



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-López¹, Miguel Ángel Valdez-Hernández¹, Flor Elena Ortiz-Chairez¹,
Martín Espinosa-Ramírez¹, Rubén Darío Garza-Cedillo¹, Marisol Galicia-Juárez²

* 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.

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, México. ecl631211@gmail.com o cisneros.maria@inifap.gob.mx (autor para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0002-9177-5818>); valdez.miguel@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0009-0009-5633-8389>); ortiz.flor@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0009-0007-5324-0357>); espinosa.martin@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0001-5031-3249>); garza.ruben@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0002-3168-3321>).

² Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Ciencias Agrícolas. Mexicali, Baja California, México. 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 de polocote para bioensayos con herbicidas, desde la semilla hasta la multiplicación en vivero. **Materiales y métodos.** La semilla de polocote se recolectó en enero del año 2023, en el Campo Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Río Bravo, Tamaulipas. Después, se ejecutó la prueba de germinación inicial sobre papel filtro y viabilidad con tetrazolio. Se comprobó latencia por baja germinación (12 %) y alta viabilidad (86 %). Se usaron doce tratamientos para romper la latencia, mediante etanol (70 %) y agua (75, 25). Como control se utilizó solamente agua. Los tratamientos se aplicaron a temperaturas de 5 °C y 20 °C, sobre papel filtro, algodón y *peat moss*, en cajas Petri durante siete días. Posteriormente, se mantuvieron a una temperatura de ±25 °C. Con los resultados anteriores, se estableció la fase de vivero con cuatro esquemas con trasplante de semilla pregerminada y dos con siembra directa. **Resultados.** El mejor tratamiento para romper latencia fue inmersión en agua a 5 °C 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 de 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 pretratamiento 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 National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (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 dormancy using ethanol (70 %) and water (75, 25). As a control only water were used. The treatments were applied at temperatures of 5 °C and 20 °C, on filter paper, cotton, and peat moss in Petri dishes for seven days. Subsequently, they were kept at a temperature of ± 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 % germination. The best methods to obtain plants were trays with seedlings and transplanting into black open-air pots, with 75 % and 50 % survival, respectively. Shade inhibited plant growth. 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: dormancy, seed, 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 posemergencia, en sorgo (Alejandro Allende et al., 2020) y maíz (Reséndiz Ramírez et al., 2014). Este herbicida se absorbe a través de las hojas y las raíces de la planta, y disminuye el crecimiento al inhibir la síntesis de aminoácidos (Székács, 2021).

En la región norte de Tamaulipas, México, en especial en el área de San Fernando, se siembra sorgo en el ciclo otoño-invierno bajo un esquema de temporal, en cerca de 300 000 hectáreas (Alejandro Allende et al., 2020). Desde hace 15 años consecutivos, los agricultores aplican el herbicida prosulfuron, y 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. Estas se extendieron por todo el mundo debido a su selectividad, baja tasa de aplicación y amplio espectro, y llegaron a representar un componente clave en el control de malezas. En consecuencia, el desarrollo de la resistencia ha incrementado (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 a un herbicida se puede realizar por medio de un bioensayo clásico, para lo cual se requiere primero ejecutar una prueba de germinación de la semilla para confirmar la presencia de latencia y definir la técnica apropiada de su ruptura (Burgos et al., 2013). La determinación de la condición fisiológica de la semilla es la base para obtener plántulas para un bioensayo (Burgos, 2015), ya que la aplicación de los herbicidas se lleva a cabo 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 & 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 las semillas 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 de polocote para bioensayos con herbicidas, desde la 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 hectáreas del lote D1, durante marzo de 2023, en el Campo Experimental Río Bravo (CERIB), ubicado en el norte de Tamaulipas, México, el cual pertenece 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, con un registro histórico de 648 mm de precipitación pluvial anual y una temperatura media anual de 23 °C (Montes García et al., 2020).

