

Trabajo de intensificación

**Evaluación del efecto ambiental en la
germinación y emergencia de híbridos
cultivo-silvestre de girasol
(*Helianthus annuus* L.)**

Julián Bonifacio Chabagno



Tutor: Ing. Agr. (Dr.) Alejandro Presotto

Consejeros: Ing. Agr. (Dr.) Claudio Pandolfo

Ing. Agr. (Dr.) Boris Vercellino

Asesor externo: Ing. Agr. Ignacio Fanna

Departamento de Agronomía 2024

Agradecimientos

Agradecer ante todo a mi mamá, Claudia, que sin ella esto no hubiera sido posible, con su esfuerzo de cada día para darme la oportunidad de perseguir mis sueños, dejando de lado sus cosas para que yo pueda seguir adelante, no solo en esta etapa universitaria sino a lo largo de mi vida, su apoyo en los buenos momentos y su aliento en los malos, fue la gran protagonista de que mi principal sueño se haga realidad.

A mis hermanos, Lucas y Gastón, que me acompañaron junto a sus familias en este trayecto.

A mis abuelos Mario y Alicia, por mostrarme la vida de esta hermosa profesión e instarme a seguir luchando por lograr mis sueños.

Agradecer y hacer una mención especial a Carlos, que fue el que me inspiró para intentar ser un Agrónomo acorde a su magnitud. Explicándome con la paciencia que lo caracteriza cada situación y cada pregunta que le hice a lo largo de todos estos años.

A mi novia, Natalia, que me apoyó desde el comienzo y me incentivó a seguir en los malos momentos cuando las cosas no iban como uno quería.

A mi papá, Juan, por acompañarme a lo largo de la carrera.

A mis amigos de la infancia, como también a los nuevos amigos que me dio la carrera, por cada momento compartido dentro y fuera de la universidad

A Ignacio, quien me permitió realizar el trabajo con él y por la ayuda que me brindó a lo largo del mismo. Gracias a mis consejeros, Boris y Claudio, por las correcciones y los consejos que me dieron, y a Alejandro, tutor del trabajo, por su paciencia y sus correcciones para poder finalizar con la tesis.

Por último agradecer a todas aquellas personas que directa o indirectamente me acompañaron a lo largo de todos estos años.

INDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Hipótesis.....	9
Objetivos.....	9
Materiales y Métodos	10
Germinación de biotipos.....	13
Tamaño de fruto	13
Emergencia a campo.....	14
Resultados.....	18
Ensayo de cámara.....	18
Tamaño de fruto	20
Emergencia a campo.....	23
Discusión	26
Conclusión	28
Bibliografía	29
Anexo	31

RESUMEN

El género *Helianthus* pertenece a la familia Asteraceae e incluye especies diploides, tetraploides y hexaploides con número cromosómico básico $x = 17$. Dos de las especies, *H. annuus* L. y *H. petiolaris*, han sido ingresadas a nuestro país y se han naturalizado. Esto dio lugar al flujo génico entre girasol cultivado y silvestre, con ambas especies, al igual que ocurrió en otros países. Los híbridos cultivo-silvestre generados heredan rasgos silvestres y cultivados, y generalmente poseen un fenotipo intermedio al de sus padres. Los factores ambientales durante la formación de los frutos, como la disponibilidad de recursos en el suelo, modifican el grado de dormición de los mismos, pudiendo influir en el tiempo de emergencia de las plántulas.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la selección ambiental en la dormición de frutos de biotipos híbridos cultivo-silvestre en ambientes contrastantes. Además, se determinó la variación en el tamaño de frutos de los biotipos producida por el ambiente, luego de dos años de selección. Por otro lado, se evaluó la emergencia a campo de los biotipos seleccionados en ambientes agrestales (maíz y trigo), ruderales y sin selección. El primer ensayo se realizó en cámara bajo condiciones ideales de germinación, en el segundo ensayo se midieron el tamaño de semillas mediante el *software ImageJ* y, por último, mediante parcelas aleatorizadas se evaluó la emergencia en condiciones de campo tanto en estado ruderal (con competencia de malezas) como en un ambiente control (sin competencia con malezas).

El ambiente de selección modificó la germinación y tamaño de fruto de los biotipos. Las semillas de las plantas seleccionadas en el ambiente ruderal mostraron mayores niveles de germinación, mientras que las semillas de las plantas seleccionadas en los ambientes agrestales mostraron menor germinación, sin diferencias entre trigo y maíz. El área promedio de los frutos varió significativamente entre ambientes de origen, biotipos, y su interacción. Los biotipos tuvieron menor tamaño promedio de los frutos en los ambientes de selección, en comparación con el ambiente control, especialmente en los ambientes agrestales. No hubo diferencias en el tamaño promedio en los frutos provenientes del ambiente de trigo y maíz. Sin embargo, en el ensayo de emergencia, no se encontraron diferencias asociadas al ambiente ni al biotipo, lo que podría estar asociado a las escasas precipitaciones del año y/o a la predación.

INTRODUCCIÓN

Las malezas compiten con los cultivos por agua, nutrientes, luz y espacio, produciendo una disminución de la producción agrícola, lo que genera pérdidas económicas importantes (Harlan y de Wet, 1965; van Heemst, 1985). También, disminuyen la calidad de los granos producidos y pueden dificultar el proceso de cosecha. Las malezas poseen adaptaciones o rasgos (*e.g.*, alta producción de semillas, elevada dormición, rápido crecimiento inicial, floración prolongada, dispersión de los frutos y/o semillas) que favorecen su persistencia en el lote y dificultan su control (De Wet y Harlan, 1975).

El logro de una alta eficacia del control de malezas, así como la prevención de la aparición de nuevos biotipos, requiere del conocimiento y estudio de los procesos biológicos y ecológicos que rigen durante su adaptación. Las malezas pueden originarse a través de tres procesos ecológicos distintos: i) a partir de plantas silvestres que evolucionan para adaptarse a condiciones agrícolas (ambientes agrestales), ii) por de-domesticación de plantas cultivadas (*i.e.*, endoferalidad, pérdida de rasgos cultivados desfavorables y/o recuperación de rasgos silvestres favorables) o, iii) por hibridación entre plantas cultivadas y silvestres, exoferalidad (De Wet & Harlan, 1975). La recuperación de rasgos silvestres (eliminados durante la domesticación), así como el desarrollo de nuevas adaptaciones que favorezcan la reproducción en ambientes agrícolas, pueden facilitar la formación de un banco de semillas de ese nuevo biotipo y, de ese modo, persistir en el lote a largo plazo (Scossa y Fernie, 2021). Al igual que en las especies cultivadas, la incorporación de ciertos rasgos, como la resistencia a patógenos, insectos o herbicidas, pueden favorecer la adaptación de las malezas a los ambientes agrícolas (Vercellino *et al.* 2023).

Existen casos de exoferalidad en la mayoría de las especies cultivadas anuales (por ejemplo, soja, algodón, girasol, lechuga, poroto, rabanito, remolacha, colza, nabo, arroz, papa, sorgo, trigo, maíz) (Bagavathiannan y Van Acker, 2008, Ellstrand *et al.*, 2013). Muchos de estos biotipos surgieron mediante hibridación entre cultivares y especies silvestres emparentadas. Para que la hibridación cultivo-silvestre ocurra, ambas especies deben ser genéticamente compatibles, intercambiar flujo génico (a través de la polinización) y coexistir en el tiempo y espacio. Este intercambio genético puede resultar en la introgresión de caracteres cultivados (favorables en ambientes agrícolas) en la especie silvestre (Harrison y Larson, 2014; Mason, 2016).

El género *Helianthus*, perteneciente a la familia Asteraceae, incluye especies diploides, tetraploides y hexaploides con número cromosómico básico $x = 17$ (Heiser, 1978). Su centro de origen se encuentra en América del Norte, donde crecen unas 50 especies anuales y perennes, adaptadas a diversos hábitats y altamente variables en cuanto a caracteres

morfológicos y fisiológicos. Las especies *H. annuus* L. y *H. petiolaris* han sido descritas como adventicias en la República Argentina (Fig. 1). Se cree que su introducción fue accidental, a través de la contaminación de lotes de semilla de especies forrajeras y/o programas de mejora (Poverene *et al.*, 2002). Al igual que en otros países, se demostró que existe flujo génico entre la especie cultivada y ambas especies silvestres (Poverene *et al.*, 2002; Ureta *et al.*, 2008).

