



## Obtención de plantas de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) para un bioensayo con herbicidas\*

### Obtaining wild sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants for bioassays with herbicides

Ma. Eugenia Cisneros-López<sup>1</sup>, Miguel Ángel Valdez-Hernández<sup>1</sup>, Flor Elena Ortiz-Chairez<sup>1</sup>,  
Martín Espinosa-Ramírez<sup>1</sup>, Rubén Darío Garza-Cedillo<sup>1</sup>, Marisol Galicia-Juarez<sup>2</sup>

\* Recepción: 11 de abril, 2024. Aceptación: 5 de junio, 2024. Este trabajo formó parte del proyecto INIFAP-SIGI 11233535806 “Monitoreo de la resistencia del polocote (*Helianthus annuus* L.) a herbicidas en maíz y sorgo en el norte de Tamaulipas”, financiado con fondos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), México.

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), México. Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, México. [ecl631211@gmail.com](mailto:ecl631211@gmail.com) o [cisneros.maria@inifap.gob.mx](mailto:cisneros.maria@inifap.gob.mx) (autor para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0002-9177-5818>), [valdez.miguel@inifap.gob.mx](mailto:valdez.miguel@inifap.gob.mx) (<https://orcid.org/0009-0009-5633-8389>), [ortiz.flor@inifap.gob.mx](mailto:ortiz.flor@inifap.gob.mx) (<https://orcid.org/0009-0007-5324-0357>), [espinosa.martin@inifap.gob.mx](mailto:espinosa.martin@inifap.gob.mx) (<https://orcid.org/0000-0002-9177-5818>), [garza.ruben@inifap.gob.mx](mailto:garza.ruben@inifap.gob.mx) (<https://orcid.org/0000-0001-7541-6834>).

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Ciencias Agrícolas. Méxicali, Baja California, México. [galicia.juarez@uabc.edu.mx](mailto:galicia.juarez@uabc.edu.mx). (<https://orcid.org/0000-0003-3319-3673>).

### Resumen

**Introducción.** El girasol silvestre o polocote (*Helianthus annuus* L.) es la principal maleza anual en el cultivo de sorgo y maíz en el norte de Tamaulipas, México. Existe escasa información sobre esta especie, para realizar bioensayos con herbicidas. **Objetivo.** Establecer una metodología para la obtención de plántulas del polocote para bioensayos con herbicidas a partir de semilla hasta la multiplicación en vivero. **Materiales y métodos.** La semilla del polocote se recolectó en enero del 2023, dentro del Campo Experimental del INIFAP, en Río Bravo, Tamaulipas. Después se realizó la prueba de germinación inicial sobre papel filtro y viabilidad con Tetrazolio, se comprobó latencia por baja germinación (12 %) alta viabilidad (86 %). Se usaron doce tratamientos para romperla por medio de etanol (70 %) y agua (75, 25), como control solo agua, a 5 °C y 20 °C sobre papel, filtro, algodón y Peat moss en cajas Petri por siete días y después a ( $\pm$  25 °C). Con los resultados anteriores se estableció la fase de vivero con cuatro esquemas con trasplante de semilla pre germinada y dos con siembra directa. **Resultados.** El mejor tratamiento para romper latencia fue inmersión en agua a 5 °C, por por siete días sobre algodón con una germinación del 73 %. Los mejores métodos para obtener plantas fueron charolas con plántulas y trasplante en macetas negras con 75 y 50 % de supervivencia, respectivamente. La sombra inhibió el crecimiento de las plantas. La siembra directa, con o sin prehidratación a la semilla fue desfavorable para la germinación y emergencia. **Conclusión.** La obtención de plántulas de girasol silvestre fue superior cuando la semilla se sometió a pre-tratamiento hídrico y trasplante posterior a charolas o a bolsas..

**Palabras clave:** latencia, semilla, maleza de hoja ancha, prehidratación, polocote.



## Abstract

**Introduction.** The wild sunflower or polocote (*Helianthus annuus* L.) is the main annual weed in the cultivation of sorghum and corn in northern Tamaulipas, Mexico. To date, there is little information about this species to carry out bioassays with herbicides. **Objective.** Establish a methodology for obtaining polocote seedlings for bioassays with herbicides from seed to multiplication in the nursery. **Materials and methods.** The polocote seed was collected in January 2023, within the INIFAP Experimental Field, in Río Bravo, Tamaulipas. Afterwards, the initial germination test was carried out on filter paper and viability with Tetrazolium, latency was confirmed due to low germination (12 %) and high viability (86 %). Twelve treatments were used to break it using ethanol (70 %) and water (75, 25), as a control only water, at 5 °C and 20 °C on paper, filter, cotton and Peat moss in Petri dishes for seven days and then at ( $\pm$  25 °C). With the previous results, the nursery phase was established with four schemes with pre-germinated seed transplantation and two with direct sowing. **Results.** The best treatment to break dormancy was immersion in water at 5 °C for seven days on cotton with 73 %. The best methods to obtain plants were trays with seedlings and transplanting into black open-air pots with 75 and 50% survival, respectively. The shade inhibited the growth of the plants. Direct sowing, with or without seed prehydration, was unfavorable for germination and emergence. **Conclusion.** Obtaining wild sunflower seedlings was higher when the seed was subjected to water pre-treatment and subsequent transplanting into trays or open-air bags.

