

**Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales**

**UNLP**



**TRABAJO FINAL**

**MODALIDAD: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DÚO**

**Respuesta de variedades silvestres de nabo (*Brassica rapa*) a la  
aplicación de herbicida hormonal 2,4 D**

**ALUMNOS:**

**Benavidez, Sebastián**

DNI: 36.301.889

Nº de Legajo: 26820/1

e-mail: benavidezseba@gmail.com

Teléfono: 2314-610300

**Cadavid, Enrique Agustín**

DNI: 36.283.206

Nº de Legajo: 26834/8

e-mail: enrique.cadavid@hotmail.com

Teléfono: 2346-574391

**Director: MSc. Alejandra V. Carbone**

**Co - director: Dr. Marcelo P. Hernández**

**Fecha de entrega: 22 de junio de 2020**

## RESUMEN

*Brassica rapa* L. “nabo” es una maleza invasora a nivel mundial siendo en Argentina frecuente en cultivos de invierno y verano del centro sur de la provincia de Buenos Aires. En 2012 fueron halladas poblaciones ferales de *B. napus* con resistencia a glifosato (RR) y posteriormente se detectaron biotipos con RR y resistencia múltiple a AHAS. Fue evaluada la respuesta de biotipos de nabos provenientes de Azul y Tandil a 2,4-D siendo la colza susceptible (Cs) el material control. Fueron cultivadas en el INFIVE (FCAyF-UNLP) 120 plantas de cada localidad y al estadio de 3-4 hojas en roseta se aplicó 2,4-D éster metílico (emulsión concentrada 97%) según los tratamientos (T): T1: Control (agua); T2: 0,125 L /ha; T3: 0,250 L /ha; T4: Dosis Recomendada (DR): 0,5 L /ha; T5: 1L /ha y T6: 2 L /ha. Se evaluaron los síntomas de fitotoxicidad según la escala elaborada por ALAM, el porcentaje de supervivencia (%S) a 21 días desde aplicación realizándose observaciones macro y microscópicas del material control y tratado con la DR del herbicida. La DR registró 100, 50 y 25 %S en Tandil, Azul y Cs, mientras que T5 y T6 resultaron letales para Cs, manifestando Azul 16, 8 y Ta 75, 33%S, respectivamente. Fueron observadas malformaciones en yemas apicales y hojas con epinastia en T4 de Cs. Mayor severidad en T4, T5 y T6 de Azul respecto a Tandil en los respectivos T. Los cortes transversales de hojas mostraron menor espesor de mesófilo en Cs respecto a Azul y Tandil en T1 manteniéndose dicha tendencia en T4 para las respectivas poblaciones. La disminución del espesor del mesófilo foliar es menos severa en Tandil, biotipo que presenta menor sensibilidad.

## INTRODUCCION:

La familia Brassicaceae (Crucíferas) constituye un importante grupo vegetal monofilético, que incluye 338 géneros y 3.709 especies, distribuidas en todos los continentes y en diversos climas alrededor del mundo (Al-Shehbaz et al., 2006; Koch y Kiefer, 2006; Schmidt et al., 2011).

La importancia económica y social de las crucíferas es destacada, por incluir especies que han sido cultivadas por siglos para la alimentación humana, como fuente de aceites industriales y comestibles, condimentos y productos hortícolas. El cultivo oleaginoso más importante de esta familia es la “colza canola” (*Brassica napus* L.) ya que posee más de 40% de aceite y entre 36 a 44% de proteína en su residuo de extracción (Iriarte y Valetti, 2008a). Como condimentos son utilizadas varias especies de mostazas, en especial *B. nigra* L., *B. juncea* L. y *Sinapis alba* L., siendo numerosas las especies con importancia hortícola, principalmente los derivados de *B. oleracea* L. (repollos, coles, repollitos de Bruselas, coliflor, entre otros). Varios miembros de esta familia presentan un valor potencial elevado como recurso para cultivos con destino alimenticio, industrial, forraje o para la producción de biodiesel (por ejemplo *B. carinata* Braun, *Camelina sativa* L. y *Eruca vesicaria* L. (Al-Shehbaz et al., 2006; Schmidt et al., 2011). Por su parte, la especie espontánea *Arabidopsis thaliana* L., ha sido estudiada y adoptada como “organismo modelo” en estudios de genética vegetal y biología experimental (Warwick y Al-Shehbaz, 2006; Warwick et al., 2010).

Esta familia es también conocida por presentar especies con un elevado poder invasor, ocasionando interferencia con los cultivos más importantes. Se conocen más de 130 especies crucíferas que son malezas, varias de ellas cosmopolitas y se presentan en los sistemas productivos de todo el mundo como por ejemplo *B. rapa* L., *Sinapis arvensis* L., *Diploaxis tenuifolia* L. y numerosas especies del género *Lepidium*. Algunas de estas malezas forman complejos maleza-cultivo como *Raphanus sativus* L., *R. raphanistrum* L., *B. napus* y *B. rapa*, quienes son capaces de intercambiar genes (incluyendo transgenes) con las especies cultivadas

bajo condiciones naturales (Warwick y Al-Shehbaz, 2006; Warwick et al., 2010). La especie *Capsella bursa-pastoris* L. suele ser invasora en cultivos en Neuquén (Cerazo y Contincello, 2008), siendo común su presencia en la provincia de Buenos Aires.

### **Importancia y antecedentes del cultivo de colza en Argentina:**

La colza por su ciclo invierno-primaveral accede al mercado en contra estación lo que permite abastecer a la industria aceitera en un momento en que está inactiva dado que no se superpone con las otras oleaginosas. Al tratarse de un cultivo de áreas templado-frías brinda al productor una opción importante como componente de su rotación agrícola que hoy está restringida en estas zonas a cereales de invierno exclusivamente. El cultivo de colza realizado en siembras tempranas e intermedias permite ser cosechado entre los meses de noviembre y mediados de diciembre lo que posibilita la realización de cultivos de segunda. Las áreas de difusión de este cultivo en Argentina coinciden con las regiones trigueras, llegando a obtener rendimientos cercanos al 50-60% de los rendimientos potenciales del trigo, de acuerdo a la zona (Forján y Manso, 2008).

El cultivo de colza en Argentina se conoce desde la década del 40, comercializándose con el nombre de nabo y por su difusión la cotización oficial figuraba en la Bolsa de Cereales. En los años 40 la industria aceitera utilizaba más de 40.000 t de colza en la elaboración de aceite, decreciendo la producción hacia los años 60. Con posterioridad se dio una época de vaivenes y altibajos en su difusión y con el avance genético generado en Canadá se manifestó un gran interés en los mercados internacionales (Iriarte y Valetti, 2008).

En 1978 la Junta Nacional de Granos importa la variedad francesa Cresor y por decisión del INTA, la Chacra Experimental Barrow (CEB) se convirtió en Unidad Coordinadora del Subprograma Colza y dirigió una red nacional de ensayos comparativos en el que participaban más de 20 localidades en todo el país. Durante esta etapa se realizaron numerosos ensayos de evaluación de cultivares, épocas de siembra, fertilización, densidad y distancia entre surcos, profundidad de siembra y monitoreo de lotes comerciales en toda el área de influencia de la

CEB (Iriarte y Valetti, 2008a, 2008b). Debido a recurrentes problemas de comercialización, el cultivo no obtuvo el desarrollo que había alcanzado en otros países y el programa fue suspendido en 1982. En 1987 el Ministerio de Asuntos Agrarios de Buenos Aires difundió el cultivo, y a partir de ese momento la CEB se convierte como referente en el ámbito nacional en el cultivo de colza. En la actualidad semilleros privados junto con la industria aceitera llevan adelante propuestas de comercialización para extracción y molienda de esta oleaginosa, disminuyendo significativamente los problemas de comercialización ocurridos en etapas anteriores. La CEB continúa la labor en esta línea de trabajo realizando ensayos de evaluación de materiales comerciales como así también introducciones y variedades pre-comerciales de origen canadiense, sueco y francés. Se trabaja además en fertilización del cultivo en siembra convencional y directa, y se evalúa la inserción del cultivo en los distintos sistemas de producción de la región (Iriarte y Valetti, 2008).

#### **Problemática del control de malezas:**

La presencia de malezas en el cultivo de colza produce pérdidas de rendimiento debido a la competencia por humedad, luz y nutrientes (Iriarte y Valetti, 2008) como así también hay penalizaciones en el valor del grano cuando se comercializa por exceder el nivel permitido de cuerpos extraños. El cultivo tiene un crecimiento inicial lento y en el estado fenológico de roseta (6 a 8 hojas) comienza a competir con las malezas. Es importante ubicar la siembra en lotes limpios de malezas crucíferas como nabo (*B. napus*), nabón (*R. sativus*) y mostacilla (*Rapistrum rugosum*), entre otras, (Iriarte y Valetti, 2008). El control de malezas gramíneas resulta eficaz mediante el uso de graminicidas (inhibidores de ACCsintasa), pero para controlar malezas dicotiledóneas la aplicación de herbicidas hormonales debe realizarse exclusivamente durante el período de roseta (Iriarte y Valetti, 2008) dado que en etapas posteriores producen fitotoxicidad.

