



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Departamento de Agronomía



**DINÁMICA DE EMERGENCIA DEL BANCO DE
SEMILLAS DEL SUELO Y EVALUACIÓN DE
GERMINACIÓN DE BIOTIPOS DE
Brassica rapa
CON RESISTENCIA MÚLTIPLE A HERBICIDAS**

Trabajo final de intensificación

SOFIA STERN DEMARCHI

Tutora

Dra. María Soledad Ureta

Consejeros

Dr. Claudio E. Pandolfo

Dr. Alejandro Presotto

Asesora externa

Ing. Agr. Sofia G. Tillería



Diciembre de 2023

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	2
ÍNDICE DE TABLAS.....	3
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
DINÁMICA DE GERMINACIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS.....	12
EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN DE BIOTIPOS DE <i>B. rapa</i>	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
DINÁMICA DE GERMINACIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS.....	18
EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN DE BIOTIPOS DE <i>B. rapa</i>	21
CONCLUSIONES.....	30
AGRADECIMIENTOS	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Triángulo de U, representación gráfica de las relaciones filogenéticas dentro del género *Brassica*.

Figura 2. Individuos de *B. rapa*.

Figura 3. Presencia de nabo resistente a glifosato, 2-4D y ALS en Argentina desde su detección hasta la fecha. Fuente: Mapa de malezas de Aapresid.

Figura 4. (a) Silicuas en proceso de trilla y semillas obtenidas. **(b)** Prueba de tetrazolio en ambos biotipos.

Figura 5. Esquema de disposición de tratamientos por bloques en el campo experimental. Ss: susceptible en superficie, Sp: Susceptible en profundidad, Rs: Resistente en superficie, Rp: Resistente en profundidad.

Figura 6. Carpas hechas con malla antiáfidos.

Figura 7. Cajas de Petri antes de llevar a cámara para germinación.

Figura 8. Porcentaje de emergencia a la semana 10. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 9. Porcentaje de emergencia de los biotipos analizados a lo largo de las 10 semanas: **(a)** Resistente en profundidad, **(b)** Resistente en superficie, **(c)** Susceptible en profundidad, **(d)** Susceptible en superficie.

Figura 10. Porcentaje de emergencia de los distintos tratamientos a lo largo de las 10 semanas.

Figura 11. (a) Plántulas de *B. rapa*. **(b)** Tres repeticiones de BAL a temperatura alterna, y fotoperiodo de 12 horas.

Figura 12. Porcentaje de germinación en M0 bajo temperatura alterna (10-25°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los colores oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 13. Porcentaje de germinación en M0 bajo temperatura constante (17,5°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento

con 12 horas de luz y los oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 14. Porcentaje de germinación en M0 a temperatura alterna (10-25°C) y fotoperiodo de 12 horas. **(a)** a los 4 días (EG) y **(b)** a los 6 días. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 15. Porcentaje de germinación al momento cero (M0) a temperatura constante (17,5°C) y fotoperiodo de 12 horas. **(a)** a los 4 días (EG) y **(b)** a los 6 días. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 16. Porcentaje de germinación en M1 bajo temperatura alterna (10-25°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los colores oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 17. Porcentaje de germinación en M1 bajo temperatura constante (17,5°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz, el asterisco indica diferencias para la misma población en fotoperiodo y oscuridad. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Figura 18. Porcentaje de germinación en M1 con fotoperiodo de 12 horas a los 6 días de germinación: (a) temperatura alterna y (b) temperatura constante.

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Características de los biotipos utilizados.

TABLA 2. Porcentaje de emergencia y resultados de análisis estadístico según Tukey.

TABLA 3. Porcentaje de germinación y resultados de análisis estadístico según Tukey.

RESUMEN

Las brassicáceas (crucíferas) son una familia compuesta por 338 géneros y 3709 especies. *Brassica rapa* (nabo) es una especie cuya forma silvestre es una maleza de cultivos en todo el mundo. En Argentina, en el año 2012 se detectaron poblaciones con resistencia transgénica al herbicida glifosato y con resistencia no transgénica a herbicidas inhibidores de la enzima AHAS. Desde su detección, la presencia de los biotipos resistentes ha crecido de manera exponencial en el país.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la dinámica y frecuencia de germinación de biotipos de *B. rapa* resistentes y susceptibles, y determinar las características que permitan diferenciarlos.

En un primer ensayo se evaluó la emergencia a campo de biotipos susceptibles y resistentes, en superficie y profundidad. Durante 10 semanas se realizaron conteos semanales de plántulas emergidas. Se observó que a la segunda y tercera semana el biotipo resistente colocado en profundidad mostró el mayor porcentaje de emergencia difiriendo significativamente del resto. Mientras que a la décima semana el biotipo resistente puesto en superficie mostró el mayor porcentaje de germinación, difiriendo significativamente con el biotipo susceptible puesto en superficie.

En un segundo ensayo se evaluaron siete biotipos de *B. rapa*, dentro de los que se encontraban resistentes y susceptibles, de distintas partes del país, utilizando como control un cultivar de *B. rapa* y otro de *B. napus*. La semilla fue obtenida bajo condiciones de aislamiento en carpas con malla antiáfidos. Los ensayos de germinación se realizaron a temperatura alterna (10-25°C) y temperatura constante (17,5°C) en dos momentos distintos (M0 y M1). Se observó que dos de los biotipos resistentes (BAL y LDU) no presentaron dormición mientras que el tercer biotipo resistente, sí (LSA). No se encontraron diferencias que permitan diferenciar los biotipos susceptibles de los resistentes.

INTRODUCCIÓN

El comienzo de la agricultura trajo consigo grandes cambios para las comunidades humanas, permitiendo el establecimiento en un determinado lugar y dejar de ser nómada. Los registros arqueológicos sugieren que hubo un período de cultivo previo a la domesticación. Este cultivo asociado a los humanos reformuló las trayectorias evolutivas de estas especies para transformarlas en cultivos domesticados (Smýkal et al., 2018).

La domesticación de plantas y animales fue una de las transiciones culturales y evolutivas más significativas en la historia de las especies (Larson et al., 2014). La domesticación de plantas es la modificación genética de las formas silvestres de las especies para crear formas que se adapten a las necesidades de las comunidades humanas, perdiendo la capacidad de auto-perpetuarse (Harlan, 1992). Este proceso trajo consigo un conjunto común de rasgos a lo que se denomina síndrome de domesticación. Dentro de estos rasgos se encuentra la pérdida de dormición, lo que permite una germinación rápida y uniforme luego de la siembra; floración temprana y uniforme; pérdida de la dispersión natural de las semillas, mejorando así la cosecha y disminuyendo las pérdidas antes de la misma; aumento en el tamaño del fruto y disminución de la dureza de este, para mejorar su procesamiento (Smýkal, 2018).

La domesticación es un proceso complejo el cual sugiere cambios a nivel genotípico que luego repercuten en la población. Si bien estos cambios pueden ser beneficiosos, cualquier tipo de selección lleva a una pérdida de la diversidad genética denominada cuello de botella. Esto repercute negativamente en la capacidad de sobrevivir a diferentes adversidades ambientales, ya que los alelos que podrían ser útiles frente a determinada adversidad ya no existen en la población (Smýkal, 2018).

Junto a los nuevos procesos productivos, las malezas también fueron evolucionando ante las prácticas impuestas por las comunidades humanas, pudieron expresar las características más favorables para adaptarse a las condiciones que fueron sucediendo y de esta manera ser más competitivas que los cultivos a la hora de utilizar los recursos disponibles. Un mecanismo de defensa que creemos importante mencionar es la dormición, que es la

incapacidad de algunas semillas viables para germinar bajo condiciones ambientales apropiadas, asegurando la supervivencia de la especie frente a cambios ambientales imprevistos, tan frecuentes en la naturaleza (De La Cuadra, 1992).

Las brassicáceas son una familia del reino vegetal formada por 338 géneros y 3709 especies (Warwick et al., 2006). Esta familia se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial con gran importancia económica y social, ya que se constituye tanto por especies hortícolas, oleaginosas e importantes malezas de los sistemas productivos. La mayoría de las crucíferas son hierbas anuales, bienales o perennes. Las hojas son alternas, las inflorescencias son siempre racimos indeterminados y el fruto es una silicua (Appel y Shehbaz, 2003).