**Keywords:** seed dormancy, broadleaf weed, prehydration, polocote.

## Introducción

El girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) es una especie invasora distribuida en varias regiones del mundo, originaria de la región sureste de los Estados Unidos de América y noreste de México (Seiler et al., 2017). En esta región se le considera como la principal maleza anual de importancia económica (Singh et al., 2020), durante el ciclo agrícola otoño-invierno. El control químico de malezas es la primera opción de manejo en los cultivos extensivos, como el sorgo (Thompson et al., 2019). En la región norte de Tamaulipas, México se utiliza el herbicida prosulfuron en post emergencia, en sorgo (Alejandro Allende et al., 2020) y maíz (Reséndiz Ramírez et al., 2014). Este herbicida se absorbe por las hojas y las raíces de la planta, disminuye el crecimiento, por la inhibición de la síntesis de aminoácidos (Székács, 2021).

En la región norte de Tamaulipas, México, en especial el área de San Fernando, se siembra sorgo, en el ciclo otoño-invierno bajo un esquema de temporal, en cerca de 300 mil hectareas (Alejandro Allende et al., 2020). Desde hace 15 años consecutivos los agricultores aplican el herbicida prosulfuron, a partir del año 2019 empezaron a observar escapes de la maleza. El prosulfuron pertenece a la familia de las sulfonilureas, las cuales se introdujeron al mercado agrícola a partir de 1982, se extendieron por todo el mundo, debido a su selectividad, baja tasa de aplicación y amplio espectro, llegaron a representar un componente clave en el control de malezas, en consecuencia el desarrollo de la resistencia se incrementa (Laforest & Soufiane, 2018; Li et al., 2013).

Los reportes muestran la existencia de ocho malezas en promedio, en 50 países, con resistencia a herbicidas inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS) como las sulfonilureas, donde se incluye el prosulfuron (Hulme, 2023). La alta variabilidad fenológica y genética de diversas especies de malezas, implica la necesidad de desarrollar un protocolo, específico por maleza y herbicida (Panozzo et al., 2015). La confirmación de la resistencia de un herbicida, se puede realizar por medio de un bioensayo clásico, para lo cual, se requiere primero realizar una prueba de germinación a la semilla para confirmar la presencia de latencia definir la técnica apropiada de su ruptura (Burgos et al., 2013). La determinación de condición fisiológica de la semilla es la base para obtener plántulas para

un bioensayo (Burgos, 2015), ya que la aplicación de los herbicidas se realiza sobre plantas jóvenes (Bolaños-Jiménez et al., 2018). En el caso del polocote sería entre V6-V8, conforme a los estados de desarrollo utilizados en el girasol cultivado (Rivero Aragón y Grillo Ravelo, 2018). Es importante identificar las limitantes durante la multiplicación del polocote en un vivero, porque, no hay reportes previos de un protocolo y sobre todo porque la semilla de las especies del género *Helianthus* presentan latencia en diferentes grados (Castillo et al., 2019). El objetivo de esta investigación fue establecer una metodología para la obtención de plántulas del polocote para bioensayos con herbicidas a partir de semilla hasta la multiplicación en vivero.

## Materiales y métodos

### Área de muestreo

La recolecta del girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) se realizó en un área de seis ha del lote D1, durante marzo de 2023, del Campo Experimental Río Bravo (CERIB), norte de Tamaulipas, México, perteneciente al Centro de Investigación Regional Noreste (CIRNE), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Este campo se localiza a 25° 57' 54" latitud norte y 98° 01' 03" longitud oeste, a 50 m de elevación y un registro histórico de 648 mm de precipitación pluvial anual y 23 °C de temperatura media anual (Montes García et al., 2020).

### Material biológico

La semilla se recolectó en el mes de enero de 2023. La recolecta consistió de plantas individuales de girasol, bajo la técnica de muestreo aleatorio simple (Sarmiento-Muñoz et al., 2019). El tamaño de muestra fue de 100 plantas y la cosecha de cada planta constituyó una muestra individual y los capítulos colectados por planta fueron seleccionados bajo un mismo estado fenológico del capítulo. Las muestras individuales se integraron para formar una muestra compuesta. Las inflorescencias se colocaron en bolsas de papel de estrasa para su secado en estufa a 34 °C por 72 h. Las inflorescencias secas se trillaron y se eliminaron las impurezas del capítulo y la hoja. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente (25 °C) del Laboratorio de Agua y Suelo del CERIB-INIFAP, hasta el momento de realizar las pruebas pertinentes. El trabajo de investigación se desarrolló en dos etapas: a) Laboratorio, para las pruebas de calidad física (pureza), fisiológica [viabilidad, germinación, latencia; plántulas normales y anormales, semillas muertas y duras] y sanidad de la semilla (hongos) y; b) Vivero.

### Análisis físico

La prueba de pureza física de la semilla se realizó por triplicado en una muestra de 5 g [International Seed Testing Association (ISTA), 2019], para eliminar mezclas con otras especies de semillas y material inerte [suelo, fragmentos pequeños de rocas y residuos de plantas]. Esta muestra se identificó como muestra de laboratorio. El acondicionamiento de la semilla se hizo con cribas redondas (8/64", 9/64" y 10/64") y una malla plástica (5 x 5 mm). Los resultados se expresan en unidades porcentuales.

*No en referencias*

### Prueba de viabilidad

El tetrazolio al 1 % (cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio) se utilizó para verificar la viabilidad de la semilla, el cual se diluyó en 100 mL del buffer de fosfato (1,1 % de difosfato de potasio y 0,9 % de monofosfato sódico)

(Salazar et al., 2019). Cien semillas se colocaron en 5 mL de agua por 24 h a temperatura ambiente; después, las semillas se cortaron en dos partes longitudinales hasta contar con 10 piezas por caja Petri. Las cajas fueron cubiertas con el tetrazolio por 24 h a temperatura ambiente; para terminar, las semillas fueron drenadas y lavadas (Espitia Camacho et al., 2017). El indicador de la viabilidad fue la presencia de una coloración roja o morada del embrión, debido a la reducción del tetrazolio por la actividad respiratoria de las células; la falta de coloración equivale a viabilidad baja o muerte del embrión (Mercado et al., 2020). Los resultados se expresan en unidades porcentuales.