El cultivo de colza cuenta con cultivares transgénicos resistentes a glifosato (RR) que se cultivan ampliamente en Canadá, USA, Australia, Japón y Chile (Devos et al., 2009, Warwick et al., 2008). En Argentina, el cultivo de estas variedades fue prohibido debido a la existencia de

parientes silvestres naturalizados, con los cuales puede haber flujo genético (Légère, 2005; Devos et al., 2009).

La forma silvestre de *B. rapa*, de la cual se originaron las variedades de nabo alimenticio y colza tipo polaco, es una maleza altamente invasora en una gran cantidad de cultivos en todo el mundo (Gulden et al., 2008). En Argentina es una maleza común en cultivos de cereales, oleaginosas y hortícolas de la región pampeana, conocida como nabo silvestre (Marzocca, 1994). En este sentido, tanto *Lolium spp.* (ryegrass) como *B. rapa* (nabo) son malezas frecuentes en barbechos y cultivos de invierno del centro sur de la provincia de Buenos Aires (Istilart y Yannicari, 2011). Las primeras emergencias de ambas malezas ocurren tras las lluvias de fines de verano hacia principios de otoño. A partir de entonces, los pulsos de emergencia son registrados en un extenso período incluso cuando los cultivos de trigo y cebada se encuentran en implantación. Sin embargo, estas malezas no sólo son problemáticas en cereales de invierno, también son de difícil manejo en el período de barbecho previo a la siembra de cultivos estivales, principalmente asociado a la resistencia a herbicidas (Istilart y Yannicari, 2012; Pandolfo, 2016).

*Brassica napus* no se conoce en estado silvestre, pero bajo condiciones especiales suelen producirse escapes de plantas de los cultivos de colza, que forman poblaciones ferales persistentes (Devos et al., 2012). Estas poblaciones pasan a un estado salvaje luego de haber sido domesticadas, convirtiéndose en una problemática importante para los productores por la competencia que genera con el cultivo (Warwick et al., 2008; Devos et al., 2009).

En regiones donde está autorizado el cultivo de colza transgénica, como en Canadá y Estados Unidos, suelen ocurrir poblaciones ferales de *B. napus* genéticamente modificadas (Yoshimura et al., 2006; Schafer et al., 2011). Esto fue también observado en regiones donde el cultivo de estas variedades no estaba autorizado, pero en las cuales existe intenso tráfico de granos de colza importados, como Japón, Bélgica y Suiza (Saji et al., 2005). En las mismas zonas donde se han encontrado poblaciones ferales de *B. napus* transgénica, se ha comprobado la presencia

de híbridos con la especie silvestre *B. rapa*, y transferencia del transgen de resistencia a glifosato (Yoshimura et al., 2006; Simard et al., 2006; Warwick et al., 2010).

#### **Aparición de biotipos de nabos resistentes:**

En el año 2012 fueron halladas poblaciones ferales de *B. napus* con resistencia a glifosato en lotes sin registros de cultivo de colza-canola, en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. Pandolfo et al., (2013) cuantificó en uno de esos biotipos una supervivencia a glifosato de hasta 30 veces la dosis comercial (DL50=27,4 kg equivalente ácido. ha-1). Durante 2014 fueron halladas poblaciones de *B. rapa* (nabo) en la misma región, que no eran controladas con la aplicación de glifosato a dosis comercial (Pandolfo et al., 2015). Estos autores colectaron dichas plantas, las caracterizaron morfológicamente, determinaron el perfil ácido de sus semillas y según los caracteres evaluados se correspondieron con lo descripto para *B. rapa*. Los ensayos de dosis-respuesta demostraron que el biotipo fue altamente resistente a glifosato y que presentó resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de AHAS, pertenecientes a tres familias químicas distintas. El origen transgénico de la resistencia a glifosato de este biotipo de *B. rapa* y de biotipos de *B. napus* fue comprobado mediante un test inmunológico, que confirmó la expresión de la proteína C4 EPSPS (Pandolfo et al., 2015). Este descubrimiento sugiere que la resistencia a glifosato podría provenir de cultivos de colza transgénica realizados de manera informal en el país o de individuos ingresados como contaminantes de semilla, e implicaría la ocurrencia de flujo génico entre poblaciones ferales de *B. napus* y *B. rapa*.

La presencia de estas poblaciones con resistencia a glifosato en Argentina reafirma la conveniencia de rotar herbicidas con diferente sitio de acción. La capacidad de invasión de estos biotipos en sistemas agrícolas se ve aumentada por la presencia de resistencia a herbicidas, que le confiere una clara ventaja cuando se intensifica el uso de glifosato en dichos ambientes. Yannicari y Istilart (2017) señalaron que ante la elevada frecuencia de poblaciones de *Lolium spp.* y *B. rapa* resistentes a glifosato y a herbicidas inhibidores de la ALS/AHAS las herramientas químicas disponibles resultan ser ineficaces. Por ello, en agro-ecosistemas donde

coexisten estas dos malezas, es fundamental conocer las correctas combinaciones de herbicidas para que los controles sean eficaces.

Durante 2016, en el partido de Azul, fue detectado un biotipo de nabo con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de AHAS (Ciolli et al., 2016a,b) y con posterioridad se observaron en la misma zona controles erráticos en tratamientos realizados con 2,4-D, generando sospechas de la presencia de un biotipo resistente a este herbicida hormonal. Juan et al. (2017) confirmaron el primer registro de un biotipo de *B. rapa* resistente a 2,4-D en el partido de Azul con índice de resistencia (IR) de 5. Estos autores confirmaron la presencia de biotipos de esta especie con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de ALS, alertando que los mismos podrían cruzarse con el biotipo resistente a 2,4-D denunciado (Aapresid, 2019). Juan et al. (2019) confirman la presencia de un biotipo de *B. rapa* con resistencia múltiple a glifosato, metsulfuron (AHAS) y 2,4-D constituyendo el primer registro en Argentina de resistencia a tres mecanismos de acción diferente.

Marchesini et al. (2019) estudiaron la respuesta de dos biotipos de *B. rapa* provenientes de las localidades de Azul y Tandil que escaparon a controles de glifosato y sulfonil-ureas (RSU) las primeras, y a glifosato, 2,4-D y RSU las segundas, mediante un ensayo de dosis respuesta. A 40 DDA el % de supervivencia (%S) a glifosato fue mayor en la población de Tandil, si bien Azul también presentó escape a este herbicida, mientras que la respuesta al metsulfuron fue elevado en ambas poblaciones, manifestando mayor registro Azul respecto a Tandil. Las respuestas observadas evidencian los escapes de ambas poblaciones a herbicidas de diferentes mecanismos de acción.

En función de los antecedentes presentados, y dada la problemática que genera la presencia de biotipos de *B. rapa* que escapan al control químico en lotes comerciales, en este trabajo se evaluó la respuesta de dos poblaciones de *B. rapa* provenientes de diferentes zonas productivas, a la aplicación de dosis crecientes de 2,4 D.



## **OBJETIVO**

### **Objetivo general**

Evaluar la respuesta a la aplicación de dosis crecientes del herbicida hormonal 2,4 D en dos poblaciones ferales de *Brassica rapa*.

### **Objetivo específico**

- Registrar variables de crecimiento en las plántulas de *B. rapa* luego de efectuada la aplicación de 2,4 D.
- Realizar registro fotográfico periódico de las respuestas obtenidas en los diferentes materiales bajo estudio.
- Registrar supervivencia de las poblaciones a las diferentes dosis del herbicida hormonal.
- Observar mediante cortes histológicos los daños generados en el ápice caulinar y hojas apicales de las plantas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Las silicuas maduras de *Brassica rapa* fueron colectadas de las localidades de Azul y Tandil de plantas que escaparon a los controles convencionales con los herbicidas glifosato, metsulfuron, y hormonales auxínicos (2,4-D). El material se dejó secar en condiciones de laboratorio y fueron posteriormente trilladas para la obtención de las semillas.

El ensayo se realizó en las instalaciones del INFIVE - CONICET (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP), situado en las coordenadas 34°58' S; 57°54' W, provincia de Buenos Aires. Se trabajó con los materiales que se mencionan a continuación:

1. *Brassica napus* “colza - canola” como referencia de material susceptible (CS), utilizada como testigo.

2. *Brassica rapa* “nabo”, proveniente de Azul.