En el género *Brassica* encontramos seis especies emparentadas; tres de ellas diploides; *B. rapa* (n=10, AA), *B. nigra* (n=8, BB) y *B. oleracea* (n=9, CC) y otras tres alopolipliodes generadas mediante hibridaciones interespecíficas; *B. carinata* (n=17, BBCC), *B. juncea* (n=18, AABB) y *B. napus* (n=19, AACC). Las relaciones entre ellas fueron representadas por el botánico coreano Woo Jang-choon mediante el triángulo de U (Figura 1) (Gómez-Campo 1999; Prakash et al., 2012).

Brassica napus L. (colza-canola) se generó por hibridaciones interespecíficas espontáneas a partir de *B. rapa* y *B. oleracea*. Es uno de los principales cultivos oleaginosos a nivel mundial. Existen en el mundo variedades de colza con resistencia a herbicidas de origen transgénico como glifosato, glufosinato y bromoxinil (Beckie et al., 2003). Por otro lado, se han desarrollado cultivares no transgénicos con resistencia a herbicidas, incluida la resistencia a herbicidas inhibidores de la enzima AHAS, obtenidos por mutagénesis y comercializados como colza Clearfield® (Cobb y Reade, 2010).

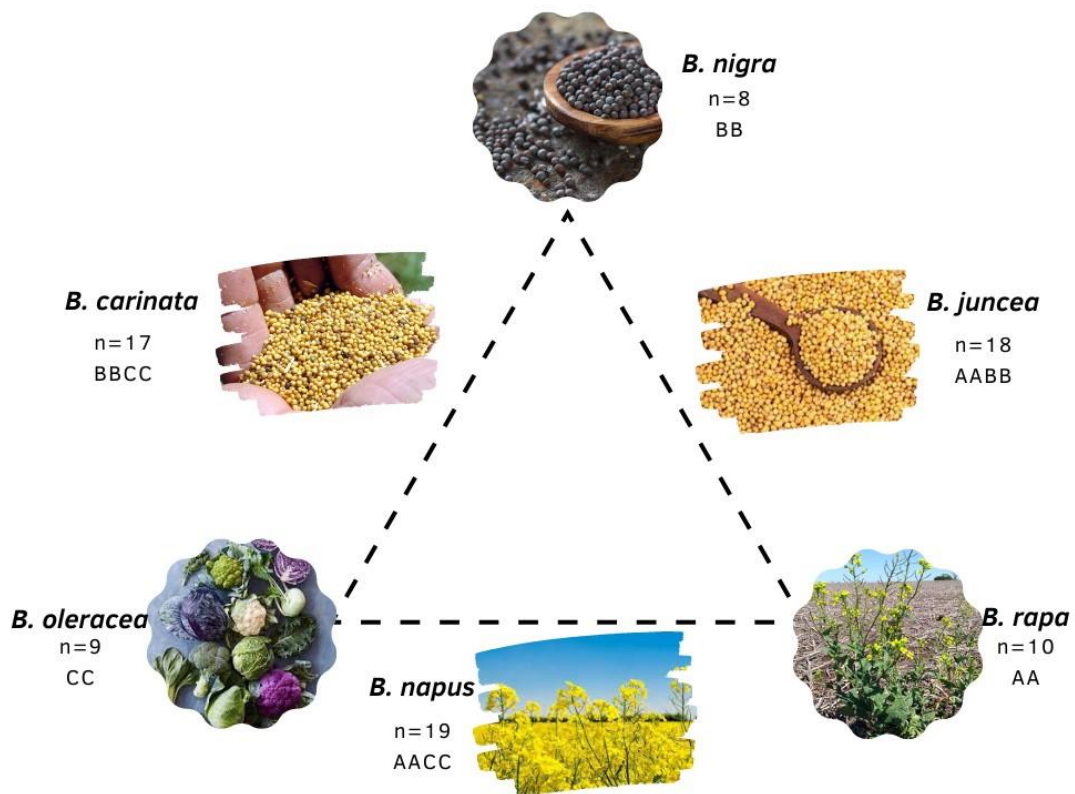


Figura 1: Triángulo de U, representación gráfica de las relaciones filogenéticas dentro del género *Brassica*.

Brassica rapa L. es una especie de la familia *Brassicaceae* anual cultivada para la producción de aceite y alimentos, cuya forma silvestre es una maleza de cultivos en todo el mundo (Pandolfo et al., 2017). Presenta grupos definidos o subespecies, diferenciados por sus características morfológicas. Existen tipos oleíferos, grupos cultivados por sus hojas y otros por sus raíces carnosas (Gómez-Campo y Prakash, 1999).

En Argentina, es una maleza común en cultivos de trigo y otros cereales de invierno, prefiere hábitats perturbados. Normalmente emerge durante el otoño-invierno, aunque en la provincia de Buenos Aires se han observado emergencias prácticamente todo el año, por este motivo se encuentra presente en casi todos nuestros cultivos, siendo una especie fuertemente invasora (Figura 2) (Marzocca et al., 1976).



Figura 2. Individuos de *B. rapa*.

En las últimas campañas, el nabo silvestre cobró mayor importancia debido a que durante 2012 se hallaron poblaciones de *B. rapa* en el sudeste de la provincia de Buenos Aires, que no eran controladas con la aplicación de glifosato a dosis comercial (Pandolfo et al., 2015). Luego, a través de diversas pruebas de laboratorio y campo, utilizando test rápidos en el lote que determinan el nivel de proteína (inmunológicos), aplicaciones de herbicidas en ensayos a campo y determinación de la presencia del evento GT73 utilizando *primers* específicos se confirmó que la resistencia era de origen transgénico. En la misma zona se encontró colza con resistencia transgénica a glifosato. El origen de estas poblaciones es incierto ya que, en nuestro país, la colza transgénica se encuentra prohibida debido a la alta compatibilidad sexual con muchas malezas. Probablemente ingresó como contaminación o se hicieron cultivos ilegales que luego desarrollaron poblaciones ferales (Pandolfo et al., 2015).

El flujo génico es el proceso de incorporación de genes de una población dentro de otra y ocurre entre individuos formalmente considerados una especie o entre especies relacionadas. Las consecuencias de la transferencia dependen de la capacidad potencial del transgén para conferir ventajas adaptativas a la especie silvestre receptora (Poverene y Ureta, 2004). En este caso, como se aporta un gen beneficioso a la maleza, ésta se torna más difícil de controlar.

B. rapa es una maleza anual OIP que presenta un pico de germinación en otoño, pero también, uno menor en primavera por lo que al momento de la cosecha de cultivos de fina y de gruesa hay presencia de plantas maduras (Gigón, 2022).

La cosecha de los distintos cultivos es un punto importante en la dispersión de semillas de malezas ya que, en Argentina, más de la mitad del área cosechada se realiza con maquinaria agrícola contratada. El conjunto de la mala limpieza de las cosechadoras y el tamaño de las semillas son factores que aumentan la diseminación de esta maleza entre diferentes regiones del país (Figura 3). Teniendo el panorama de la situación a nivel país sobre esta maleza se puede confirmar lo importante que es saber sobre su ciclo y dinámica de germinación. El aumento de resistencias a herbicidas en malezas es preocupante ya que se reducen las opciones de control disponibles. El uso repetido del mismo herbicida o herbicidas con el mismo modo de acción sin el uso de otras medidas detalladas en el Manejo Integrado de Malezas (MIM), las somete a una mayor presión de selección que puede conducir al aumento de individuos resistentes. El MIM consiste en utilizar todas las técnicas disponibles; tales como medidas preventivas, monitoreo, rotación de cultivos, sistemas de labranza, rotación de herbicidas y mezcla, control biológico, entre otras para lograr un adecuado control (HRAC Argentina, 2023).

El presente trabajo busca identificar si hay diferencias en la capacidad y dinámica de germinación entre biotipos de *B. rapa* de diferentes regiones agroecológicas del país, que adquirieron la resistencia transgénica a glifosato y herbicidas inhibidores de la enzima AHAS y aquellos susceptibles. En segunda instancia, se busca comprobar si la resistencia está asociada o no a la pérdida de dormición, también determinar energía germinativa y poder germinativo para poder evaluar en qué momento es más eficiente realizar un control.

HIPÓTESIS

1. Las poblaciones silvestres de *B. rapa* que han adquirido genes de resistencia tendrán diferencias en emergencia a campo respecto de las poblaciones susceptibles.
2. Las poblaciones silvestres de *B. rapa* que han adquirido genes de resistencia presentarán un patrón de germinación diferencial con respecto a aquellos biotipos susceptibles.

