

Respuesta de variedades silvestres de *Brassica rapa* (Brassicaceae) a la aplicación de 2,4-D

Carbone, A.V.¹; Hernández, M.P.^{2,3}; Arambarri, A.M.⁴; Yannicari, M.⁵; Gigón, R.⁶; Benavidez, S.⁷; Cadavid, E.⁷

¹INFIVE-CONICET. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. Diagonal 113 y 61. CP: 1900. La Plata. E-mail: acarbonate413@gmail.com.
²Departamento Ciencias Biológicas, Área Botánica. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. ³División Plantas Vasculares. Museo de Ciencias Naturales. UNLP. ⁴Profesora Titular (jubilada) Morfología Vegetal. FCAYF. UNLP. ⁵Investigador Adjunto CONICET. EEA Barrow (Tres Arroyos). ⁶Consultor privado. ⁷Tesistas de grado. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. Malezas de la ASACIM

Citar como: Carbone et al. (2020) Respuesta de las variedades silvestres de *Brassica rapa* (Brassicaceae) a la aplicación de 2,4-D. Malezas 4, 4-16

RESUMEN

Brassica rapa L. “nabo” es una maleza frecuente en cultivos de invierno y verano del centro sur de la provincia de Buenos Aires. Se hallaron poblaciones ferales de *B. napus* con resistencia a glifosato (RR) y posteriormente se detectaron poblaciones de *B. rapa* con RR y resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de AHAS. La respuesta de poblaciones de *B. rapa* provenientes de Azul y Tandil a 2,4-D se evaluó considerando a la colza susceptible (Cs) como material control. Se cultivaron 120 plantas de cada localidad y en el estadio de 3-4 hojas se aplicó 2,4-D éster butílico (emulsión concentrada 97%) según los tratamientos: T1: control (agua); T2: 0,125 l ha⁻¹; T3: 0,250 l ha⁻¹; T4: dosis recomendada (DR): 0,5 l ha⁻¹; T5: 1 l ha⁻¹ y T6: 2 l ha⁻¹. A los 21 días desde la aplicación se evaluaron los síntomas de fitotoxicidad y el porcentaje de supervivencia (% S). Se realizaron observaciones macro y microscópicas de material control y T4. A la dosis recomendada (DR) en el

marbete se registró 100, 50 y 25 % S en Tandil, Azul y Cs, respectivamente. Mientras que T5 y T6 resultaron letales para Cs, manifestando Azul 16 y 8% y Tandil 75 y 33% S, respectivamente. En las yemas apicales y las hojas se observaron malformaciones, como epinastia en T4 de Cs. Los daños más severos se registraron en T4, T5 y T6 de Azul con respecto a Tandil. Los cortes transversales de las láminas mostraron menor espesor de mesófilo en Cs con respecto a Azul y Tandil en T1, manteniendo dicha tendencia en T4 para los respectivos materiales. Tandil mostró menor disminución del espesor del mesófilo foliar, manifestando la menor sensibilidad al 2,4-D.

Palabras clave: flujo génico, glifosato, metsulfuron, resistencia,

SUMMARY

Brassica rapa L. “birds rape mustard” is a frequent weed in winter and summer crops in the south central province of Buenos Aires. In 2012, feral populations of *B. napus* were found with resistance



to glyphosate (RR) and later biotypes with RR and multiple resistance to AHAS were detected. The response of turnip biotypes from Azul and Tandil to 2,4-D was evaluated, with the control material being susceptible rapeseed (CS). A total of 120 plants from each locality were cultivated and at the 3-4 leaf stage 2,4-D methyl ester (97% concentrated emulsion) was applied according to treatments: T1: Control (water); T2: 0,125 l ha⁻¹; T3: 0,250 l ha⁻¹; T4: recommended dose (DR) 0,5 l ha⁻¹; T5: 1 l ha⁻¹ and T6: 2 l ha⁻¹. Phytotoxicity symptoms and the survival percentage (%S) at 21 days after application were evaluated, making macro and microscopic observations of the control material and T4. The DR registered 100, 50 and 25%S in Tandil, Azul and Cs, while T5 and T6 were lethal for Cs, showing Azul 16, 8 and Ta 75 and 33% S, respectively. Malformations were observed in the apical buds and leaves with epinastia at T4 from Cs. Damage of greater severity in T4, T5 and T6 of Azul compared to Tandil in the respective treatment. The cross sections of the leaf blades showed less mesophyll thickness in Cs compared to Azul and Tandil in T1, maintaining this trend in T4 for the respective populations. The decrease in leaf mesophyll thickness

was less in the material from Tandil, who showed the least sensitivity to 2,4-D.

