

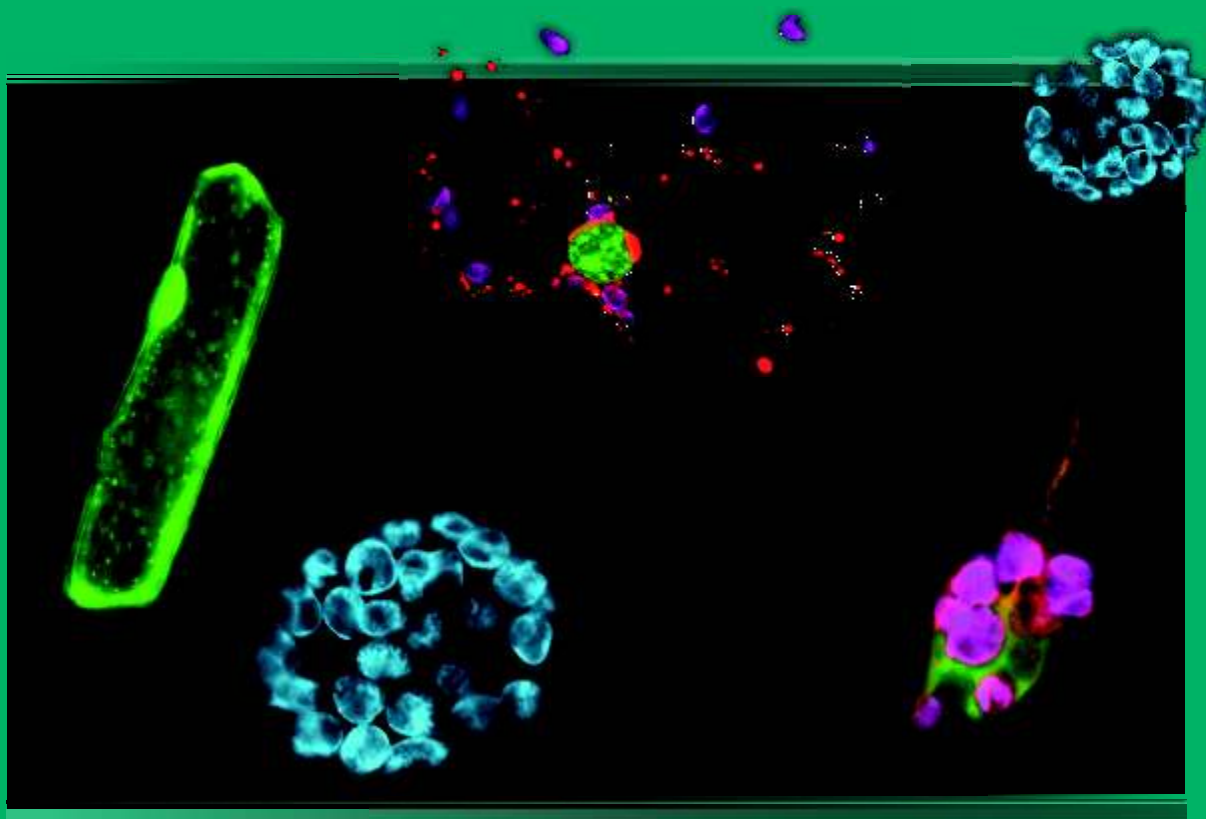
Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II

Editores:

Gabriela Levitus, Viviana Echenique,
Clara Rubinstein, Esteban Hopp y Luis Mroginski

ArgenBio 

Consejo Argentino para la Información
y el Desarrollo de la Biotecnología



■ Ediciones

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria





Consejo Argentino para la Información
y el Desarrollo de la Biotecnología

Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II

Editores:

Dra. Gabriela Levitus,
Dra. Viviana Echenique,
Dra. Clara Rubinstein,
Dr. Esteban Hopp
Ing. Agr. Luis Mroginski.