OBJETIVOS

1. Caracterizar la dinámica de germinación del banco de semillas del suelo de dos biotipos de *B. rapa*, uno con resistencia transgénica a glifosato y otro susceptible.
2. Caracterizar el poder germinativo de poblaciones argentinas de *B. rapa* con adquisición de resistencia a herbicidas y poblaciones susceptibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

DINÁMICA DE GERMINACIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS

El biotipo susceptible a herbicidas se conformó utilizando un conjunto de semillas provenientes de distintas localidades, originadas en distintas provincias de Argentina: Benito Juárez, Falucho, Río Cuarto y Quequén. La semilla recolectada en las localidades mencionadas se sembró en carpas con malla antiáfidos, a razón de 12 plantas por carpa. Este ensayo de generación de semilla nueva, se llevó a cabo durante la campaña 2021-2022, con el fin de eliminar cualquier efecto ambiental asociado al lugar de procedencia de las poblaciones. Por su parte, el biotipo resistente al herbicida glifosato pertenecía a una población de un campo ubicado en la localidad de Dorrego. Cuando las plantas tanto susceptibles como resistentes, alcanzaron el punto de madurez, se realizó la cosecha. Se trillaron a mano y se pasaron por una zaranda, luego, utilizando viento se separaron los restos de silicua y finalmente se obtuvieron las semillas limpias (Figura 4a).

Una vez hecho esto, se evaluó la viabilidad mediante la prueba de tetrazolio de 20 semillas de cada población (Figura 4b). La prueba consistió en ubicar las semillas previamente diseccionadas en una caja de Petri y embeberlas en una solución a base de sal de tetrazolio. Si la semilla era viable, el embrión cambiaba a color rosado, ya que la sal reacciona con el dióxido de carbono producido por la respiración. Si las semillas no se teñían, es porque no había tejidos vivos respirando.

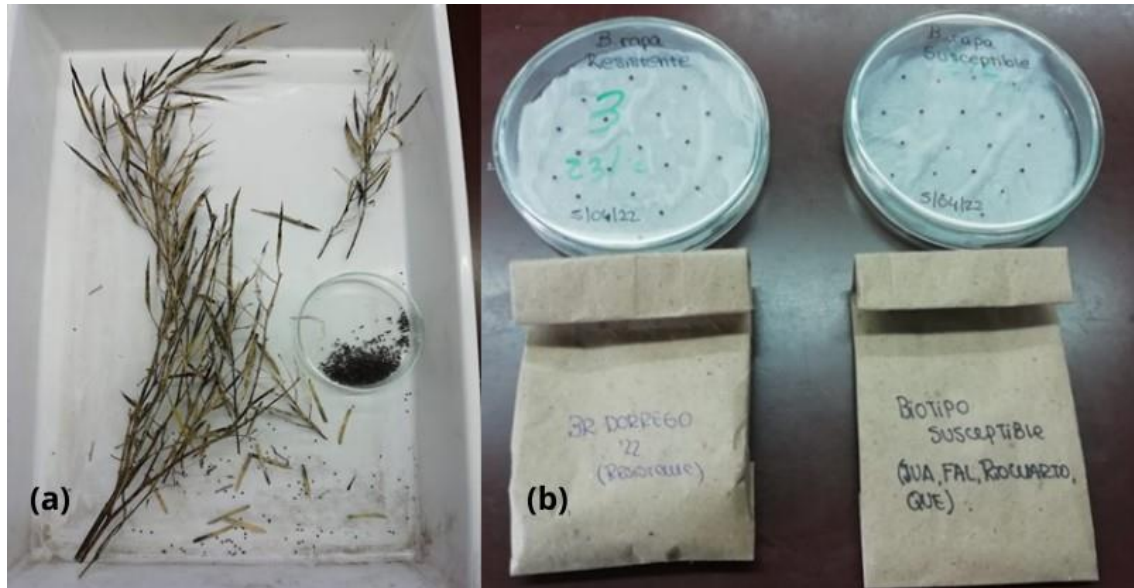


Figura 4. (a) Silicuas en proceso de trilla y semillas obtenidas. (b) Test de tetrazolio en ambos biotipos.

Una vez obtenidas las semillas, y corroborada su viabilidad, en el mes de mayo 2022 se realizó el ensayo de emergencia en el campo experimental del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur.

El diseño experimental fue en bloques completamente aleatorizados con cuatro repeticiones para cada tratamiento (Figura 5). Cada unidad experimental estuvo constituida por cuatro parcelas de 0,25 m² y en cada una se colocaron 300 semillas de los biotipos a evaluar. Se comparó la emergencia en campo de plántulas del biotipo resistente y susceptible a 0 cm y 5 cm de profundidad, simulando un suelo sin intervenir y uno intervenido con una rastra de discos.

Para obtener el porcentaje de individuos emergidos a lo largo del tiempo, cada semana, se realizaron conteos de plántulas emergidas en cada parcela, las cuales eran removidas luego del conteo.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) y las medias fueron comparadas con la prueba de Tukey ($p < 0,05$), utilizando el software informático Infostat.



Figura 5. Esquema de disposición de tratamientos por bloques en el campo experimental. Ss: susceptible en superficie, Sp: Susceptible en profundidad, Rs: Resistente en superficie, Rp: Resistente en profundidad.

EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN DE BIOTIPOS DE *B. rapa*

Para este ensayo se generaron semillas en condiciones de aislamiento, de siete biotipos de *B. rapa* recolectados de distintas partes del país, una variedad de *B. rapa* cultivada de Canadá y una variedad cultivada de *B. napus* (Tabla 1).

El 30 de junio de 2022 en el campo experimental del Departamento de Agronomía de la UNS se sembraron al azar nueve poblaciones con dos repeticiones cada una en parcelas de 0,9 m de ancho por 1,1 m de largo. Al momento de la floración se colocaron carpas hechas con malla antiáfidos para evitar cruzamientos entre las poblaciones (Figura 6).



Figura 6. Carpas hechas con malla antiáfidos.

Una vez alcanzada la madurez, las distintas poblaciones se cosecharon: el 18 de noviembre de 2022 la población Candle, el 25 de noviembre LSA, FAL, BAL, NEC, JUA, LDU e IBA y Hyola se cosechó el 14 de diciembre. Luego fueron trilladas en el laboratorio para obtener las semillas.

Emergencia y germinación de biotipos de *B. rapa*

Tabla 1. Características de los biotipos utilizados.

POBLACION	ESPECIE	SIGLA	ESTATUS BIOLÓGICO	ORIGEN	AÑO	CARACTERÍSTICAS
Balcarce	<i>B. rapa</i>	BAL	Silvestre	Balcarce, Argentina	2013	Dentro del lote agrícola. Resistencia transgénica a glifosato.
La Dulce	<i>B. rapa</i>	LDU	Silvestre	La Dulce, Argentina	2016	Dentro del lote agrícola. Resistencia transgénica a glifosato e inhibidores de la enzima AHAS.
La Sarita	<i>B. rapa</i>	LSA	Silvestre	Chillar, Argentina	2016	Resistencia transgénica a glifosato e inhibidores de la enzima AHAS.
Falucho	<i>B. rapa</i>	FAL	Silvestre	Falucho (LP), Argentina	2010	Banquina de ruta, cerca de laguna.
Necochea	<i>B. rapa</i>	NEC	Silvestre	Necochea, Argentina	2009	Banquina ruta 228.
Juárez	<i>B. rapa</i>	JUA	Silvestre	Benito Juárez, Argentina	2009	Campo natural, bajo inundable sobre banquina ruta 74.
Ibarra	<i>B. rapa</i>	IBA	Silvestre	J.P. Ibarra, Argentina	2012	Camino rural, borde de un lote de maíz.
Candle	<i>B. rapa</i>	CANDLE	Cultivada	Canadá		
Hyola	<i>B. napus</i>	HYOLA	Cultivada	Argentina		

Las semillas de las poblaciones fueron puestas a germinar en cajas de Petri. Para ello, se colocó papel absorbente, 20 semillas por caja y fueron hidratadas. Para este ensayo se evaluaron cuatro tratamientos; temperatura constante a 17,5°C con fotoperiodo 12 horas de luz, temperatura constante a 17,5°C en oscuridad, temperatura alterna a 10-25°C con fotoperiodo 12 horas de luz y temperatura alterna a 10-25°C con 24 horas en oscuridad. Para cada tratamiento se realizaron tres repeticiones por biotipo a evaluar.