### Germinación inicial

La prueba de germinación estándar se realizó para evaluar la presencia de latencia en la semilla del polocote. Se utilizaron diez cajas Petri, la semilla se sembró sobre papel Whatman No 1, con 20 semillas/caja, antes de proceder a la siembra el papel se hidrató con agua potable comercial embotellada. La siembra se realizó el 20 de enero del 2023, con semilla recién cosechada, las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) durante 15 días en el laboratorio Agua y Suelo Campo Experimental Río Bravo Tamaulipas del Centro de Investigación Noreste. En cada caja se se contó el número total de semillas germinadas, cuando la radícula de la semilla alcanzó una longitud 2 mm (Ruíz & Parera, 2013). para realizar la prueba de germinación estándar conforme a la ISTA (Milivojevic et al., 2018).

### Latencia

Se realizó un pre tratamiento a la semilla, el cual consistió en colocar 2 g de semilla en etanol ( $C_2H_6O$ ) al 70 % y agua, en proporción (75:25) por 24 h y posteriormente, la semilla se lavó con agua potable comercial; además, como testigo absoluto se utilizaron otros 2 g de semilla inmersos solo en agua potable comercial por 24 horas. Después de ese tiempo la semilla se drenó y se fueron sembrado una por una en cada caja Petri, el sobrante de la semilla se desechó. El número de repeticiones fue de cinco cajas por tratamiento (Cuadro 1), para lo cual se utilizaron 20 semillas/caja Petri, la fecha de siembra fue el 27 de febrero del 2023. Se utilizaron tres diferentes tipos de sustratos: sobre papel filtro No. 1, almohadillas de algodón extra grande [9 cm diámetro y peat moss un sustrato orgánico comercial (Special Fine No. 3.)]. Antes de proceder a la siembra los sustratos en las cajas se hidrataron con agua potable comercial (pH 7,4). Las cajas Petri fueron colocadas en una cámara germinativa bajo oscuridad, a 5 °C y 20 °C, durante 7 d. Las cajas se extrajeron y mantuvieron bajo condiciones de laboratorio, a  $\pm 25$  °C; después se hicieron recuentos de la germinación cada tercer día, hasta que este proceso terminó.

La presencia de radícula mayor a 2 mm de longitud, fue considerada como semilla germinada (Ruíz & Parera, 2013). Los resultados de la prueba de germinación se expresaron en: proporción de plántulas normales (PN) con plúmula y radícula, plántulas anormales (PA), semillas muertas (SM), semillas duras (SD) y desarrollo micelial sobre el pericarpio (Milivojevic et al., 2018). Se consideró plántula normal, la semilla que emitió la radícula, luego la elongación del epicotilo y expansión de las hojas cotiledonares; mientras que una plántula anormal fue aquella que presentó deformaciones en estas estructuras (Singkaew et al., 2017). El recuento final terminó veintiún días después de la siembra. Los resultados se expresan en unidades porcentuales.

### Diseño experimental y análisis estadístico de datos

Los datos de los resultados de la etapa de laboratorio con los tratamientos a la semilla para romper latencia e inducir la germinación, se utilizaron para el análisis de la varianza bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial (A x B x C), de cinco repeticiones. El factor A, solventes, tuvo dos niveles ( $H_2O$  y  $C_2H_6O$ ), el factor B, temperatura, también tuvo dos niveles (5 °C y 20 °C) y el factor C, sustrato, con tres niveles (papel filtro,

**Cuadro 1.** Tratamientos para romper latencia en la semilla de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.). Río Bravo, Tamaulipas, México. Otoño-invierno 2023

**Table 1.** Treatments to break dormancy in wild sunflower seed (*Helianthus annuus* L.). Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. Season autumn-winter 2023.

Tratamiento	Solvente	Temperatura (C°)	Sustrato
T1	H <sub>2</sub> O	5	Papel filtro
T2	H <sub>2</sub> O	5	Algodón
T3	H <sub>2</sub> O	5	Peat moss
T4	H <sub>2</sub> O	20	Papel filtro
T5	H <sub>2</sub> O	20	Algodón
T6	H <sub>2</sub> O	20	Peat moss
T7	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Papel filtro
T8	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Algodón
T9	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Peat moss
T10	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Papel filtro
T11	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Algodón
T12	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Peat moss

H<sub>2</sub>O: agua y C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O: etanol. / H<sub>2</sub>O: water and C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O: ethanol.

algodón y Peat moss). En todos los casos, la comparación de medias fue desarrollada con la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los datos porcentuales de la prueba de para romper la latencia fueron transformados por arcoseno de la raíz cuadrada de  $X/100$ , antes de su análisis para homogeneizar varianzas; sin embargo, los resultados se presentan con datos retransformados por seno (Pérez, 2018). Los análisis se hicieron con el paquete estadístico SAS versión 9.4.

### Etapa de vivero

Las condiciones climáticas registradas durante el período de crecimiento en los meses de marzo-abril, fueron: temperatura máxima, media y mínima, precipitación pluvial y humedad relativa máxima, media y mínima. El suelo utilizado como sustrato que provino del lote B1 CERIB-CIRNE, mostró clasificación textural franco arenosa, pH 8,3, 1,29 % de materia orgánica y CE de 0,9 dS m<sup>-1</sup>. Enseguida fue cribado y mezclado con arena (70:30), luego se regó y se mantuvo cubierto con plástico negro por dos meses, antes de envasar en las macetas. Las cavidades de las charolas para germinación fueron llenadas con peat moss o turba (Special Fine No. 3), previa hidratación. Como maceta se usaron bolsas negras para vivero 20 x 20 x 20 cm, con capacidad aproximada de 3,5 kg de sustrato; después se regaron a capacidad de campo con agua de pozo.

