

Resistencia de las especies invasoras de los cultivos a herbicidas

El desarrollo de las malas hierbas resistentes es un proceso evolutivo en respuesta al uso repetido de un herbicida

El olvido de prácticas culturales como un adecuado manejo de las rotaciones, de los estiércoles, de los restos de cosecha o labores de cultivo ha llevado a la necesidad de controlar las malas hierbas a base de productos químicos lo que, a su vez, ha provocado la resistencia de malas hierbas y ha dificultado mucho su control. En este artículo se describen los procesos biológicos responsables de la resistencia de la mala hierba al herbicida.

Dr. José Ramón García Tascón. Dr. Ingeniero Agrónomo.
Dr. José Luis Villarías Moradillo. Catedrático de Universidad.
Dr. Enrique Garzón Jimeno. Profesor titular de Universidad.
Víctor Manuel García Martínez. Ingeniero agrónomo.

La resistencia de las malas hierbas a los herbicidas es un problema creciente en España y que ha surgido debido a una alta presión de selección por el uso repetitivo de altas dosis de herbicidas residuales en campos en monocultivo y/o en campos bajo mínimo laboreo. Los componentes que contribuyen a esta alta presión de selección (De Prado, R. y López, N., 1999) son: alta eficacia del herbicida, uso frecuente del mismo herbicida o herbicidas con el mismo modo de acción y uso de herbicidas con larga persistencia en el suelo. Aunque son numerosos los casos en los que se han encontrado resistencias de malas hierbas a herbicidas, las principales especies resistentes encontradas en España hasta el momento son:

- En cereales de invierno en Cataluña, Aragón, Castilla y León, La Rioja y Navarra: Vallico (*Lolium rigidum*), Amapola (*Papaver rhoeas*) y avena loca (*Avena* spp.)
- En maíz en Aragón, Cataluña y Castilla La Mancha: Cenizo (*Chenopodium album*), bledo (*Amaranthus* spp.) y Hierba mora (*Solanum nigrum*).
- En el cultivo de arroz en Andalucía, Aragón y Cataluña: Coleta (*Alisma* sp.) y Juncia (*Cyperus difformis*).
- En los cultivos de olivar y viñedo en Castilla La Mancha: Coniza (*Conyza* spp.).

Antes de abordar este problema, se debe diferenciar entre algunos conceptos para poder realizar un correcto programa de control:

Resistencia a herbicidas: es la habili-

dad-aptitud heredable de un biotipo a sobrevivir y reproducirse después del tratamiento de un herbicida a dosis normalmente letales para la misma especie susceptible. Esta resistencia puede ser natural o inducida por técnicas de ingeniería genética o selección de variantes resistentes.

Resistencia cruzada: ocurre en aquellos biotipos resistentes a uno o más herbicidas debido a la presencia de un solo mecanismo de resistencia.

Resistencia múltiple: ocurre en aquellos biotipos resistentes a uno o más herbicidas debido a la presencia de más de un mecanismo de resistencia.

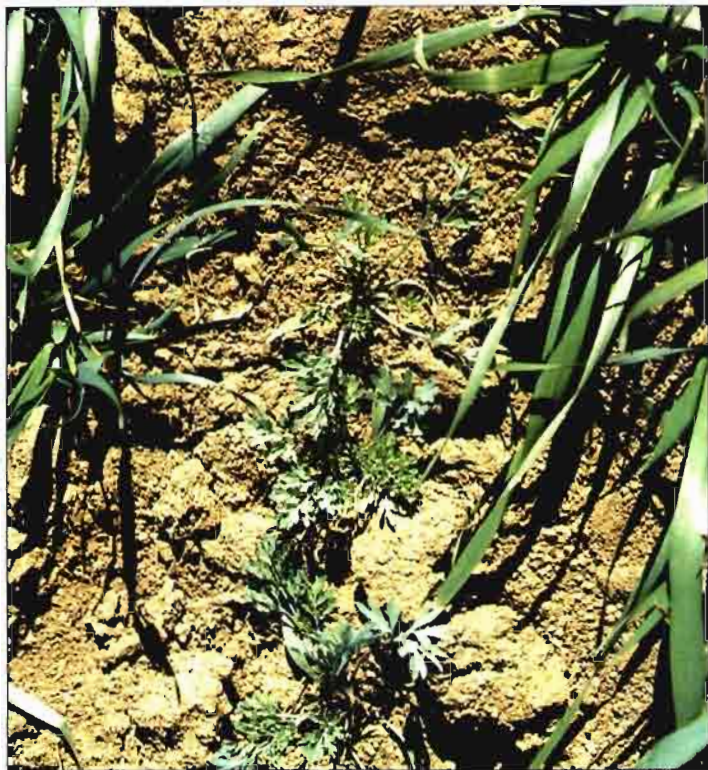
Tolerancia natural a herbicidas: es la habilidad-aptitud heredable de una especie vegetal a sobrevivir y reproducirse después de un tratamiento. La tolerancia natural no implica selección o manipulación genética para obtener una variedad tolerante.