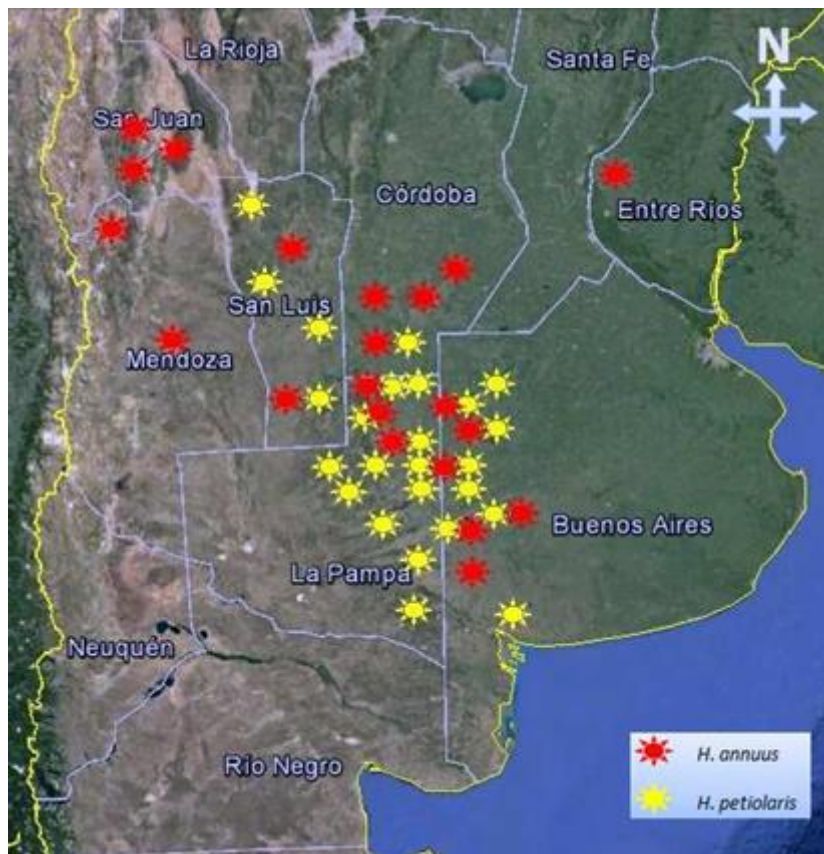


Figura 1. Poblaciones de girasol silvestres (*H. annuus* y *H. petiolaris*) naturalizadas presentes en Argentina. Cada símbolo representa un departamento provincial donde la especie está presente.

El girasol silvestre difiere del cultivado en numerosos caracteres, por ejemplo, el tamaño del capítulo es menor en el girasol silvestre, y también el número de semillas por capítulo. El girasol silvestre puede tener un rápido crecimiento y producir muchas ramificaciones, generando muchas semillas, generalmente con distintos grados de dormición. Esto le permite formar un numeroso banco de semillas, que germinan en diferentes momentos del año siguiente, algunas de las cuales pueden permanecer dormidas y germinar varios años más tarde (Presotto *et al.* 2020). Por otro lado, el girasol cultivado presenta una morfología caracterizada por una raíz pivotante, de hasta 3 m de largo, con un tallo erecto, macizo y cilíndrico, sin ramificar, de entre 80 y 220 cm de alto. Posee hojas alternas, grandes,

pecioladas. La inflorescencia (capítulo) es de gran tamaño, alcanzando valores superiores a los 30 cm de diámetro.

Los híbridos cultivo-silvestre heredan tanto rasgos silvestres como cultivados y poseen un fenotipo intermedio al de sus padres. En 2009, se encontró una población de girasol con plantas altas, ramificadas, con capítulos pequeños, creciendo en un lote de producción agrícola en la zona de Tres Arroyos, provincia de Buenos Aires (Barrow, BRW) (Casquero *et al.*, 2013). Luego de varios años de experimentación a campo y en laboratorio, mediante estudios fenotípicos y genéticos, se determinó que se originó mediante hibridación cultivo-silvestre, a partir del cruzamiento entre una población silvestre y un cultivar comercial (Casquero *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2022). Este hecho demuestra el riesgo de aparición de nuevos casos de malezas ferales en lotes donde el flujo génico entre ambas especies es habitual.

El ambiente juega un rol fundamental en la supervivencia y el éxito reproductivo de los híbridos cultivo-silvestre (Campbell *et al.*, 2009; Mercer *et al.*, 2007). El ambiente determina los agentes de selección más importantes, y su intensidad, favoreciendo unos fenotipos sobre otros. Así, los híbridos que presentan una serie de rasgos (cultivados o silvestres) en particular son favorecidos por la selección ambiental y tienen una mayor aptitud biológica (*i.e.*, *fitness*), por lo que producen un mayor número de semillas. Esto puede facilitar el establecimiento de una cohorte/población híbrida y, posteriormente, el flujo génico entre plantas híbridas cultivo-silvestre y plantas silvestres, aumentando el riesgo de introgresión de caracteres cultivados en las poblaciones silvestres. Las condiciones ambientales pueden limitar el éxito de los híbridos, así como también favorecerlo. En los ambientes ruderales (*e.g.*, banquinas, alambrados, caminos) los factores bióticos y abióticos suelen ser los principales agentes de selección (Koziol *et al.*, 2012; Mayrose *et al.*, 2011). Por ello, caracteres asociados al cultivo suelen producir híbridos cultivo-silvestre con baja aptitud biológica. Por el contrario, en ambientes cultivados (agrícolas, agrestales), artificialmente benignos por la aplicación de fertilizantes y un menor uso del agua del suelo por el control de malezas, los híbridos tendrían más probabilidad de desarrollarse exitosamente. En estos ambientes, la selección suele estar asociada a la competencia con los cultivos y a las prácticas culturales de manejo (Martínez-Ghersa *et al.*, 2000).

Los frutos de girasol silvestre suelen tener dormición (Hernández *et al.*, 2017; Presotto *et al.*, 2014, 2020). Los conceptos de dormición y germinación se encuentran ineludiblemente asociados debido a que la característica básica de la dormición es la ausencia de germinación, aun cuando las condiciones son adecuadas para que esto suceda. Esta restricción en las semillas para germinar puede estar asociada tanto a la existencia de un

impedimento o bloqueo de carácter interno (dormición fisiológica), morfológico, físico, o una combinación entre estos. En las especies silvestres, la dormición tiene un valor adaptativo (Karszen, 1982; Batlla y Benech-Arnold, 2010). Sin embargo, es una característica indeseada para la especie cultivada, ya que altos niveles de dormición pueden afectar la emergencia del cultivo, lo que conlleva a una desincronización de las emergencias y a un cultivo en general desparejo (Benech-Arnold *et al.*, 2012), por lo que este carácter ha sido minimizado a través de la selección y mejoramiento genético.

El girasol cultivado puede presentar limitaciones en la germinación, dada por la dormición de las semillas. Se considera que se trata de una dormición primaria (Baskin y Baskin, 2004) que se observa hasta dos meses después de la cosecha. Sin embargo, los biotipos silvestres de la especie pueden tener un periodo de dormición de mayor duración (Presotto *et al.*, 2014, 2020). Esta dormición está controlada por el balance hormonal, así como por restricciones impuestas por las cubiertas seminales (*e.g.*, entrada de O₂).

Las condiciones bajo las cuales se desarrolla y madura el fruto, pueden incidir en el grado de dormición de las semillas, a través del efecto materno-ambiental (Roach y Wulff, 1987). El ambiente mediante los factores de radiación, temperatura, precipitaciones, entre otros, es el principal regulador tanto en la dormición de los frutos como en la germinación y emergencia de las plántulas.

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto de la selección ambiental sobre la germinación y emergencia de frutos de biotipos híbridos cultivo-silvestre de girasol.

HIPÓTESIS

Se espera que los factores ambientales durante la formación de los frutos, como la competencia con otras plantas y la disponibilidad de recursos (e.g., nutrientes, agua) en el suelo, modifiquen el grado de dormición de los frutos de girasol, lo que impactaría en la emergencia de las plántulas.

Los híbridos cultivo-silvestre presentan mayor variabilidad genética que las poblaciones silvestres debido a la combinación de alelos de ambos padres. En consecuencia, la selección ambiental sobre estas plantas suele ser mayor que en las plantas silvestres, favoreciendo que se produzcan cambios adaptativos rápidamente en las plantas híbridas cultivo-silvestre.

El tamaño y la germinación de los frutos de los híbridos cultivo-silvestre está fuertemente asociado al tamaño y grado de dormición del parental materno. Si el parental materno es una población silvestre, el híbrido tendrá menor tamaño de fruto y germinación.