### 3. *Brassica rapa* “nabo”, proveniente de Tandil.

Las semillas fueron sembradas en macetas plásticas de 250 cm<sup>3</sup> de capacidad, rellenas con tierra negra tamizada que se colocaron en invernadero en condiciones semi-controladas de humedad, temperatura e irradiancia. Las mismas fueron regadas de manera periódica a demanda, para mantener el suelo a capacidad de campo. Cuando alcanzaron el estado fenológico de roseta con 4-6 hojas, a los 36 días desde la siembra (DDS), se efectuó la aplicación de 2,4-D éster metílico (emulsión concentrada 97%) en diferentes dosis resultando los siguientes tratamientos (T):

T1: Control (agua);

T2: 0,125 L /ha

T3: 0,250 L /ha

T4: Dosis Recomendada (DR): 0,5 L /ha

T5: 1 L /ha

T6: 2 L /ha

Las aplicaciones fueron realizadas con una mochila manual de presión constante Giber EM-16, con un caudal de 500 cm<sup>3</sup> /min. La pastilla que se utilizó fue del tipo abanico plano, cumpliéndose con las normas correspondientes de seguridad para manipulación de fitosanitarios.

El herbicida hormonal aplicado es 2,4-D éster metílico (emulsión concentrada 97%). El mismo presenta acción sistémica y es selectivo para latifoliadas en barbecho químico. El principio activo es absorbido por el follaje y trasladado hacia las regiones meristemáticas, en donde ejerce su acción fitotóxica. En plantas sensibles produce la muerte por marchitez y necrosis de los tejidos entre 3 a 5 semanas posteriores a la aplicación. Algunos síntomas producidos por el producto activo son epinastia, retorcimiento y engrosamiento de tallos, hojas enrolladas y anomalías en nervaduras, clorosis con inhibición de crecimiento y necrosis de tejidos

(Herbicide Handbook, 2014). Estos efectos son producidos por el incremento en las concentraciones endógenas de las auxinas acompañadas un aumento en la biosíntesis de las hormonas etileno y ácido abscísico (ABA) que producen cierre estomático y alteración de las membranas celulares con la activación de enzimas (ROS) que inducen el estrés oxidativo (Grossmann, 2000; Grossmann et al., 2001).

Una vez efectuada la aplicación del herbicida las plantas fueron trasladadas a la terraza del INFIVE, a la intemperie, aisladas para evitar que el herbicida afecte o cause daños en plantas aledañas.

A 7, 14 y 21 DDA, se realizaron evaluaciones de los síntomas de fitotoxicidad utilizando la escala sugerida por la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM, 1974). La misma considera seis rangos porcentuales que se identifican con las denominaciones que se mencionan a continuación: pobre 0 a 40 % de control, regular 41 a 60 %, suficiente 61 a 70 %, bueno 71 a 80 %, muy bueno 81 a 90 % y excelente 91 a 100 %.

A 21 DDA se determinó la Supervivencia, expresada en Porcentaje (S%). Cada T tuvo 20 repeticiones, considerando cada maceta una repetición.

Al finalizar el ensayo se recolectó material de plántulas y fijó en solución de formalina-ácido acético-alcohol etílico (D'Ambrogio, 1986). El aspecto morfológico fue registrado mediante el uso de una Lupa Arcano ZTX-T 1: 4x. 3948 Zoom y una cámara fotográfica digital Modelo SM-A520F. Para el estudio de la anatomía foliar se hicieron cortes transversales a mano alzada, en la parte media de la lámina. Los cortes seleccionados fueron decolorados con hipoclorito de sodio (50%), lavados y coloreados con Azul Alcian y Safranina (Luque et al., 1996). Los datos del análisis y las microfotografías se obtuvieron con un microscopio óptico Nikon E200 LED equipado con cámara de video y software Micrometrics SE Premium. La medición del espesor del mesófilo se realizó con el programa Image J.

Los datos de supervivencia y espesor del mesófilo fueron analizados mediante ANOVA y las comparaciones entre medias mediante la prueba de diferencias mínimas significativas de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) mediante el uso del software Statistica 7.0.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

La aplicación de 2,4-D arrojó diferentes respuestas de fitotoxicidad en las poblaciones evaluadas (Tabla 1, 2 y 3). Los resultados indican mayor sensibilidad en *B. napus* con síntomas que se manifestaron a 7 DDA en T4 (DR), T5 y T6 con epinastia incipiente en hojas superiores y albinismo (Figura 2 y 5). A 14 DDA los síntomas se fueron acentuando con epinastia generalizada en la zona apical y necrosis de tejido en láminas foliares, con daños severos en T4, T5 y T6 (Figura 7 y 8). Se registró muy buen control a 21 DDA en T4, T5 y T6, mientras que las plantas T3 que lograron sobrevivir presentaron severos daños en láminas foliares con epinastia marcada (Tabla 1, Figura 2).

Los síntomas de fitotoxicidad para la población de Azul mostró sensibilidad acentuada respecto a la proveniente de Tandil, ya que ésta última presentó daños leves que se corresponde a una disminución de crecimiento general con las mayores dosis evaluadas a 21 DDA (Tabla 2 y 3). Azul registró síntomas de fitotoxicidad leves a 7 DDA con las mayores dosis de 2,4-D que se correspondieron con presencia de albinismo en algunas plantas y epinastia incipiente en hojas apicales (Figura 5 y 6). Se acentuaron dichos síntomas 14 DDA en los tratamientos mencionados, y a los 21 DDA se observó que la DR ocasionó daños severos con epinastia y necrosis foliar, no sobreviviendo el 50% de las plantas (Tabla 4). T5 y T6 mostraron alta sensibilidad al doble y cuádruple de la dosis aplicada, respectivamente, con elevados porcentajes de control (Tabla 2 y 4; Figura 3, 7 y 8).

Tandil presentó síntomas de fitotoxicidad leves frente a la DR con un 20% de control (Tabla 3). El mayor registro fue observado 21 DDA en T6 que se corresponde al cuádruple de la DR, con 65% de efectividad en el control (Tabla 4). Los síntomas observados en estas plantas fueron reducción del crecimiento aéreo, epinastia severa en hojas superiores y actividad en la yema

apical (Figura 6 y 8). Se observó escaso control en T4 y T5 con plantas que acentuaron la coloración morada pero sin síntomas severos de fitotoxicidad que se corresponden con la elevada tasa de sobrevivencia (Tabla 3, 4; Figura 5, 6, 7 y 8). Estos resultados coinciden con lo informado por Juan et al. (2019) quienes evaluaron un biotipo de *B. rapa* y observaron que se alcanzó niveles de fitotoxicidad moderados con dosis que duplican y cuadruplican la recomendada de 2,4-D. Dichos autores mencionan que la resistencia de estos biotipos podrían atribuirse a mecanismos ubicados fuera del sitio de acción (Busi et al., 2018; Juan et al., 2019), involucrando aumentos del metabolismo (Torra et al., 2017) o reducción del transporte del herbicida al sitio de acción (Dang et al., 2018). La reducción del crecimiento observada en las plantas tratadas con las dosis más elevadas, T5 y T6, coincide con lo informado por Juan et al. (2019) quienes registraron 50% de disminución de peso seco en plantas tratadas con dosis 4X. Fue informado en la provincia de Buenos Aires la presencia de biotipos de *B. rapa* resistente a glifosato (Pandolfo et al., 2015), glifosato y metsulfuron (Ciolli et al., 2016a; Juan et al., 2017; Marchesini et al., 2019) y glifosato, metsulfuron y 2,4-D (Juan et al., 2019).

Cobb (1992) informó que la actividad biológica de los herbicidas auxínicos depende de la sensibilidad de la maleza a controlar, el estado fisiológico y las señales de transducción mediadas de manera diferencial. Grossmann (2003) señaló que los efectos son deformaciones de tejidos causados por concentraciones endógenas supraóptimas de auxinas que conducen a un desequilibrio en la homeostasis y en las interacciones con otras hormonas. Estudios sobre *Galium aparine* L. señalan que la desregulación del crecimiento vegetal en respuesta a la aplicación de herbicidas auxínicos se puede dividir en tres fases, siendo la primera una activación de procesos metabólicos que estimulan la biosíntesis de etileno dando inicio a la deformación de los ápices con alargamiento celular, acumulando ácido abscísico (ABA) en dichos tejidos. La fase siguiente incluye la inhibición del crecimiento de raíces, brotes apicales, entrenudos y área foliar con una intensificación en la pigmentación foliar. Estas respuestas van acompañadas del cierre estomático y generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) que generan estrés oxidativo. La tercera fase es de senescencia y necrosis de tejidos ocasionada por

el daño del cloroplasto y las membranas celulares que llevan a la muerte de la planta generando el efecto fitotóxico del herbicida (Grossmann, 2003). A nivel molecular, los receptores que regulan la expresión génica y la activación rápida de los canales iónicos de las membranas celulares en respuesta al alargamiento celular, es el proceso primario de la acción herbicida a las elevadas concentraciones endógenas (Kelley y Riechers, 2007). Grossmann (2000) señala que la respuesta fitotóxica en los materiales sensibles es la sobreproducción de ABA en los tejidos apicales, aumentando hasta 70 veces respecto a los controles (Scheltrup y Grossmann, 1995). Esto fue observado en numerosas especies de diversas familias para herbicidas auxínicos de diferentes clases químicas (Hansen y Grossmann, 2000) mientras que las especies con tolerancia natural no mostraron aumentos en los niveles de etileno ni ABA, lo que sugiere una actividad selectiva, presumiblemente en el sitio del receptor (Grossmann, 2003). Los herbicidas auxínicos actúan estimulando la expresión génica de la biosíntesis de etileno y ABA, quienes se comportan como segundos mensajeros promoviendo los efectos fitotóxicos de división y expansión celular, cierre estomático, generación de ROS y posterior necrosis y muerte de la planta (Romero-Puertas et al., 2004; Grossmann et al., 2001).

