

### **3 B.14 - RESPUESTA AL GLIFOSATO DE DOS POBLACIONES DE *DIGITARIA SANGUINALIS*: PRUEBAS PRELIMINARES PARA LA DETECCIÓN DE TOLERANCIA**

C. González Flor, A.M.C Verdú González y M.T Mas Serra

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia (DEAB), Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (ESAB), Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)  
C/ Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels (Barcelona), España.

E-mails: cristina.gonzalez-flor@upc.edu; amc.verdu@upc.edu; maite.mas@upc.edu

Resumen: La aplicación reiterada de un herbicida, o de algunos que tienen el mismo modo de actuar, puede permitir la selección de individuos supervivientes y que pueden dejar descendencia igualmente resistente al efecto del agroquímico. En la región pampeana (Argentina), la soja (material transgénico) se ha convertido en un cultivo preferencial bajo el uso de la siembra directa que conlleva un control químico de las malezas con glifosato. Con el objetivo de detectar en condiciones de laboratorio la existencia de fenómenos de tolerancia al glifosato en una población argentina de *Digitaria sanguinalis* se ha comparado su respuesta con la de una población española de una zona donde no suele aplicarse glifosato de forma intensiva. Se realizaron tres grupos de tratamientos mediante la aplicación de diferentes dosis de glifosato a individuos en diferentes estadios fenológicos. Se controlaron la germinación de semillas, la mortalidad de plántulas con 1 hoja, y la evolución temporal del número de hojas en dos grupos de plántulas con estadios iniciales de 2-3 y de 3-4 hojas. Se encontraron diferencias entre las dos poblaciones a partir de los 8 días después del tratamiento sobre semillas y sobre plántulas con 1 hoja, viéndose más afectadas las procedentes de Argentina. En los otros tratamientos no se detectaron diferencias. Los resultados obtenidos corroboran la carencia de tolerancia al herbicida en el material argentino probado.

Palabras clave: Herbicida sistémico, garranchuelo, estadio fenológico, Región Pampeana.

## **INTRODUCCIÓN**

El glifosato es un herbicida sistémico de amplio espectro y de aplicación en post emergencia. Es el más utilizado mundialmente y es uno de los más eficaces debido a su versatilidad en el control, su viabilidad económica y el amplio rango de malezas a las que afecta. Su aplicación ha ido en aumento en la última década debido a la entrada en el mercado de los cultivos modificados genéticamente para tolerarlo (WILLIAMS *et al.*, 2000). El glifosato se desplaza rápidamente desde las hojas hasta el resto de la planta. Actúa inhibiendo la enzima 5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS), y la inactividad enzimática acaba por reducir el contenido en planta de proteínas, ácido indol acético y clorofila.

En Argentina la soja RR (*Roundup Ready*), resistente a glifosato, se ha consolidado como cultivo dominante en las rotaciones de la mayoría de las explotaciones, ya que permite reducir los costes de producción hasta un 15% (TORRIGLIA, 1999). Este país se colocó en el 2007 como el segundo productor mundial de cultivos transgénicos (JAMES, 2007).

*Digitaria sanguinalis* es una planta anual, considerada una de las quince especies más importantes del mundo y con presencia documentada en cincuenta y seis países (WALKER y

TILLEY, 2002). HOLM *et al.* (1977) la describen como mala hierba de importancia económica mundial, sobre todo en zonas templadas y tropicales.

El uso intensivo y continuo en un mismo campo de un único herbicida puede generar una selección no deseada de poblaciones de malezas tolerantes a éste, que a su vez se verán favorecidas por la acción del herbicida sobre las más sensibles.

El objetivo del estudio se centró en la evaluación de la tolerancia al herbicida glifosato en semillas y plántulas de *D. sanguinalis* procedentes de Argentina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado semillas de dos poblaciones de *D. sanguinalis*: de la Región Pampeana (Argentina, A), recogidas en abril del 2007, y (ii) de Barcelona (España, E), recogidas en noviembre del 2006. Estas dos poblaciones provienen de zonas con muy distinto manejo de malezas; el glifosato se aplica más intensivamente en A.