Una vez armadas todas las cajas de Petri, se colocaron en cámaras de cría previamente calibradas con las condiciones de luz y temperatura mencionadas (Figura 7). Las cajas correspondientes a total oscuridad se envolvieron en papel aluminio y se realizó el conteo de semillas germinadas a los 14 días. Para los tratamientos con fotoperiodo, se realizó un conteo a los cuatro y seis días de tratamiento, y finalmente a los 14 días. El valor de cuatro/seis días se obtuvo para determinar energía germinativa (EG), dando un índice de qué tan rápido germinaron las semillas, ya que mientras antes lo hagan mayor vigor tendrán. Con el valor de germinación obtenido a los 14 días se evaluó el poder germinativo (PG), el cual indica la capacidad de cada semilla de iniciar el proceso de germinación, independientemente del tiempo que le tome. Esto se hizo en dos fechas distintas para evaluar dormición; inmediatamente después de la cosecha (M0) y pasado un mes de la cosecha (M1).



Figura 7. Cajas de Petri antes de llevar a cámara para germinación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DINÁMICA DE GERMINACIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS

Al finalizar el ensayo se observó en promedio una emergencia del 93% de las semillas del biotipo resistente en superficie (RS), un 91% del biotipo resistente en profundidad (RP), 85% del susceptible en profundidad (SP) y un 70% del biotipo susceptible en superficie (SS). Se hallaron diferencias significativas entre el biotipo resistente y susceptible en superficie. (Figura 8).

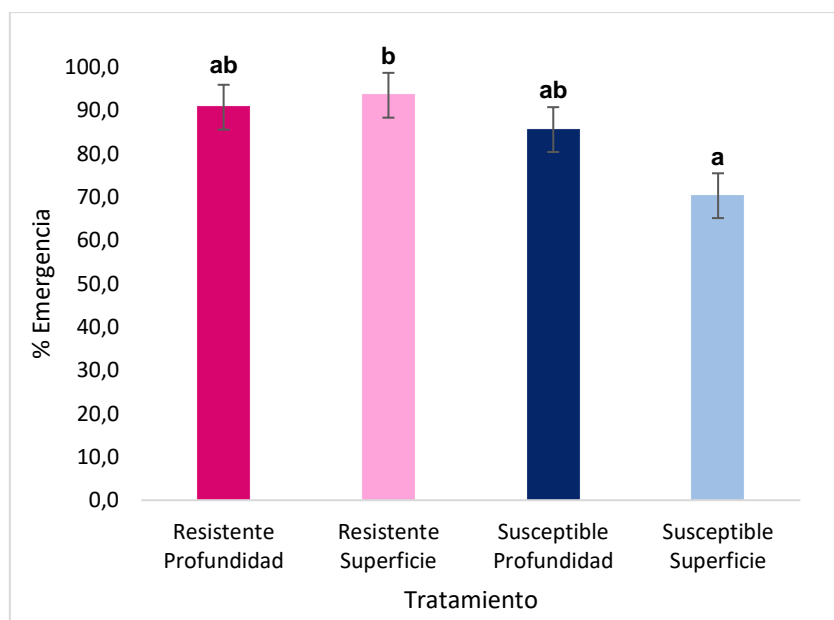


Figura 8. Porcentaje de emergencia a la semana diez. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

El porcentaje de emergencia en el tratamiento RP fue en promedio del 2% la primera semana. En la segunda semana se observó en promedio un 86% de emergencia, la que permaneció sin grandes diferencias hasta la semana 10 de tratamiento (Figura 9.a, Tabla 2). Cuando este biotipo se colocó en superficie (RS), a la tercera semana solo emergió un 2,5% y a la cuarta emergieron un 92,6% de las semillas. En la quinta semana alcanzó el valor máximo de emergencia (Figura 9.b, Tabla 2).

Para el caso de SP el comportamiento fue distinto, hubo una emergencia escalonada; a la segunda y tercera semana el promedio estuvo alrededor del

40%, a la cuarta fue del 60% y en la quinta semana llegó a un máximo de 85% de plántulas emergidas (Figura 9.c, Tabla 2).

El tratamiento SS tuvo la misma dinámica de emergencia que RS, pero con menor porcentaje final de emergencia. En la semana 2 emergió un 0,1%, a la segunda 1,7% y en la cuarta semana se vio un 69%. En la sexta semana se alcanzó el máximo porcentaje de emergencia (Figura 9.d, Tabla 2).

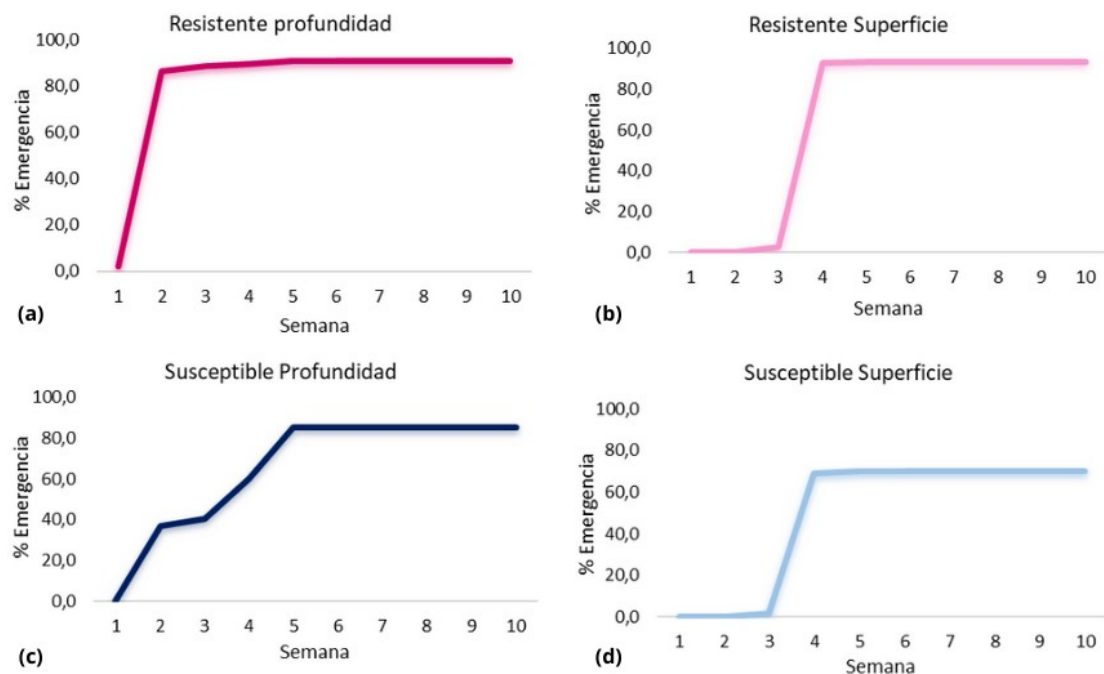


Figura 9. Porcentaje de emergencia de los biotipos analizados a lo largo de las diez semanas: (a) Resistente en profundidad, (b) Resistente en superficie, (c) Susceptible en profundidad, (d) Susceptible en superficie.

Como se puede ver en la tabla 2, el tratamiento RP difirió significativamente a todos con el mayor porcentaje en la segunda y tercera semana. En la cuarta semana no se obtuvieron diferencias significativas con el resto de los tratamientos y para la quinta semana solo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos SS y RS.

Tabla 2. Porcentaje de emergencia y análisis estadístico según Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas para $p < 0,05$.

Semana/ Tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resistente Profundidad	2 a	86,17 b	88,58 b	89,50 a	90,58 ab	90,67 ab	90,67 ab	90,67 ab	90,67 ab	90,67 ab
Resistente Superficie	0 a	0,08 a	2,50 a	92,58 a	93,42 b	93,42 b	93,42 b	93,42 b	93,42 b	93,42 b
Susceptible Profundidad	0 a	36,67 a	40,25 a	60,00 a	85,25 ab	85,50 ab	85,50 ab	85,50 ab	85,50 ab	85,50 ab
Susceptible Superficie	0 a	0,08 a	1,67 a	69,17 a	70,08 a	70,25 a	70,25 a	70,25 a	70,25 a	70,25 a

Se observó que la población resistente cuando se sembró en superficie tardó más en emerger que cuando se sembró en profundidad (Figura 10). Este resultado podría indicar que las semillas necesitan condiciones de oscuridad para emerger.