Tolerancia inducida a herbicidas: es la habilidad-aptitud heredable de una especie vegetal a sobrevivir y reproducirse después de un tratamiento. Implica selección o manipulación genética para obtener una variedad tolerante.

Factores genéticos

El desarrollo de malas hierbas resistentes a herbicidas es un proceso evolutivo que se manifiesta en respuesta al repetido uso de un herbicida. Un cambio en la composición genética de una población de malas hierbas con el consiguiente incremento





Fumaria vaillantii.

en la frecuencia de los genes de resistencia y, por lo tanto, de la proporción de individuos resistentes va a ser el primer factor determinante en la aparición de resistencias (Salas, 1999).

Si queremos enfocar el problema de resistencias de forma eficaz, debemos incluir todos aquellos factores que controlan la evolución y la dispersión de las resistencias dentro de los sistemas agrícolas:

Presión de selección. El desarrollo de malas hierbas resistentes a herbicidas es un proceso evolutivo que se manifiesta en respuesta al repetido uso de un herbicida. En éste se origina un cambio en la composición genética de una población de malas hierbas con los consecuentes incrementos en la frecuencia de genes de resistencia y, por tanto, en la proporción de individuos resistentes.

Frecuencia inicial de genes de resistencia. La frecuencia de que genotipos resistentes estén presentes en una población que no ha sido previamente tratada con un herbicida es baja, pero probable, debido a la presencia de mutaciones.

Modos de herencia. Las resistencias a herbicidas son principalmente debidas a herencias de genes nucleares, por lo que la transferencia de los alelos resistentes se realiza a través de granos de polen, siendo estos alelos en la mayoría de los casos dominantes. También puede suceder, en alguno de los casos, que la resistencia se herede citoplasmáticamente cuando el gen de resistencia se encuentra en el genoma del citoplasma.

Flujo de genes. El movimiento de genes dentro de una población puede ocurrir mediante la dispersión de semillas y a través de la diseminación de granos de polen con la correspondiente polinización cruzada.

Adaptabilidad o fitness. Es la cantidad numérica que describe la supervivencia y subsecuente éxito reproductivo de un individuo en relación a otro como una consecuencia de la presión de selección.

Uno de los objetivos más importantes para poder controlar el problema de las malas hierbas resistentes a herbicidas es proporcionar estrategias viables a largo plazo que sean capaces de mantener a bajas frecuencias los alelos que producen resistencias.

Estas estrategias deberán tener en cuenta tanto la ecología como la genética de las poblaciones de malas hierbas que se encuentran bajo la acción del herbicida.

■ Confirmación de la resistencia

Ante la sospecha de un posible caso de resistencia de una o varias especies de adventicias a un herbicida, debemos confirmarlo en campo, teniendo en cuenta una serie de factores y aspectos técnicos y ambientales, y en laboratorio, mediante la realización de ensayos in vivo e in vitro.