Material biológico

La semilla se recolectó en enero de 2023. La recolecta consistió en plantas individuales de girasol, utilizando la técnica de muestreo aleatorio simple (Sarmiento-Muñoz et al., 2019). El tamaño de la muestra fue de 100 plantas; 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 estraza para su secado en estufa a 34 °C durante 72 horas. Las inflorescencias secas se trillaron y se eliminaron las impurezas del capítulo y la hoja. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente (25 °C) en el Laboratorio de Agua y Suelo del CERIB-INIFAP, hasta el momento de ejecutar 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, 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 × 5 mm). Los resultados se expresaron en unidades porcentuales.

Prueba de viabilidad

Se utilizó tetrazolio al 1 % (cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio) para verificar la viabilidad de la semilla. Este se diluyó en 100 mL de un *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 durante 24 horas a temperatura ambiente. Después, las semillas se cortaron longitudinalmente en dos partes hasta obtener 10 piezas por caja Petri. Las cajas fueron cubiertas con el tetrazolio por 24 horas a temperatura ambiente. Para terminar, las semillas fueron drenadas y lavadas (Espitia Camacho et al., 2017). El indicador de viabilidad fue la presencia de una coloración roja o morada en el 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 expresaron en unidades porcentuales.

Germinación inicial

La prueba de germinación estándar se realizó para evaluar la presencia de latencia en la semilla de polocote. Se utilizaron 10 cajas Petri, en las que se sembraron 20 semillas por caja sobre papel Whatman n.º 1. Antes de proceder a la siembra, el papel se hidrató con agua potable comercial embotellada.

La siembra se llevó a cabo el 20 de enero del 2023, utilizando semilla recién cosechada. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) durante 15 días en el Laboratorio de Agua y Suelo, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, del Centro de Investigación Noreste. En cada caja, se contó el número total de semillas germinadas, cuando la radícula de la semilla alcanzó una longitud 2 mm (Ruíz & Parera, 2013), para ejecutar la prueba de germinación estándar conforme a la ISTA (Milivojevic et al., 2018).

Latencia

Se realizó un pretratamiento 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), durante 24 horas. Posteriormente, la semilla se lavó con agua potable comercial. 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 sembró 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 de 2023. Se utilizaron tres diferentes tipos de sustratos: sobre papel filtro n.º 1, almohadillas de algodón extra grande (9 cm de diámetro) y *peat moss*, un sustrato orgánico comercial (Special Fine n.º 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 siete días. Luego, las cajas se extrajeron y se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio, a ± 25 °C. 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 aquella semilla que emitió la radícula, seguida de 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 veintidós días después de la siembra. Los resultados se expresaron en unidades porcentuales.

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 (*Helianthus annuus* L.) seed. Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. Autumn-winter, 2023.

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

H₂O: Agua y C₂H₆O: Etanol. / H₂O: Water and C₂H₆O: Ethanol.

Diseño experimental y análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos en la etapa de laboratorio con los tratamientos a la semilla para romper la latencia e inducir la germinación se utilizaron para el análisis de la varianza bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial (A × B × C), de cinco repeticiones. El factor A, solventes, tuvo dos niveles (H₂O y C₂H₆O); el factor B, temperatura, también tuvo dos niveles (5 °C y 20 °C), y el factor C, sustrato, tuvo tres niveles (papel filtro, algodón y *peat moss*). En todos los casos, la comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Los datos porcentuales de la prueba 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 efectuaron 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 una clasificación textural franco arenosa, un pH de 8,3, 1,29 % de materia orgánica y CE de 0,9 dS m⁻¹. El suelo fue cribado y mezclado con arena (70:30), luego se regó y se mantuvo cubierto con plástico negro por dos meses, antes de ser envasado en las macetas. Las cavidades de las charolas para germinación se llenaron con *peat moss* o turba (Special Fine n.º 3), previa hidratación. Como maceta se usaron bolsas negras para vivero de 20 × 20 × 20 cm, con capacidad aproximada de 3,5 kg de sustrato; después, se regaron a capacidad de campo con agua de pozo.