No fueron observadas las respuestas típicas de fitotoxicidad a la dosis recomendada en la población de Tandil y estos fueron moderados en T5 y T6 señalando la capacidad de este biotipo a escapar al herbicida. La anatomía foliar indica que se mantiene el número de capas de parénquima clorofiliano en empalizada pudiendo ser su mecanismo de resistencia al herbicida. Como se observa en la Tabla 5 y la Figura 1 los mesófilos foliares redujeron su espesor al ser tratados con la DR de 2,4-D siendo la proveniente de Tandil la que presentó menor sensibilidad.

**Tabla 1.** Síntomas de fitotoxicidad en *B. napus* “colza” a 7, 14 y 21 DDA de las diferentes dosis de 2,4-D. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas en los valores y las comparaciones son válidas dentro de cada columna.

<b>Colza susceptible</b>			
<b>DDA</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>

<b>T1</b>	5 a	5 a	5 a
<b>T2</b>	10 a	10 a	20 b
<b>T3</b>	10 a	25 b	60 c
<b>T4: DR</b>	25 b	60 c	85 d
<b>T5</b>	40 bc	70 cd	90 d
<b>T6</b>	60 c	95 e	100 d

**Tabla 2.** Síntomas de fitotoxicidad en *B. rapa* “nabos” procedentes de la localidad de Azul a 7, 14 y 21 DDA de las diferentes dosis de 2,4-D. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas en los valores y las comparaciones son válidas dentro de cada columna.

<b>Azul</b>			
<b>DDA</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>
<b>T1</b>	5 a	5 a	5 a
<b>T2</b>	5 a	5 a	10 a
<b>T3</b>	5 a	10 a	25 b
<b>T4: DR</b>	10 a	30 b	60 c
<b>T5</b>	20 ab	60 c	85 d
<b>T6</b>	30 ab	80 d	95 d

**Tabla 3.** Síntomas de fitotoxicidad en *B. rapa* “nabos” procedentes de la localidad de Tandil a 7, 14 y 21 DDA de las diferentes dosis de 2,4-D. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas y las comparaciones son válidas dentro de cada columna.

<b>Tandil</b>			
<b>DDA</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>
<b>T1</b>	5 a	5 a	5 a

<b>T2</b>	10 a	5 a	5 a
<b>T3</b>	10 a	5 a	10 a
<b>T4: DR</b>	20 ab	10 a	20 b
<b>T5</b>	40 bc	15 a	25 b
<b>T6</b>	60 c	40 bc	66 c

**Tabla 4.** Supervivencia expresada en Porcentaje (%S) en *B. napus* “colza” y *B. rapa* “nabos” procedentes de las localidades de Azul y Tandil a 21 DDA de las diferentes dosis de 2,4-D. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas y las comparaciones son válidas dentro de cada columna.

<b>Supervivencia (%S)</b>			
	<b>Colza</b>	<b>Azul</b>	<b>Tandil</b>
<b>T1</b>	100 a	100 a	100 a
<b>T2</b>	100 a	100 a	100 a
<b>T3</b>	100 a	100 a	100 a
<b>T4: DR</b>	25 b	50 b	100 a
<b>T5</b>	0 c	16 c	75 ab
<b>T6</b>	0 c	8 cd	33 c

#### **Morfología y anatomía de la lámina foliar**

Dicho estudio fue realizado con plantas control (T1) y tratadas con DR (T4), dado que las dosis superiores T5 y T6 no registraron %S en CS.

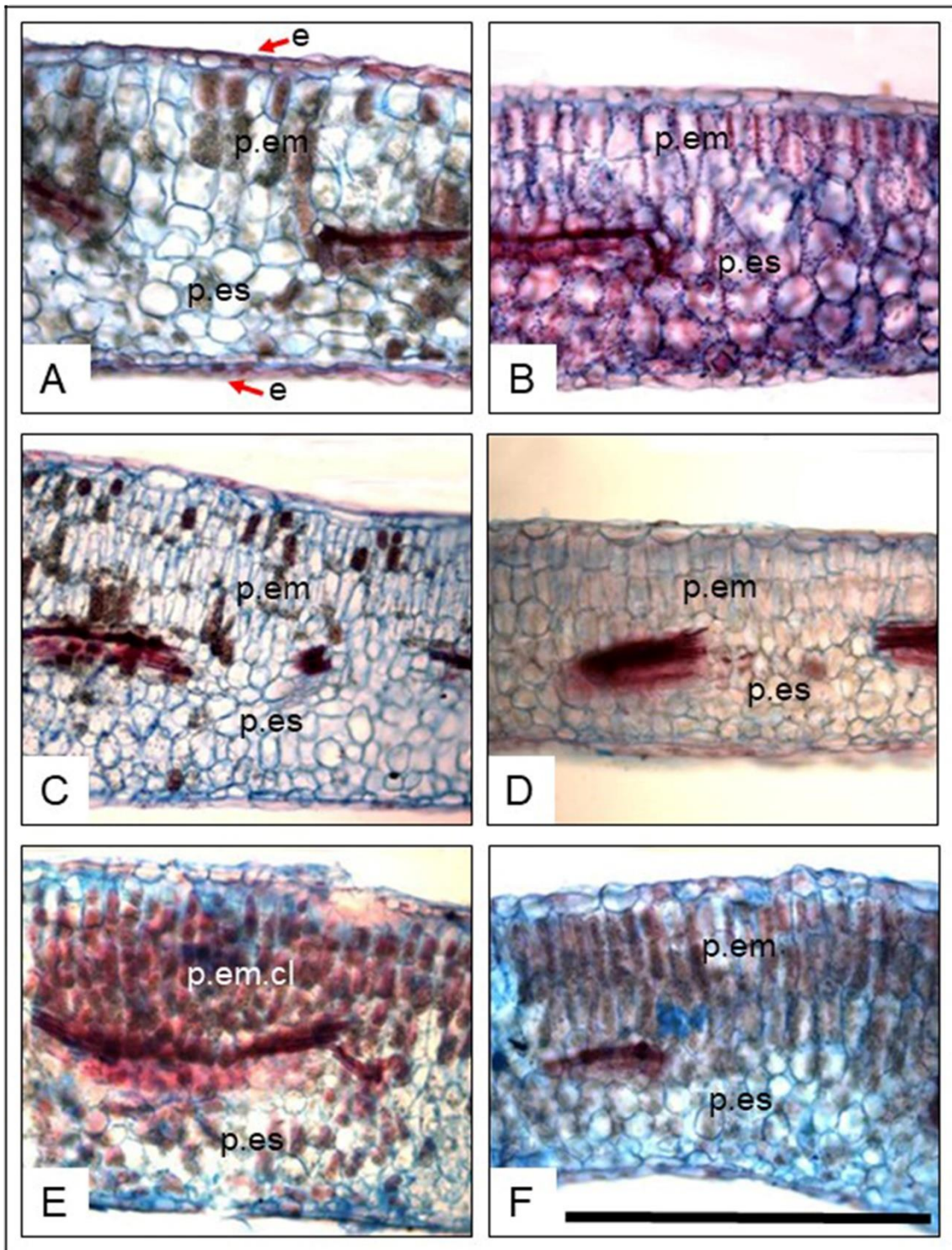


La estructura de las láminas foliares de las especies de *Brassica* estudiadas son bifaciales presentando distribución anfistomática. El espesor del mesófilo dorsiventral mostró diferencias estadísticamente significativas en los controles de CS respecto a los nabos procedentes de Azul y Tandil. Las láminas foliares disminuyeron su espesor cuando fueron tratadas con la DR en los tres materiales con diferencias estadísticamente significativas. La mayor disminución fue registrada en el material proveniente de Azul con una reducción de 39,6% del espesor respecto a su tratamiento control. La CS disminuyó su espesor un 12,1% y la población de Tandil un 23,3% con respecto a sus controles. Las láminas de Tandil presentaron mesófilos más engrosados respecto al resto de los materiales evaluados y cuando fueron tratadas con la DR presentaron células más alargadas respecto a su control (Tabla 5, Figura 1). La reducción del espesor del mesófilo se debe al menor número de capas de parénquima, principalmente a nivel del clorofiliano en empalizada, más acentuado en Azul, con células cortas con paredes radiales sinuosas.