Se realizaron tres pruebas de aplicación de glifosato, una inicial sobre semillas (0H), la segunda sobre plantas a estadio de una hoja (1H) y la última sobre plantas a estadio 2-3 hojas (2-3H) y 3-4 hojas (3-4H). Las dosis de aplicación en todas la pruebas fueron de 0 (control, C), 900 (x, recomendada), 1800 (2x) i 3600g m.a. ha<sup>-1</sup> (4x) de glifosato. Las placas de Petri y las bandejas sembradas se pusieron en una cámara de germinación con iluminación y a 30°C (12 horas), y con oscuridad y a 20°C (12 horas).

En la primera prueba, las semillas se pusieron a germinar en placas de Petri (90mm diámetro) con papel de filtro y 3ml de solución a las dosis anteriormente mencionadas. Se colocaron 15 semillas por placa y se hicieron dos réplicas de cada tratamiento. Se controló la germinación a los 4 y 8 días después de tratamiento (DDT).

Para la segunda prueba se colocaron 9-10 plántulas 1H en cada placa de Petri con papel de filtro humectado con agua destilada. Se hicieron 3 réplicas por cada tratamiento y se controló la mortalidad de las plántulas a los 8 y 13 DDT.

En la última prueba se utilizaron plantas 2-3H y 3-4H sembradas en bandejas (464 a 756 cm<sup>2</sup> de superficie) con una densidad entre de 0.07 a 0.1 plantas cm<sup>-2</sup>. Cada bandeja correspondió a un tratamiento. El sustrato (turbas de *Sphagnum* y *Carex*, corteza de pino y perlita) fue humectado con agua destilada. Se pulverizaron las plantas a las dosis correspondientes y se controló el número de hojas de cada planta a los 10 y 20DDT.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el paquete SAS/STAT (SAS Institute, 1992). Con el procedimiento GLM se analizó la variancia considerando los factores dosis de aplicación y procedencia de la semilla en cada estadio de tratamiento, y se hizo un test de Tukey de separación de medias para los niveles de los dos factores. En los análisis de los porcentajes de germinación (0H) y de mortalidad (1H), los valores se transformaron a arcoseno de las proporciones, y en el caso de las variable número de hojas (2-3H y 3-4H) la transformación elegida fue raíz cuadrada más 0.5.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto negativo del glifosato sobre germinación (0H) empieza antes sobre dosis más elevadas y con los días progresa hasta afectar sin diferencias los demás tratamientos excepto C. Las semillas A presentan una germinación significativamente inferior a las E (P<0.005) con la dosis 2x a los 8 DDT, por lo concerniente a este parámetro, pues, no se ha detectado ninguna variación que indique tolerancia al herbicida en la población A. PURICELLI y TUESCA (2005) afirmaron que no se pueden controlar las malezas con tratamientos sobre semillas si el herbicida utilizado no es residual. Sí que se inhibe la germinación, tanto en poblaciones sensibles como en resistentes, si se siembra sobre agar con glifosato (PRATLEY *et al.*, 1999), hecho que puede explicar la afectación diferente según la dosis aplicada habiendo utilizado paper de filtro humedecido con el herbicida.

**Tabla 1.** Separación de medias según el tratamiento y la procedencia de *D. sanguinalis* en diferentes estadios fenológicos. Los valores de medias de cada columna con diferente letra son significativamente diferentes (P=0,05), y con \* son significativamente diferentes (P=0,05) dentro de dosis de aplicación pero con distinto origen de semilla.

		0H (% germinación)		1H (% mortalidad)		2-3H (n° hojas)		3-4H (n° hojas)	
		4DDT	8DDT	8DDT	13DDT	10DDT	20DDT	10DDT	20DDT
A	C	73.66 a	90.18 a	0.00 b	3.70 c	2.73 a	3.69 a*	3.39 a*	3.91 a
	x	76.79 a	76.79 ab	40.74 ab	62.96 bc	1.98 b	0.06 b	2.41 b	0.29 b
	2x	50.00 b*	60.27 b*	59.26 ab	85.19 ab	1.94 b	0.00 b	2.27 b	0.22 b
	4x	23.66 c*	53.13 b	81.48 a	100.00 a	1.34 c	0.00 b	2.06 b	0.06 b
E	C	76.79 a	96.88 a	0.00 b	0.00 c	2.43 a	2.52 a*	4.08 a*	3.94 a
	x	73.21 a	86.61 ab	6.67 ab	40.00 b	1.60 b	0.18 b	2.85 b	0.44 b
	2x	66.52 a*	79.91 ab*	21.82 ab	60.91 b	2.09 a	0.07 b	2.52 b	0.08 b
	4x	39.73 b*	63.39 b	40.00 a	100.00 a	1.47 b	0.00 b	2.23 b	0.00 b