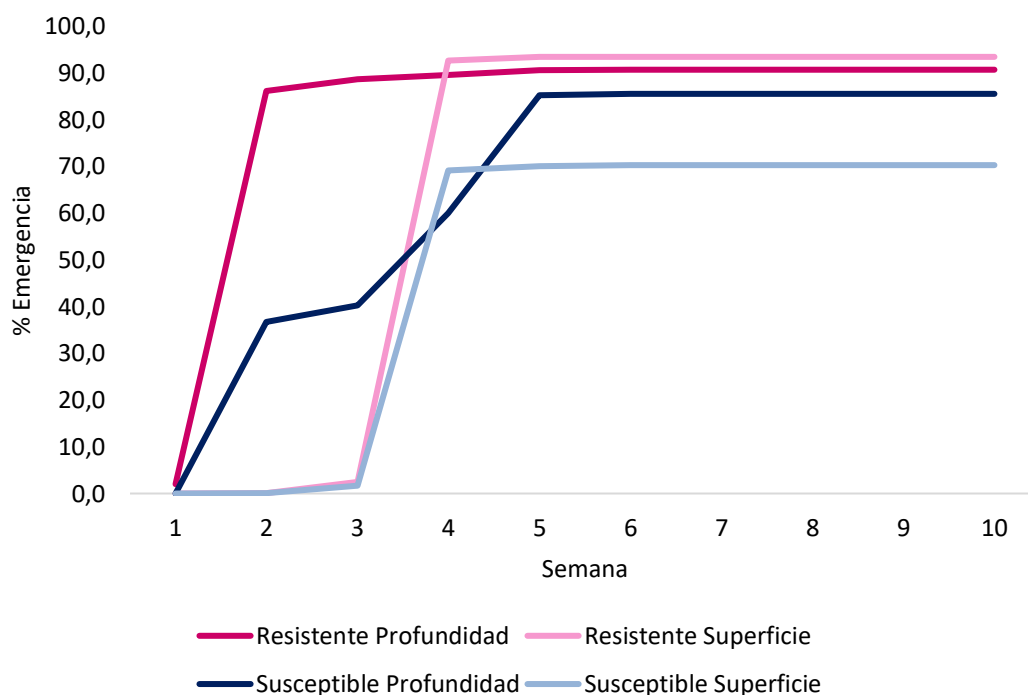


Figura 10. Porcentaje de emergencia de los distintos tratamientos a lo largo de las 10 semanas.

Los resultados revelan una diferencia en comportamiento entre poblaciones resistentes y susceptibles sembradas en superficie.

Si bien no hubo diferencias significativas en los valores alcanzados de plántulas emergidas en la última semana para los tratamientos en profundidad, si se pudieron observar diferencias en la dinámica de emergencia entre las poblaciones. Las semillas resistentes germinaron todas juntas, mientras que, el biotipo susceptible colocado en profundidad emergió de forma escalonada. Esto probablemente pudo deberse a estar conformado por un *pool* de semillas de diferentes poblaciones y no por una única población como fue en el caso del biotipo resistente. Siguiendo esa teoría el tratamiento SS también debería haber germinado de manera escalonada, pero mostró un único pico de emergencia, posiblemente porque las semillas tuvieron las condiciones adecuadas más tarde.

EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN DE BIOTIPOS DE *B. rapa*

MOMENTO CERO (M0)

A temperatura alterna y fotoperiodo de 12 horas a los 14 días se observó que las poblaciones resistentes BAL y LDU y las poblaciones susceptibles FAL y NEC no tuvieron diferencias significativas con los testigos Candle y Hyola. Por su parte, LSA, también resistente, difirió del grupo anterior, excepto de LDU de la cual no mostró diferencias significativas. En oscuridad para la misma temperatura se comportaron de igual manera (Figura 12, Tabla 2).

En la figura 11 se pueden ver en las cajas de Petri plántulas y semillas sin germinar, para los tratamientos de luz.

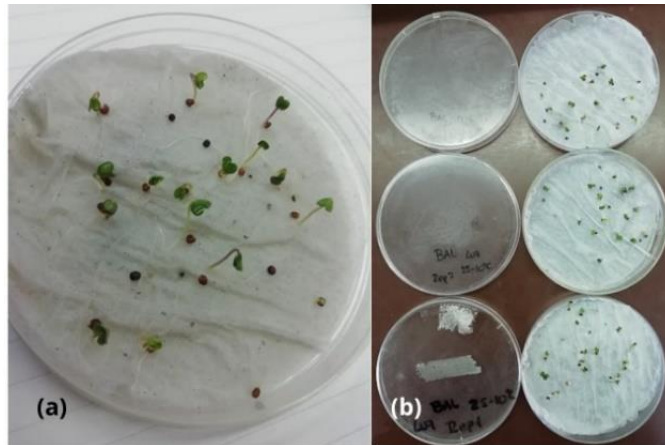


Figura 11. (a) Plántulas de *B. rapa*. (b) Tres repeticiones de BAL a temperatura alterna y fotoperiodo de 12 horas.

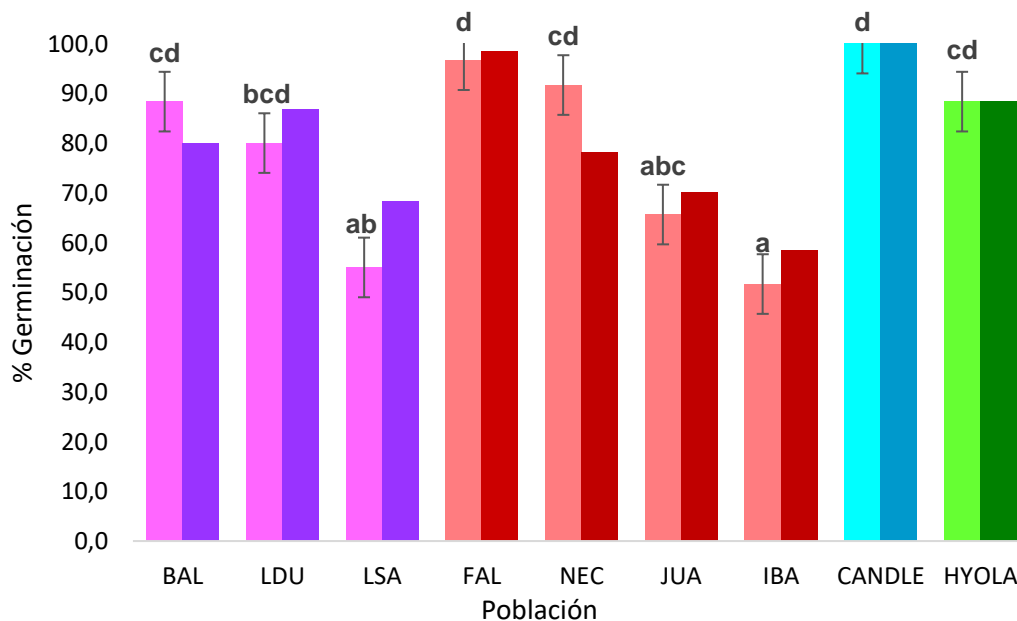


Figura 12. Porcentaje de germinación en M0 bajo temperatura alterna (10-25°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los colores oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

A temperatura constante y fotoperiodo de 12 horas de luz, a los 14 días se observó que el genotipo cultivado de *B. rapa*, Candle, presentaba el mayor porcentaje de germinación con un valor de 74%, el cual no mostró diferencias con el biotipo susceptible FAL. Los biotipos resistentes no presentaron diferencias entre sí, ni con los biotipos susceptibles JUA, NEC e IBA presentando

valores de germinación menores al 20% mencionadas de manera decreciente (Figura 13, Tabla 3).

A temperatura constante y oscuridad se observaron tres grupos; Candle se diferenció de todas las poblaciones evaluadas mostrando un 80% de germinación. Hyola solo se asemejó a FAL (presentando un 48% y 40% de germinación respectivamente), mientras que las poblaciones de BAL, JUA, LSA, NEC, IBA y LDU no difirieron significativamente entre ellas, mostrando valores de germinación menores al 7%. (Tabla 3, Figura 13).