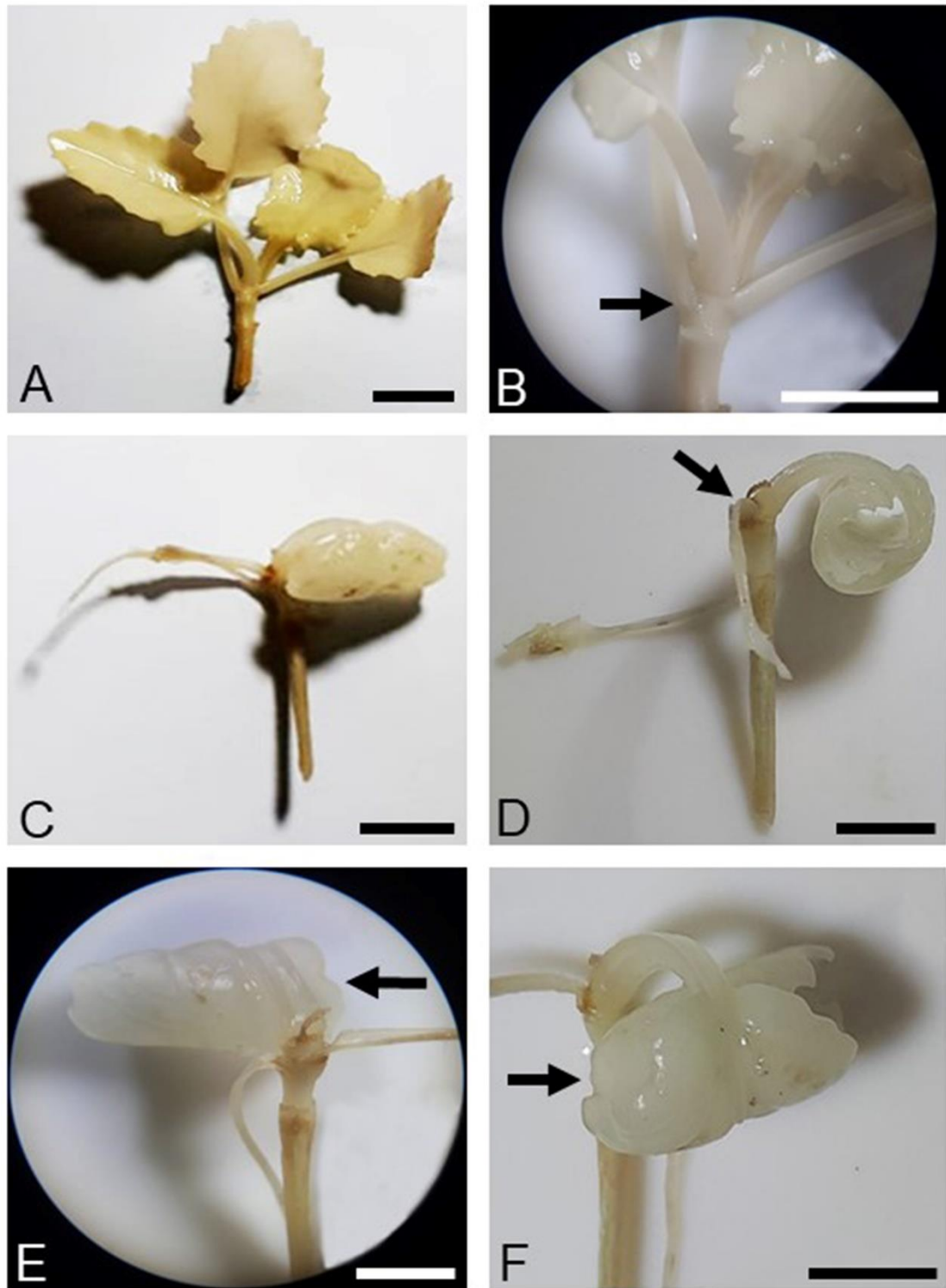
**Tabla 5.** Anatomía comparada de las láminas foliares de Colza susceptible y Nabos procedentes de Azul y Tandil. Ref.: T1= Control. T4= DR. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas y las comparaciones son válidas dentro de cada columna

<b>Espesor del Mesófilo</b> <b>Tratamiento</b>	<b>T1 (Control)</b>	<b>T4: Dosis Recomendada</b>
Colza Susceptible	339,2 a	298,20 b
Nabo Azul	417,63 b	252,11 a
Nabo Tandil	425,53 b	326,35 c



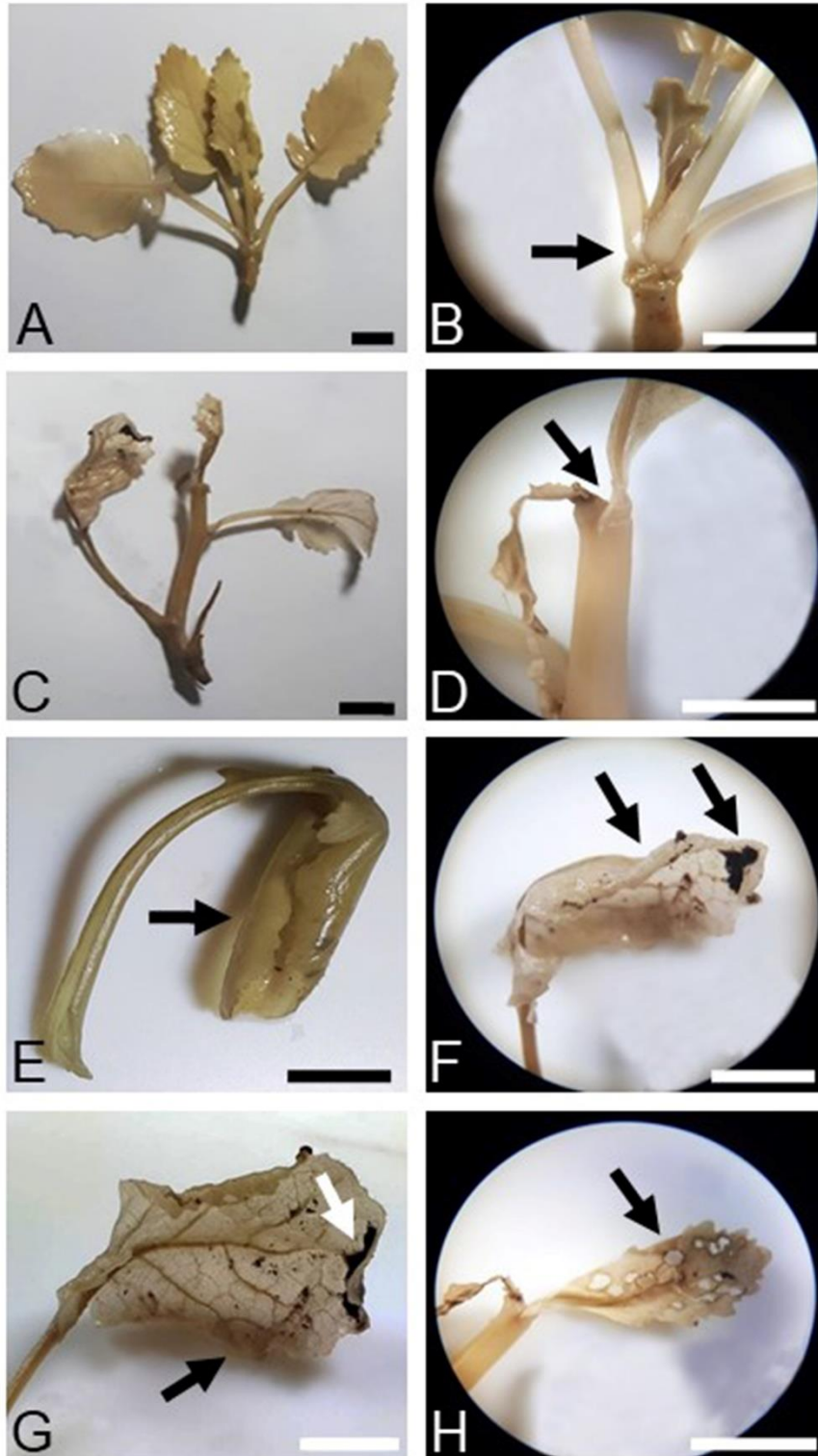


**Fig. 1. Mesófilos foliares comparados:** sobre la izquierda T1 (controles) y sobre la derecha T4 (DR). A, B: *Brassica napus* “colza” utilizado como material susceptible de referencia. C, D: *Brassica rapa* “nabo” proveniente de la localidad de Azul. E, F: *Brassica rapa* “nabo” proveniente de la localidad de Tandil. Referencias: e: estomas; p.em: parénquima empalizada; p.es: parénquima esponjoso. Escala: 500  $\mu$ m.