En campo

Cuando se presenta un problema en el control de una determinada mala hierba en un campo de cultivo, para saber si se trata de una posible resistencia, debemos analizar todos los factores que han podido influir en la falta de eficiencia en el tratamiento herbicida. Factores como:

- Dosificación adecuada del herbicida atendiendo al estado de desarrollo de la especie a controlar.
- Época de aplicación del herbicida: presembrado, preemergencia, postemergencia.
- Factores climáticos (temperaturas, precipitaciones) que han precedido o seguido a la aplicación.
- Tipo de suelo: clase textural, contenido en materia orgánica, pH, etc.
- Estado de los aparatos pulverizadores: calibración, situación de las boquillas, etc.

Asimismo, conviene considerar algunos aspectos que pueden ayudar a confirmar la existencia de una resistencia a herbicidas:

1- Algunas especies de malas hierbas, que eran fácilmente controlables en el pasado, no responden del mismo modo al herbicida usado habitualmente, mientras que otras poblaciones de la misma especie, en otros campos de cultivo más o menos próximos, son controladas eficazmente con la misma sustancia.

2- Cuando el fallo en el control no puede atribuirse a un manejo erróneo del herbicida (elección equivocada, dosis inapropiadas, no uso de coadyuvantes recomendados, empleo de sustancias antagónicas, etc.), a factores ambientales o meteorológicos adversos (grado de humedad, pH, niveles de materia orgánica inadecuados, degradación por microflora edáfica, etc.) o a que han germinado individuos después del tratamiento (en herbicidas de postemergencia).

3- Cuando los individuos que escapan al control se disponen en forma de pequeñas manchas en el campo, y no en franjas o líneas que siguen la dirección del tratamiento.

4- Cuando se trata de parcelas sometidas de modo continuado al mismo herbicida (o mezclas) y/o se ha instalado tradicionalmente un monocultivo.

Cuando se ha detectado el campo o campos sospechosos de contener poblaciones resistentes, se deben recoger muestras de plántulas (para ensayos rápidos de crecimiento) o, mejor, de semillas maduras en buen estado para realizar ensayos posteriores en laboratorio.



Convolvulus arvensis.

En laboratorio

La detección de la resistencia de las especies de malas hierbas a un herbicida se lleva a cabo mediante la realización de ensayos tanto in vivo como in vitro.

1.- Ensayos in vivo. Nos permiten conocer de una forma cualitativa y cuantitativa el nivel de resistencia de una mala hierba a uno o varios herbicidas. Una de las condiciones sine qua non para estos ensayos es la comparación paralela del biotipo resistente (R) con otros de la misma especie silvestre (S), el cual nunca ha sido tratado con herbicida. Para ello conviene definir algunos parámetros utilizados para la caracterización de biotipos resistentes a herbicidas:

- Dosis letal (LD50, 75, 90): dosis de herbicida capaz de matar al 50, 70 y 90% de los individuos de la muestra (especie) comparada con la muestra (especie) control no tratada con herbicida.

- Dosis efectiva (ED50, 75, 90): dosis de herbicida capaz de reducir en un 50, 75 y 90% el peso fresco (o seco) de los individuos de una muestra (especie) con respecto a la misma muestra (especie) control no tratada con herbicida.

- Factor de resistencia (ED50R/ED50S): valor entre el cociente de la dosis efectiva de un biotipo resistente (ED50) y el correspondiente del biotipo sensible (ED50) de la misma especie.

2.- Ensayos in vitro. Nos permiten conocer cuáles son las causas físico-químicas de la resistencia:

- Caracterización molecular. La aplicación de las modernas técnicas de la biología molecular ha permitido valorar y estudiar diferentes aspectos de gran relevancia agronómica, como la capacidad de discriminar diferentes poblaciones dentro de una especie vegetal determinada, así como de identificar genes responsables de importantes caracteres (calidades organolépticas, resistencia a factores bióticos y abióticos, etc.).

- Mecanismos de resistencia. Existen tres mecanismos generales, no necesariamente excluyentes, que podrían justificar la resistencia a herbicidas: 1.- Pérdida de afinidad por el sitio de acción; 2.- Reducción de la concentración de herbicida en el sitio de acción; y 3.- Metabolización a especies no tóxicas.