Key words: gene flow, glyphosate, metsulfuron, resistance.

INTRODUCCIÓN

La familia *Brassicaceae* presenta especies que han sido cultivadas durante siglos para la alimentación humana, como fuente de aceites comestibles, condimentos y productos hortícolas. Esta familia presenta un cultivo oleaginoso importante, *Brassica napus* L. “colza canola” que posee más de 40% de aceite en sus semillas y entre 36 a 44% de proteína en su residuo de extracción (Iriarte & Valetti, 2008). Varias especies de esta familia son condimenticias, como *B. nigra* L., *B. juncea* L. y *Sinapis alba* L., siendo numerosas las de importancia hortícola, como *B. oleracea* L. Aproximadamente, 130 especies presentan elevado poder invasor, ocasionando interferencia con los cultivos más importantes (e. g. *B. rapa* L., *Diploaxis tenuifolia* L., *Sinapis arvensis* L.). Algunas de estas malezas forman complejos “maleza-cultivo” como *B. napus* y *B. rapa*, *Raphanus raphanistrum* L. y *R. sativus* L., quienes son capaces de intercambiar genes (incluyendo transgenes)



con las especies cultivadas bajo condiciones naturales (Warwick & Al-Shehbaz, 2006; Warwick *et al.*, 2010).

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 todo el mundo (Gulden *et al.*, 2008). En la Argentina es conocida como nabo silvestre y constituye una maleza común en cultivos de cereales, oleaginosas y hortícolas de la región pampeana (Marzocca, 1994). *B. rapa* y *Lolium* sp. son malezas frecuentes en barbechos y cultivos de invierno del centro sur de la provincia de Buenos Aires, con las primeras emergencias tras las lluvias de fines de verano hacia principios de otoño, pero que se extienden incluso cuando los cultivos de trigo y cebada se encuentran en implantación (Istilar & Yannicari, 2011). Sin embargo, estas malezas son difíciles de manejar en el período de barbecho previo a la siembra de cultivos estivales, principalmente debido a la resistencia a herbicidas (Istilar & Yannicari, 2012; Pandolfo *et al.*, 2015; Pandolfo, 2016).

B. 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 estado salvaje luego de haber sido domesticadas, convirtiéndose en un problema importante por la competencia que genera con el cultivo (Warwick *et al.*, 2008; Devos *et al.*, 2009). En países donde se autoriza el cultivo de colza RR, como 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 países donde el cultivo de estas variedades no está aprobado, como Japón, Bélgica y Suiza, pero existe un intenso tráfico de granos de colza importados (Saji *et al.*, 2005). En las mismas zonas donde se encontraron poblaciones ferales de *B. napus* transgénica, se comprobó 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).

En 2012, se hallaron poblaciones naturalizadas de *B. napus* con resistencia a glifosato en lotes sin registros de cultivo de colza, en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. Pandolfo *et al.* (2013) cuantificaron un biotipo con supervivencia a la aplicación de glifosato con dosis de hasta 30 veces la dosis comercial (DL50=27,4 kg e.a. ha⁻¹). Durante 2014, se hallaron en la misma región poblaciones de *B. rapa* no controladas con glifosato a la dosis comercial (Pandolfo *et al.*, 2015). Mediante estudios de dosis-respuesta y tests inmunológicos se determinó que este biotipo presentó resistencia a glifosato de origen transgénico, registrando además, 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). Esto sugiere que la resistencia a glifosato podría provenir de cultivos de colza RR realizados de manera informal en el país o de individuos provenientes de semillas de malezas ingresadas como contaminantes de semilla, e implicaría la ocurrencia de flujo génico entre poblaciones de *B. napus* y *B. rapa*. Yannicari & Istilar (2017) informaron que la capacidad de invasión de estos biotipos 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.

