

Respuesta a glifosato de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas de maíz en Castilla y León

María Concepción Escorial¹✉, Andrés Pérez-Fernández¹, Iñigo Loureiro¹,
María Cristina Chueca¹

¹Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Dpto. Protección Vegetal,
Ctra. La Coruña Km 7,5, 28040-Madrid
✉ escorial@inia.es

Resumen: El objetivo de este estudio es monitorizar, antes de que se utilice extensivamente el herbicida glifosato, la variación natural en la respuesta de diversas poblaciones de especies de malas hierbas de maíz no expuestas previamente a este herbicida. Este estudio permitirá conocer la respuesta de esas especies a glifosato y predecir futuros cambios ante su aplicación mediante métodos e instrumentos adecuados como establece la normativa vigente. Para el establecimiento de las líneas base se ha recogido semilla de poblaciones alejadas entre sí y procedentes de las provincias con mayores superficies cultivadas de maíz de Castilla y León. Se han realizado estudios de dosis-respuesta al herbicida glifosato y se han calculado los valores de ED₅₀ para establecer el rango de sensibilidad de cada especie. Estos datos servirán de base de comparación para detectar posibles variaciones en respuesta a glifosato.

Palabras clave: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Xanthium spinosum*, *Xanthium strumarium*.

1. INTRODUCCIÓN

Una nueva estrategia para el uso sostenible de plaguicidas publicada en el Real Decreto 1311/2012 modifica profundamente el manejo de estos productos racionalizando su uso para reducir los riesgos. Por otra parte, la liberación intencional y comercialización de Organismos Modificados Genéticamente (OMG), regulada bajo la Directiva 2001/18/CE, requiere de una evaluación y seguimiento del riesgo agrícola y medioambiental cuyo objetivo es identificar y evaluar efectos adversos potenciales de los OMG.

Desde que comenzó la comercialización de cultivos transgénicos en 1996, el carácter introducido dominante ha sido la tolerancia a herbicidas (HT). En 2016, este tipo de evento, solo o en unión de resistencia a insectos (IR), ocupó más del 80% de la superficie mundial de cultivos genéticamente modificados (GM), que fue de 186 millones de hectáreas (James, 2017).

El posible impacto que se pueda producir por el empleo de cultivos tolerantes a herbicidas dependerá de diversos factores como el cultivo introducido, el método de gestión y uso del mismo y la naturaleza del medio receptor. Además los efectos pueden ser directos, dependientes del cultivo, o indirectos derivados de interacciones con otros organismos o cambios en el uso o la gestión. Entre los efectos indirectos se encuentran las prácticas agrarias en especial el uso de productos fitosanitarios, las rotaciones y la interacción entre el cultivo GM y los organismos, como son las malas hierbas, presentes en la zona.

Un impacto de gran importancia y consecuencia de un inadecuado tipo de régimen fitosanitario es la aparición de fenómenos de resistencia en las especies diana y la subsecuente aplicación de cantidades cada vez mayores de plaguicidas que afectarán directamente a la contaminación química del medio natural. Es este un fenómeno natural que puede verse agravado por los culti-

vos GM tolerantes a glifosato. Por ello, los cultivos GM tolerantes a herbicidas pueden contribuir a incrementar la resistencia en las malas hierbas (Johnson et al., 2009),

A pesar de que actualmente no está autorizado ningún cultivo GM tolerante a herbicidas en Europa, hasta hace relativamente poco tiempo sí se han presentado solicitudes para la comercialización de un evento de maíz tolerante a glifosato. A pesar de sus ventajas que hacen a estos cultivos atractivos para el agricultor, el uso inadecuado de herbicidas de amplio espectro puede afectar a la composición y la abundancia de las especies de malas hierbas. La aparición de poblaciones resistentes, sobre todo en monocultivos, sistemas con rotación limitada o mínimo laboreo, podría amenazar la utilidad tanto de herbicidas como de cultivos GM (Johnson et al., 2009), además de producir modificaciones en la flora y por tanto en la diversidad biológica.

El maíz es uno de los cuatro principales cultivos transgénicos cultivados. De las más de 180 millones de hectáreas (Mha) de maíz que se cultivan el mundo (FAO, 2013), 55 millones de hectáreas (30%) fueron variedades transgénicas en 2014 y dentro de éstas, 47,4 millones de hectáreas (86%) eran variedades que portaban el carácter de resistencia a herbicidas (7,5 Mha HT más 39,9 Mha HT+IR) (James, 2015). El único evento autorizado y cultivado en la Unión Europea (UE) es el maíz transgénico tolerante a taladro (*Bt*). En España la superficie estimada de cultivo de maíz GM fue de 107.749 hectáreas en el año 2015 (MAGRAMA, 2015), En Castilla y León de las 117.529 hectáreas de maíz cultivadas se registraron 63 hectáreas de maíz GM.