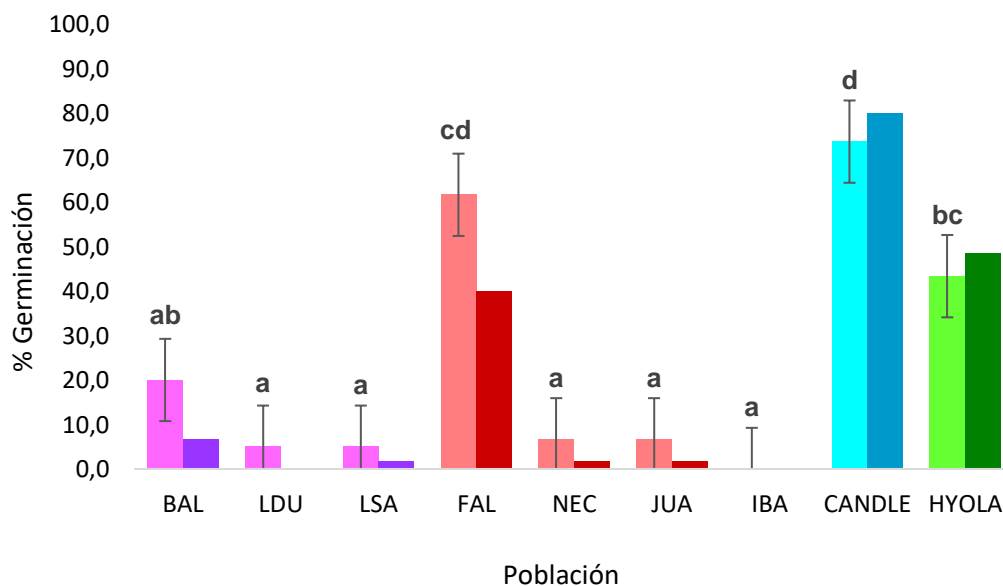


Figura 13. Porcentaje de germinación en M0 bajo temperatura constante (17,5°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

En los tratamientos con fotoperiodo de 12 horas se evaluó la energía germinativa (EG) a los cuatro días de tratamiento. A temperatura alterna BAL y LDU se asemejaron a los biotipos susceptibles NEC y FAL. LDU tampoco difirió de IBA. LSA mostró una EG menor al 2% y difirió significativamente con todas las poblaciones evaluadas (Figura 14 a, Tabla 3).

A los seis días de tratamiento se pudieron observar dos grupos donde Candle, FAL, NEC, Hyola, BAL y LDU no mostraron diferencias con valores promedio entre 100 y 78% de germinación y otro grupo que germinó entre 78 y 52% formado por LDU, JUA, LSA, e IBA en orden decreciente (Figura 14 b, Tabla 3).

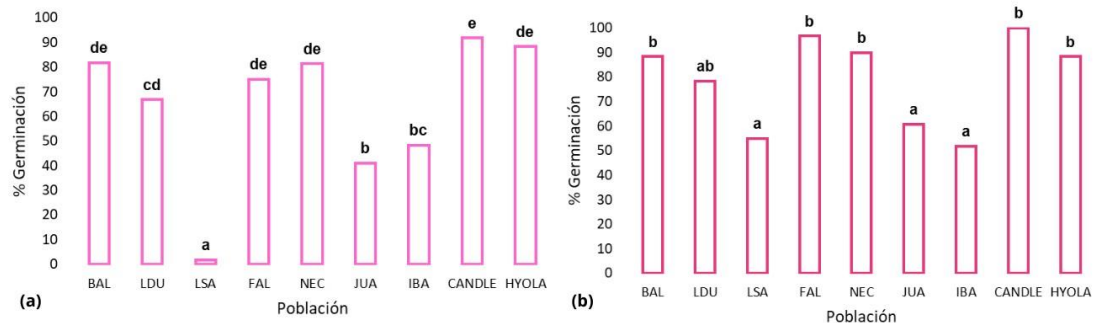


Figura 14. Porcentaje de germinación en M0 a temperatura alterna (10-25°C) y fotoperiodo de 12 horas. (a) A los 4 días (EG) y (b) a los 6 días. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

A temperatura constante a los cuatro días (EG), los biotipos cultivados de *B. rapa* y *B. napus* se comportaron distinto a las poblaciones silvestres. Candle mostró un valor de 70% de germinación difiriendo del resto de las poblaciones, seguida de Hyola con 43% también diferente al resto. Las poblaciones restantes fueron iguales entre sí y con valores de germinación menores al 12% (Figura 15 a, Tabla 3).

A los seis días, Candle, mostró el mayor porcentaje de germinación y se diferenció de todas las poblaciones. Hyola, FAL y BAL presentaron valores intermedios sin diferencias entre sí; y, por último, con menos del 20% de germinación se agruparon BAL y el resto de las poblaciones (Figura 15 b, Tabla 3).

Emergencia y germinación de biotipos de *B. rapa*

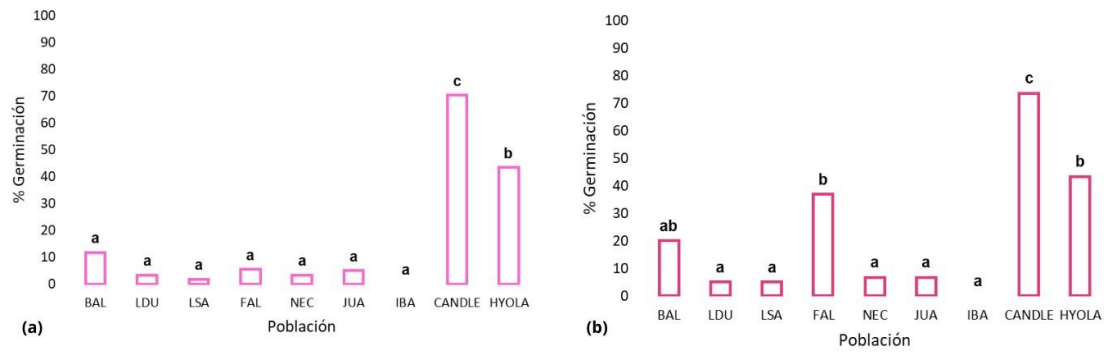


Figura 15. Porcentaje de germinación al momento cero (M0) a temperatura constante (17,5°C) y fotoperiodo de 12 horas. (a) A los 4 días (EG) y (b) a los 6 días. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

MOMENTO UNO (M1)

A temperatura alterna, a los 14 días, todas las poblaciones germinaron y no mostraron diferencias significativas, tanto para el tratamiento con fotoperiodo de 12 horas como el de total oscuridad (Figura 16, Tabla 3).

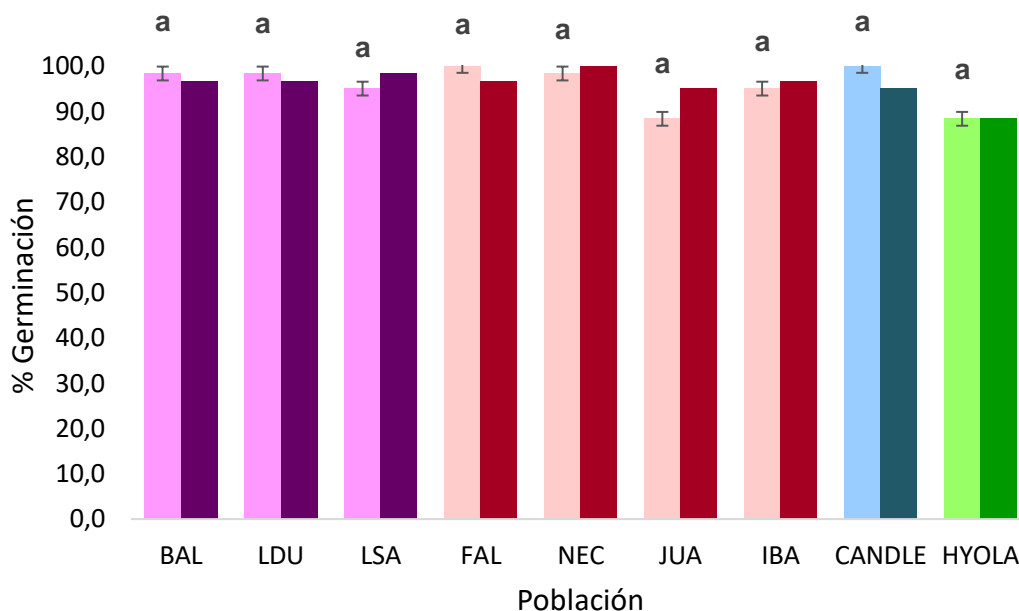


Figura 16. Porcentaje de germinación en M1 bajo temperatura alterna (10-25°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los colores oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

A temperatura constante y fotoperiodo de 12 horas, a los 14 días de tratamiento se vio que Candle germinó un 100% sin diferenciarse significativamente de las

demás poblaciones excepto de Hyola e IBA, que presentaron en promedio 43% y 12% de germinación respectivamente (Figura 17, Tabla 3). Cuando se evaluaron en total oscuridad Candle germinó un 95% y no tuvo diferencias con FAL, LSA y BAL. Las poblaciones que tuvieron menor porcentaje de germinación fueron JUA, LDU, Hyola e IBA con valores promedio entre 61 y 33% (Tabla 3, Figura 17).