Durante 2016, en el partido de Azul se detectó un biotipo de nabo con resistencia múltiple a glifosato e inhibidores de AHAS (Ciolli *et al.*, 2016a;

Ciulli *et al.*, 2016b) y con posterioridad se observaron en dicha 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 en el partido de Azul, la presencia de biotipos de esta especie con resistencia múltiple a glifosato y herbicidas inhibidores de ALS, alertando que los mismos podrían cruzarse con el biotipo resistente a 2,4-D denunciado. Posteriormente, Juan *et al.* (2019) confirmaron la presencia de un biotipo de *B. rapa* con resistencia múltiple a glifosato, metsulfuron (AHAS) y 2,4-D constituyendo el primer registro en la Argentina de resistencia a tres mecanismos de acción diferente.

Marchesini *et al.* (2019) estudiaron dos poblaciones de *B. rapa* mediante un ensayo de dosis respuesta. La población proveniente de Azul escapó a los controles de glifosato y sulfonilureas (RSU), mientras que la de Tandil a glifosato, 2,4-D y RSU. Si bien ambas poblaciones escaparon a los controles con glifosato, el porcentaje de supervivencia (%S) fue mayor en la población de Tandil. En tanto, el % S a metsulfuron fue elevado en ambas poblaciones, manifestando el mayor registro Azul con valores de ID50: 12,5 g ha⁻¹ vs. 8 g ha⁻¹ Tandil. Ante estos resultados se planteó la necesidad de considerar la sensibilidad de ambas poblaciones a 2,4 D, un herbicida de elevada eficacia para el control de especies crucíferas (CASAFE, 2007).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta a la aplicación de 2,4-D de dos poblaciones de *Brassica rapa* provenientes de Azul y Tandil y analizar la supervivencia y los caracteres morfo-anatómicos foliares en las plantas con síntomas de fitotoxicidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas utilizadas para la realización del ensayo fueron recolectadas de plantas adultas de *B. rapa* L. que escaparon a los controles de glifosato y metsulfuron en el ciclo 2017/2018 en lotes productivos de las localidades de Azul y Tandil, provincia de Buenos Aires. Las silicuas maduras se dejaron secar en condiciones de laboratorio y fueron posteriormente trilladas para la obtención de las semillas.

El ensayo se realizó en el INFIVE-CONICET (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata (UNLP) con los materiales que se mencionan a continuación:

1. Colza o canola susceptible (*B. napus*), utilizada como testigo (CS).
2. Nabo (*B. rapa*) proveniente de Azul (Azul).
3. Nabo (*B. rapa*) proveniente de Tandil (Tandil).

Las semillas se sembraron en 120 macetas plásticas de 250 cm³ de capacidad. Las macetas se rellenaron con tierra negra tamizada, se colocaron en invernadero en condiciones semi-controladas de humedad, temperatura e irradiancia y se regaron 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 butílico (emulsión concentrada 97%) en diferentes dosis resultando los siguientes tratamientos:

T1: Control (agua); T2: 0,125 l ha⁻¹; T3: 0,250 l ha⁻¹; T4: dosis recomendada según marbete (DR) 0,5 l ha⁻¹, T5: 1 l ha⁻¹ y T6: 2 l ha⁻¹.

Cada tratamiento contó con 20 plantas y las aplicaciones se realizaron con una mochila manual de presión constante Giber EM¹6, con un caudal de 500 cm³ min⁻¹. La pastilla que se utilizó fue del



tipo abanico plano, cumpliéndose con las normas correspondientes de seguridad para manipulación y aplicación de fitosanitarios. A los 7, 14 y 21 DDA, se realizaron evaluaciones de 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 (S%). Cada tratamiento tuvo 20 repeticiones, considerando cada maceta una repetición.

Al finalizar el ensayo se recolectó material de plántulas y se fijó en solución de formalina-ácido acético-alcohol etílico (D'Ambrogio, 1986). El estudio se realizó con plantas control (T1) y tratadas con DR (T4), dado que las dosis superiores no registraron % S en CS. El aspecto morfológico se registró mediante el uso de una Lupa Arcano ZTX-T 1: 4x. 3948 Zoom y una cámara fotográfica digital Modelo SM-A520F. Para la anatomía se hicieron cortes transversales a mano alzada, en la parte media de la lámina; los cortes elegidos, 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 se analizaron 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.