En tratamientos a 1H no hay diferencias significativas pero se detecta que sobretodo a los 8DDT la mortalidad es superior en plantas A que en E. Cuando los tratamientos se hacen sobre estadio 2-3H y 3-4H, no hay diferencias en la respuesta de las dos poblaciones, excepto en el tratamiento C a los 20DDT sobre 2-3H y a los 10DDT sobre 3-4H. Estas diferencias podrían ser debidas a alguna irregularidad no detectada.

En condiciones similares, PRATLEY *et al.* (1999) encontraron que las poblaciones sensibles a glifosato de *L. rigidum* se controlaban absolutamente con dosis inferiores a la recomendada cuando se trataban a 2, 3 y 5 hojas. En cambio la población resistente no quedaba totalmente controlada aún triplicando la dosis recomendada. Por lo que se puede confirmar que la población A es sensible a glifosato ya que se ha visto muy afectada por el herbicida a partir de la dosis recomendada, con una respuesta similar a la de la población E.

## CONCLUSIONES

No se ha detectado ningún indicio de tolerancia en la población de plantas procedente de Argentina. Las dos poblaciones estudiadas se han mostrado sensibles al glifosato.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a la ayuda recibida de la AECI/MAEC en el marco del PCI entre España y Iberoamérica (A/6759/06).

## BIBLIOGRAFÍA

- HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. (1977). The World's Worst Weeds, East-West Center, Honolulu.
- JAMES, C. (2007). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007. ISAAA Brief No. 37. ISAAA: Ithaca, NY. ISBN 978-1-892456-42-7.
- PRATLEY, J.; URWIN, N.; STANTON, R. y SCHAFFER, D. (1999). Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. I. Bioevaluation. Weed Science, 47, 405-411.
- PURICELLI, E. y TUESCA, D. (2005). Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. Crop Protection, 2, 533-542.

- SAS INSTITUTE Inc., (1999). SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- TORRIGLIA, A. (1999). Los agricultores argentinos reducen un 15 % sus costos. En: *Gazeta Mercantil Latinoamericana*, año 4, p.156.
- WALKER, H.L.; TILLEY, A.M. (2002). Evaluation of *Curvularia intermedia* (*Cochliobolus intermedius*) as a potential microbial herbicide for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). *Biological Control*, 25, 12-21.
- WILLIAMS, G.M.; KROES, R.; MUNRO, I.C. (2000). Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31, 117-165.

Summary: Response to glyphosate of two populations of *Digitaria sanguinalis*: Preliminary tests for the detection of tolerance. A single herbicide continuous application, or different herbicides which work on the same mode of action on the plants, can allow selection of individual plants with the ability to survive and to reproduce. Moreover, they also will leave herbicide resistant offspring. In the Argentine Pampas Region soybean (transgenic material) has become a preferential crop under the production technology of no-tillage, in which the weed control is done with glyphosate. The aim of this project is to detect, under laboratory conditions, the existence of tolerance to glyphosate in Argentine population of *Digitaria sanguinalis*. The response has been compared with a Spanish population which came from an area where glyphosate has not been applied continuously. Individuals on different development stage were treated with different glyphosate doses. Seed germination, 1-leaf seedling mortality, and leaf number evolution in two development stages seedling groups (starting with 2-3 and 3-4 leaves) were controlled. Differences were found between both populations since eight days after treatment on seed and one leaf's seedlings, finding Argentine's plants more affected. Differences have not been detected on the other treatments. The obtained results corroborate that there is not any tolerance to glyphosate in the Argentine's tested material.

Key words: systemic herbicide, large crabgrass, phenologic stage, Pampas Region.