### Pre tratamiento

En la siembra indirecta las semillas de girasol silvestre se pre trataron antes de la siembra o transplante. En 200 ml de agua potable se colocaron 5 g de semilla, lo cual se mantuvieron a temperatura de laboratorio ( $\pm 25$  °C) por 24 h, después se drenaron para eliminar por decantación la fracción de basura y semilla vana que flota en el agua. La germinación de la semilla se realizó en 25 cajas Petri, con veinte semillas por cada caja, la fecha de siembra

fue el 27/02/2023 y 02/03/23 sobre de piezas de algodón a capacidad de campo, estas se mantuvieron en la cámara a 5 °C por siete días, después se colocaron a temperatura de laboratorio ( $\pm 25$  °C). Conforme fueron germinando las semillas se trasplantaron en los diferentes métodos de siembra indirecta en el mes de marzo. El número de repeticiones por tratamiento fue de 20 bolsas, con un total de seis tratamientos (Cuadro 2). La profundidad de siembra en las bolsas o charolas fue de dos centímetros y los riegos posteriores a la siembra, se aplicaron cuando fue necesario.

**Cuadro 2.** Esquemas de siembra para en vivero para el girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.). Río Bravo, Tamaulipas, México, ciclo otoño-invierno 2023.

**Table 2.** Schemes for obtaining wild sunflower plants in the nursery. Río Bravo Tamaulipas Mexico, season autumn-winter 2023.

Tratamiento (T)	Descripción del métodos de siembra	
T1	I) Siembra indirecta	A. Siembra cuatro semillas pre germinadas/bolsa a media sombra.
T2		B. Siembra de cuatro semillas pre germinadas/bolsa con suelo a cielo abierto.
T3		C. En charola para germinación de unicel con peat moss se sembró una semilla pre germinada por celda y después trasplante en 20 bolsas a cielo abierto.
T4		D. En charola para germinación de unicel con peat moss se sembró una semilla pre germinada por celda y después trasplante en 20 bolsas a media sombra.
T5	II) Siembra directa	E. Sin pre tratamiento a la semilla cuatro semillas/bolsa a media sombra.
T6		F. Sin pre tratamiento a la semilla cuatro semillas/bolsa a cielo abierto.

### VARIABLES Y ANÁLISIS DE DATOS

Las variables en esta etapa fueron porcentaje de macetas con al menos una planta (PM) y número de plantas que sobrevivió y se desarrolló hasta una etapa de crecimiento de 5 a 10 cm (NPS) lo anterior; conforme a Bentivegna et al. (2017), quines indicaron que una altura óptima en malezas de hoja ancha para una aplicación efectiva debe variar entre 5 a 15 cm. En esta etapa se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, con seis tratamientos y 20 repeticiones o número de macetas para las variables PM y NPS entre cada tratamiento con la prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) con el paquete estadístico SAS versión 9.4.

## Resultados

### Etapa de laboratorio

Como parte de la calidad, el proceso de limpieza de la semilla por medio de cribas produjo 80 % de pureza; el resto correspondió a material inerte. La germinación de la semilla recién cosecha fue de 12 %, así mismo la prueba de viabilidad a la semilla arrojó un resultado del 86 %. El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el factor temperatura ( $P \leq 0,001$ ) al evaluar porcentaje de plántulas normales (PN); mientras que el, solvente y el sustrato, mostraron efectos estadísticos significativos en plántulas normales (PN), anormales (PA) y semillas duras (SD). La interacción entre T\*S solo tuvo significancia estadística para plántulas normales (PA), mientras que la interacción S\*SU, tuvo significancia para plántulas normales y semillas duras (PA y SD). En cuanto a la interacción triple (T\*S\*SU), PN, SM y SD mostraron diferencias estadísticas significativas.



El factor que más influyó en los resultados fue la inmersión de la semilla en solvente, con el 58 % de la varianza registrada. Mientras que la temperatura fue el segundo factor de importancia estadística (14 %). En menor proporción el tipo de sustrato (8 %); además, el efecto de las interacciones de segundo y tercer orden tuvieron valor similar entre el 2 y 6%.

La comparación de medias mostró que el mejor tratamiento para promover la germinación fue T2, inmersión de la semilla en agua a temperatura de 5 °C y como sustrato el algodón, con un 73 % de plántulas normales, 8 % de anormales, 12 % y 7 % semillas muertas y duras, respectivamente (Cuadro 3). En segundo lugar, fue el papel filtro como sustrato; ya sea a 5 °C o 20 °C, con 42 y 47 % de plántulas normales y la menor respuesta en ambas temperaturas fue con peat moss, con menos de 30 % de plántulas normales. En este experimento se observó que girasol silvestre presentó germinación epigea. La anomalía más frecuente fue la ausencia de crecimiento de la radícula.

**Cuadro 3.** Comparación de medias entre los tratamientos por ruptura de latencia en la semilla de girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.). Río Bravo, Tamaulipas, México. Ciclo otoño-invierno 2023.

**Table 3.** Comparison of means between treatments to break dormancy in wild sunflower seeds. Río Bravo Tamaulipas Mexico, season autumn-winter 2023.