Los especímenes vegetales estudiados se depositaron en el herbario de la Facultad de Agronomía, UNLP: *Brassica napus* L., Gigón R., Yanniccari, M. Carbone, A.V., Hernández M.P., Arambarri A.M., Benavidez S. y Cadavid E., 1, 2 (LPAG); *Brassica rapa* L., Gigón R., Yanniccari, M. Carbone, A.V., Hernández M.P., Arambarri A.M., Benavidez S. y Cadavid E., 3, 4, 5, 6, 7, 8 (LPAG).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de 2,4-D condujo a diferentes respuestas de fitotoxicidad en los materiales evaluados (Cuadros 1, 2 y 3), la mayor sensibilidad se detectó en *B. napus*, con síntomas que se manifes-

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

Tratamiento	Colza susceptible (CS)		
	7 DDA	14 DDA	21 DDA
T1	5 a	5 a	5 a
T2	10 a	10 a	20 b
T3	10 a	25 b	60 c
T4: DR	25 b	60 c	85 d
T5	40 bc	70 cd	90 d
T6	60 c	95 e	100 d

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

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

Cuadro 3. Síntomas de fitotoxicidad en *B. rapa* “nabos” de Tandil a los 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.

Tratamiento	Tandil		
	7 DDA	14 DDA	21 DDA
T1	5 a	5 a	5 a
T2	10 a	5 a	5 a
T3	10 a	5 a	10 a
T4: DR	20 ab	10 a	20 b
T5	40 bc	15 a	25 b
T6	60 c	40 bc	66 c

Cuadro 4. Supervivencia (% S) de *B. napus* “colza” CS y *B. rapa* “nabos” de Azul y Tandil a 21 DDA de las diferentes dosis de 2,4-D. Letras iguales indican que no hay diferencias dentro de cada columna.

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



Autores del trabajo

taron a 7 DDA en T4 (DR), T5 y T6 con epinastia incipiente en hojas superiores y albinismo. Los síntomas se fueron acentuando a 14 DDA con epinastia generalizada en la zona apical y necrosis de tejido en láminas foliares, con daños severos en T4, T5 y T6. 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 (Cuadro 1, Figura 2).

Los síntomas de fitotoxicidad de Azul mostraron una sensibilidad acentuada con respecto a la de Tandil, ya que ésta última presentó daños leves y una disminución del crecimiento en general con las mayores dosis evaluadas a 21 DDA (Cuadros 2 y 3). Azul registró síntomas de fitotoxicidad leves a los 7 DDA con las mayores dosis de 2,4-D, que se correspondieron con albinismo en algunas plantas y epinastia incipiente en hojas apicales. Se acentuaron dichos síntomas a los 14 DDA en los tratamientos mencionados, ya a los 21 DDA la DR ocasionó daños severos con epinastia y necrosis foliar, controlando el 50% de las plantas. En T5 y T6 se observaron elevados porcentajes de control con severos daños de fitotoxicidad (Cuadros 2 y 4, Figura 3).

Tandil presentó fitotoxicidad leve a la

DR (Cuadros 3 y 4). El mayor registro de daño fitotóxico fue observado a los 21 DDA en T6, que se corresponde al cuádruple de la DR, con 65% de efectividad en el control. Los síntomas observados en estas plantas fueron: reducción del

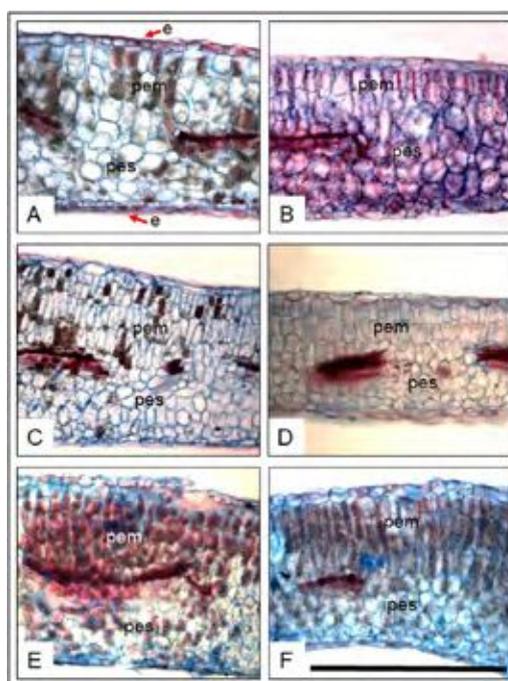


Figura 1. Mesófilos foliares comparados. T1: control (izquierda) y T4: DR (derecha). A y B: *Brassica napus* "colza" CS, C y D: *Brassica rapa* "nabo" Azul, E y F: *Brassica rapa* "nabo" Tandil. Códigos: e: estomas; pem: parénquima empalizada; pes: parénquima esponjoso. Escala: 500 μ m.