OBJETIVOS

- i) Evaluar el efecto de la selección ambiental sobre la germinación de frutos de biotipos híbridos cultivo-silvestre en ambientes contrastantes.
- ii) Determinar el tamaño de frutos de biotipos híbridos cultivo-silvestre luego de dos años de selección.
- iii) Determinar la emergencia a campo de los biotipos seleccionados en ambientes agrestales, ruderales y sin selección.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron tres ensayos donde se evaluó el tamaño de los frutos, el nivel de dormición de las semillas y la emergencia a campo de plántulas de biotipos híbridos y silvestres que fueron sometidos a cuatro condiciones ambientales de selección diferentes. La semilla utilizada para los ensayos fue generada a partir de, primero, un ensayo de selección en ambientes contrastantes de dos años y, segundo, un ensayo de jardín común. Para evaluar la dormición se realizó un ensayo de cámara, en condiciones controladas, mientras que, para evaluar la emergencia, se realizó un ensayo a campo. El tamaño de los frutos fue analizado previo al uso de la semilla utilizada en ambos ensayos, mediante análisis fotográfico y uso de un software específico.

Material vegetal

Se evaluaron seis biotipos de girasol de distinto origen genético, dos biotipos silvestres, provenientes de dos poblaciones silvestres naturalizadas en Argentina, y cuatro biotipos híbridos cultivo-silvestre, provenientes de cruzamientos recíprocos entre cada una de las poblaciones y un cultivar de girasol (Tabla 1). Los seis biotipos fueron criados durante dos años en tres ambientes contrastantes (un ambiente ruderal y dos agrestales) para evaluar los cambios adaptativos que pudieran surgir en relación a la emergencia de las plantas, generados por las diferentes condiciones de cada ambiente. En el ambiente ruderal, las plantas de girasol estuvieron sujetas a la competencia ejercida por las plantas emergidas del banco de semillas natural del suelo, mientras que en los ambientes agrestales, las plantas compitieron con cultivos de trigo o maíz (competencia temprana vs. competencia tardía). Al mismo tiempo, los seis biotipos se multiplicaron en un ambiente control (libre de competencia) los dos años. Al tercer año, los seis biotipos provenientes de cada uno de los cuatro ambientes (ruderal, trigo, maíz, control) se criaron en un jardín común, generando la semilla que se utilizó en los ensayos presentados en este trabajo. La semilla utilizada se identificó con un número (lote) para mantener la identidad de la planta madre de cada biotipo. Luego, cada lote fue utilizado como una repetición individual. Los capítulos, una vez maduros, fueron cosechados y procesados en el laboratorio.



Figura 2. Trilla del capítulo y obtención de los biotipos que se analizarán.

Tabla 1. Origen de los biotipos utilizados en los ensayos.

Origen	Biotipo	Genotipo	Parental materno	Parental paterno
Colonia Barón (La Pampa), Argentina	BAR	Silvestre	BAR	BAR
Río Cuarto (Córdoba), Argentina	RCU	Silvestre	RCU	RCU
Polinización controlada	BARx CUL	Híbrido	BAR	CUL
Polinización controlada	RCUx CUL	Híbrido	RCU	CUL
Polinización controlada	CUL xBAR	Híbrido	CUL	BAR
Polinización controlada	CUL xRCU	Híbrido	CUL	RCU

Tabla 2. Biotipos silvestres e híbridos cultivo-silvestre de girasol utilizados en el ensayo. Los biotipos se diferencian en “Baron” (B) (BAR), “Cultivo” (C), “Rio cuarto” (R) (RCU) y los respectivos híbridos, para cada ambiente.

Ambiente	Tipo de crusa	Biotipo	Nomenclatura
Control	Silvestre	BAR	C.BAR
Control	Híbrido cultivo-silvestre	CxB	C.CxB
Control	Híbrido cultivo-silvestre	BxC	C.BxC
Control	Silvestre	RCU	C.RCU
Control	Híbrido cultivo-silvestre	CxR	C.CxR
Control	Híbrido cultivo-silvestre	RxC	C.RxC
Trigo	Silvestre	BAR	1.BAR
Trigo	Híbrido cultivo-silvestre	CxB	1.CxB
Trigo	Híbrido cultivo-silvestre	BxC	1.BxC
Trigo	Silvestre	RCU	1.RCU
Trigo	Híbrido cultivo-silvestre	CxR	1.CxR
Trigo	Híbrido cultivo-silvestre	RxC	1.RxC
Maíz	Silvestre	BAR	2.BAR
Maíz	Híbrido cultivo-silvestre	CxB	2.CxB
Maíz	Híbrido cultivo-silvestre	BxC	2.BxC
Maíz	Silvestre	RCU	2.RCU
Maíz	Híbrido cultivo-silvestre	CxR	2.CxR
Maíz	Híbrido cultivo-silvestre	RxC	2.RxC
Ruderal	Silvestre	BAR	R.BAR
Ruderal	Híbrido cultivo-silvestre	CxB	R.CxB
Ruderal	Híbrido cultivo-silvestre	BxC	R.BxC
Ruderal	Silvestre	RCU	R.RCU
Ruderal	Híbrido cultivo-silvestre	CxR	R.CxR

Germinación de biotipos

Se realizó un ensayo en cámara de germinación a 20 °C, con fotoperiodo neutro (12 horas luz/12 horas oscuridad). Se utilizaron 10 lotes de semillas (réplicas), de diferentes madres, por cada biotipo proveniente de cada ambiente. Las semillas se colocaron en cajas de Petri, humedecidas periódicamente durante 18 días, y se registró el porcentaje de semillas germinadas. Las semillas que no germinaron en ese periodo se trataron con una solución de cloruro de 2, 3,5-trifeniltetrazolio al 1% (p/v) para determinar el porcentaje de semillas viables. El ensayo tuvo en diseño en bloques (estantes). En cada caja, se colocaron 20 semillas de un mismo lote.



Figura 3. Condiciones de crecimiento en cámara de las semillas.

Los resultados se analizaron utilizando el software Infostat. Se utilizó análisis de la varianza (ANOVA), con los factores: bloque, ambiente de origen, biotipo y la interacción ambiente x biotipo. Luego, se evaluó el factor fijo biotipo y el bloque (variable) por ambientes separados.

Tamaño de fruto

Se evaluó el tamaño de los frutos de los distintos biotipos para determinar, por un lado, si sufrieron cambios debidos al ambiente de selección y, por otro, si dicha variación estuvo asociada con el grado de dormición (germinación) de los frutos. Para ello, se tomaron fotografías de 10 lotes por biotipo (repeticiones), 10 semillas por lote, y se analizaron

mediante el *software ImageJ*, para determinar la superficie o tamaño por fruto (mm^2). Luego, el tamaño del fruto se analizó como una covariable de la germinación.

Los datos se analizaron utilizando el software Infostat. Primero se analizó el tamaño de fruto como covariable de la germinación. Luego, se analizó el tamaño de fruto como variable independiente. En cada análisis, se consideraron los factores: ambiente de origen, biotipo, interacción ambiente x biotipo y bloque. Luego, para cada ambiente, se evaluó el factor fijo biotipo y el bloque (variable).