Tratamiento	Solvente	T (C°)	Sustrato	PN (%)	PA	SM	SD
T1	H <sub>2</sub> O	5	Papel filtro	42 b	15 a	7 b	36 c
T2	H <sub>2</sub> O	5	Algodón	73 a	8 b	12 b	7 d
T3	H <sub>2</sub> O	5	Peat moss	27 bc	2 b	0 b	71 ab
T4	H <sub>2</sub> O	20	Papel filtro	47 b	15 a	10 b	28 c
T5	H <sub>2</sub> O	20	Algodón	40 b	12 a	3 b	45 b
T6	H <sub>2</sub> O	20	Peat moss	15 bc	3 b	3 b	79 a
T7	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Papel filtro	0 c	3 b	7 b	90 a
T8	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Algodón	5 c	0 b	0 b	95 a
T9	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	5	Peat moss	2 c	0 b	0 b	98 a
T10	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Papel filtro	0 c	0 b	6 b	94 a
T11	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Algodón	2 c	3 b	36 a	59 b
T12	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	20	Peat moss	2 c	0 b	0 b	98 a

PN y PA, plántulas normales y anormales; SM y SD, semillas muertas y duras. T, Temperatura; H<sub>2</sub>O, agua; C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, Etanol. Columnas con la misma letra iguales, no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0,05). / PN and PA, normal and abnormal seedlings; SM and SD, dead and hard seeds. T, Temperature; H<sub>2</sub>O, water; C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, Ethanol. Columns with the same letter are the same; they are not statistically different (Tukey, P ≤ 0.05).

### Etapas de vivero

Las condiciones climáticas registradas durante el periodo de crecimiento de las plántulas en marzo y abril, fueron: temperaturas máxima (28,6-28,5 °C), media (22,4-22,9 °C) y mínima (9,3-13,7 °C); la precipitación pluvial varió entre 90,4 y 82,8 mm y; la humedad relativa máxima fue de 89,0 a 93,9 %, con una media de 71,8 a 78,2 % y mínima de 44,2 a 56,1 %. El mejor tratamiento (T3) fue trasplante de la semilla en charola de unicel con peat moss a cielo abierto, con las dos plántulas exitosas en el 75 % de las macetas (Cuadro 4), estadísticamente similar al logrado en bolsas o macetas con semillas pre-germinadas a cielo abierto, con 50 % de éxito y una plántula en promedio por maceta.

**Cuadro 4.** Comparación entre los diferentes esquemas para la obtención de plántulas del girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) en vivero. Río Bravo, Tamaulipas, México, ciclo otoño-invierno 2023.

**Table 4.** Results between the different schemes for obtaining wild sunflower seedlings in the nursery. Río Bravo Tamaulipas Mexico, season autumn-winter 2023.

Tratamiento	Descripción del métodos de siembra		PM (%)	NPS
T1	I) Siembra indirecta	A, Bolsas con semillas pre germinadas a media sombra.	0.3 bc	20 bc
T2		B, Bolsas con semillas pre germinadas a cielo abierto.	1.0 b	50 ab
T3		C, Trasplante de plántulas a cielo abierto.	2.0 a	75 a
T4		D, Trasplante de plántulas a cielo abierto a media sombra.	0.5 bc	30 bc
T5	II) Siembra directa	A, Sin pre tratamiento a la semilla a media sombra.	0 c	0 c
T6		B, Sin pre tratamiento a la semilla a cielo abierto.	0 c	0 c

PM, Porcentaje de macetas con al menos una plántula y NPS, Número de semillas por maceta. Columnas con la misma letra iguales, no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0,05$ ). / PM, Percentage of pots with at least one seedling and NPS, Number of seeds per pot. Columns with the same letter are the same; they are not statistically different (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

## Discusión

Es posible considerar a la pureza física de la semilla (80 %) como alta, debido a que *Helianthus annuus* L. es una especie silvestre y a que en una población se localiza bajo diferentes niveles de competencia interespecífica e intraespecífica (Mercer et al., 2014), que influyen en la planta madre. Cabe mencionar la existencia de una restricción impuesta por el método de limpieza con cribas y mallas, pues no separó el 100 % de la semilla vana, debido a que presenta el tamaño y la forma de la estructura del pericarpio, semejante a las semillas llenas. La forma de separar semillas vanas se debe emplear acción manual o mediante un separador neumático o bien una mesa gravitacional.

Con respecto a la viabilidad, latencia y germinación del lote de semilla, se observó que el mayor porcentaje fue viable. En semilla recién cosechada del género *Helianthus* la presencia de latencia es la causa de la baja germinación (35 %), este resultado indica que es necesaria la prueba de viabilidad (Seiler, 2022). Los resultados en este experimento mostraron, que el mejor tratamiento para promover la germinación tuvo casi el doble de germinación (73 %), en comparación con ese resultado. La temperatura óptima para la germinación en la semilla del girasol cultivado es de 25 °C (Haj et al., 2023) lo cual no ocurrió en este experimento, con el girasol silvestre. Esta respuesta puede atribuirse, a que el girasol silvestre empieza a germinar después de la época de lluvias en la region norte de Tamaulipas, durante la época del otoño y el invierno (Rosales et al., 2011).

En este experimento, la inmersión en una solución de alcohol tuvo un efecto pobre en la germinación, en los tres sustratos y en ambas temperaturas (5 y 20 °C), la mayor proporción de semillas quedaron duras sin germinar. Se reportaron en semillas de girasol cultivado, los solventes para inducir la germinación y romper la latencia, tales como; el nitrato de potasio (0,2 %), tiourea (0,5 %), etanol (25 %) y acetona (25 %), después de siete días a 25 °C los valores germinativos son del 21 a 28 %; sin embargo, en el caso del etanol fue de 24,7 % (Nasreen et al., 2015). Además, para romper la latencia en la semilla del género *Helianthus*, se recurre al pretratamiento, tanto métodos físicos y químicos, además de compuestos orgánicos con propiedades lipófilas, tales como acetona, cloroformo y etanol (Maití et al., 2006).