crecimiento de la parte aérea, epinastia severa en hojas superiores y cambios en la actividad de la yema apical (Figura 4). Sobre esa población se observó alta supervivencia 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 (Cuadros 3 y 4). Estos resultados concuerdan con lo

informado por Juan *et al.* (2019) quienes evaluaron un biotipo de *B. rapa* y observaron niveles de fitotoxicidad moderados con dosis que duplican y cuadruplican aquella recomendada de 2,4-D. Dichos autores indican 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 meta-

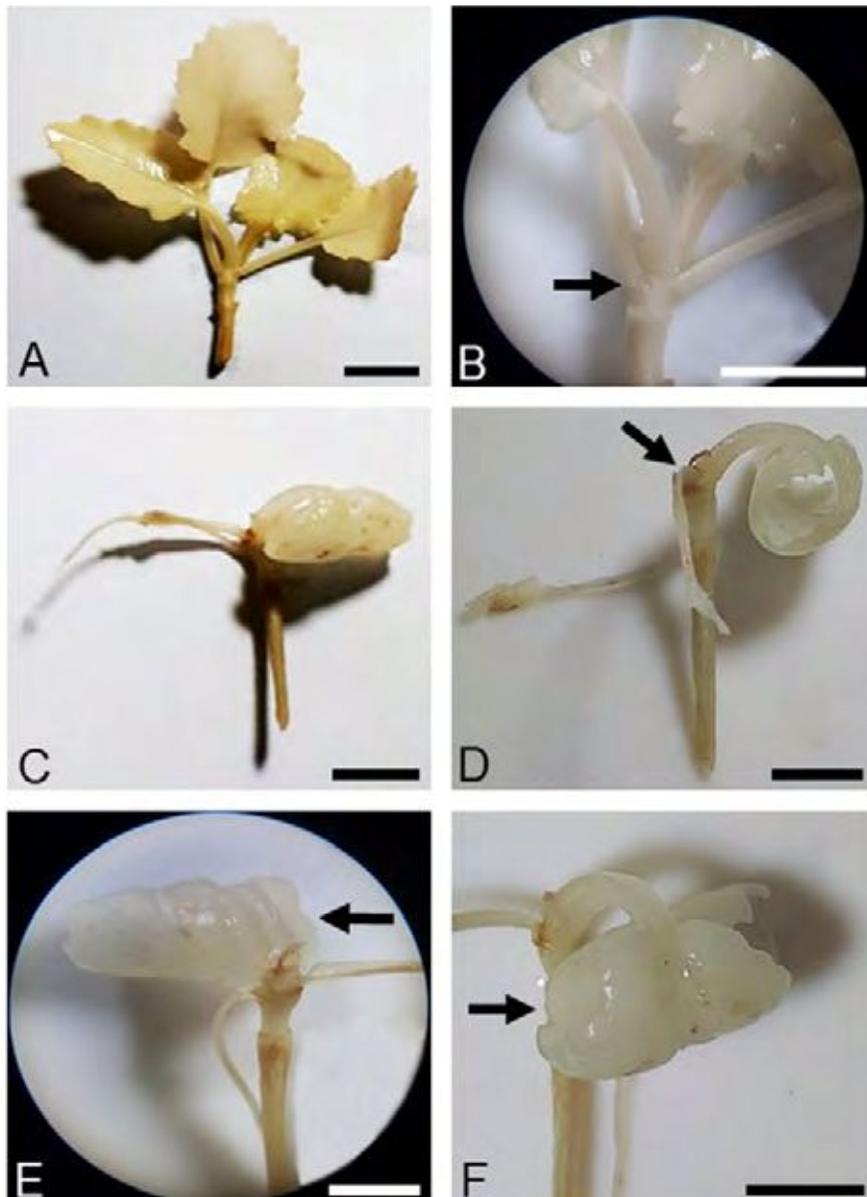


Figura 2. *Brassica napus* "colza" control: A aspecto general de la parte aérea y B zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de 2, 4-D éster butílico: C aspecto general de la parte aérea, D vista lateral de una hoja con epinastia severa, E vista posterior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