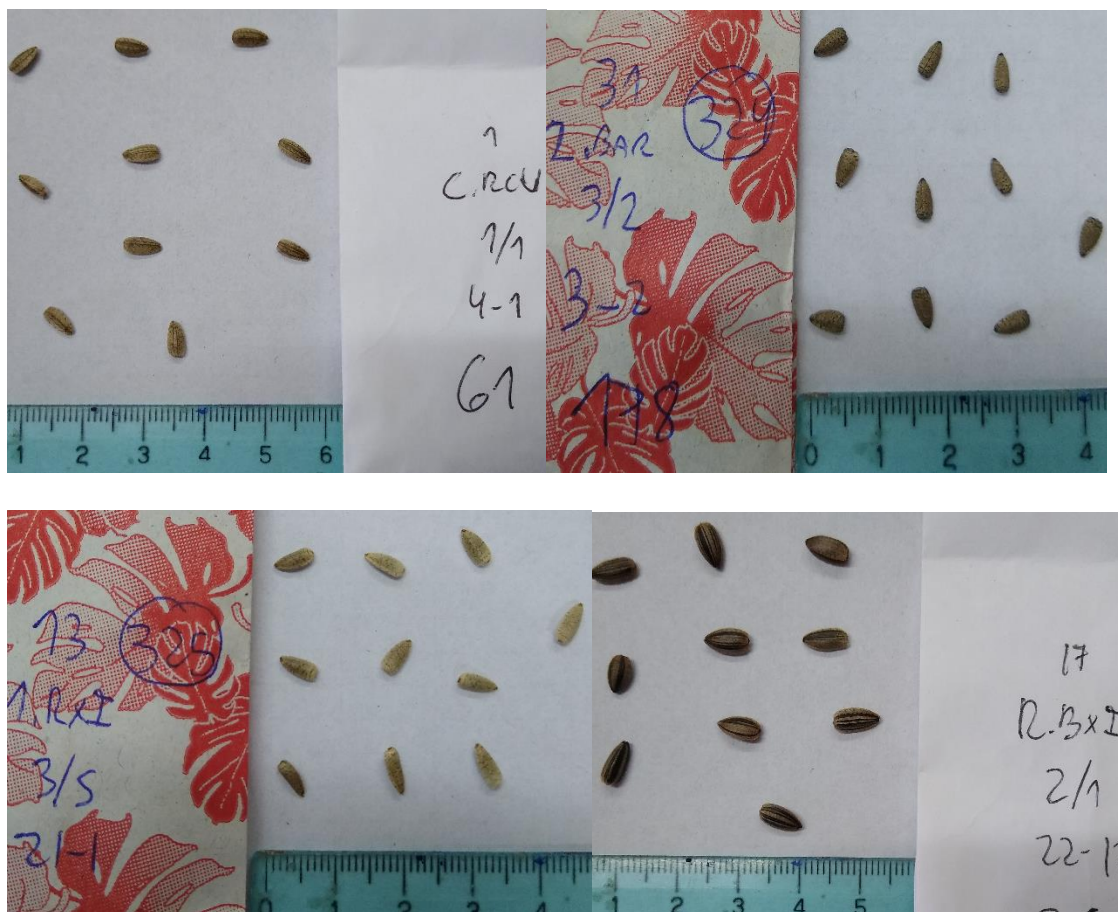


Figura 4. Fotos tomadas de los frutos de distintos biotipos. En las imágenes superiores se observan frutos de dos biotipos silvestres, uno seleccionado en el ambiente Control (izquierda) y otro seleccionado en el ambiente Maíz (derecha). En las imágenes inferiores se observan frutos de dos biotipos híbridos cultivo-silvestre, uno seleccionado en el ambiente Trigo (izquierda) y otro seleccionado en el ambiente Ruderal (derecha).

Emergencia a campo

El ensayo se realizó en el campo experimental del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires ($38^{\circ} 41' 44''$ S, $62^{\circ} 14' 57''$ O), durante los meses de junio a septiembre de 2022.

Para evaluar la emergencia a campo, se consideraron dos ambientes: uno ruderal y uno agrestal. El primero representó las condiciones naturales que tendrían las plantas de girasol creciendo en ambientes ruderales (por ejemplo, banquinas, costados/esquinas de los lotes o zonas de alambrado donde crecen otras especies en forma natural). El segundo representó las condiciones de crecimiento de las plantas de girasol en un lote en barbecho, donde la competencia con otras plantas es baja, dado por el control químico. En este ambiente, el control de malezas se realizó mediante una aplicación de glifosato, previo al ensayo. Luego, no se intervino. Este ambiente se llamará “ambiente desmalezado”. Entre las malezas presentes se identificaron las siguientes especies: *Diploaxis tenuifolia* “flor amarilla”; *Poa ligularis* “poa”; *Avena fatua* “avena negra”; *Sonchus oleraceus* “cerraja”; *Centaurea solstitialis* “abrepuño amarillo”; *Baccharis ulicina* “yerba de la oveja”; *Hyalis argentea* “olivillo” y *Tribulus terrestris* “abrojo”, entre otras. También se detectó la presencia de algunos insectos, tales como como *Porcello laevis* “bicho bolita” y hormigas cortadoras (*Acromyrmex sp.*), entre otros y de aves.



Figura 5. Vista de *Porcello laevis* (bicho bolita) a la izquierda y el daño de pájaros a la derecha.

El ensayo tuvo un diseño de parcelas divididas con seis bloques. Cada bloque contó con dos parcelas distribuidas en forma aleatoria, una para cada uno de los dos ambientes, internamente divididas en subparcelas. En cada subparcela, se sembraron 2-3 lotes de semilla (30-50 semillas por lote) de cada uno de los biotipos provenientes de los cuatro

ambientes de origen. Para ello, cada ambiente (25 m², parcela principal) se dividió con transectas perpendiculares, separadas 50 cm entre sí, determinando 49 cuadrantes (7x7), donde se sembraron los lotes de semilla por separado. La siembra se realizó removiendo una capa de 1-2 cm de suelo (15 x 15 cm²) alrededor del identificador del cuadrante, que luego se utilizó para cubrir las semillas. La siembra se realizó el 27 de mayo de 2022. Posteriormente, se relevó el número de plántulas emergidas, semanalmente, desde el comienzo hasta el final del ensayo (29 de septiembre de 2022). Las plántulas emergidas fueron removidas una vez contadas. De cada lote de semillas, se utilizaron dos muestras (30-50 semillas cada una), una para cada ambiente de cada bloque, de manera que en ambos ambientes se sembraron los mismos lotes de semillas.



Figura 6. Vista de plántulas emergidas y toma de datos en el ensayo emergencias a campo.

Los datos se analizaron utilizando el software Infostat. En el análisis de la varianza, se consideraron los siguientes factores fijos: tratamiento (ruderal vs control químico), ambiente de origen, biotipo, bloque, e interacción tratamiento x ambiente de origen.

RESULTADOS

La selección ambiental ejercida sobre los biotipos durante dos años provocó cambios en el tamaño de los frutos y en su dormición. La selección afectó de manera diferente a los biotipos híbridos y silvestres. Además, se identificaron diferencias entre híbridos recíprocos, atribuibles al efecto materno (silvestre o cultivado), tanto en el tamaño como en la dormición de los frutos. Sin embargo, los cambios estuvieron influenciados por el ambiente donde se seleccionaron los híbridos.

Ensayo de cámara

El ambiente de origen, el biotipo, y su interacción, influyeron significativamente en la germinación de los frutos; la variación entre bloques no fue significativa (Tabla S1, anexo). Los tres ambientes de selección generaron un aumento de la dormición de los biotipos, respecto el ambiente control. En este último, en el cual se presume mayor variabilidad genética debido a una menor selección ambiental, la germinación media de los biotipos fue del 71,6 %, ampliamente mayor que la germinación media de los biotipos provenientes del ambiente ruderal (26,3 %), y de los ambientes agrestales de trigo (15,4 %) y maíz (7,9 %) (Figura 7). A su vez, la germinación media en los ambientes agrestales fue significativamente menor que en el ambiente ruderal. Dado que la interacción biotipo*ambiente resultó significativa, se analizaron los ambientes por separado (Figura 8).

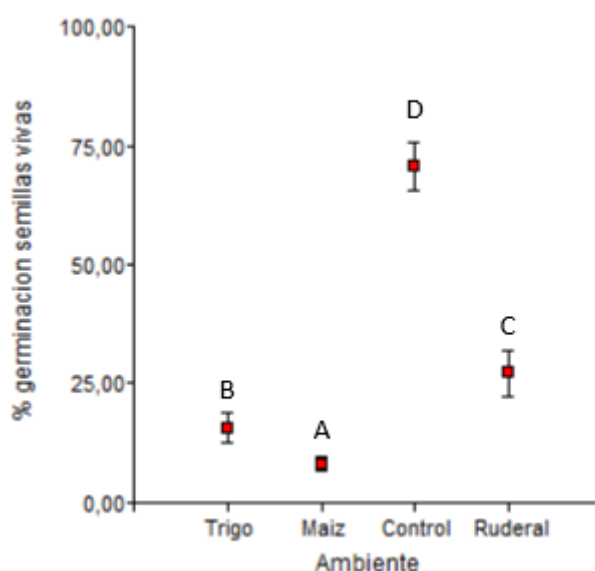


Figura 7. Variación en las tasas de germinación de los biotipos seleccionados en distintos ambientes. Letras distintas indican diferencias significativas ($p > 0.05$), según Tukey.

