Pavlik, B., Nickrent, D., Howald, A. 1993. The recovery of an endangered plant. 1. Creating a new population of *Amsinckia grandiflora*. *Conservation Biology*, 7: 510–526.
- Perelman, S., Chaneton, E., Batista, W., Burkart, S., León, R. 2007. Habitat stress, species pool size and biotic resistance influence exotic plant richness in the Flooding Pampa grasslands. *Journal of Ecology*, 95: 662-673.
- Perelman, S., León, R., Oesterheld, M. 2001. Cross-scale vegetation patterns of Flooding Pampa grasslands. *Journal of Ecology*, 89: 562–577.
- Perelman, S., Mazzella, M., Muschietti, J., Zhu, T., Casal, J. 2003. Finding unexpected patterns in microarray data. *Plant Physiology*, 133: 1717–1725.
- Piccolo, A., Celano, G., Arienzo, M., Mirabella, A. 1994. Absorption and desorption of glyphosate in some European soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 29:1105-1115.
- Picket, S., Collins, S., Armesto, J. 1987. Models, mechanisms and pathways of succession. *The Botanical Review*, 53: 335-371.
- Piñeiro, G., Oesterheld, M., Paruelo, J. 2006. Seasonal variation in aboveground production and radiation use efficiency of temperate rangelands estimated through remote sensing. *Ecosystems*, 9: 357–373.
- Pline, W., Wilcut, J., Edmisten, K., Wells R. 2002. Physiological and morphological response of glyphosate-resistant and non-glyphosate-resistant cotton seedlings to root-absorbed glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 73: 48-58.
- Pokorny, M., Sheley, R., Zabinski, C., Engel, R., Svejcar, T., Borkowski, J. 2005. Plant functional group diversity as a mechanism for invasion resistance. *Restoration Ecology*, 13: 448–459.
- Pratt, D., Greenway, P., Gwynne, M. 1966. A classification of east african rangeland, with an appendix on terminology. *Journal of Applied Ecology*, 3: 369-382.
- Price, C. 1983. The effect of environment on foliage uptake and translocation of herbicides. *Aspects of Applied Biology*, 4: 157–169.
- Pucheta, E., Cabido, M., Díaz, S. 1997. A model of states and transitions for the high altitude grasslands of the Sierras de Córdoba, Argentina. *Ecotropicos*, 10: 151-160.

- Puricelli, E, Faccini, D. 2009. Glyphosate dose effect on weed biomass at the vegetative and reproductive stage. *Planta Daninha*, 27: 303-307.
- Pyne, S. 1982. *Fire in America, a Cultural History of Wildland and Rural Fire*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Reddy, K, Bryson C. 2009. In-crop and autumn-applied glyphosate reduced purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) density in no-till glyphosate-resistant corn and soybean. *Weed Technology* 23: 384-390.
- Roberts, H. 1981. Seed banks in soils. Pp.1-55 en Coaker, T. (ed.) *Advances in Applied Biology*, Academic Press, London, UK.
- Rodrigues, J, Worsham, A, Corbin, F. 1982. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 30: 316-320.
- Rodríguez, A, Jacobo, E, Deregibus, V. 1998. Germination behaviour of Italian ryegrass in Flooding Pampa rangelands. *Seed Science Research*, 8: 521-528.
- Rodríguez, A, Jacobo, E, Scardaoni, P, Deregibus, V. 2007. Effect of phosphate fertilization on Flooding Pampa grasslands (Argentina). *Rangeland Ecology and Management*, 60: 471-478.
- Rodríguez, A, Jacobo, E. 2010. Glyphosate application changes plant functional groups proportion and reduces floristic richness and diversity in Flooding Pampa rangeland (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 138: 222-231.
- Rodríguez, A, Jacobo, E. 2013. Glyphosate effects on seed bank and vegetation composition of temperate grasslands. *Applied Vegetation Science*, 16: 51-62.
- Rossignol, N, Bonis, A, Bouzille, J. 2006. Consequence of grazing pattern and vegetation structure on the spatial variations of net N mineralisation in a wet grassland. *Applied Soil Ecology*, 31: 62-72.
- Ruffner, M, Barnes, T. 2010. Natural grassland response to herbicides and application timing for selective control of tall fescue, an invasive cool-season grass. *Invasive Plant Science and Management*, 3: 219-228.