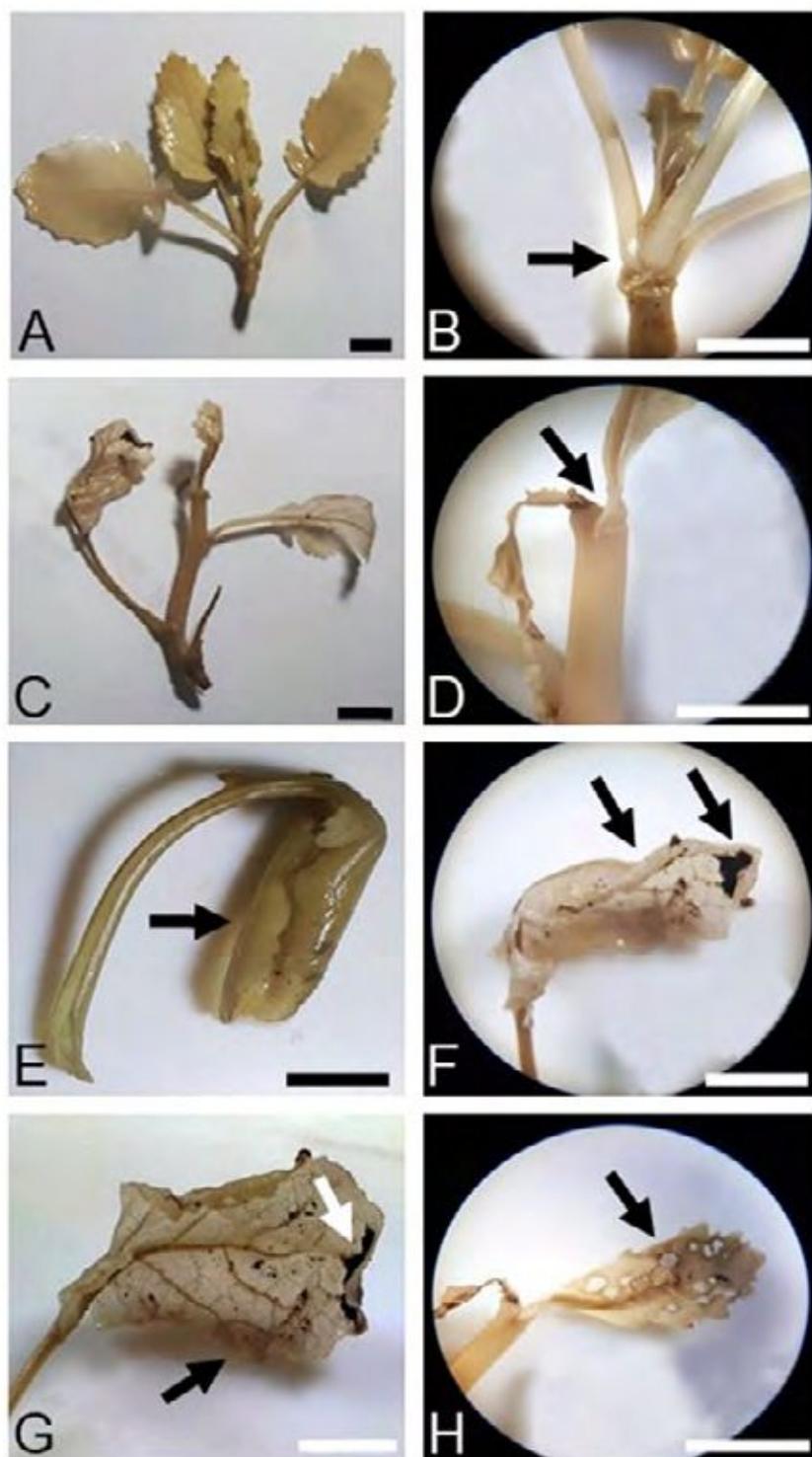


Figura 3. *Brassica napus* "nabo" Azul control: A aspecto general de la parte aérea y B zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de 2, 4-D éster butílico: C aspecto general de la parte aérea, D zona donde se encuentra la yema apical atrofiada, E hoja con epinastia lateral (enrulamiento hacia la cara abaxial), F y G hoja con epinastia y sectores de tejido necrosado (manchas oscuras) en vista superficial abaxial y 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.

bolismo (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 de Tandil, 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. En la provincia de Buenos Aires se informó la presencia de biotipo 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, met-sulfuron y 2,4-D (Juan *et al.*, 2019).