El objetivo de este estudio es monitorizar en la actualidad, antes de que se utilice de forma extensiva el herbicida glifosato en el cultivo del maíz o en otros cultivos sembrados en la misma zona, cuál es la variación natural en la respuesta a este herbicida de poblaciones de diferentes especies de malas hierbas dicotiledóneas del maíz que no han sido previamente expuestas a glifosato. Para ello, se va a determinar la susceptibilidad a glifosato de diferentes poblaciones de seis especies de dicotiledóneas recogidas en campos de maíz en Castilla y León.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. En la realización de los ensayos de respuesta a glifosato se ha utilizado semilla de diferentes poblaciones de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas presentes en las principales áreas maiceras de Castilla y León. Las especies estudiadas fueron: *Abutilon theophrasti* Medik. (5 poblaciones); *Amaranthus retroflexus* L. (10 poblaciones); *Chenopodium album* L. (10 poblaciones); *Solanum nigrum* L. (5 poblaciones); *Xanthium spinosum* L. (5 poblaciones), *Xanthium strumarium* L. (8 poblaciones). La semilla de estas poblaciones se ha recogido al azar en campos de maíz a madurez del cultivo.

2.2. Tratamientos con glifosato. La semilla de cada población se pre-germinó y las plántulas se trasplantaron a vasos de plástico de 200 ml rellenos con una mezcla al 75% de tierra:mantillo:arena (1:1:1) y 25% vermiculita, con 3 plántulas por vaso. En el caso de las especies de *Xanthium* spp. no se pre-germinaron y se empleó una planta por vaso. Cuando las plantas se encontraban en estado de 2 hojas se aplicó el herbicida Roundup® (glifosato 36% p/v), con 7 tratamientos a dosis 0; 16,8; 33,8; 67,5; 135; 270 y 1.080 g m.a. ha⁻¹ (1x). Para cada población y dosis se realizaron 3 repeticiones, con 5 vasos por repetición. Estos ensayos se repitieron 2 veces en el tiempo.

Los tratamientos se realizaron con un pulverizador automático (Devries Manufacturing, Hollandale, EEUU) equipado con una boquilla plana Teejet 8002-E calibrado para pulverizar 175 L.ha.⁻¹ a 130 kPa.

Una vez tratadas las plantas se mantuvieron en una cámara de condiciones controladas con un fotoperiodo de 16 h luz ($250\text{-}300 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR) y 8 h de oscuridad y una temperatura de $30^\circ\text{C}/16^\circ\text{C}$ (día/noche). Transcurridas 2 semanas del tratamiento, 3 en el caso de las especies de *Xanthium*, se pesó la parte aérea de las plantas para obtener el parámetro de peso fresco y se desecaron en estufa a 80°C durante 48 h para obtener el peso seco.

Se aplicó la transformación \sqrt{x} a los valores de peso seco obtenidos (en porcentaje de testigo) previa realización el análisis de varianza para determinar diferencias entre poblaciones, tratamientos y su interacción.

La dosis de herbicida que causa el 50% de inhibición del crecimiento medido mediante el parámetro peso seco, respecto al testigo (ED_{50}), se calculó para cada población mediante el ajuste de los datos de peso seco a un modelo de regresión no lineal de tipo log-logístico (Seefeldt et al., 1995).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra las curvas de dosis respuesta ajustadas para el parámetro reducción del peso seco (en % de testigo) para la respuesta a glifosato de las muestras de poblaciones de las diferentes especies de malas hierbas. Todas las poblaciones de cada una de las especies estudiadas fueron susceptibles al herbicida.

En el caso de *A. theophrasti*, *S. nigrum* y las dos especies de *Xanthium* el análisis de varianza no mostró diferencias significativas en la respuesta a glifosato de las poblaciones estudiadas ($P > 0,05$). Sí existen diferencias en la respuesta de las poblaciones estudiadas de *A. retroflexus* y *C. album*, sin embargo la relación entre los ED_{50} de las poblaciones más y menos susceptibles fue de 1,6 para *A. retroflexus* y de 2,1 para *C. album*.

En relación con la variabilidad interespecifica en la respuesta a glifosato de especies dicotiledóneas de maíz, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre especies ($P < 0,05$) siendo las especies más susceptibles *S. nigrum* y *A. retroflexus* y las más tolerantes *A. theophrasti* y *X. spinosum*.