- Rusch, G, Oesterheld, M., 1997. Relationship between productivity, and species and functional group diversity in grazed and non-grazed pampas grassland. *Oikos*, 78: 519-526.
- Sala, O, Deregibus, V, Schlichter, T, Alippe, H. 1981. Productivity dynamics of a native temperate grassland in Argentine. *Journal of Range Management*, 34: 48-51.
- Sala, O. y Paruelo, J. 1997. Ecosystem services in grasslands. Pp 237-251 en Daily, G. (ed.) *Natural Services: Societal Dependence on Natural Ecosystems*. Part III. Services supplied by major biomes. Island Press, Washington, USA.
- Sanjari, G, Ghadiri, H., Ciesiolka, C, Yu, B. 2009. Comparing the effects of continuous and time-controlled grazing systems on soil characteristics in Southeast Queensland. *Soil Research*, 46: 348-358.
- Satorre, E. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy*, 15: 24-31.
- Scheneiter, O. 2001. Trébol blanco. Pp: 261-287 en Maddaloni J. y Ferrari L. (eds) *Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina*.

Universidad Nacional de Lomas de Zamora-INTA, Lomas de Zamora, Argentina.

- Schnyder Locher, F, Auerswald, K. 2010. Nutrient redistribution by grazing cattle drives patterns of topsoil N and P stocks in a low-input pasture ecosystem. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 88:183–195.
- Schütte, G. 2003. Herbicide resistance: Promises and prospects of biodiversity for European agriculture. *Agriculture and Human Values*, 20: 217–230
- Scursoni, J, Satorre, E. 2010. Glyphosate management strategies, weed diversity and soybean yield. *Crop Protection*, 29: 957-962.
- Sellers, B, Mullahey, J. 2008. Broadcast vs. wet-blade herbicide applications for southern wax myrtle (*Myrica cerifera*) control. *Weed Technology*, 22: 286-9.
- Semmartin, M, Garibaldi, L, Chaneton, E. 2008. Grazing history effects on above- and below- ground litter decomposition and nutrient cycling in two co-occurring grasses. *Plant and Soil*, 303: 177-189.
- Shaner, D. 2009. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science*, 57:118-123.
- Shariff, A, Biondini, M, Grygiel C. 1999. Grazing intensity effects on litter decomposition and soil nitrogen mineralization. *Journal of Range Management*, 47:444-449.
- Silvertown, J.W., Charlesworth, D. 2001. Introduction to plant population biology. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Simonsen, L, Fomsgaard, I, Svensmark, B, Spliid, N. 2008. Fate and availability of glyphosate and AMPA in agricultural soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 43: 365-375.
- Simpson, R., Leck, M. y Parker, V. 1989. Seed banks: General concepts and methodological issues. Pp 3-8 en Leck, M., Parker, V. y Simpson, L. (eds) *Ecology of soil seed banks*, Academic Press, London, UK.
- Sinclair, R, Muchow, R. 1999. Radiation use efficiency. *Advances in Agronomy*, 65:215-265.
- Skurski, T, Maxwell, B, Rew, L. 2013. Ecological tradeoffs in non-native plant management. *Biological Conservation*, 159: 292–302.
- Smith, V, Bradford, M. 2003. Litter quality impacts on grassland litter decomposition are differently dependent on soil fauna across time. *Applied Soil Ecology* 24 (2003) 197–203.
- Smith, S. y Read, D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, Third edition. Academic Press, London, UK.
- Snyman, H., 2003. Short-term response of rangeland following an unplanned fire in terms of soil characteristics in a semi-arid climate of South Africa. *Journal of Arid Environments*, 55: 160–180.
- Soriano, A., León, R., Sala, O., Lavado, R., Deregibus, V., Cahuépe, M., Scaglia, O., Velázquez, C. y Lemcoff, J. 1991. Rio de La Plata grasslands. Pp. 367-407 en Coupland, R. (ed.) *Ecosystems of the world. Natural grasslands. Introduction and Western Hemisphere*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.

- Spara, F, Vernengo, E, Guercio, A. 2007. Producción de forraje y manejo de soja para pastoreo. *Producir XXI*, 16: 20-26.
- Sterling, T. 1994. Mechanisms of herbicide absorption across plant membranes and accumulation in plant cells. *Weed Science* 42: 263-276.
- Stringham, T, Krueger, W, Shaver, L. 2003. State and transition modelling: an ecological process approach. *Journal of Range Management*, 56: 106-113.