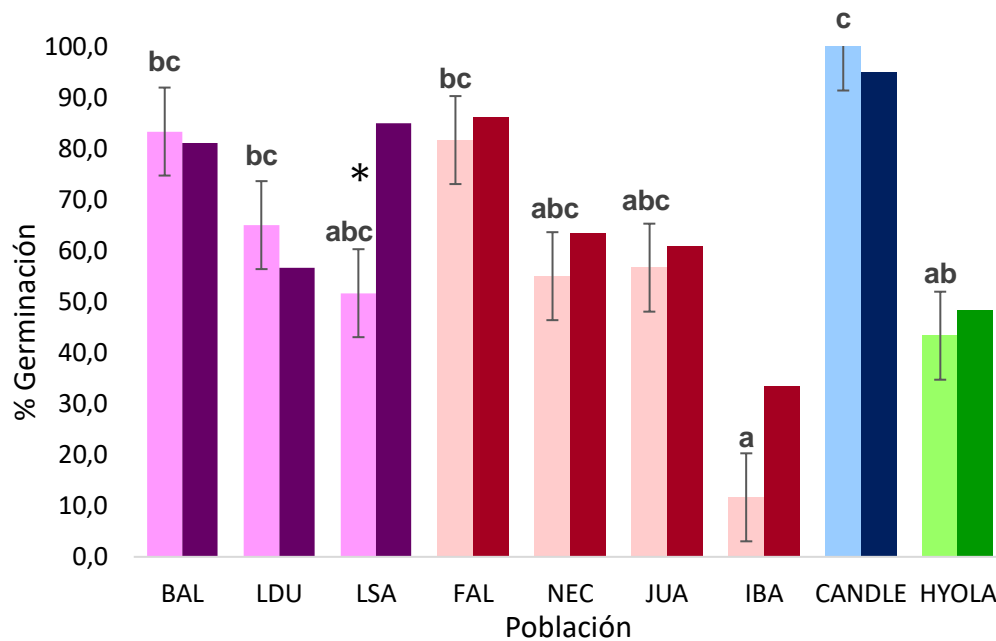


Figura 17. Porcentaje de germinación en M1 bajo temperatura constante (17,5°C) a los 14 días de tratamiento. Los colores claros a la izquierda corresponden al tratamiento con 12 horas de luz y los oscuros a la derecha corresponden a total oscuridad. Se muestran las diferencias entre las poblaciones para luz, el asterisco indica diferencias para la misma población en fotoperiodo y oscuridad. Tratamientos con letras distintas representan diferencias significativas para $p < 0,05$ según test estadístico de Tukey.

Comparando los distintos biotipos evaluados bajo fotoperiodo vs. oscuridad total, sólo se observaron diferencias significativas en la población LSA a temperatura constante, presentando mayor porcentaje de germinación en oscuridad, comparado con fotoperiodo (Figura 16).

A los seis días en los tratamientos con fotoperiodo de 12 horas se determinó la EG y se vio que, a temperatura alterna, todas las poblaciones mostraron altos porcentajes de germinación, sin diferencias significativas (Figura 18 a, Tabla 3). A temperatura constante se observó que no hubo diferencias entre los biotipos

resistentes y a su vez entre éstos y los biotipos susceptibles. IBA mostró el menor porcentaje, aunque sin diferencias con LDU y Hyola. Candle presentó el mayor porcentaje de germinación, asemejándose solamente a BAL y FAL. Las demás poblaciones tuvieron valores intermedios, sin diferencias significativas entre sí (Figura 18, Tabla 3).

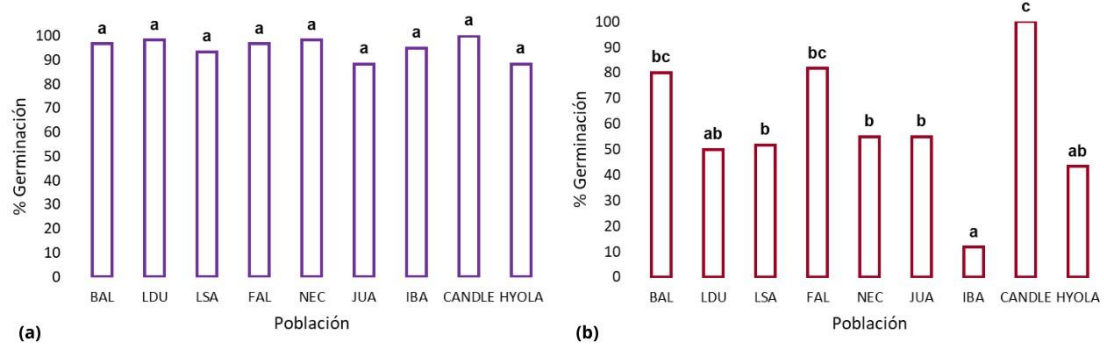


Figura 18. Porcentaje de germinación en M1 con fotoperiodo de 12 horas a los 6 días de germinación: (a) temperatura alterna y (b) temperatura constante.

Analizando los resultados del Momento uno se pudo ver que los biotipos resistentes y susceptibles se asemejaron a los cultivares Candle y Hyola, por lo que no se puede asegurar que las diferencias observadas se deban a la adquisición de genes de resistencia mediante el cultivo.

Emergencia y germinación de biotipos de *B. rapa*

Tabla 3. Porcentaje de germinación y análisis estadístico según Tukey.

	BAL	LDU	LSA	FAL	NEC	JUA	IBA	CANDLE	HYOLA
M0 25-10°C									
<i>Fotoperiodo</i>									
4 días	81,67 de	66,67 cd	1,67 a	75,00 de	81,32 de	41,03 b	48,33 bc	91,75 e	88,33 de
6 días	88,33 b	78,33 ab	55,00 a	96,67 b	89,90 b	60,70 a	51,67 a	100 b	88,33 b
14 días	88,33 cd	80,00 bcd	55,00 ab	96,67 d	91,67 cd	65,63 abc	51,67 a	100 d	88,33 cd
<i>Oscuridad</i>									
14 días	80,00 abc	86,67 bc	68,33 ab	98,33 c	78,17 abc	70,00 ab	58,33 a	100 c	88,33 bc
M0 17,5°C									
<i>Fotoperiodo</i>									
4 días	11,67 a	3,33 a	1,67 a	5,37 a	3,33 a	5,00 a	0,00 a	70,33 c	43,33 b
6 días	20,00 ab	5,00 a	5,00 a	36,83 b	6,67 a	6,67 a	0,00 a	73,57 c	43,33 b
14 días	20,00 ab	5,00 a	5,00 a	61,60 cd	6,67 a	6,67 a	0,00 a	73,57 d	43,33 bc
<i>Oscuridad</i>									
14 días	6,67 a	0,00 a	1,67 a	40,00 b	1,67 a	1,67 a	0,00 a	80,00 c	48,33 b
M1 25-10°C									
<i>Fotoperiodo</i>									
6 días	96,57 a	98,33 a	93,33 a	96,67 a	98,33 a	88,33 a	95,00 a	100,00 a	88,33 a
14 días	98,33 a	98,33 a	95,00 a	100,00 a	98,33 a	88,33 a	95,00 a	100,00 a	88,33 a
<i>Oscuridad</i>									
14 días	96,67 a	96,67 a	98,33 a	96,67 a	100,00 a	95,00 a	96,67 a	95,00 a	88,33 a
M1 17,5°C									
<i>Fotoperiodo</i>									
6 días	80,00 bc	50,00 ab	51,67 b	81,67 bc	55,00 b	55,00 b	11,67 a	100,00 c	43,33 ab
14 días	88,33 bc	65,00 bc	51,67 abc	81,67 bc	55,00 abc	56,67 abc	11,67 a	100,00 c	43,33 ab
<i>Oscuridad</i>									
14 días	81,07 cd	56,67 abc	85,00 cd	86,03 cd	63,33 bc	60,87 abc	33,33 a	95,00 d	48,33 ab

En resumen, observando los resultados en ambos momentos de germinación se puede afirmar que los biotipos resistentes inmediatamente después de la cosecha no mostraron grandes diferencias con respecto a los biotipos susceptibles. En todos los tratamientos las poblaciones resistentes se asemejaron al menos a uno de los biotipos susceptibles evaluados.

La energía germinativa en M0 a temperatura alterna fue alta para BAL, intermedia para LDU y muy baja para LSA. A temperatura constante, la EG fue baja para todas las poblaciones silvestres evaluadas.

En M1 a temperatura alterna la EG fue igual en todas las poblaciones. A temperatura constante Candle mostró la mayor EG, lo cual podría atribuirse a que es un cultivar, mientras que IBA fue la que menor valor de EG obtuvo.