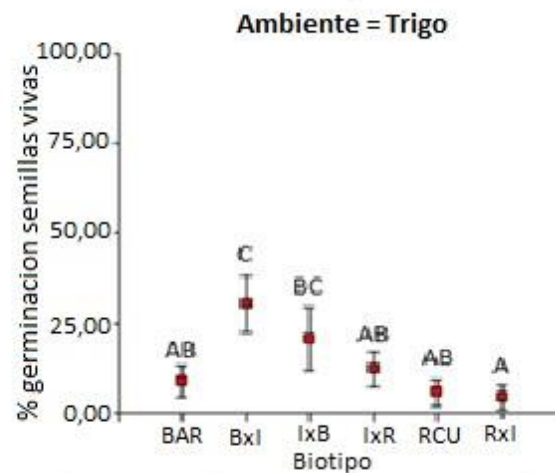
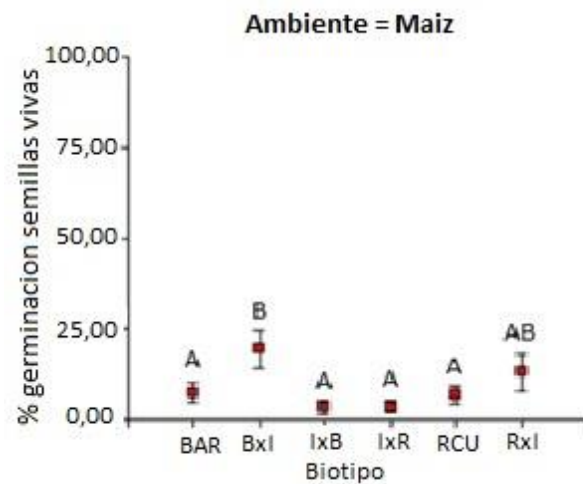
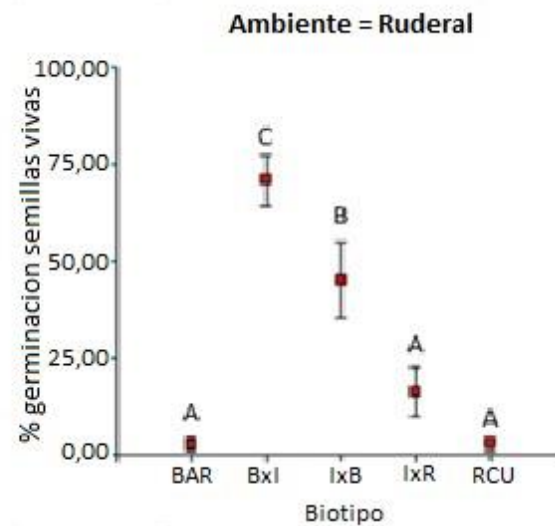
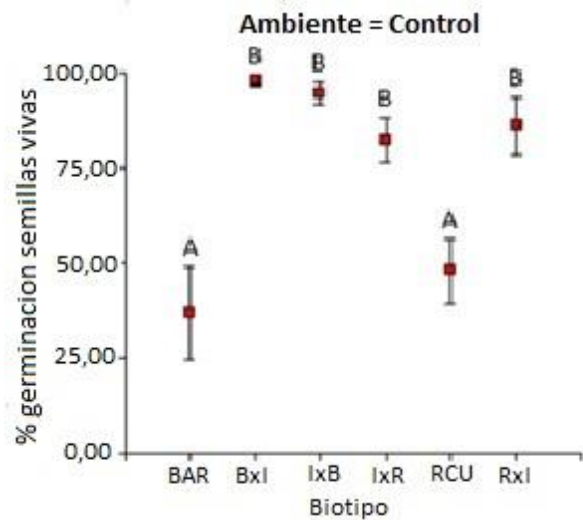


Figura 8. Germinación de los distintos biotipos provenientes de los cuatro ambientes estudiados. (Media \pm error estándar). Letras distintas dentro de un mismo ambiente indican diferencias significativas ($p > 0,05$) entre biotipos, según test de Tukey. La letra "I" en los biotipos híbridos indica el parental cultivado.

En ninguno de los ambientes se detectó diferencias significativas entre ambas poblaciones silvestres. En el ambiente control, la germinación de los biotipos híbridos fue significativamente mayor (de 82% a 95%) que la de los biotipos silvestres (de 35% a 48%) y los biotipos de un mismo grupo (híbridos o silvestres) no difirieron entre sí. En el ambiente de maíz, todos los biotipos tuvieron menor germinación (mayor dormición) que sus pares del ambiente control y no hubo diferencias significativas entre biotipos, excepto el híbrido BxI que tuvo mayor germinación que los demás biotipos, salvo RxI, llegando a un 20% de germinación (Figura 8).

En los biotipos seleccionados en el ambiente trigo, tuvieron un comportamiento similar a los del ambiente maíz. El biotipo BxI fue el que presentó la mayor germinación (~30%) y se diferenció significativamente de las poblaciones silvestres y de los híbridos con RCU. Por otro lado, en el ambiente ruderal, los biotipos mostraron mayores diferencias entre sí que en los ambientes agrestales. La germinación de los híbridos con BAR fue mayor que la de las poblaciones silvestres y diferente entre sí, BxI mayor que IxB.

Tamaño de fruto

El tamaño de los frutos como covariable de la germinación resultó ser no significativa, indicando que esta variable no explicó la variación encontrada en germinación. El tamaño de los frutos varió significativamente entre ambientes de origen, biotipos, y la interacción biotipo x ambiente de origen resultó también significativa (Tabla S3, anexo). En general, los biotipos de los tres ambientes de selección tuvieron frutos más pequeños que los biotipos del ambiente control, sobre todo los seleccionados en los ambientes agrestales. No hubo diferencias significativas entre los frutos provenientes de los ambientes agrestales, trigo y maíz (Figura 9).

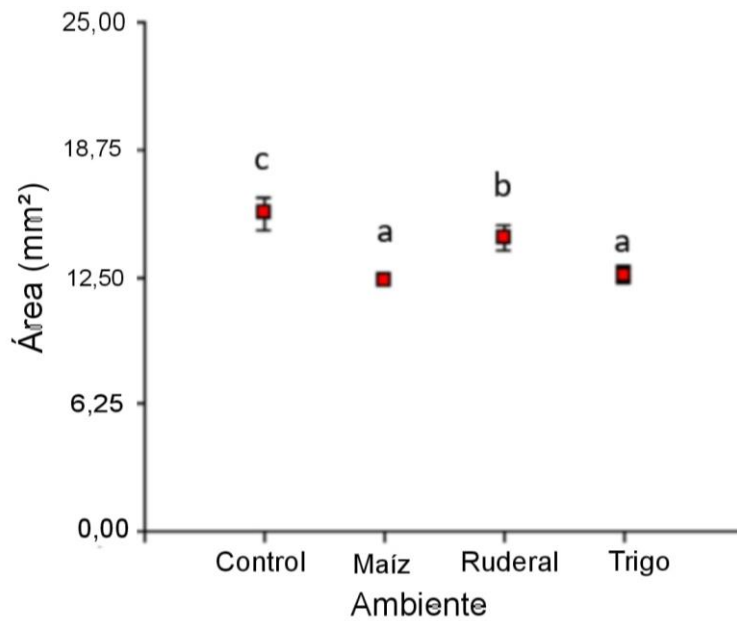


Figura 9. Tamaño de frutos (mm²) de los biotipos provenientes de los cuatro ambientes.

El tamaño de los frutos fue mayor en el ambiente control, con un valor medio de 15,7 mm², luego siguieron los frutos seleccionados en el ambiente ruderal con un tamaño medio de 14,4 mm² y, por último, los frutos seleccionados en los ambientes agrestales trigo y maíz, con un valor medio de 12,0 mm².

Dado que la interacción ambiente de origen x biotipo resultó significativa, se analizó el tamaño de fruto de los biotipos para cada ambiente de origen por separado. En general, los biotipos híbridos mostraron un tamaño de fruto mayor que los biotipos silvestres. Los biotipos BxI e IxB fueron los que mayor tamaño de fruto tuvieron, tanto los del ambiente ruderal como los del ambiente control.