Cobb (1992) informó que la actividad biológica de los herbicidas auxínicos

Cuadro 5. Anatomía comparada de las láminas foliares de *B. napus* “colza” CS y *B. rapa* “nabos” de Azul y Tandil. T1= Control y T4= DR. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas dentro de cada columna.

Tratamiento	Espesor del mesófilo (μm)	
	T1: Control	T4: Dosis recomendada
CS	339,2 a	298,20 b
Azul	417,63 b	252,11 a
Tandil	425,53 b	326,35 c

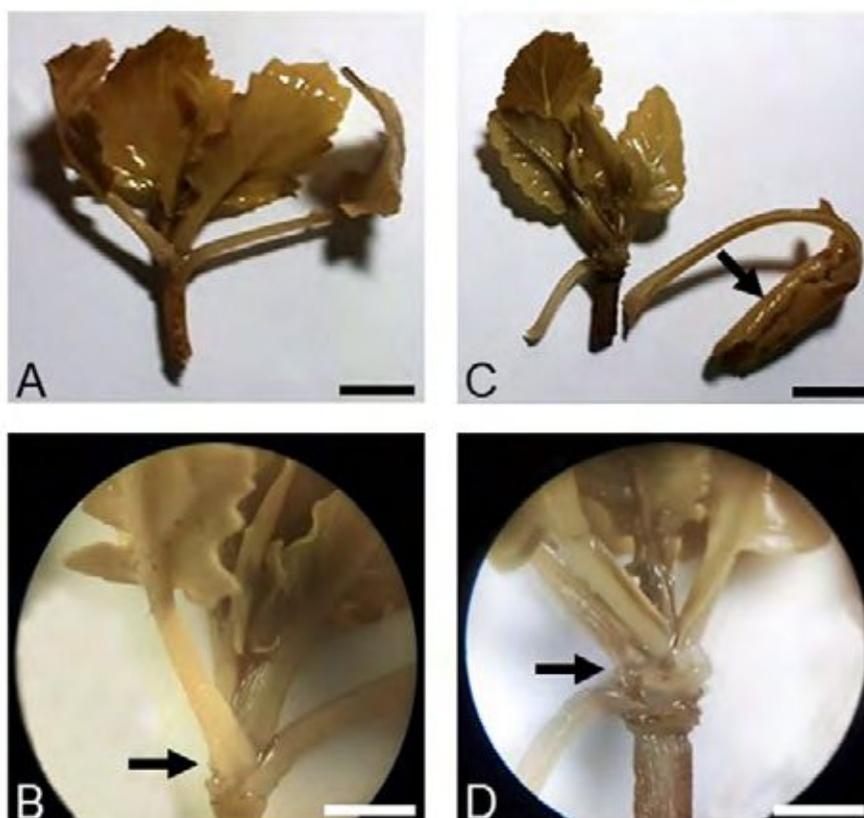


Figura 4. *Brassica napus* “nabo” proveniente de la localidad de Tandil. Plantas control: A aspecto general de la parte aérea y B Zona donde se encuentra la yema apical activa. Plantas sometidas a la dosis recomendada de herbicida 2, 4-D éster butílico: C aspecto general de la parte aérea con hojas expandidas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

depende de la sensibilidad y el estado fisiológico de la maleza a controlar 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 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 la 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, son los procesos primarios de la acción herbicida a las elevadas concentraciones endógenas (Kelley & 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 al control (Scheltrup & Grossmann, 1995). Esto fue observado en numerosas especies de diversas familias para herbicidas auxínicos de diferentes clases químicas (Hansen & Grossmann, 2000), mientras que las especies con tolerancia natural no mostraron aumen-

tos en los niveles de etileno ni ABA, lo que sugiere una actividad selectiva, presumiblemente en el sitio del receptor (Grossmann, 2003). Los herbicidas auxínicos estimulan 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 (Grossmann *et al.*, 2001).

En este trabajo no se encontraron las respuestas típicas de fitotoxicidad a la DR para el herbicida en la población de Tandil, y esas respuestas fueron moderadas en T5 y T6, señalando la capacidad de este biotipo a escapar a la acción del herbicida. La anatomía foliar indica que se mantiene el número de capas de parénquima clorofiliano en empalizada pudiendo ser éste uno de los mecanismos de menor sensibilidad al herbicida.