Mecanismos de resistencia

El conocimiento de los procesos biológicos responsables de la resistencia a herbicidas en una determinada mala hierba es



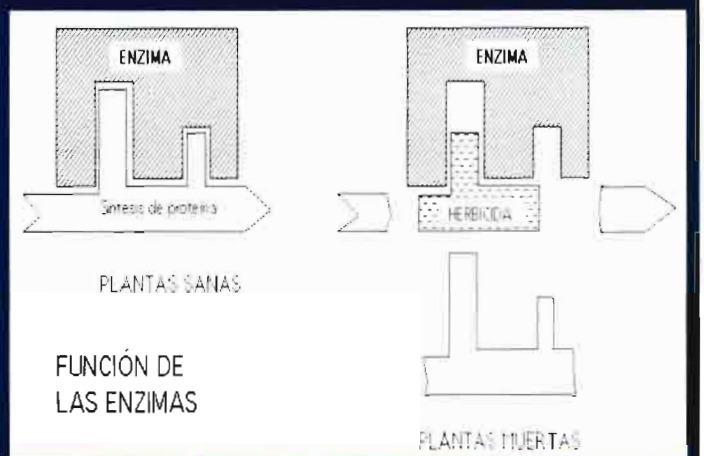
Amaranthus retroflexus.

fundamental para el diseño de una estrategia efectiva de control. Según Menéndez (1999), existen al menos tres mecanismos generales, no necesariamente excluyentes, que podrían justificar la resistencia a herbicidas:

Pérdida de afinidad por el sitio de acción

Los herbicidas resultan letales para las plantas debido a que actúan sobre los denominados sitios de acción primaria, que generalmente es una enzima. Las enzimas son proteínas que funcionan como agentes catalizadores de los procesos biológicos, en funciones sumamente específicas, lo que da como resultado que muchas enzimas distintas estén implicadas en los diferentes procesos biológicos que ocurren dentro de la planta. Generalmente, este sitio primario (enzima) es específico y la acción del herbicida sobre él (efecto primario) suele conducir al desarrollo de efectos secundarios, de naturaleza mucho más general, que normalmente acaba produciendo la muerte de la planta. Esta relación específica herbicida-enzima es un modelo llave-cerradura y cualquier modificación en la estructura de la enzima (una o varias mutaciones en la secuencia de aminoácidos que la componen) puede resultar una pérdida de afinidad del herbicida por ésta, imposibilitando la unión efectiva de ambos e impidiendo así la inhibición del proceso vital mediado por dicho sitio. (Figura 1).

FIGURA 1.



HERBICIDAS dossier

Al acoplarse la molécula de herbicida a la enzima, se rompe la síntesis de proteínas, provocando la muerte de la planta, pero si la enzima ha sufrido una mutación, ya no funciona el sistema llave-cerradura y el herbicida no puede unirse a la enzima, por lo que la síntesis de proteína no se ve alterada y la planta sigue realizando sus funciones vitales normales y, como consecuencia, dicha planta se muestra resistente al herbicida.

Reducción de la concentración de herbicida en el sitio de acción

La efectividad de un herbicida depende de que éste alcance su sitio de acción en una concentración suficiente como para que su efecto sea letal. La falta de movimiento de un herbicida permite reducir la concentración de éste en el sitio de acción, lo que permitirá al último mantenerse funcional. Esta disminución de la concentración puede lograrse mediante una reducción en la penetración, absorción o traslocación, o por la existencia de fenómenos de secuestro en orgánulos celulares metabólicamente inactivos. Esto es básicamente un mecanismo de tolerancia existente en numerosos cultivos y alguna mala hierba. La tolerancia a herbicidas puede ser debida a:

- Tolerancia asociada a diferencias de absorción. El modo de absorción de un herbicida viene determinado por la forma en que sea aplicado:
 - Aplicaciones en preemergencia (absorción vía radicular). La

absorción del herbicida por las raíces de la planta depende de la impermeabilidad de la Banda de Caspary, del flujo de agua suelo-raíz y de la difusión del herbicida de zonas de mayor a menor concentración, por lo que los mecanismos de resistencia a herbicidas debidos a su falta de absorción pueden venir asociados tanto a factores morfológicos, tales como diferencias en la profundidad del tejido de la raíz con capacidad de absorción o diferencias en la estructura anatómica del sistema radicular, como a factores fisiológicos, tales como la limitada absorción activa del herbicida en especies sensibles.