El papel filtro, perdió humedad, por lo cual fue necesario mantener la prueba con hidratación constante, durante los 21 días fue necesario agregar la cantidad de agua necesaria para evitar estrés durante la germinación.



Este tipo de papel se caracteriza por ser delgado (grado 1 y tamaño de poro 11  $\mu\text{m}$ ); lo cual implica mantener en forma constante la humedad, lo que, representa una desventaja, al aumentar el número de accesiones o colectas, para superar este inconveniente en algunos trabajos se reporta el uso de una capa doble (Castillo et al., 2019). En girasol cultivado, la semilla tarda en germinar hasta 19 días a 5 y 10 °C (Haj et al., 2023).

Durante la etapa de vivero, se observó que el inconveniente del algodón, al momento del trasplante fue la altura de las plántulas debido a que la radícula empezó a crecer por debajo de las capas del algodón y a mayor altura fue más difícil extraerlas; esto causó ruptura, de la plántula y deja de ser funcional; en consecuencia, fue necesario trasplantar plántulas de menos de 1 cm de altura o semillas solo con la punta de la radícula en emergencia, lo anterior para evitar el estrés, lo cual, influye en el establecimiento y supervivencia de una plántula (Struve, 2009). Las condiciones agroclimáticas, sobre todo de temperatura se consideran esenciales para el crecimiento de la especie de *H. annuus* (González et al., 2013).

En bioensayos con herbicidas para *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv, Bolaños-Jimenez et al. (2018) lo implementaron de la siguiente forma: 1) identificación y ruptura de latencia; 2) germinación de la semilla bajo condiciones de laboratorio; 3) traplante de plántulas a macetas y 4) fase de crecimiento hasta que las plantas presentan de tres a cinco hojas liguladas. En este experimento, en la etapa de vivero, el mejor esquema de siembra fue trasplante de la semilla en charola de unicel con peat moss a cielo abierto, con 75 % de macetas y dos plántulas en promedio por maceta y estadísticamente similar a bolsas o macetas con semillas pre germinadas a cielo abierto con 50 % de éxito y una plántula en promedio por maceta. Colocar las macetas a la sombra afectó el crecimiento de la planta; además hasta los 70 días alcanzó los ocho centímetros de altura, la mayoría de las plántulas se pusieron amarillas, murieron por falta de desarrollo y presentaron putrefacción por el sombreo, es decir, que los tratamientos a la sombra tuvieron un resultado negativo, debido a que existen diferencias ecológicas entre especies y ecotipos (Toca et al., 2022), respecto al grado de tolerancia al sombreo, además, estas respuestas pueden ser complejas, como ocurre en el girasol cultivado (Kutschera y Briggs, 2016).

El girasol cultivado, la intensidad luminosa tiene efecto en el desarrollo foliar y en la tasa de crecimiento, con una reducción de la luz o aumento de la sombra entre un 25 % y 50 %, el área foliar puede disminuir hasta 39 % (Gatot, 2021). La formación y el desarrollo de las hojas se controla por la luz solar, lo cual depende del genotipo, la duración del día y la nutrición (Warrick et al, 2016). Con respecto a la temperatura es preferible sembrar después de que haya pasado el riesgo de heladas, así pues, la semilla puede germinar a temperaturas mínimas de 13 °C, con óptimas de 21 °C a 25 °C (Debaeke et al., 2017; Gonzáles et al., 2013).

La siembra directa de la semilla sin pre tratamiento hídrico no tuvo éxito. Además, éste método no es recomendable para establecer un vivero en esta maleza, ya que ocasionaría pérdida de la semilla, la cual está sujeta a la disponibilidad de una colecta, ya que las plantas con escape o posible resistencia crecen en parches dentro de un terreno y pueden ser solo algunas plantas (Ofosu et al., 2023). En los estudios o evaluaciones de susceptibilidad a factores abióticos, implica recuperar descendencia (Seiler et al., 2017), ya que el número de individuos está relacionado con la probabilidad de seleccionar o encontrar resistencia en la población (Baucom, 2019).

El diseño de un bioensayo para la detección temprana de la resistencia, se basada en pruebas bajo invernadero y tienen diferentes enfoques según los objetivos, el nivel de precisión requerido, el tiempo y los recursos disponibles, así como las especies de malezas consideradas (Panozzo et al., 2015). Las condiciones del norte de Tamaulipas México, no son las más factibles, para establecer bioensayos en invernadero, debido a la presencia de los vientos denominados nortes, que llegan a ráfagas incluso de más de 100 km h<sup>-1</sup> (Pei et al., 2022), las cuales limitan su construcción, tiempo de permanencia e incluso no hay sistemas de producción agrícola comercial bajo este esquema en la zona (Alejandro Allende et al., 2020).