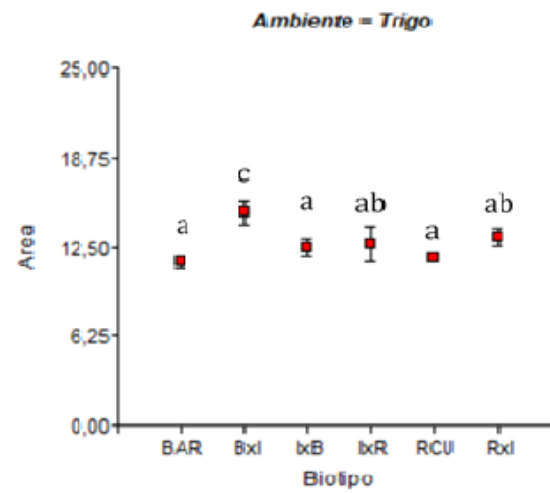
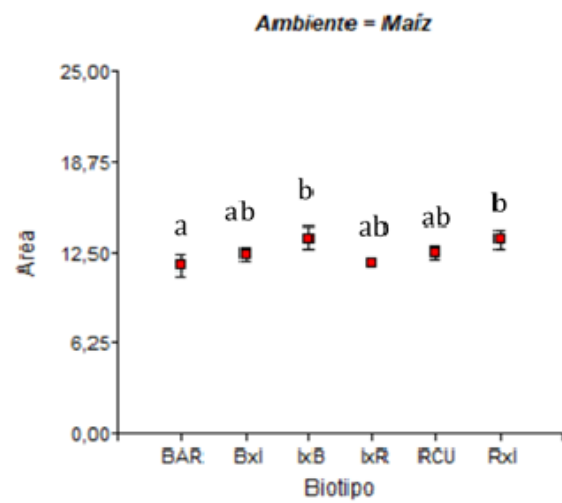
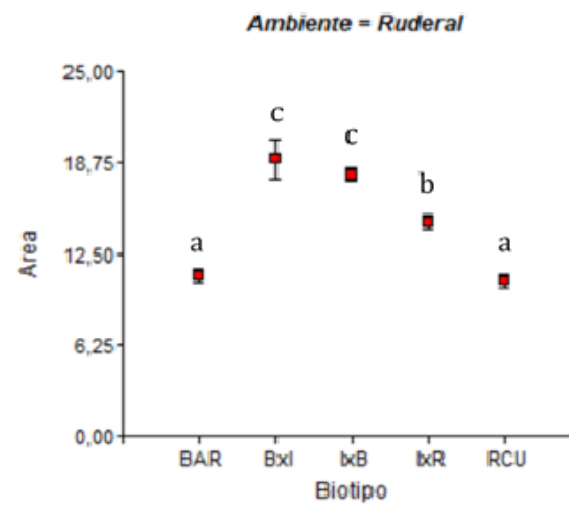
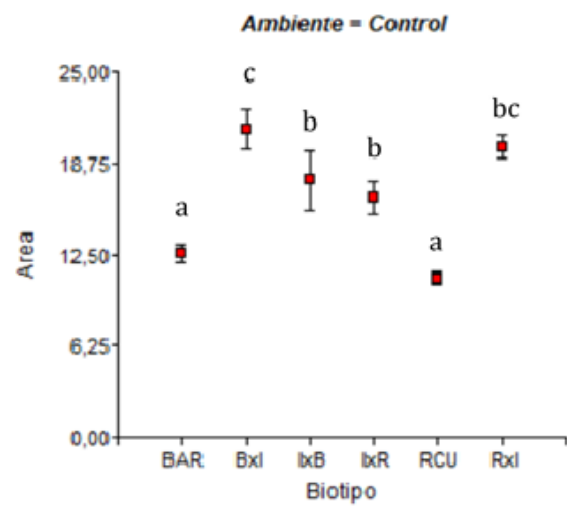


Figura 10. Tamaño de frutos de los distintos biotipos de los cuatro ambientes de estudio.

Tanto para el ambiente control como para el ambiente ruderal los resultados mostraron diferencias significativas entre biotipos: los biotipos silvestres (BAR, RCU) tuvieron frutos más chicos, de 12,5 mm² y 10 mm², respectivamente, que los biotipos híbridos, que tuvieron frutos con un tamaño entre 15 y 20 mm². En los ambientes agrestales, tanto maíz como trigo, las diferencias fueron mínimas en el área de los frutos ($p>0,05$) entre los biotipos. El área media de todos los biotipos rondó los 12,5 mm².

Emergencia a campo

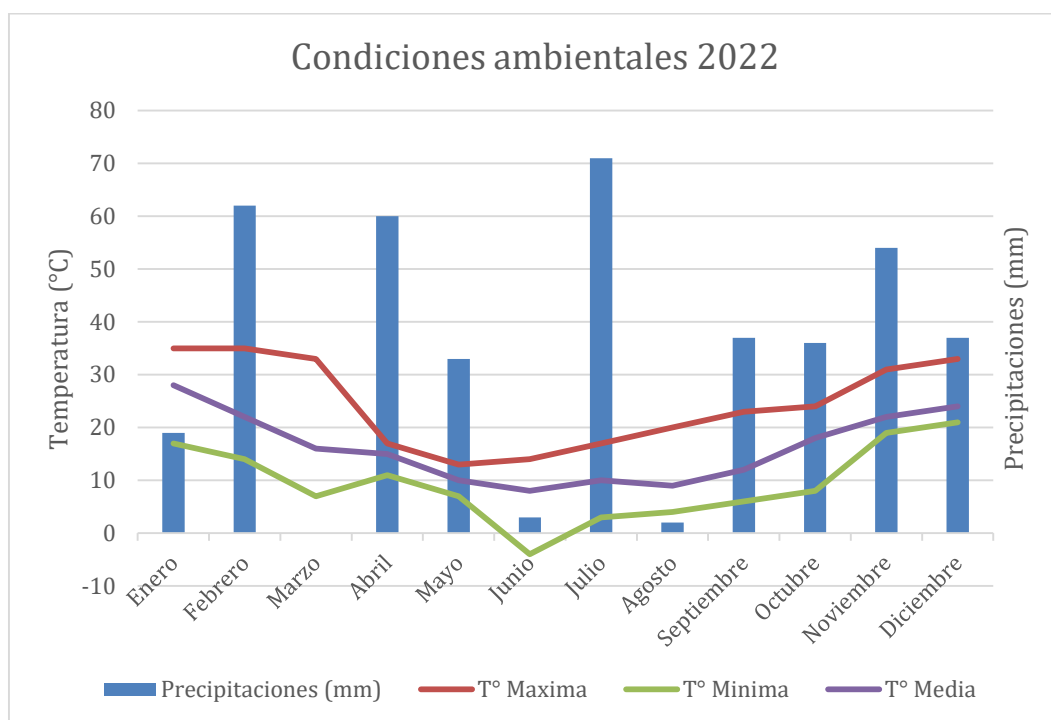


Figura 11. Precipitaciones y temperaturas máximas, mínimas y medias mensuales durante el año 2022.

Las temperaturas más bajas ocurrieron durante los meses de junio y julio, registrándose temperaturas bajo cero. Las medias mensuales para los meses del ensayo rondaron los 10°C cuando la media histórica para esos meses ronda entre los 5°C y los 12°C. Las temperaturas máximas ocurrieron durante los meses de enero y febrero, con una media entre 25°C y 30°C, similar a la media histórica para Bahía Blanca en esos meses, que ronda entre 26°C y 29°C.

En cuanto a las precipitaciones, la media anual ronda los 600 mm para Bahía Blanca, mientras que en el año 2022 las precipitaciones anuales rondaron los 420 mm. Durante los meses que duró el ensayo, de junio a septiembre, se registraron dos fechas con lluvias importantes, una en mayo, previa a la siembra, y la otra de mayor magnitud en julio, en la cual acumularon en el mes, 33 milímetros y 71 milímetros, respectivamente.

Se construyó un gráfico para determinar los momentos de emergencias y el número de emergencias acumuladas de todos los biotipos y ambientes, en relación a los días transcurridos a campo (Figura 9). Las mayores emergencias se concentraron en las semanas del 10 y 17 de agosto.