Pretratamiento

En la siembra indirecta, las semillas de girasol silvestre se pretrataron antes de la siembra o trasplante. En 200 ml de agua potable se colocaron 5 g de semilla, los cuales se mantuvieron a temperatura de laboratorio (± 25 °C) durante 24 horas. Luego, se drenaron para eliminar por decantación la fracción de basura y semillas vanas que flotaban en el agua.

La germinación de la semilla se realizó en 25 cajas Petri, con 20 semillas por cada caja. La siembra se llevó a cabo el 27 de febrero de 2023 y el 2 de marzo de 2023 sobre piezas de algodón a capacidad de campo. Estas se mantuvieron en la cámara a 5 °C durante siete días; después, se colocaron a temperatura de laboratorio (± 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. Otoño-invierno, 2023.

Table 2. Schemes for obtaining wild sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants in the nursery. Río Bravo Tamaulipas Mexico. Autumn-winter, 2023.

| Tratamiento (T) | Descripción de métodos de siembra |
|-----------------|---|
| T1 | A. Siembra cuatro semillas pregerminadas/bolsa a media sombra. |
| T2 | B. Siembra de cuatro semillas pregerminadas/bolsa con suelo a cielo abierto. |
| T3 | I) Siembra indirecta C. En charola para germinación de unicel con <i>peat moss</i> se sembró una semilla pregerminada por celda y después trasplante en 20 bolsas a cielo abierto. |
| T4 | D. En charola para germinación de unicel con <i>peat moss</i> se sembró una semilla pregerminada por celda y después trasplante en 20 bolsas a media sombra. |
| T5 | II) Siembra directa A. Sin pretratamiento a la semilla: cuatro semillas/bolsa a media sombra. |
| T6 | B. Sin pretratamiento a la semilla: cuatro semillas/bolsa a cielo abierto. |

VARIABLES Y ANÁLISIS DE DATOS

Las variables en esta etapa fueron el porcentaje de macetas con al menos una planta (PM) y el número de plantas que sobrevivieron y se desarrollaron hasta una etapa de crecimiento de 5 a 10 cm (NPS). Lo anterior, conforme a Bentivegna et al. (2017), quienes indicaron que una altura óptima en malezas de hoja ancha para una aplicación efectiva debe variar entre 5 y 15 cm. En esta etapa se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, con seis tratamientos y veinte 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 cosechada fue de 12 %, y la prueba de

viabilidad de la semilla arrojó un resultado del 86 %. El análisis de varianza reveló diferencias significativas en el factor temperatura ($p \leq 0,001$) al evaluar el porcentaje de plántulas normales, mientras que el solvente y el sustrato mostraron efectos estadísticos significativos en plántulas normales (PN), anormales (PA) y semillas duras (SD). La interacción entre temperatura y solvente (T*S) solo tuvo significancia estadística para plántulas anormales (PA); por su parte, la interacción entre solvente y sustrato (S*SU) tuvo significancia para plántulas anormales y semillas duras (PA y SD). En cuanto a la interacción de los tres factores (T*S*SU), las plántulas normales, las semillas muertas y las semillas duras mostraron diferencias estadísticas significativas.

El factor que más influyó en los resultados fue la inmersión de la semilla en solvente, con un 58 % de la varianza registrada, seguido por la temperatura, que fue el segundo factor de mayor importancia estadística (14 %), y, en menor proporción, por el tipo de sustrato (8 %). Por su parte, el efecto de las interacciones de segundo y tercer orden presentó valores similares, entre el 2 % y 6 %.

La comparación de medias mostró que el mejor tratamiento para promover la germinación fue el T2: inmersión de la semilla en agua a una temperatura de 5 °C con algodón como sustrato, con un 73 % de plántulas normales, 8 % de anormales, 12 % de semillas muertas y 7 % de semillas duras (Cuadro 3). En segundo lugar, estuvo el papel filtro como sustrato, ya sea a 5 °C o 20 °C, con 42 % y 47 %, respectivamente, de plántulas normales. La menor respuesta en ambas temperaturas se obtuvo con *peat moss*, con menos de 30 % de plántulas normales. En este experimento, se observó que girasol silvestre presentó germinación epígea. 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. Otoño-invierno, 2023.