## Conclusiones

En este ensayo se logró obtener plántulas de girasol silvestre a partir de semilla, porque se eliminó el problema de la latencia, por medio de un pre tratamiento hídrico en combinación con baja temperatura; además, con la semilla pre germinada, se dispone de plántulas, las cuales se pueden seleccionar bajo un mismo estado de desarrollo para uniformizar la población en macetas a cielo abierto. Mantener las macetas a la sombra no fue favorable para el crecimiento y desarrollo de la planta durante la etapa de vivero. Este método es sencillo a bajo costo, el cual tienen el potencial para escalarse a un mayor número de colectas y plantas.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al proyecto INIFAP-SIGI 11233535806 “Monitoreo de la Resistencia del polocote (*Helianthus annuus* L.) a herbicidas en maíz y sorgo en el norte de Tamaulipas”.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

## Referencias

- Alejandro Allende, F., García Mata, R., García Sánchez, C., Mora Flores, J. S., & Sangerman Jarquín, D. M. (2020). Competitividad de la producción de sorgo en el Norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(1), 139-150. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.1914>.
- Baucom, R. S. (2019). Evolutionary and ecological insights from herbicide-resistant weeds: what have we learned about plant adaptation, and what is left to uncover? *New Phytologist*, 223(1), 68-82. <https://doi.org/10.1111/nph.15723>
- Bentivegna, D. J., Gabriela, G. L., Daddario, J. F. F., & Tucut, G. (2017). Determination of optimal doses of glyphosate for controlling weeds at several stages in southwestern Buenos Aires province (Argentina). *Journal of Plant Protection Research*, 57(4), 347-354. <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0047>
- Bolaños-Jiménez, J., Uscanga-Mortera, E., Tafoya-Razo, J. A., Kohashi-Shibata, J., & Torres-García, J. R. (2018). Efectividad biológica de herbicidas inhibidores de la acetil coenzima a carboxilasa y acetolactato sintasa y la presencia de resistencia en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Agrociencia*, 52(5), 713-723. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1699/1699>
- Burgos, N. R., Patrick, J., Tranel, J., Streibig, J. C., Vince, D. M., Dale, S., Norsworthy, J. K., & Ritz, C. (2013). Review, Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. *Weed Science*, 61(1), 4-20. <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00032.1>
- Burgos, N. R. (2015). Whole-Plant and seed bioassays for resistance confirmation. *Weed Science*, 63(SP1), 152-165. <https://doi.org/10.1614/WS-D-14-00019.1>
- Castillo, L. E., Pritchard, H. W., & Finch, S. W. E. (2019). Comparison of seed & seedling functional traits in native *Helianthus* species & crop *H. annuus* (sunflower). *Plant Biology*, 21(3), 533-534. <http://doi.org/10.1111/plb.12928>

- Debaeke, P. P., Pierre, C., Francis, F. L., & Nicolas, B. L. (2017). Sunflower crop and climate change, vulnerability, adaptation, and mitigation potential from case-studies in Europe. *Oil and Fat Crops Lipids*, 24(1), Article D102. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016052>
- Espitia Camacho, M., Cardona Ayala, C., & Aramendiz Tatis, H. (2017). Morfología y viabilidad de semillas de *Bombacopsis quitana* y *Anacardium excelsum*. *Cultivos Tropicales*, 38(4), 75-83.
- Gatot, S. S. (2021). Growth pattern of sunflower on some light intensity in the coastal land. *Earth Environmental Science*, 752, Article 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/752/1/012019>
- González, J., Mancuso, N., & Ludueña, P. (2013). Sunflower yield and climatic variables. *HELIA*, 36(58), 69-76. <https://doi.org/10.2298/hel1358069g>
- Haj, S., Ghaier, A., Khaeim, H., Tarnawa, Á., Kovács, G. P., Gyuricza, C., & Kende, Z. (2023). Germination and seedling development responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds to temperature and different levels of water availability. *Agriculture*, 13(3), Article 608. <http://doi.org/10.3390/agriculture13030608>
- Hulme, P. E. (2023). Weed resistance to different herbicide modes of action is driven by agricultural intensification. *Field Crop Research*, 292, Article 108819. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2023.108819>
- Kutschera, U., & Briggs, W. R. (2016). Phototropic solar tracking in sunflower plants: an integrative perspective. *Annals Botany*, 117(1), 1-8. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv141>
- Laforest, M., & Soufiane, B. (2018). Coevolution of two sulfonyleurea-resistant common chickweed (*Stellaria media*) biotypes with different mutations in the acetolactate synthase gene. *Weed Science*, 66(4), 439-445. <http://doi.org/10.1017/wsc.2018.26>
- Li, M., Yu, Q., Han, H., Vila-Aiub, M., & Powles, S. B. (2013). ALS herbicide resistance mutations in *Raphanus raphanistrum*, evaluation of pleiotropic effects on vegetative growth and ALS activity. *Pest Management Science*, 69(6), 689-695. <https://doi.org/10.1002/ps.3419>
- Maití, R. K. P., Vidyasagar, S. C., Shahapur, Ghosh, S. K., & Seiler, G. J. (2006). Development and standardization of a simple technique for breaking seed dormancy in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *HELIA*, 29(45), 117-126. <http://dx.doi.org/10.2298/HEL0645117M>
- Mercado, S., Caleño, J., & Rozo, L. (2020). Improvement of the methodology of the tetrazolium test using different pretreatments in seeds of the genus *Epidendrum* (Orchidaceae). *Journal of Seed Science*, 42 e202042013, <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42231028>
- Mercer, K. L., Emry, D. J., Snow, A. A., Kost, M. A., Pace, B. A., & Alexander, H. M. (2014). Fitness of crop-Wild hybrid Sunflower under competitive conditions: Implications for Crop-to-Wild introgression. *PLoS ONE*, 9(10), Article e109001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109001>
- Milivojevic, M., Ripka, Z., & Petrovic, T. (2018). ISTA rules changes in seed germination testing at the beginning of the 21st century. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 22(1), 40-45. <http://doi.org/10.5937/JPEA1801040M>
- Montes García, N., Cisneros López, Ma. E., Díaz Franco, A., Espinosa Ramírez, M., & Álvarez Ojeda, Ma. G. (2020). Remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) como cultivo alternativo en el noreste de Tamaulipas, México, factores agrotecnológicos. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 17(3), 547-568. <http://dx.doi.org/10.22231/asyd.v17i3.1371>
- Nasreen, S., Ayub, K. M., Muhammad, Z., Mehwish, I., Saleem, U. A., & Zarrin, F. R. (2015). Response of sunflower to various