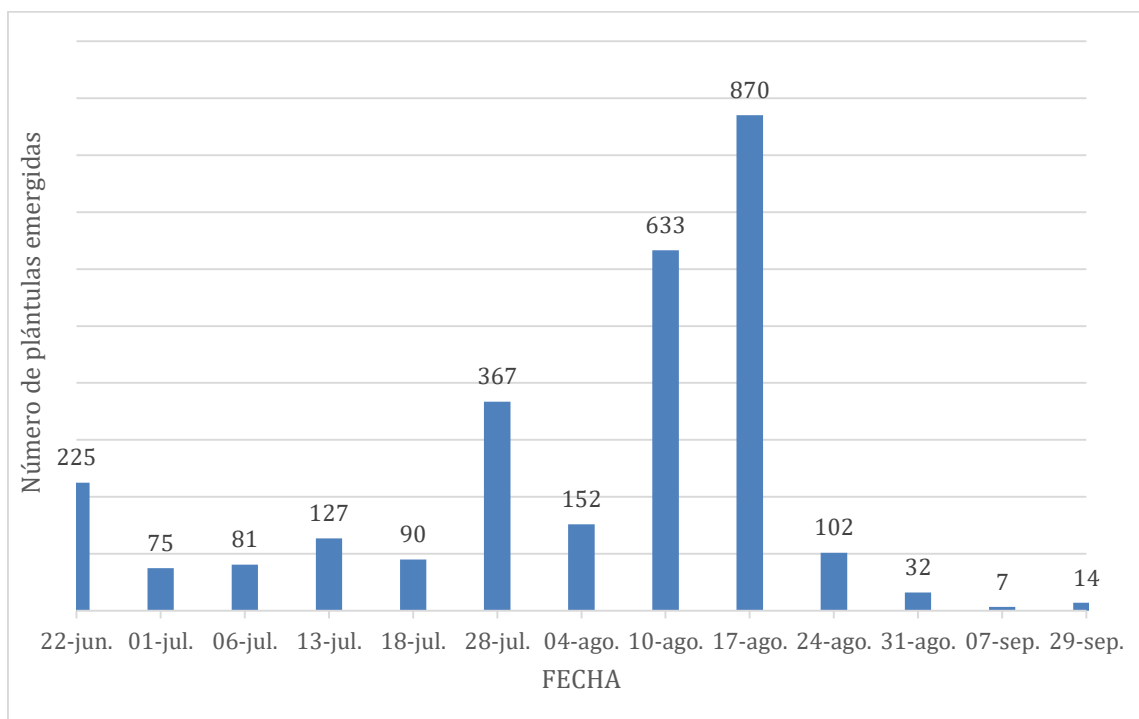


Figura 9. Número de emergencias acumuladas por semana del ensayo.

Al analizar los datos, no se encontraron diferencias significativas en la emergencia acumulada asociadas al ambiente de origen ni al biotipo, tampoco hubo interacción ambiente de origen x tratamiento. Las únicas fuentes de variación significativa fueron bloque y tratamiento (ruderal vs. control químico; Tabla S6).

Las parcelas tratadas con herbicida (control químico) presentaron una emergencia acumulada promedio del 9,5%, mientras que en las parcelas sin tratamiento (ruderal) la emergencia acumulada alcanzó el 12,9%.

Si bien no observamos diferencias significativas debidas al biotipo, todos los biotipos registraron mayor emergencia en el tratamiento ruderal que en el control (Tabla 3).

Tabla 3. Germinación media de los biotipos en el tratamiento control químico vs. Ruderal.

Biotipo	Emergencias (%)	
	Control químico	Ruderal
IxB	7,0	11,1
BxI	10,8	12,7
RCU	9,5	13,9
IxR	10,6	13,3
BAR	8,6	11,2
RxI	10,8	15,3

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron el efecto de la selección ambiental sobre la germinación, emergencia y tamaño de frutos de biotipos silvestres e híbridos cultivo-silvestre de girasol. Tanto los ambientes agrestales como ruderales generaron selección por mayor dormición, independientemente del genotipo. Así mismo, la intensidad de dicha selección varió entre ambientes y biotipos. Además, el efecto de la selección influyó de distinta manera entre híbridos recíprocos cultivo-silvestre.

Según estudios previos, se espera que los híbridos inicialmente posean una variación genética similar o mayor que las especies silvestres. Campbell *et al.* (2009) sugieren que la hibridación cultivo-maleza puede aumentar la competitividad o la capacidad de colonización de una especie a través de la heterosis, al generar nuevos fenotipos que coincidan con un nuevo ambiente más adaptado que los genotipos parentales y así aumentar su aptitud y tener una mayor fecundidad en relación con los progenitores cultivados o malezas.

En el ensayo de cámara, se evidenció que la germinación de los frutos varió significativamente entre los ambientes de origen. Esto sugiere que la competencia con otras plantas y la disponibilidad de recursos pueden ser factores determinantes en la dormición de las semillas. La selección en los tres ambientes generó frutos con mayor dormición, respecto al ambiente control, sobre todo en los ambientes agrestales. En el ambiente control, la mayor germinación ocurrió en los híbridos, ~90%, en comparación con las poblaciones silvestres, que fue de ~ 40%; mientras que en los ambientes agrestales la germinación media no superó el 25%. A su vez, cabe destacar, que el híbrido BxI presentó la mayor germinación en todos los ambientes de origen, que fue significativamente mayor que en su contraparte, IxB, solo para los ambientes ruderal y agrestal maíz.

También se pudo observar que existió una variabilidad considerable en el tamaño de las semillas entre los diferentes biotipos. Este hallazgo es relevante ya que el tamaño de las semillas puede tener implicaciones directas en la germinación, emergencia, y en la capacidad de la planta para competir por recursos. Se observó que en los ambientes control y ruderal, los híbridos mostraron mayor tamaño de fruto que las poblaciones silvestres, mientras que, en los ambientes maíz y trigo, no tuvieron diferencias significativas. Si bien, en general, no se encontró asociación entre tamaño de fruto y germinación, en los frutos provenientes de los ambientes control y ruderal si existió correlación entre estas variables. Los híbridos tuvieron mayor tamaño de semilla y germinación que las poblaciones silvestres. En contraparte, esta correlación no se observó en los ambientes agrestales,

probablemente asociado a la mayor selección que redujo fuertemente la variación en estos caracteres (Figuras 8 y 10).

Por otro lado, el ensayo a campo proporcionó información valiosa sobre la respuesta de los biotipos de girasol a condiciones ambientales más realistas, ya que la humedad del suelo, temperatura, y radiación varían a lo largo del año, así como la competencia con malezas u otras adversidades bióticas. Bajo estas condiciones, y en contraposición con el ensayo de germinación, no se encontraron diferencias entre los ambientes de origen ni entre los biotipos. Esto podría estar asociado a bajas precipitaciones del año, que limitó la germinación de la mayoría de las semillas (<15% de los frutos sembrados). Se destacaron dos lluvias, una en mayo y otra de mayor magnitud en julio, lo que posiblemente llevo a obtener el pico de emergencias acumuladas en el mes de agosto (Figura 11).

En este ensayo, la diferencia en la emergencia acumulada se asoció a los tratamientos (ruderal vs. control químico). Las emergencias acumuladas fueron mayores en el tratamiento ruderal que en el control químico. Esto podría estar asociado a una mayor predación por aves, insectos, y/o roedores en las parcelas tratadas químicamente, ya que las plántulas se encontraban más visibles.

Otros estudios han estimado el éxito de los híbridos cultivo-silvestres respecto a su parental (Campbell y Snow, 2007; Presotto *et al.*, 2019), y en general los híbridos presentan menor o igual aptitud biológica respecto a su parental silvestre (Campbell y Snow, 2007; Presotto *et al.*, 2019). Esto podría estar asociado a que algunos rasgos seleccionados en los cultivos durante la domesticación -por ejemplo, retención de semillas en la planta madre, ausencia de dormición, sincronización fenológica- podrían considerarse mal adaptativos en la naturaleza (Presotto *et al.*, 2019). En nuestro estudio, en los ambientes agrestales, la selección fue mayor, posiblemente debido a las prácticas de manejo utilizadas, por ejemplo, la aplicación de herbicidas previo a la siembra del cultivo, la competencia con el cultivo maíz o trigo, etc.

En resumen, este estudio destaca la complejidad de las interacciones entre los biotipos de girasol, el ambiente y la germinación de las semillas. La comprensión de estos aspectos es esencial para el desarrollo de estrategias de manejo de malezas que sean efectivas y sostenibles a largo plazo.

CONCLUSIÓN

El ambiente de selección modificó el tamaño del fruto y la germinación/dormición de los biotipos de girasol.

Las plantas seleccionadas en el ambiente ruderal dieron frutos que tuvieron mayor dormición que los frutos de las plantas control, pero menor que aquellos provenientes de los ambientes agrestales.

El tamaño de fruto se redujo con la selección ambiental, particularmente el de los híbridos seleccionados en los ambientes agrestales.

En general, no hubo asociación entre tamaño de fruto y germinación salvo en el ambiente control y ruderal donde los híbridos tuvieron mayor tamaño de semilla y germinación.

En contraparte, en el ensayo de emergencia, no se encontraron diferencias asociadas al ambiente de origen ni al biotipo, lo que podría deberse a las escasas precipitaciones del año y/o a la predación.