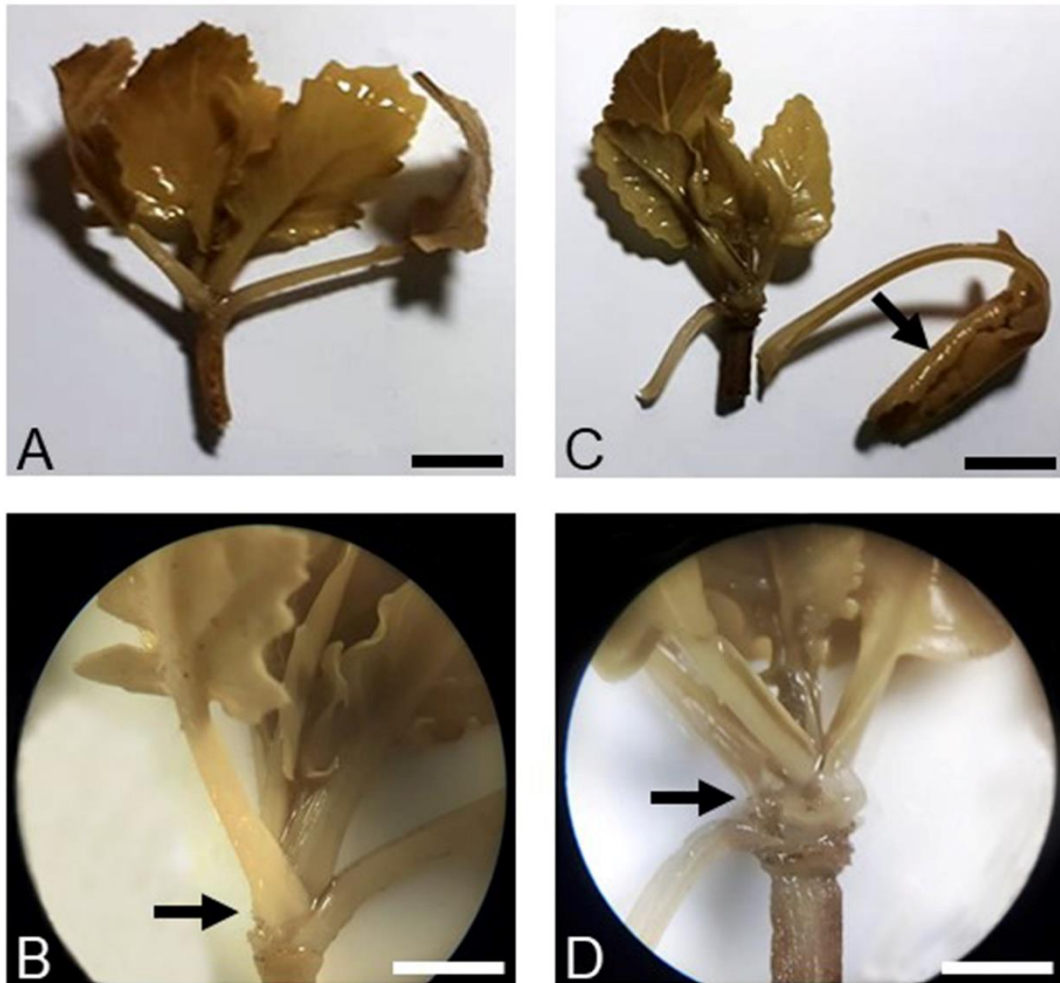


**Fig. 2.** *Brassica napus* "colza". Plantas Control: A, Aspecto general de la parte aérea; B, Zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de 2, 4-D éster metílico: C, Aspecto general de la parte aérea; D, Vista lateral de una hoja con epinastia severa; E, Vista posterior de una hoja con epinastia severa; F, Vista anterior de una hoja con epinastia severa. Escalas: A, B, C, D y F = 1 cm; E = 5 cm.

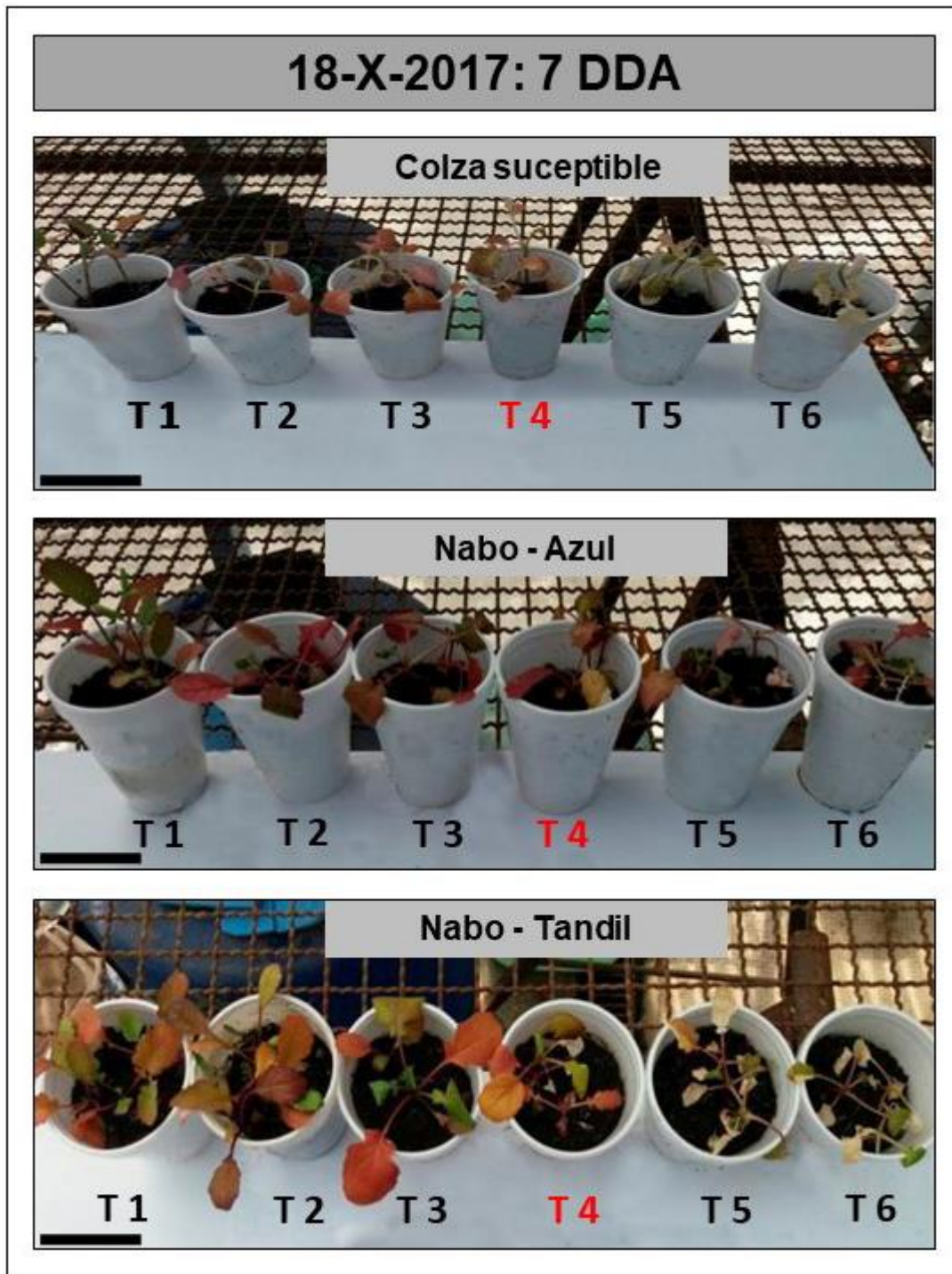




**Fig. 3.** *Brassica rapa* “nabo” proveniente de la localidad de Azul. Plantas Control: A, Aspecto general de la parte aérea; B, Zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de 2, 4-D éster metílico: C, Aspecto general de la parte aérea; D, Zona donde se encuentra la yema apical atrofiada; E, Hoja con epinastia lateral (enrulamiento hacia la cara abaxial); F y G, Hoja con epinastia y sectores de tejido necrosado (manchas oscuras) en vista superficial abaxial; H, Superficie foliar con epinastia y perforaciones causada por la pérdida de tejido foliar necrosado. Escalas: A, B, C, E, F, G y H = 1 cm; D = 5 mm.



**Fig. 4.** *Brassica rapa* “nabo” proveniente de la localidad de Tandil. Plantas Control: A, Aspecto general de la parte aérea; B, Zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de herbicida 2, 4-D éster metílico: C, Aspecto general de la parte aérea con hojas expandidas en roseta y una hoja desprendida con epinastia lateral (enrulamiento hacia la cara abaxial); D, Zona donde se encuentra la yema apical activa. Escalas: B y D = 1cm; A y C = 5 mm.