- Aplicaciones en postemergencia (penetración vía foliar). La cantidad de herbicida penetrado en el tejido vegetal está supeditada a la cantidad de éste que queda adherida a la planta, en lo que influyen las condiciones meteorológicas, la tensión superficial de la solución herbicida, el volumen de tratamiento y el área y orientación foliar. La tolerancia de ésta se asocia frecuentemente con la presencia de diferencias en la cutícula foliar, tales como su composición y su contenido en ceras de la cutícula foliar.

• Tolerancia asociada a diferencias en traslocación. Como en el caso anterior, se pueden clasificar según el tipo de tratamiento en que se haya aplicado el herbicida:

- Vía radicular (tratamiento de preemergencia). El movimiento del herbicida depende de la naturaleza química del mismo. Los fenómenos de tolerancia por falta de traslocación de herbicidas en preemergencia pueden ser atribuidos a una de estas tres causas:

!!! VITICULTOR !!!
NO SE DEJE CONVENCER
POR OTRAS PUBLICACIONES ENGAÑOSAS

LOS PROTECTORES ACUDAM OFRECEN:

- * Altos porcentajes de desarrollo
- * Eficaces durante los tratamientos de herbicidas
- * Protegen su vid de los animales roedores
- * Se distinguen de los protectores de tubo, al ser reutilizables para otras plantaciones

**PATENTADO
Y
ECONÓMICO**



ACUDAM

Ferrer i Busquets, 2
Tel 34-973 71 04 04 Fax 34-973 71 04 53
25230 MOLLERUSSA- LLEIDA ESPAÑA

- La acumulación del herbicida en la raíz, lo que ocasiona una falta de traslocación de la materia activa a la parte aérea.
- La metabolización en la raíz del herbicida a compuestos no traslocable del mismo, generalmente conjugados polares.
- La restricción del movimiento del herbicida al sistema vascular (vasos primarios y secundarios), lo que le imposibilita alcanzar su sitio primario de acción.
- Vía foliar (tratamientos en postemergencia). Las causas de tolerancia a herbicidas por falta de traslocación en estos tipos de tratamientos no son todavía del todo conocidas. Pero se sabe que dependen de que el transporte se realice por el xilema (savia bruta) o el floema (savia elaborada).
- Vía xilema: sigue libremente el flujo de agua de dicho sistema hacia los márgenes foliares y los espacios intervasculares.
- Vía floema: está en función de dos procesos diferenciados, el gradiente de concentración de herbicida entre las células del floema y las células mesofílicas y la capacidad del herbicida de ser retenido por las células floemáticas durante su transporte.

• Resistencia asociada a procesos de secuestro. Son fenómenos en los que se produce un confinamiento o secuestro del herbicida o de sus metabolitos en un lugar específico de la célula. Son mecanismos de resistencia-tolerancia poco conocidos debido a que las evidencias que los apoyan son en muchos casos circunstanciales.

Metabolización a especies no tóxicas

Los procesos de detoxificación metabólica son procesos biológicos en los que moléculas fitotóxicas son metabolizadas a compuestos inocuos, por lo que las especies resistentes son capaces de degradar el herbicida antes de que éste cause daños irreversibles. La velocidad de degradación enzimática puede variar con factores internos como el estadio de crecimiento de la planta y con factores externos como las condiciones climáticas. Los procesos de detoxificación metabólica de herbicidas en tejidos vegetales pueden dividirse en tres fases:

Fase I o conversión. Aunque algún herbicida puede conjugarse directamente en el sitio primario (unión de la molécula de

MÉTODOS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA

Para prevenir la resistencia de una mala hierba a un determinado herbicida, se debe:

- Reducir la presión de selección mediante la utilización de programas de control integrado, combinando la aplicación de los tratamientos herbicidas con otros métodos de control como pueden ser la realización de siegas, la realización de falsas siembras, labrar adecuadamente en los casos necesarios, atrasar la siembra, etc.
- Realizar un desherbado precoz utilizando diferentes métodos de control según el año.
- Realizar aplicaciones tardías de herbicidas permitiendo el uso de materias activas con diferentes modos de acción, combinando herbicidas de acción residual, de contacto y específicos con el fin de aprovechar el sinérgismo entre ellos.
- Limitar el movimiento de semillas mediante la utilización de material vegetal libre de semillas de individuos resistentes, realizar la limpieza de la cosechadora, utilizar estiércoles bien descompuestos, etc. ■

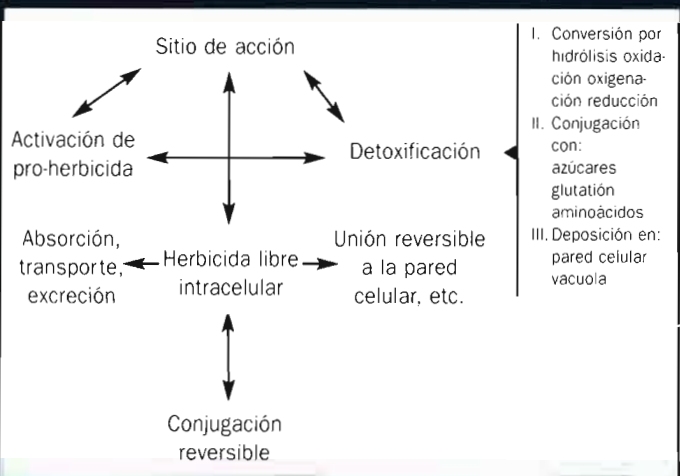
herbicida y la enzima), muchos otros no pueden por no poseer sustituyentes disponibles en sus moléculas (grupos amino, hidróxilo, sulfhidrilo, etc.) que les permitan realizar dicha unión, por lo que estos herbicidas deberán ser convertidos en metabolitos mediante alguna reacción química.

Fase II o conjugación. Es la unión de los metabolitos finales de los herbicidas con moléculas orgánicas provocando la inactivación del herbicida. Estas moléculas pueden ser de naturaleza muy diversa, tales como azúcares, aminoácidos, péptidos y lignina, y enlaces de tipo éster, éter, tioéter, amida o glicosídico.

Fase III o deposición. La ruta metabólica seguida por un herbicida afecta de gran manera el uso final de los metabolitos terminales y conjugados. Los conjugados glicosídicos son depositados en la vacuola (azúcares), donde quedan almacenados, mientras que los conjugados de origen aminoácido son excretados a la pared celular, donde se integran en el componente de lignina de éstas, formando un residuo insoluble.

Estos procesos no son completamente irreversibles, la re-entrada de los aglicones herbicidas o de sus productos de conversión en el pool de herbicida activo intracelular es muy lenta. (Figura 2). ■

FIGURA 2.
Metabolismo de los herbicidas en las plantas superiores



Bibliografía

DE PRADO, R. y LÓPEZ, N. (1999). Resistencia a herbicidas. Detección en campo y laboratorio. Actas Congreso 1999 de la Sociedad Española de Malherbología, p. 435-440.

MENÉNDEZ, J. (1999). Mecanismos de resistencia a herbicidas. I Curso de Herbicidas en la Agricultura Moderna. Córdoba.

SALAS, M. (1999). Genética de la resistencia a herbicidas: factores de evolución, herencia y adaptabilidad. I Curso de Herbicidas en la Agricultura Moderna. Córdoba.

TADEO, J.L.; GARCÍA-VALCARCE, A.I.; PÉREZ, R.A. y SANCHEZ-BRUNETE, C. (1998). Residues of triazines herbicide in soil: analysis, transport and persistence. Recent Res. Devel. Agricultural & Food Chem. 2, p. 165-181