- Sullivan, T, Sullivan, D. 2003. Vegetation management and ecosystem disturbance: impact of glyphosate herbicide on plant and animal diversity in terrestrial systems. *Environmental Reviews*, 11: 37-59.
- Taboada, M; Lavado, R, Rubio, G, Cosentino, D. 2001. Soil volumetric changes in natric soils caused by air entrapment following seasonal ponding and water table. *Geoderma*, 101:49-64.
- Taboada, M, Micucci, S. 2009. Respuesta de las propiedades físicas de tres suelos de la Pampa Deprimida al pastoreo rotativo. *Ciencias del Suelo*, 27(2): 147-157.
- Taboada, M, Lavado, R, Svartz, H, Segat, A, 1999. Structural stability changes in a grazed grassland Natraquoll of the Flooding Pampa of Argentina. *Wetlands*, 19: 50-55.
- Taylor, B.R., Parkinson, D., Parsons, W.F.J., 1989. Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosm test. *Ecology* 70, 97-104.
- Teague, W, Dowhower, S, Baker, S, Haile, N, DeLaune, P, Conover, D. 2011. Grazing management impacts on vegetation, soil biota and soil chemical, physical and hydrological properties in tall grass prairie. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141: 310-322.
- ter Braak, C. 1986. Canonical Correspondence Analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67: 1167-1179.
- Tesfamariam, T, Bott, S, Cakmak, I, Römheld, V, Neumann, G. 2009. Glyphosate in the rhizosphere. Role of waiting times and different glyphosate binding forms in soils for phytotoxicity to non-target plants. *European Journal of Agronomy*, 31: 126-132.
- Thompson, K, Grime, J. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology*, 67: 893-921.
- Tilman, D, Knops, J, Wedin, D, Reich, P, Ritchie, M, Siemann, E. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, 277: 1300-1302.
- Tilman, D. 1982. Resource competition and community structure. Princeton University Press, Oxford, UK.
- Tilman, D. 1988. Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities. Princeton University Press, Oxford, UK..
- Tilman, D. 1996. Biodiversity: population versus ecosystem stability. *Ecology*, 77: 350-363.
- Tilman, D. 2001. Effects of diversity and composition on grassland stability and productivity. Pp: 183-207 en Huntley, N. y Levin, S. (eds.) *Ecology: achievement and challenge*, Blackwell Science, Oxford, UK.

- Tognetti, P, Chaneton, E, Omacini, M, Trebino, H, León, R. 2010. Exotic vs. native plant dominance over 20 years of old-field succession on set-aside farmland in Argentina. *Biological Conservation*, 143: 2494–2503.
- Trigo, E, Cap, E. 2003. The Impact of the introduction of transgenic crops in argentinean agriculture. *AgBioForum*, 6: 87-94.
- Tscharntke, T, Klein, A, Kruess, A, Steffan-Dewenter, I, Thies, C. 2005. Landscape perspective on agricultural intensification and biodiversity- ecosystem service management. *Ecology Letters*, 8: 857-874.
- Tunnell, S, Stubbendieck, J, Palazzolo, S, Masters, R. 2006. Forb response to herbicides in a degraded tallgrass prairie. *Natural Areas Journal*, 26: 72-77.
- Tworkoski, T, Sterrett, J. 1987. Modification of root bud growth in Canada thistle with selected plant growth regulators: effects on translocation of glyphosate. *Journal of Plant Growth Regulation*, 6: 221-232.
- van der Heijden, M, Klironomos, J, Ursic, M, Moutoglis, P, Streitwolf-Engel, R, Boller, T, Wiemken, A, Sanders, I. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72.
- Vanlieshout, L; Loux, M. 2000. Interactions of glyphosate with residual herbicides in no-till soybean (*Glycine max*) production. *Weed Technology*, 14: 480-487.
- Vargas, D., Bertiller, M., Ares, J., Carrera, A., Sain, C. 2006. Soil C and N dynamics induced by leaf-litter decomposition of shrubs and perennial grasses of the Patagonian Monte. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 2401–2410
- Vesk, P, Westoby, M. 2004. Sprouting ability across diverse disturbances and vegetation types worldwide. *Journal of Ecology*, 92: 310-320.