Morfología y anatomía de la lámina foliar

La estructura de las láminas foliares de las especies del género *Brassica* estudiadas son bifaciales presentando sus estomas distribución anfistomática. El espesor del mesófilo dorsiventral mostró diferencias estadísticamente significativas en los controles de CS respecto a las poblaciones ferales de nabos procedentes de Azul y Tandil. La DR produjo disminución del espesor de las láminas foliares en los tres materiales estudiados, con diferencias estadísticamente significativas. La mayor disminución se registró en la población procedente 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 hojas de las plantas de Tandil presentaron mesófilos más engrosados respecto al resto de los materiales evaluados, y cuando fueron tratadas con la DR presentaron células más alargadas con

respecto a su control (Cuadro 5, Figura 1). La reducción del espesor del mesófilo observada se debe al menor número de capas de parénquima, principalmente del clorofiliano en empalizada, más acentuado en Azul, con células cortas con paredes radiales sinuosas (Cuadro 5, Figura 1).

CONCLUSIONES

El biotipo de *Brassica rapa* de Tandil manifestó menor sensibilidad a la DR de 2,4-D presentando mayor supervivencia y manteniendo el espesor de parénquima clorofiliano en sus láminas foliares. «

Bibliografía

- ASOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS (ALAM) (1974) Resumen del panel sobre métodos para la evaluación de ensayos en control de malezas en Latinoamérica. 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.
- CÁMARA DE LA SANIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES DE LA REPÚBLICA ARGENTINA (CASAFE)(2007) En: Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina, Tomo 1: Generalidades – Herbicidas – Fertilizantes. CASAFE, Buenos Aires, Argentina.
- 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. En: Anais do XXX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 1, p.743, Curitiba, Brasil.
- CIOLLI SA, NUÑEZ FRE F, SAINT ANDRE HM, FERNÁNDEZ 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. En: Anais do XXX Congresso Brasileiro de Plantas Daninhas, 1, p.749, Curitiba, Brasil.
- COBB AH (1992) Auxin-type herbicides. En: *Herbicides and Plant Physiology* (Ed COBB AH), 82-106. Chapman and Hall, London, UK.
- D'AMBROGIO A (1986) Manual de técnicas en histoquímica vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- 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 oilseed 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.
- 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 H₂O₂ 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 & GROSSMANN K (2000) Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. *Plant Physiol.* 124, 1437-1448.
- IRIARTE L & VALETTI O (2008) Cultivo de colza. Chacra Experimental Integrada Barrow Convenio MAAyP-INTA. 1ra ed. CABA. 156 pp.
- ISTILART C & YANNICARI 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 ALAM. Libro de Actas, pp. 487-495. Viña del Mar, Chile.
- ISTILART C & YANNICARI 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, NUÑEZ 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. XIV Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña y XXIII Congreso ALAM y III Congreso Iberoamericano de Malezas, pág. 321-324. La Habana, Cuba.
- JUAN V, NUÑEZ 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 & RIECHERS D (2007) Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. *Pestic Biochem Physiol.* 89, 1-11.
- 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, YANNICARI M & CARBONE A (2019) Respuesta de tres poblaciones de nabos a la aplicación de glifosato y metsulfuron. *Investigación Joven* 6, 2, 35-36.
- MARZOCCA A (1994) Guía descriptiva de malezas del Cono Sur. INTA. Buenos Aires, Argentina.
- PANDOLFO C, PRESOTTO A, MIGASSO J, MOCK F & CANTAMUTTO M (2013) Identificación de un biotipo feral de *B. napus* con resistencia a glifosato. III JIPCT. 44-45. Ceros- Conicet, Bahía Blanca, Buenos Aires.
- 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, 625-628. Buenos Aires, Argentina.
- PANDOLFO C (2016) Caracterización agroecológica de poblaciones ferales de Brassicáceas con resistencia a herbicidas. Tesis Doctoral en Agronomía. UNS, Bahía Blanca, Argentina.
- 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 & 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 *et al.* (2011) The establishment of genetically engineered canola populations in the U.S. *PLoS One* 6, e25736.
- 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.
- TORRA J, ROJANO-DELGADO A, REY-CABALLERO J *et al.* (2017) Enhanced 2,4-D metabolism in two resistant *Papaver rhoeas* populations from Spain. *Frontiers in plant science* 8, 1584.
- WARWICK S & 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.
- YANNICARI M & 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.