Table 3. Comparison of means between treatments to break dormancy in wild sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. Río Bravo Tamaulipas, Mexico. Autumn-winter, 2023.

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

PN: Plántulas normales. PA: Plántulas anormales. SM: Semillas muertas. SD: Semillas duras. T: Temperatura. H₂O: Agua. C₂H₆O: Etanol. Las columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). / PN: Normal seedlings. PA: Abnormal seedlings. SM: Dead seeds. SD: Hard seeds. T: Temperature. H₂O: Water. C₂H₆O: Ethanol. Columns with the same letter are not statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$).

Etapa de vivero

Las condiciones climáticas registradas durante el periodo de crecimiento de las plántulas en marzo y abril fueron las siguientes: temperatura máxima (28,6-28,5 °C), media (22,4-22,9 °C) y mínima (9,3-13,7 °C); precipitación pluvial que varió entre 90,4 y 82,8 mm, y humedad relativa máxima de 89,0 a 93,9 %, media de 71,8 a 78,2 % y mínima de 44,2 a 56,1 %. El mejor tratamiento (T3) fue el trasplante de la semilla en charola de unicel con *peat moss* a cielo abierto, con dos plántulas exitosas en el 75 % de las macetas (Cuadro 4). Este resultado fue estadísticamente similar al logrado en bolsas o macetas con semillas pregerminadas a cielo abierto, con un 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. Otoño-invierno, 2023.

Table 4. Comparison of different schemes for obtaining wild sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings in the nursery. Río Bravo, Tamaulipas, Mexico. Autumn-winter, 2023.

| Tratamiento | Descripción de métodos de siembra | PM (%) | NPS |
|-------------|--|--------|-------|
| T1 | A. Bolsas con semillas pregerminadas a media sombra. | 0,3 bc | 20 bc |
| T2 | B. Bolsas con semillas pregerminadas 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 | A. Sin pretratamiento a la semilla a media sombra. | 0 c | 0 c |
| T6 | B. Sin pretratamiento a la semilla a cielo abierto. | 0 c | 0 c |

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

Discusión

Es posible considerar 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, ya que este no separó el 100 % de la semilla vana, puesto que presenta un tamaño y una forma de la estructura del pericarpio semejantes a las de las semillas llenas. Para separar semillas vanas, se debe emplear acción manual, un separador neumático o 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 hallazgos en este experimento mostraron que el mejor tratamiento para promover la germinación obtuvo casi el doble de germinación (73 %), en comparación con dicho resultado. Se ha registrado que la temperatura óptima para la germinación en la semilla del girasol cultivado es de 25 °C (Haj et al., 2023), lo cual no ocurrió con el girasol silvestre en este experimento. Esta respuesta puede atribuirse a que el girasol silvestre empieza a germinar después de la época de lluvias en la región norte de Tamaulipas, durante el otoño y el invierno (Rosales-Robles 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 °C y 20 °C), ya que la mayor proporción de semillas quedaron duras sin germinar. Se ha reportado que, 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, presentan los valores germinativos de 21 a 28 %. Sin embargo, en el caso del etanol, este fue de 24,7 % (Nasreen et al., 2015).

El papel filtro perdió humedad, por lo que fue necesario mantener la prueba con hidratación constante. Durante los veintiún días, se requirió 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 μm), lo cual implica mantener de forma constante la humedad. Lo anterior representa una desventaja, ya que aumenta 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 el caso del girasol cultivado, la semilla tarda en germinar hasta diecinueve días a 5 °C y 10 °C (Haj et al., 2023).