La tabla 1 muestra la media \pm desviación estándar del parámetro ED_{50} obtenido para las poblaciones ensayadas de cada especie. El rango de los valores de ED_{50} para las especies estudiadas varía entre $16,04 \pm 3,78$ g m.a. ha^{-1} para *A. retroflexus* y $51,30 \pm 9,71$ g m.a. ha^{-1} para *A. theophrasti*. Estas diferencias son probablemente debidas a diferencias entre las especies en la sensibilidad al herbicida ya que todas las poblaciones de todas las especies estudiadas se pueden considerar en este momento susceptibles al herbicida.

Tabla 1. Dosis de glifosato que causa el 50% de inhibición del crecimiento respecto al testigo (ED_{50}), calculada mediante un modelo de regresión no lineal de tipo log-logístico de Seefeldt et al. (1995) para cada una de las 6 especies estudiadas

Especie	Nombre común	N.º de poblaciones	$\text{ED}_{50} \pm \text{DE}$ (g m.a. ha^{-1})
<i>Abutilon theophrasti</i>	Abutilo	5	$51,30 \pm 9,71$
<i>Xanthium spinosum</i>	Abrojo	5	$41,13 \pm 5,42$
<i>Chenopodium album</i>	Cenizo	10	$37,60 \pm 5,39$
<i>Xanthium strumarium</i>	Abrojo	8	$24,41 \pm 4,15$
<i>Solanum nigrum</i>	Tomatito	5	$22,17 \pm 6,52$
<i>Amaranthus retroflexus</i>	Bledo	10	$16,04 \pm 3,78$