**Fig. 5.** *Brassica napus* “colza” y *Brassica rapa* “nabo” provenientes de la localidad de Azul y Tandil. Vista de las plantas a 7 DDA. De izquierda a derecha: Plantas Control (T1), T2-T3-**T4 (DR)**-T5 y T6. Aspecto general de la parte aérea; vista de los síntomas de fitotoxicidad causada por el herbicida. Escalas: = 5cm



18-X-2017: 7 DDA

**Colza susceptible**



**Nabo - Azul**

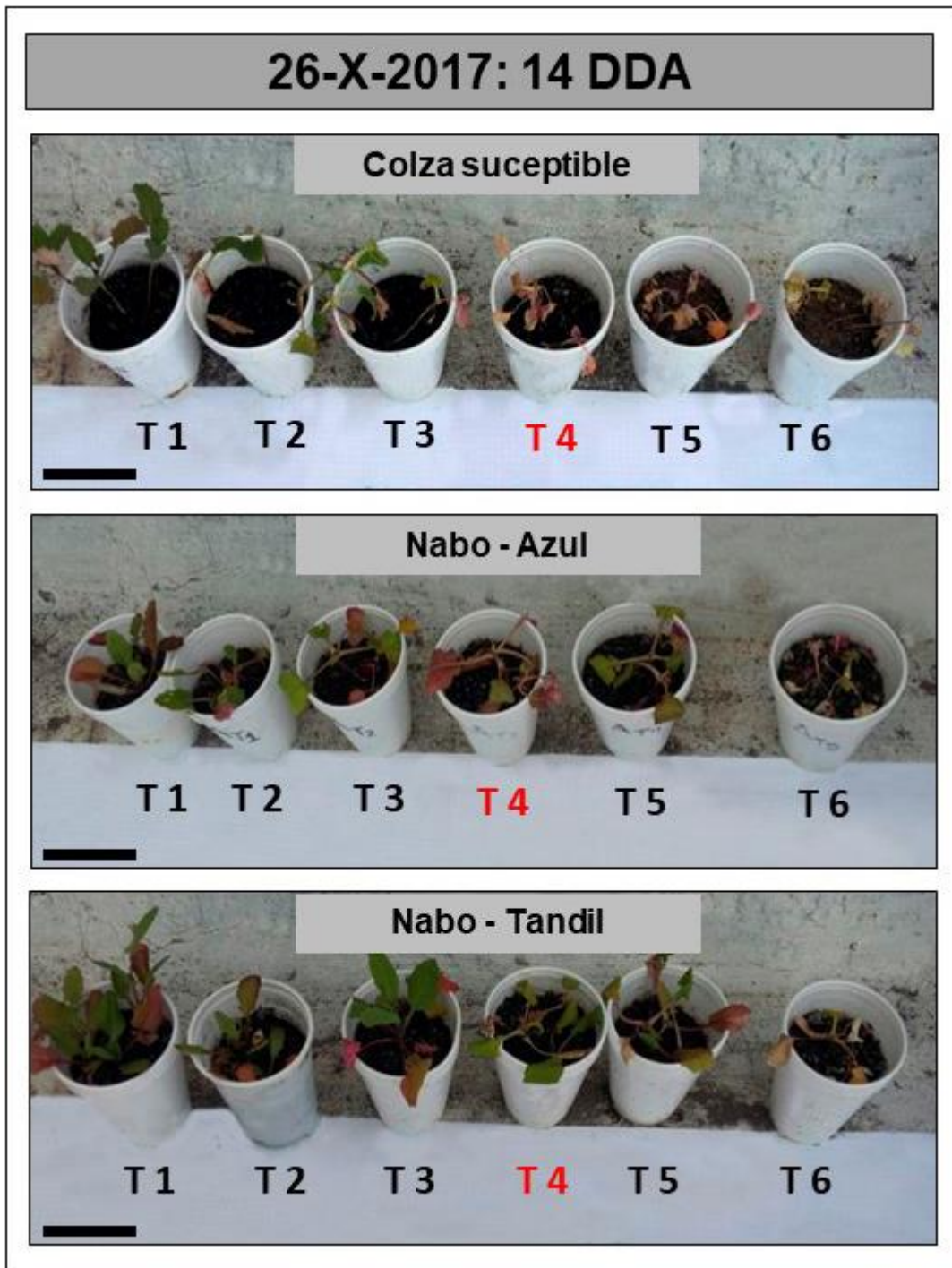


**Nabo - Tandil**



**Fig. 6.** *Brassica napus* “colza” y *Brassica rapa* “nabo” provenientes de la localidad de Azul y Tandil. Vista de las plantas a 7 DDA. De izquierda a derecha: Plantas Control (T1)- **T4 (DR)**- T5 y T6. Aspecto general de la parte aérea; vista de los síntomas de fitotoxicidad causada por el herbicida. Escalas: = 5cm





**Fig. 7.** *Brassica napus* “colza” y *Brassica rapa* “nabo” provenientes de la localidad de Azul y Tandil. Vista de las plantas a 14 DDA. De izquierda a derecha: Plantas Control (T1) - T2-T3-**T4 (DR)**-T5 y T6. Aspecto general de la parte aérea; vista de los síntomas de fitotoxicidad causada por el herbicida. Escalas: = 5cm

26-X-2017: 14 DDA

**Colza susceptible**



**Nabo - Azul**



**Nabo - Tandil**



**Fig. 8.** *Brassica napus* “colza” y *Brassica rapa* “nabo” provenientes de la localidad de Azul y Tandil. Vista de las plantas a 14 DDA. De izquierda a derecha: Plantas Control (T1) -**T4 (DR)**- T5 y T6. Aspecto general de la parte aérea; vista de los síntomas de fitotoxicidad causada por el herbicida. Escalas: = 5cm

## **Conclusiones**

Los resultados obtenidos confirman la menor sensibilidad en un biotipo de *Brassica rapa* proveniente de Tandil cuyas láminas foliares mantienen el número de capas de mesófilo clorofiliano pudiendo constituir un mecanismo de respuesta al 2,4-D.

## **Consideraciones finales:**

Para la realización de este Trabajo Final de carrera Modalidad Trabajo de Investigación se contó con disponibilidad de espacio e insumos en el INFIVE (Instituto de Fisiología Vegetal- CONICET- UNLP). El equipamiento necesario para la realización de las técnicas histológicas y su observación se encuentra disponible en la cátedra de Morfología Vegetal (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP).

El material vegetal fue provisto por los Ing. Agr. Dr. Marcos Yannicari (CONICET- CEI Barrow) y Ramón Gigón (Asesor Privado). Este Trabajo Final de carrera contó con el apoyo intelectual y técnico de la Dra. Ing. Agr. Ana Arambarri quien contribuyó con la lectura crítica del mismo.

En el marco de la actual Pandemia por COVID – 19 y consecuente aislamiento Social y Obligatorio impuesto por el gobierno, nuestros tesinistas trabajaron en la etapa final de su Tesina de Grado. En este contexto, fueron utilizadas plataformas virtuales brindadas por la UNLP. Fueron organizadas numerosas reuniones sincrónicas, por medio de las plataformas “Zoom” y Webex”, que permitieron crear un ámbito de intercambio de opiniones y conocimientos referidos a los aspectos fisiológicos y morfo-anatómicos más relevantes de la temática abordada, avanzando, de ésta manera, en la redacción y discusión de los resultados obtenidos. Como complemento informativo-formativo de interacción docente-alumno, continuaron siendo utilizadas las herramientas virtuales “correo electrónico” y “WhatsApp”. Esta metodología de trabajo implicó la familiarización con las herramientas virtuales de todos los participantes en este Trabajo Final de Carrera y su finalización.

## BIBLIOGRAFIA

AAPRESID (2019). Nabos resistentes en el sur de Buenos Aires. Disponible:  
<http://www.aapresid.org.ar/rem/nabos-resistentes-en-el-sur-de-buenos>

[aires/?utm\\_source=email\\_marketing&utm\\_admin=26524&utm\\_medium=email&utm\\_campaign=Un\\_Cardo\\_resistente\\_y\\_claves\\_para\\_manejo\\_de\\_Colorado\\_Nabos\\_y\\_Aplicaciones.](http://www.aapresid.org.ar/rem/nabos-resistentes-en-el-sur-de-buenos-aires/?utm_source=email_marketing&utm_admin=26524&utm_medium=email&utm_campaign=Un_Cardo_resistente_y_claves_para_manejo_de_Colorado_Nabos_y_Aplicaciones) Ultimo

acceso: 15 de mayo de 2020.

AL - SHEHBAZ A, BEILSTEIN M, KELLOG E (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Syst. Evol.* 259: 89–120.