- Vignolio, O, Fernández, O. 2006. Bioecology of *Lotus glaber* Mill. (Fabaceae) in the Flooding Pampa (Buenos Aires, Argentina). *Revista Argentina de Producción Animal*, 26: 113-130.
- Vila Aiub, M, Balbi, M, Gundel, P, Ghersa, C, Powles, S. 2007. Evolution of glyphosate-resistant johnsongrass (*Sorghum halepense*) in glyphosate-resistant soybean. *Weed Science*, 55: 566–571.
- Virágh, K, Gerencsér, L. 1988. Bank in the soil and its role during secondary successions induced by some herbicides in a perennial grassland community. *Acta Botanica Hungarica*, 34: 77-121.
- Viragh, K. 1986. The effect of herbicides on vegetation dynamics: a multivariate study. *Abstracta Botanica*, 10: 317-340.
- Viragh, K. 1987. The effect of herbicides on vegetation dynamics: comparison of classifications. *Abstracta Botanica*, 11: 53-70.
- Virágh, K. 1989. The effect of selective herbicides on temporal population patterns in an old perennial grassland community. *Acta Botanica Hungarica*, 35: 127-143.
- Vitta, J, Tiesca, D, Puricelli, E. 2004. Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 103: 621-624.
- Wagner, M, Poschlod, P, Setchfield, R. 2003. Soil seed bank in managed and abandoned semi-natural meadows in Soomaa National Park, Estonia. *Annales Botanici Fennici*, 40: 87-100.

- Wainwright, C, Wolkovich, E, Cleland, E. 2012. Seasonal priority effects: implications for invasion and restoration in a semi-arid system. *Journal of Applied Ecology* 49:234-341
- Waltz, A, Martin, A, Roeth, F, Lindquist, J. 2004. Glyphosate efficacy on velvetleaf varies with application time of day. *Weed Technology*, 18: 931–939.
- Webster, T, Grey, T, Davis, J, Culpepper, A. 2008. Glyphosate hinders purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) tuber production. *Weed Science*, 56: 735–742.
- Wedin, D., A, y Tilman, D. 1990, Species effects on Nitrogen cycling: a test with perennial grasses. *Oecology* 84:433-441
- Wedin, D. 1996. Nutrient cycling in grasslands: An ecologist's perspective. Pp: 29-44 en Joost, R. y Roberts C. (eds.) *Nutrient cycling in forage systems*. Potash and Phosphate Institute, Manhattan, USA.
- Weidenhamer, J, and Callaway, R. 2010. Direct and indirect effects of invasive plants on soil chemistry and ecosystem function. *Journal of Chemical Ecology*, 36:59-69.
- Weir, J, Bidwell, T, Dwayne Elmore, R, Hickman, K, Fuhlendorf, S, Engle, D. 2013. Weed control on rangeland. Oklahoma Cooperative Extension Service Publications NREM-2882: 1-6.
- Westbury, D, Dunnett, N. 2008. The promotion of grassland forb abundance: a chemical or biological solution? *Basic and Applied Ecology*, 9: 653-662.
- Westoby, M, Walker, B, Noy-Meir, I. 1989. Opportunistic management of rangelands not at equilibrium. *Journal of Range Management*, 42: 266-274.
- Westwood, J, Yerkes, C, DeGennaro, F, Weller S. 1997. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (*Convolvulus arvensis*). *Weed Science* 45: 659-663.
- Wilcox, B, Thurow, T. 2006. Emerging issues in rangeland ecohydrology: Vegetation change and the water cycle. *Rangeland Ecology and Management*, 59: 220-224.
- Yerkes, C, Weller, S. 1996. Diluent volume influences susceptibility of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes to glyphosate. *Weed Technology*, 10: 565–569.
- Zablotowicz, R, Reddy, K. 2007. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. *Crop Protection*, 26: 370-376.
- Zavaleta, E, Hulvey, K. 2007. Realistic variation in species composition affects grassland production, resource use and invasion resistance. *Plant Ecology*, 188: 39-51.
- Zhao, Y, Peth, S, Krümmelbein, J, Horn, R, Wang, Z, Steffens, M, Hoffmann, C, Peng, X. 2007. Spatial variability of soil properties affected by grazing intensity in Inner Mongolia grassland. *Ecological Modelling*, 205: 241-254.
- Zobiolo, L, Kremer, R, Oliveira Jr, R, Constantin, J. 2011. Glyphosate affects microorganisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *Journal of Applied Microbiology*, 110: 118-127.