Durante la etapa de vivero, se observó que el inconveniente del algodón en el 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, lo que causó su ruptura y las hizo no funcionales. En consecuencia, fue necesario trasplantar plántulas de menos de 1 cm de altura o semillas que solo presentaran la punta de la radícula en emergencia; lo anterior, para evitar el estrés, el cual influye en el establecimiento y la supervivencia de las plántulas (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) implementaron el proceso de la siguiente forma: 1) identificación y ruptura de latencia; 2) germinación de la semilla bajo condiciones de laboratorio; 3) trasplante de plántulas a macetas, y 4) fase de crecimiento hasta que las plantas presenten de tres a cinco hojas liguladas. En este experimento, en la etapa de vivero, el mejor esquema de siembra fue el trasplante de la semilla en charola de unicel con *peat moss* a cielo abierto, con un 75 % de macetas y dos plántulas en promedio por maceta, lo cual fue estadísticamente similar a las bolsas o macetas con semillas pregerminadas a cielo abierto, que mostraron un 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 setenta días alcanzaron los ocho centímetros de altura. La mayoría de las plántulas se pusieron amarillas, murieron por falta de desarrollo y presentaron putrefacción debido al sombreo; es decir, los tratamientos a la sombra tuvieron un resultado negativo, puesto 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 & Briggs, 2016).

En el girasol cultivado, la intensidad luminosa tiene un efecto en el desarrollo foliar y en la tasa de crecimiento. Con una reducción de la luz o un 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 controlan por la luz solar, lo cual depende del genotipo, la duración del día y la nutrición (Warrick, n.d.). Con respecto a la temperatura, es preferible sembrar después de que haya pasado el riesgo de heladas. Así, la semilla puede germinar a temperaturas mínimas de 13 °C, con temperaturas óptimas entre 21 °C y 25 °C (Debaeke et al., 2017; González et al., 2013).

La siembra directa de la semilla sin pretratamiento hídrico no tuvo éxito. Además, este 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, pues 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 basa en pruebas bajo invernadero y tiene 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 favorables para establecer bioensayos en invernadero, debido a la presencia de los vientos denominados “nortes”, que alcanzan ráfagas de hasta más de 100 km h⁻¹ (Hsu et al., 2022).

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 pretratamiento hídrico en combinación con baja temperatura. Además, el uso de semillas pregerminadas permitió disponer de plántulas que pueden seleccionarse en 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 las plantas durante la etapa de vivero. El método empleado, además de ser sencillo y de bajo costo, tiene el potencial para escalar 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. (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>

- 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>
- Castillo, L. E., Pritchard, H. W., & Finch, S. W. E. (2019). Comparison of seed and seedling functional traits in native *Helianthus* species and the 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 quinata* 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>
- Hsu, P.-C., Hsu, H.-H., Hong, H.-J., Chen, Y.-T., Chen, Y.-L., & Tseng, W.-L. (2022). 2021 Texas cold snap: manifestation of natural variability and a recent warming trend. *Weather and Climate Extremes*, *37*, Article 100476. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2022.100476>
- 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>
- International Seed Testing Association. (2019). The germination test. In International Seed Testing Association (Ed.). *International rules for seed testing* (2021 ed., pp. i5-56-64). International Seed Testing Association.
- 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>
- 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*, Article 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, M. E., Díaz Franco, A., Espinosa Ramírez, M., & Álvarez Ojeda, M. 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>
- 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, M. 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-Robles, E., Sánchez-de la Cruz, R., & Cerda-García, 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 Agronómica*, 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 con actividad pecuaria en Nuevo León, México. *CienciaUAT*, 14(1), 31–44. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1001>
- Seiler, G. J. (2022). Germination and viability of wild sunflower species seeds stored at room temperature and low humidity for 38 years. *Seed Science and Technology*, 50(3), 307–315. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.3.01>
- 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>
- Singh, V., Etheredge, L., Mccinty, J., Morgan, G., & Bgavathiannan, M. (2020). First case of 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., & Photchanachai, S. (2017). Season, fruit maturity, and storage affect on the physiological quality of F1 hybrid 'VTM580' tomato seeds and seedlings. *The Horticulture Journal*, 86(1), 12–131. <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* (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. (n. d.). *Sunflower production guide*. Texas A&M Agrilife Extension. Retrieved August 17, 2023. <https://sanangelo.tamu.edu/extension/agronomy/agronomy-publications/sunflower-production-guide/>