- pre- germination techniques for breaking seed dormancy. *Pakistan Journal of Botany*, 47(2), 413-416. <https://www.researchgate.net/publication/275045378>
- Ofosu, R., Evans, D., Agyemang, A., György, P., János, T., & Gabriella K. (2023). Herbicide resistance, managing weeds in a changing world. *Agronomy*, 13(6), Article 1595. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061595>
- Panozzo, S., Scarabel, L., Collavo, A., & Sattin, M. (2015). Protocols for robust herbicide resistance testing in different weed species. *Journal of Visualized Experiments*, 101, Article 52923. <https://doi.org/10.3791%2F52923>
- Pei, C. H., Huang, H. H., Hao, J. H., Ying, T. CH., Yu, L. C., & Wan, L. T. (2022). 2021 Texas cold snap, manifestation of natural variability & a recent warming trend. *Weather and Climate Extremes*, 37, Article 100476. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2022.100476>
- Pérez, P. L. (2018). ¿Cómo proceder ante el incumplimiento de las premisas de los métodos paramétricos? o ¿Cómo trabajar con variables biológicas no normales?. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 39, 1–12. <https://www.researchgate.net/publication/327752027>
- Reséndiz Ramírez, Z., López Santillán, J. A., Briones Encinia, F., Mendoza Castillo, Ma. del C., & Varela Fuentes, S. E. (2014). Situación actual de los sistemas de producción de grano de maíz en Tamaulipas, México. *Investigación y Ciencia*, 22(62), 69-75.
- Rivero Aragón, A., & Grillo Ravelo, H. (2018). Fenología de la interacción girasol- *Homoeosoma electellum* Hulst. para el desarrollo de estrategias de control. *Idesia*, 36(4), 81-86. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292018005002602>
- Rosales, R. E., Sánchez, de la C. R., & Cerda G. P. A. (2011). Control químico de maleza de hoja ancha en sorgo para grano. *Revista Fitotecnia Mexica*, 34(4), 269-275. <http://dx.doi.org/10.35196/rfm.2011.4.269>
- Ruíz, B. M., & Parera, C. A. (2013). Efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación de *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 18(1), 99-106.
- Salazar, S., Botello, H., & Quintero, J. (2019). Pre-treatments effect on the Tetrazolium Test on *Epidendrum barbaricum* Hágsater and Dodson Seeds. *Acta Agrónomica*, 68(4), 306-311. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n4.79619>
- Sarmiento-Muñoz, T., Alanís-Rodríguez, E., Mata-Balderas, J. M., & Mora-Olivo, A. (2019) Estructura y diversidad de la vegetación leñosa en un área de matorral espinoso tamaulipeco. *CienciaUAT*, 14(1), 31-44. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1001>
- Seiler, G. J., Lili, L., Qi, L. L., & Marek, L. F. (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Crop Science*, 57(3), 1083-1101. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0856>
- Seiler, G. J. (2022). Germination & viability of wild sunflower species seeds stored at room temperature & low humidity for 38 years. *Seed Science & Technology*, 50(3), 307-315. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.3.01>
- Singh, V., Etheredge, L., McGinty, J., Morgan, G., & Bgavathiannan, M. (2020). First case glyphosate resistance in weedy sunflower (*Helianthus annuus*). *Pest Management Science*, 76(11), 3685-3692. <https://doi.org/10.1002/ps.5917>
- Singkaew, J., Miyagawa, s., Wongs-Aree, C., Vichitsoonthonkul, T., Sokaokha, S. and Photchanachai, S. (2017). Season, fruit maturity, and storage effect on the physiological quality of F1 hybrid 'VTM580' tomato seeds and seedlings. *The Horticulture Journal*, 86(1), 121-131. <https://doi.org/10.2503/hortj.MI-087>
- Struve, D. K. (2009). Tree Establishment: A Review of some of the factors affecting transplant survival and establishment. *Arboriculture and Urban Forestry*, 35(1), 10-13. <http://dx.doi.org/10.48044/jauf.2009.003>

- Székács, A. (2021). Herbicide mode action. In R. Mesnage, & J. G. Zaller (Eds.), *Herbicides chemistry, efficacy, toxicology, and environmental impacts* (Chapter 3, pp. 41-86). Elsevier publishing. <https://doi.org/10.1016/C2019-0-04861-3>
- Thompson, C. R., Dille, A., & Peterson, D. E. (2019). Chapter 15. Weed competition and management in *Sorghum*. In I. A. Ciampitti, & P. V. Vara Prasad (Eds.), *Sorghum, A State of the Art and Future Perspectives* (pp. 347-360). Crop Science. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr58.c15>
- Toca, A., Moler, E., Nelson, A., & Jacobs, D. (2022). Environmental conditions in the nursery regulate root system development and architecture of forest tree seedlings: a systematic review. *New Forests*, 53, 1131-1143. <http://dx.doi.org/10.1007/s11056-022-09944-8>
- Warrick, B. E. (2023, August 17). *Sunflower production guide*. Texas & M Agrilife Extension. <https://sanangelo.tamu.edu/extension/agronomy/agronomy-publications/sunflower-production-guide/>

Manuscrito aceptado