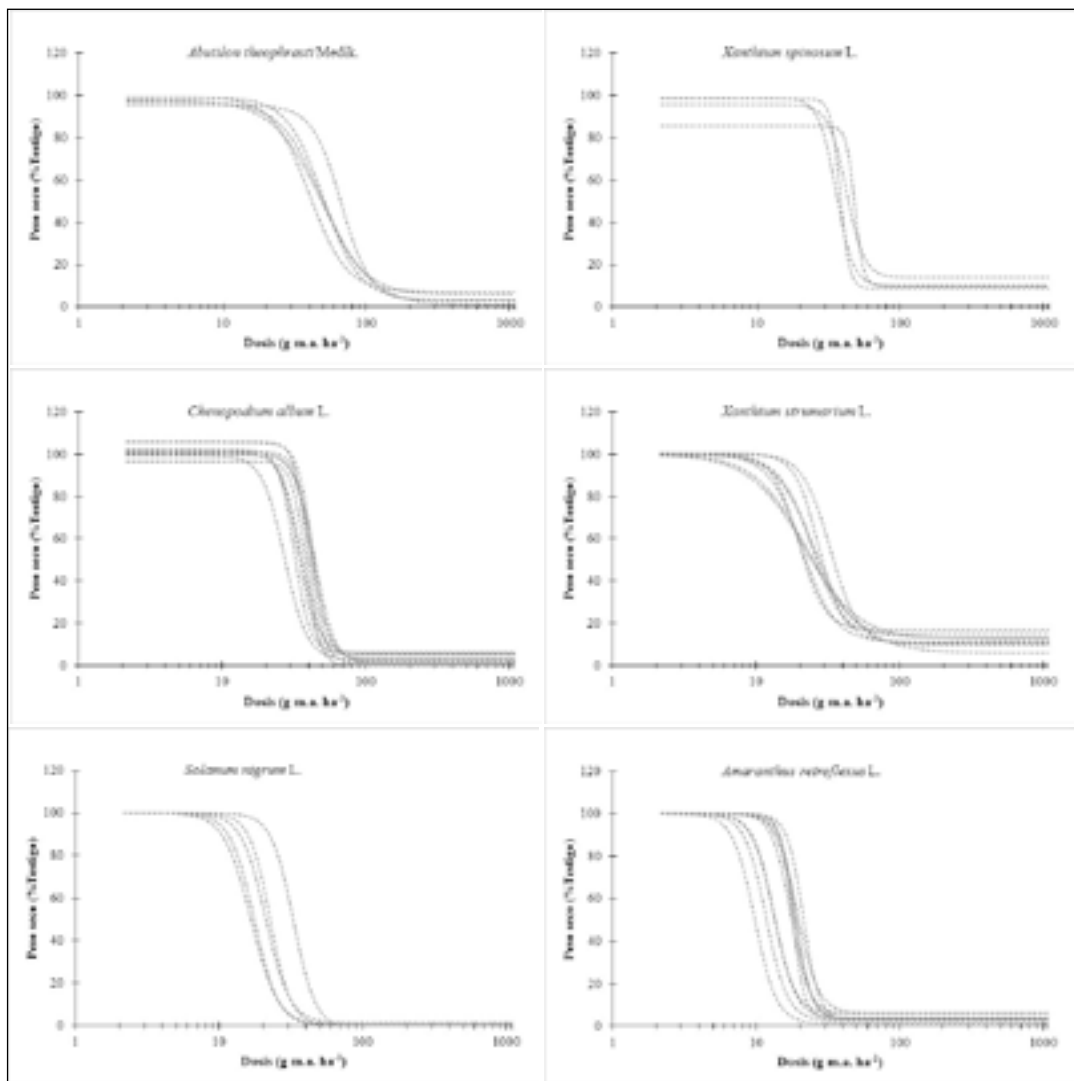


Figura 1. Curvas de dosis-respuesta para el parámetro peso seco (% testigo) de las diferentes especies de malas hierbas estudiadas.

Existen referencias en la literatura sobre evoluciones en la flora debido al uso continuado de glifosato (Cerdeira and Duke, 2006) y se han publicado diferentes encuestas realizadas entre científicos y agricultores de los Estados Unidos, que muestran que el 80% de los encuestados perciben que los cambios de flora ocurren asociados al uso continuado de glifosato en cultivos tolerantes (Culpepper, 2006; Gibson et al., 2006; Johnson and Gibson, 2006). En la actualidad, están citados biotipos resistentes a glifosato en 37 especies de malas hierbas de 28 géneros diferentes (Heap, 2017), siendo *Amaranthus* el único de los géneros estudiados que si presenta especies resistentes a glifosato

Este estudio permite conocer el comportamiento actual de estas especies dicotiledóneas a la aplicación del herbicida glifosato y su variación natural, antes de que se haya podido utilizar de forma extensiva para el control de malas hierbas en los cultivos. Esto permitirá hacer un seguimiento en el tiempo de la respuesta de estas especies y poder así detectar a tiempo el inicio de una resistencia (que puede que se haya ya iniciado o no para *C. album* y/o *A. retroflexus*). Estos ensayos realizados en cámara de condiciones controladas podrán ser reproducidos en un futuro con el fin de evaluar variaciones en el parámetro ED₅₀ obtenido, que sea indicio de un inicio de descenso en el control de esta especie con este herbicida, y servir de aviso teórico de la posibilidad de aparición de problemas de resistencia.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado gracias a la EG13-075 del MAGRAMA al INIA.

5. REFERENCIAS

- Cerdeira A & Duke SO (2006). The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A Review. *Journal Environmental Quality*, 35, 1633-1658.
- Culpepper AS (2006). Glyphosate-induced weed shifts. *Weed Technology* 20, 277-281.
- FAOSTAT. (2013). Acc. 16 May 2016. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>.
- Gibson KD, Johnson WG and Hillger DE (2006). Farmer perceptions of weed problems in corn and soybean rotation systems. *Weed Technology*, 20, 751-755.
- Heap I (2017). International survey of herbicide resistant weeds. www.weedscience.org. Accessed 8 May 2017.
- James C (2015). Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014, ISAAA Brief No 49. ISAAA, New York.
- Johnson WG & Gibson KD (2006). Glyphosate-resistant weeds and resistance management: an Indiana grower perspective. *Weed Technology*, 20, 768-772.
- Johnson WG, Davis VM, Kruger GR and Weller SC (2009). Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy*, 31, 162-172.
- MAGRAMA(2015). <http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg/-consejo-interministerial-de-ogms/superficie.aspx>. Accessed 16 May 2016.
- Seefeldt S, Jensen J and Fuerst, P (1995). Log-Logistic analysis of herbicide dose- response relationships. *Weed Technology*, 9, 218-227.

Response to glyphosate of six species of dicotyledonous weeds of maize in Castilla y León

Summary: The objective of this study is to monitor the natural variation in the response to glyphosate of various populations of weeds in maize not previously exposed to this herbicide, prior to the extensive use of the herbicide. This study will make possible to know the response of these species to glyphosate and to predict future changes in their application through appropriate methods and instruments as established by current regulations. For the establishment of the baseline, seeds from distant populations of weeds have been collected from the provinces with greater cultivated areas of maize from Castilla y León. Dose-response studies have been carried out and ED₅₀ values have been calculated to establish the range of sensitivity of each species. These data will serve as a basis for comparison to detect possible variations in response to glyphosate.

Keywords: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Xanthium spinosum*, *Xanthium strumarium*.