BIBLIOGRAFÍA

- Bagavathiannan, M.V., Van Acker, R.C., 2008. Crop ferality: implications for novel trait confinement. *Agric. Ecosyst. Environ.* 127, 1-6.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14, 1-16.
- Battla, D., Benech-Arnold, R.L., 2010. Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biol.* 73, 3-13.
- Benech-Arnold, R.L., Rodriguez, M. V., Battla, D. 2012. Apects of the Physiology of seed dormancy in relation to its implications for agriculture. In: *Encyclopedia of sustainability science and technology*, Eds: Robert A. Meyers. Section editors: Paul Christou, R. Savin. Editorial Springer, pp. 1425-1435.
- Campbell L.G., Snow A.A., 2007. Competition alters life history and increases the relative fecundity of crop-wild radish hybrids. *New Phytologist* 173, 648-660.
- Campbell LG, Snow AA, & Sweeney PM. 2009. When divergent life histories hybridize: insights into adaptative life-history traits in an annual weeds. *New Phytologist* 184, 806-818.
- Casquero, M., Presotto, A., Cantamutto, M. 2013. Exoferality in sunflower (*Helianthus annus* L.): A case study of intraspecific/interbiotype interference promoted by human activity. *Field Crop Res.* 142, 95-101.
- De Wet, J.M.J., Harlan, J.R. 1975. Weeds and domesticates: evolution in the man-made hábitat. *Econ. Bot.* 29, 99-107.
- Heiser, C.B. 1978. Taxonomy of *Helianthus* and origin of domesticated sunflower. En: Carter, J. (Ed.), *Sunflower Science and Technology*. Madison, USA, pp. 31-53.
- Hernandez, F., Lindström, L. I., Parodi, E., Poverene, M., Presotto, A. 2017. The role of domestication and maternal effects on seed traits of crop-wild sunflower hybrids (*Helianthus annus*). *Annals of Applied Biology* 171, 237-251.
- Karssen C.M. 1982. Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. En: Khan, A. (ed). *The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. Pp. 243-270.
- Koziol, L., Rieseberg, L., Kane, N., Bever, J. 2012. Reduced drought tolerance during domestication and the evolution of weediness results from tolerance-growth tradeoffs. *Evolution* 12, 3803-3814.
- Martinez-Ghersa, M.A., Ghersa, C.M., Satorre, E.H. 2000. Coevolution of agricultural systems and their weed companions: implications for research. *Field Crop Res.* 67, 181-190.

- Mayrose, M., Kane, N Mayrose, I., Dlugosch, K., Rieseberg, L. 2011. Increased growth in sunflower correlates with reduced defenses and altered gene expression in response to biotic and abiotic stress. *Mol. Ecol.* 20, 4683-4694.
- Poverene, M., Cantamutto, M., Carrera, A., Ureta, S., Salaberry, M., Echeverria, M., Rodriguez, R. 2002. El girasol Silvestre (*Helianthus* spp.) en la Argentina: Caracterización para la liberación de cultivares transgénicos. *Rev. Invest. Agropec.* 31, 97-116.
- Presotto, A., Poverene, M., Cantamutto, M. 2014. Seed dormancy and hybridization effect of the invasive species. *Helianthus annuus*. *Annals of Applied Biology* 164, 373-383.
- Roach, D.A., Wulff, R.D. 1987. Maternal Effects in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 209-235.
- Presotto A., Hernandez, F., Mercer K.L. 2019. Phenotypic selection under two contrasting environments in wild sunflower and its crop-wild hybrid. *Evolutionary Applications*, 12, 1703-1717.
- Presotto A, Hernández F, Casquero M, Vercellino RB, Pandolfo C, Poverene M, Cantamutto M. 2020. Seed bank dynamics of an invasive alien species, *Helianthus annuus* L. *Journal of Plant Ecology* 13, 313-322.
- Ureta, S., Cantamutto, M., Carrera, A., Delucchi, C., Poverene, M., 2008. Natural hybrids between cultivated and wild sunflowers in Argentina. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55, 1267-1277.
- Vercellino RB, Hernandez F, Pandolfo C, Ureta S, & Presotto A. 2023. Agricultural weeds: The contribution of domesticated species to the origin and evolution of feral weeds. *Pest management Science*, 79, 922-934.

ANEXO

Ensayo a cámara

Tabla S1. Análisis de la varianza en la que se observa que el Ambiente, el Biotipo y la interacción Ambiente*Biotipo tienen una diferencia significativa ($p < 0,001$). En cambio, el estudio del Bloque arrojó que no se encuentran diferencias significativas ($p > 0,05$).

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

	F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo		179419,60	22	8155,44	26,03	< 0,0001
Ambiente		107690,56	3	35896,85	114,59	< 0,0001
Biotipo		47669,66	4	11917,42	38,04	< 0,0001
Bloque		1109,73	3	369,91	1,18	0,3188
Ambiente*Biotipo		22949,65	12	1912,47	6,11	< 0,0001
Error		51373,90	164	313,26		
Total		230793,51	186			

Tabla S2. Comparación de medias (Tukey; $p < 0,05$) de la germinación para cada biotipo en cada uno de los ambientes.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=29,90898

Error: 307,2551 gl: 192

Biotipo Medias n E.E.

R.BAR	2,67	9	5,84	A			
R.RCU	2,73	11	5,29	A			
2.IxB	3,50	10	5,54	A			
2.IxR	3,64	11	5,29	A			
1.RxI	4,50	10	5,54	A			
1.RCU	5,75	8	6,20	A			
2.RCU	6,82	11	5,29	A	B		
2.BAR	7,50	8	6,20	A	B		
1.BAR	8,75	8	6,20	A	B		
1.IxR	12,27	11	5,29	A	B		
2.RxI	13,00	11	5,29	A	B		
R.IxR	16,11	9	5,84	A	B	C	
2.BxI	19,40	10	5,54	A	B	C	D
1.IxB	20,55	11	5,29	A	B	C	D
1.BxI	30,38	8	6,20	A	B	C	D
C.BAR	36,67	9	5,84		B	C	D
R.IxB	45,17	6	7,16			C	D E
C.RCU	47,82	11	5,29				D E
R.BxI	70,93	11	5,29				E F
C.IxR	82,14	7	6,63				F
C.RxI	86,14	7	6,63				F
C.IxB	94,71	7	6,63				F
C.BxI	98,09	11	5,29				F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ensayo de tamaño de fruto

Tabla S3. Análisis de la varianza en la que se observa que el Ambiente, el Biotipo y la interacción Ambiente*Biotipo tienen una diferencia significativa ($p < 0,001$). En cambio, el estudio del Bloque y el Área arrojó que no se encuentran diferencias significativas ($p > 0,05$).

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo 1)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef
Modelo	179485,79	23	7803,73	24,80	<0,0001	
Ambiente	107691,81	3	35897,27	114,10	<0,0001	
Biotipo	47656,82	4	11914,21	37,87	<0,0001	
Bloque (cámara)	1110,54	3	370,18	1,18	0,3204	
Ambiente*biotipo	22940,94	12	1911,74	6,08	<0,0001	
Área	85,68	1	85,68	0,27	0,6025	0,27
Error	51281,98	163	314,61			
Total	230767,78	186				

Tabla S4. Análisis Fisher entre las diferencias dentro del factor ambiente. Se observan diferencias significativas en el ambiente Ruderal y Control.

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=6,85669

Error: 271,7406 gl: 14

Ambiente Medias n E.E.

Maíz	8,97	61	2,11	A
Trigo	13,91	56	2,21	A
Ruderal	27,17	46	2,43	B
Control	72,62	52	2,29	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla S5. Análisis Fisher dentro del factor biotipo en la cual hubo diferencias significativas. Se obtuvieron diferencias significativas en los biotipos, principalmente en los biotipos híbridos, en el cual se destacó el biotipo BxI.

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=8,42241

Error: 271,7406 gl: 14

Biotipo Medias n E.E.

BAR	14,24	34	2,83	A
RCU	16,93	41	2,59	A B
IxR	23,55	38	2,67	B C
RxI	28,25	28	3,12	C D
IxB	35,15	34	2,83	D
BxI	57,40	40	2,61	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ensayo a campo

Tabla S6. Análisis de la varianza en la que se observa que, en el ambiente, biotipo y la interacción ambiente*biotipo no tienen diferencias significativas ($p > 0.05$), en cambio en el tratamiento y el bloque existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6396,11	16	399,76	1,90	0,0187
Ambiente	140,01	3	46,67	0,22	0,8812
Biotipo	703,25	4	175,81	0,84	0,5030
Bloque	3247,44	5	649,49	3,09	0,0095
Tratamiento	2210,34	1	2210,34	10,51	0,0013
Ambiente*Tratamiento	95,07	3	31,69	0,15	0,9293
Error	92787,37	441	210,40		
Total	99183,48	457			