CONCLUSIONES

La dinámica de emergencia a campo mostró que las semillas resistentes colocadas en profundidad tienen un pico de emergencia a las dos semanas. Es decir, sabiendo que hay presencia en el banco de semillas, al momento de preparar el suelo con rastra se podría recomendar hacer controles a las dos semanas.

Las semillas colocadas en superficie tanto susceptibles como resistentes tuvieron el pico de emergencia a las cuatro semanas. Por lo que, si se optara por siembra directa luego de la cosecha, sería conveniente realizar un control de la maleza pasado un mes. Se debe tener en cuenta, que el ensayo se realizó durante el otoño, época donde *B. rapa* presenta el mayor pico de germinación.

Puestos en superficie, los biotipos resistentes mostraron mayor porcentaje de emergencia que los susceptibles por lo que se podría interpretar que la resistencia aumenta la probabilidad de éxito de las nuevas generaciones. Aunque ésta no fue significativa en el caso de los tratamientos en profundidad y podrían ser necesarios más ensayos de este tipo.

Los resultados obtenidos demuestran que no hay diferencias en la germinación entre biotipos susceptibles y resistentes.

A temperatura alterna a 10-25°C se observaron mayores porcentajes promedios de germinación en todas las poblaciones comparado con temperatura constante a 17,5°C en ambos momentos evaluados.

Comparando M0 y M1 a temperatura alterna se observó que los biotipos resistentes no presentaron dormición en ninguno de los momentos evaluados, mientras que el biotipo resistente LSA presentó menor poder germinativo en el momento cero.

El biotipo Candle, al ser una especie cultivada tuvo la mejor performance bajo las condiciones evaluadas de PG y EG. Aunque en varios casos no mostró diferencias significativas con algunas poblaciones como FAL, BAL, NEC y LDU.

La población proveniente de Ibarra mostró los valores de germinación más bajos en la mayoría de los tratamientos.

El biotipo cultivado de *B. napus*, Hyola a temperatura alterna mostró valores del 88% de germinación, mientras que, a temperatura constante, germinó entre un 40 y 50% en cada momento evaluado.

De los biotipos evaluados, el biotipo susceptible FAL fue el que tuvo mayores valores de PG en la mayoría de los tratamientos, e IBA fue el que menor EG y PG tuvo en la mayoría de los tratamientos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a cada persona que de alguna forma u otra, me acompañó a lograr este objetivo:

A mi familia, que me dio la posibilidad de estudiar y me apoyó en cada decisión que tomé.

A mis amigos; la familia que elegí, desde quienes estuvieron con un mate hasta los que hicieron de su casa mi hogar.

A todos los profesores que mediante las clases contagian su pasión por lo que hacen. En especial a Sole, Claudio y Ale. Es por eso que los elegí para llevar adelante mi trabajo de intensificación.

A Sofi, quien me guio y ayudó muchísimo para realizar este trabajo.

A Selva, a quien acudí cuando perdí un final importante y me supo ayudar no solo académicamente sino emocionalmente para atravesar la situación de la mejor manera.

Al Departamento de Agronomía y a la UNS por brindarnos el lugar y el apoyo necesario para formarnos no solo como profesionales sino como personas.

Y a mí, por todo el esfuerzo y tiempo dedicado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aapresid REM. (2023, Noviembre). *Mapa de malezas*. https://www.aapresid.org.ar/rem-malezas/mapa-malezas/#tipo_mapa=abundancia_maleza&maleza%5B%5D=nabos-rg&anosMapaAbundancia%5B%5D=2019&anosMapaAbundancia%5B%5D=2021&anosMapaAbundancia%5B%5D=2023
- Aapresid. (2023, Noviembre). *Resultados encuesta a socios campaña 22-23*. <https://www.aapresid.org.ar/source/REM/resultadosencuesta.pdf>
- Appel O., Shehbaz I.A. (2003). *Cruciferae*. In: Kubitzki, K., Bayer, C. (eds) Flowering Plants · Dicotyledons. The Families and Genera of Vascular Plants, vol 5. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-07255-4_17
- Appelqvist, L.-A. (1972). *Historical Background*. En: Appelqvist, L. Y Ohlson, R. (eds.) Rapeseed. Cultivation, Composition, Processing and Utilization. Elsevier Publishing Company. Amsterdam. pp 1-8.
- Beckie H.J., Warwick S.I., Nair, H. y Séguin-Swartz, G. (2003). *Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (Brassica napus)*. J Ecol Appl 13 (5): 1276–1294.
- Boswell, B.R. (1949). *Our vegetable travellers*. Nat Geogr Magaz 96 (2): 134-217.
- Cobb A., y Reade J. (2010) *Herbicides and plant physiology*, 2nd edn. Wiley-Blackwell, Oxford
- De la Cuadra, C. (1992). *Germinación, latencia y dormición de las semillas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario.
- Elstrand N.C., Prentice H.C., Hancock J.F., (1999). *Gene Flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 1999. 30:539–63
- Gigón R. (2022). *Manejo de malezas problema: Raigrás y Nabo*. [Video]. Youtube. <https://www.youtube.com/watch?v=qBU46pwXLOk&t=2860s>
- Gomez-Campo C, Prakash S (1999) *Origin and domestication*. In: Gomez-Campo C (ed) Biology of Brassica coenospecies. Elsevier Science, Madrid, pp 33–58
- Harlan, J., (1992). *Crops and man*. American Society of Agronomy. Wisconsin.
- HRAC Argentina. (2023, Diciembre). *Conceptos básicos sobre herbicidas*. <https://hrac-argentina.org/conceptos-basicos/>
- Larson G, Piperno DR, Allaby RG, PuruggananMD, Andersson L, Arroyo- Kalin M, Barton L, Climer Vigueira C, Denham T, Dobney K, et al. (2014). *Current perspectives and the future of domestication studies*. Proc Natl Acad Sci U S A. 111(17):6139–6146.
- Marzocca A, Marisco O, Del Puerto O. (1976). *Manual de Malezas, 3rd edn*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Pandolfo C, Presotto A, Cantamutto M. (2015). *Detección de resistencia transgénica a glifosato en poblaciones naturales de Brassica napus L y Brassica rapa L*. XXI Congreso de la ALAM y I Congreso de ASACIM https://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENESA/VEGETAL/AROMATICAS/PROD_PRIMAR_IA/PLAGAS/brassica_rapa_-_epsp.pdf
- Pandolfo C.E., Presotto A., Torres Carbonelli F., Ureta S., Poverene M. y Cantamutto M. (2017). *Escape y persistencia de transgenes en un agroecosistema: el caso de Brassica rapa L. resistente al glifosato en el centro de Argentina*. doi.org/10.1007/s11356-017-0726-3.

Pandolfo, C., Presotto, A., Migasso, J. P., Mock, F., Cantamutto, M. *Identificación de un biotipo feral de Brassica napus con resistencia a glifosato*. III Jornada de Intercambio de Producción Científico-Tecnológico (III JIPCiTe). Departamento de Agronomía-CERZOS. Bahía Blanca, diciembre 2013. Libro de Resúmenes, pp. 44-45. Disponible en: <http://www.boletin.cerzosconicet.gob.ar/images/numero24/LIBRO-RESUMENES-III-JIPCiTe.pdf>

Poverene, M. y Ureta, S. (2004). *Flujo génico mediado por polen y su posible impacto ambiental*. En: Echenique, V., Rubinstein, C. y Mroginski, L. (Eds.). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*: 399-408. Editorial INTA. Buenos Aires.

Prakash, S., Wu, X., Bhat, S.R. (2012). *History, Evolution, and Domestication of Brassica Crops*. *Plant Breeding Reviews* 35:19–82.

Reiner, H., Holzner, W., Ebermann, R. (1995). *The development of turnip-type and oilseed-type Brassica rapa crops from wild-type in Europe—an overview of botanical, historical and linguistic facts*. *Proceedings of the 9th International Rapeseed Congress (Rapeseed Today and Tomorrow)*, Vol. 4, pp. 1066–1069. Cambridge, UK.

Smýkal P, Nelson NM, Berger J.D. y von Wettberg E.J.B. (2018). *The Impact of Genetic Changes during Crop Domestication*. DOI:10.3390/agronomy8070119

Warwick S.I., Francis A. y Al-Shehbaz I.A. (2006). *Brassicaceae: Species checklist and database on CD-Rom*. En *Plant systematic and evolution*, 259, 249-258 (2006). Impreso en Austria. DOI 10.1007/s00606-006-0422-0