Disponible:<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.452.7192&rep=rep1&type=pdf>. Ultimo acceso: septiembre de 2019.

ASOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS: ALAM (1974). Resumen del panel sobre métodos para la evaluación de ensayos en control de malezas en Latinoamerica. *Revista de la Asociación Latinoamericana de Malezas. II Congreso de ALAM, Cali, Colombia:* 6-12.

BUSI R, GOGGIN DE, HEAP IM, et al. (2018). Weed resistance to synthetic auxin herbicides. *Pest management Science* 74, 10, 2265-2276.

CERAZO MB y CONTICELLO L (2008). Comunidades de malezas en cultivos hortícolas en la Provincia de Neuquén (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43 (1-2): 121 – 135.

CIOLLI S, DAVID E, NUÑEZ FRE F, SAINT ANDRE HM, FERNÁNDEZ RR, JUAN V (2016b). Resistencia a glifosato en una población de nabo silvestre en el Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Anais do XXX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas*, 1, p743, Curitiba, 2016.

CIOLLI SA, NUÑEZ FRE F, SAINT ANDRE HM, FERNANDEZ RR, JUAN V (2016a). Resistencia de una población de nabo silvestre a herbicidas inhibidores de la Aceto Lactato

Sintetasa en el Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Anais do XXX Congresso Brasileiro de Plantas Daninhas, 1, p749, Curitiba, 2016.

COBB AH (1992). Auxin-type herbicides. In Herbicides and Plant Physiology. Chapman and Hall, London, UK, pp. 82–106.

D'AMBROGIO A (1986). Manual de técnicas en histoquímica vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 86 pp.

DANG HT, MALONE JM, BOUTSALIS P, KRISHNAN M, GILL G, PRESTON C (2018). Reduced translocation in 2,4-D resistant oriental mustard populations (*Sisymbrium orientale* L.) from Australia. Pest management Science 74, 6, 1524-1532.

DEVOS Y, REHEUL D, DE SCHRIJVER A, CORS F, MOENS W (2009). Management of 183 herbicide-tolerant oil seed rape in Europe: a case study on minimizing vertical gene flow. Environmental Biosafety Research 3: 135-148.

DEVOS Y, DE SCHRIJVER A, REHEUL D (2012). Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. Environmental Monitoring and Assessment 149: 303-322.

FORJAN H y MANSO R (2008). En: Cultivo de colza. Chacra Experimental Integrada Barrow Convenio MAAyP-INTA. 1ra ed. CABA. 156 p. Capítulo 5. Pp.41-48.

GROSSMANN K (2000). The mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. Trends Plant Sci 5:506–508.

GROSSMANN K, KWIATKOWSKI J, TRESCH S (2001). Auxin herbicides induce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> overproduction and tissue damage in cleavers (*Galium aparine* L.). J Exp Bot 52:1811–1816.

GROSSMANN K (2003). Mediation of herbicide effects by hormone interactions. J Plant Growth Regul 22:109–122.

GULDEN R, WARWICK S, THOMAS A (2008). The biology of Canadian weeds. 137. *Brassica napus* L. and *B. rapa* L. Canadian Journal of Plant Science 88: 951– 996.

HANSEN H y GROSSMANN K (2000). Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. Plant Physiol 124:1437–1448.

HERBICIDE HANDBOOK (2014). Weed Science Society of America. Tenth Edition. Ed: Dale Shanner.

IRIARTE L y VALETTI O (2008). Cultivo de colza. Chacra Experimental Integrada Barrow Convenio MAAyP-INTA. 1ra ed. CABA. 156 pp.

ISTILART C y YANNICCARI M (2011). Análisis de la evolución de las malezas en cereales de invierno durante 27 años en la zona sur de la pampa húmeda argentina. XX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Viña del Mar. Chile. Libro de Actas, pp. 487-495.

ISTILART C y YANNICCARI M (2012). Análisis de la evolución de malezas en cereales de invierno durante 27 años en la zona sur de la pampa húmeda argentina. Agrobarrow (Ediciones INTA) 51: 19-21.

JUAN V, NÚÑEZ FRÉ FR, SAINT-ANDRÉ HM, CIOLLI SA, FERNÁNDEZ RR (2017). Resistencia a 2,4-D en un tipo de nabo (*Brassica rapa*) detectado en el centro de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Memorias del XIV Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña y XXIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM) y III Congreso Iberoamericano de Malezas, pág. 321 – 324.

JUAN V, NÚÑEZ FRÉ FR, SAINT-ANDRÉ HM, FERNÁNDEZ RR (2019). Sensibilidad a herbicidas de un biotipo de *Brassica rapa* L. naturalizado en el centro de la provincia de Buenos Aires. Malezas, 2:4-15.

KELLEY K y RIECHERS D (2007). Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. Pestic Biochem Physiol 89:1–11.

KOCH MA y KIEFER C (2006). Molecules and migration: biogeographical studies in cruciferous plants. Plant Syst. Evol. 259: 121–142.

LEGERE A (2005). Risks and consequences of gene flow from herbicide-resistant crops: canola (*Brassica napus* L) as a case study. *Pest Management Science* 61: 292-300.

LUQUE R, SOUSA HC, KRAUS JE (1996). Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado - e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alciano 8 GS ou 8GX. Staining methods of modified Roeser (1972) and Kropp (1972), aiming at substituting the astra blue by alcian blue 8GS or 8GX. *Acta Bot Bras* 10: 199 - 212.

MARCHESINI E, PUNTA M, YANNICCARI M, CARBONE A (2019). Respuesta de tres poblaciones de nabos a la aplicación de glifosato y metsulfuron. *Revista Investigación Joven*, Vol 6(2):35-36.

MARZOCCA A (1994). Guía descriptiva de malezas del Cono Sur. INTA. Buenos Aires. 304 pp.

PANDOLFO C, PRESOTTO A, MIGASSO J, MOCK F, CANTAMUTTO M (2013). Identificación de un biotipo feral de *B. napus* con resistencia a glifosato. En: Libro de Resúmenes, III JIPCT. P: 44-45. Cerzos- Conicet.

PANDOLFO C, PRESOTTO A, CANTAMUTTO M (2015). Detección de resistencia transgénica a glifosato en poblaciones naturales de *Brassica napus* L. y *B. rapa* L. XXII Congreso de la ALAM. I Congreso de la ASACIM, Buenos Aires, Argentina, pp. 625-628.

PANDOLFO C (2016). Caracterización agroecológica de poblaciones ferales de Brasicáceas con resistencia a herbicidas. Tesis Doctoral en Agronomía. UNS. 210 pp.

ROMERO-PUERTAS MC, McCARTHY I, GOMEZ M, SANDALIO L, CORPAS F, DEL RIO L. (2004). Reactive oxygen species-mediated enzymatic systems involved in the oxidative action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Cell Environ* 27:1135–1148.

SAJI H, NAKAJIMA N, AONO M (2005). Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environmental Biosafety Research* 4, 4, 217-222.

SCHELTRUP F y GROSSMANN K (1995). Abscisic acid is a causative factor in the mode of action of the auxinic herbicide quinmerac in cleaver (*Galium aparine* L.). *J Plant Physiol* 147:118–126.

SCHAFFER M, ROSS A, LONDO J, BURDICK C, LEE H, TRAVERS S, VAN DE WATER P, SAGERS C (2011). The establishment of genetically engineered canola populations in the U.S. *PLoS One* 6: e25736.

SCHMIDT R, BANCROFT I, LYSAK MA, KOCH MA (2011). Phylogeny, genome, and karyotype evolution of crucifers (Brassicaceae). In *Genetics and Genomics of the Brassicaceae*, R. Schmidt I. Bancroft, eds (New York: Springer), pp. 1–31.

SIMARD M, LEGERE A, WARWICK S (2006). Transgenic *Brassica napus* fields and *Brassica rapa* weeds in Quebec: sympatry and weed-crop in situ hybridization. *Canadian Journal of Botany* 84: 1842-1851.

WARWICK S y AL-SHEHBAZ I (2006). Brassicaceae: Chromosome number index and database on CD-Rom. *Plant Systematic Evolution* 259: 237–248.

WARWICK S, LÉGÈRE A, SIMARD M, JAMES T (2008). Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy *Brassica rapa* population. *Molecular Ecology* 17(5):1387–1395.

WARWICK S, MUMMENHOFF K, SAUDER C, KOCH M, AL-SHEHBAZ I (2010). Closing the gaps: Phylogenetic relationships in the Brassicaceae based on DNA sequence data of nuclear ribosomal ITS region. *Plant Systematic Evolution* 285: 209–232.

YANNICCARI M y ISTILART C (2017). Las malezas se defienden: resistencia a múltiples herbicidas. *Agrobarrow* (Ediciones INTA) 59: 16-17.

YOSHIMURA Y, BECKIE H, MATSUO K (2006). Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. *Environmental Biosafety Research*, 5: 67–75.