Índice

Prefacio	6
Agradecimientos	7
Lista de Autores	7
Prólogo a la Primera Edición. Dr. Francisco García Olmedo	11
Prólogo a la Segunda Edición. Dr. Francisco García Olmedo	11
Parte I: Herramientas Básicas	15
Capítulo 1: Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. Luis Mroginski, Pedro Sansberro y Eduardo Flaschland	17
Capítulo 2: Morfogénesis. Silvia Radice	26
Capítulo 3: La citogenética molecular e inmunocitogenética en el estudio de los genomas vegetales. Guillermo Seijo, Graciela I. Lavia, Germán Robledo, Aveliano Fernández y Viviana G. Solís Neffa.	34
Capítulo 4: Herramientas básicas de ingeniería genética. Ingrid Garbus, Marisa Gómez y Viviana Echenique.	47
Capítulo 5: Marcadores moleculares. María Carolina Martínez, Marcelo Helguera y Alicia Carrera.	70
Capítulo 6: Construcción de mapas de ligamiento genético, localización de genes y regiones cromosómicas asociadas a caracteres de interés en plantas. Gerardo D. L. Cervigni, Juan Pablo A. Ortiz y Sergio E. Feingold.	86
Capítulo 7: Genómica. Viviana Echenique, Juan P. Selva, Mauro Meier, Pablo Roncallo y Gustavo Schrauf.	100
Capítulo 8: Transcriptómica. Silvina Pessino y Silvina Felitti.	121
Capítulo 9: Proteómica. Paula Casati y María F. Drincovich	136
Capítulo 10: Metabolómica. Fernando Carrari, Telma E. Scarpeci, Luciano A. Abriata, Alejandro J. Vila y Estela M. Valle.	146
Capítulo 11: Metagenómica. O. Mario Aguilar y Daniel H. Grasso.	157
Capítulo 12: Bioinformática aplicada a la biotecnología vegetal. Norma Paniego, Ruth Heinz, Paula Fernández, Verónica Lia, Corina Fusari.	170
Parte II: Métodos para generar y analizar diversidad	183
Capítulo 1: Polinización y fertilización in vitro. Susana Cardone, Gladys Pérez Camargo y Aurora Picca.	185
Capítulo 2: Hibridación somática. Pablo Polci y Pablo Friedrich.	197

Capítulo 3: Epigenética y evolución. Ricardo W. Masuelli y Carlos F. Marfil	211
Capítulo 4. Mutagénesis, TILLING y EcoTILLING. Alberto Prina, Alejandra Landau, María Gabriela Pacheco y Esteban Hopp	217
Capítulo 5: Variación somaclonal. Susana Cardone, Sofía Olmos y Viviana Echenique.	229
Capítulo 6: Aplicación de la transformación genética al mejoramiento vegetal. Marina L. Díaz, Diego C. Zappacosta, Pascual M. Franzone y Raúl D. Ríos	243
Capítulo 7: Usos del silenciamiento génico para el análisis funcional de genes candidatos. Cecilia Vázquez Rovere, Ariel Bazzini, Cecilia Rodríguez, Natalia Almasia y Sebastián Asurmendi ..	259
Capítulo 8: Análisis de experimentos biológicos. Sofía Olmos, Miguel DiRenzo, Mercedes Ibáñez, Nélica Winzer	271
Capítulo 9: Métodos multivariados para estimar variabilidad genética. Nélica Winzer, Miguel DiRenzo, Sofía Olmos y Mercedes Ibáñez.	283
Parte III: Métodos para acelerar programas de mejoramiento e identificación varietal	295
Capítulo 1: Obtención de plantas doblehaploides. Pablo Polci, Verónica Conti y Rubén Miranda y Nicolás Gear.	297
Capítulo 2: Aplicaciones de los marcadores moleculares. Alicia Carrera, Gabriela Tranquilli, Antonio Garayalde y Marcelo Helguera.	311
Capítulo 3: Marcadores moleculares y mejoramiento genético de cultivos. Carlos Sala, Mariano Bulos, Analía Fresco y Emiliano Altieri.	325
Capítulo 4: Identificación y registro de variedades. Ana Laura Vicario, Marcelo Labarta y María Alicia Loray	339
Parte IV: Métodos de propagación y conservación de germoplasma	351
Capítulo 1: Micropropagación. Sofía Olmos, Gabriela Luciani y Ernestina Galdeano	353
Capítulo 2: Semilla sintética. Hebe Rey y Luis Mroginski	363
Capítulo 3: Conservación de germoplasma in vitro. Adriana Scocchi y Hebe Rey.	369
Parte V: Ejemplos de aplicaciones de la biotecnología vegetal	377
Capítulo 1: Aportes de la citogenética al estudio de genomas vegetales. Lidia Poggio, Graciela González, María Rosa Ferrari, Ana María García, Arturo Wulff, Eduardo Greizerstein, Pablo Tomas y Gustavo Schrauf.	379
Capítulo 2: Mejoramiento de plantas forrajeras en la era genómica. Germán Spangenberg, Mauro Meier y Viviana Echenique	389
Capítulo 3: Caracterización molecular de la apomixis y su aplicación en la agricultura. Silvana C. Pessino y Juan Pablo A. Ortiz	403
Capítulo 4: Avances de la biotecnología en cultivos ornamentales. Alejandro S. Escandón, Pablo A. Marinangeli y Mariana Pérez de la Torre.	421

Capítulo 5: Aplicación de la biotecnología en la mejora y conservación de especies forestales. Susana Marcucci Poltri, Leonardo Gallo, Noga Zelener, Susana Torales, Sandra Sharry	435
Capítulo 6: Técnicas de ingeniería genética para conferir resistencia a virus en plantas. Mariana del Vas, Ana Julia Distéfano, Cecilia Vázquez-Rovere, Esteban H. Hopp.	447
Capítulo 7: Obtención de plantas resistentes a enfermedades bacterianas. Adrián Vojnov, Mercedes Rivero y Diego Zappacosta	457
Capítulo 8: Aproximaciones biotecnológicas para un manejo sustentable del estrés fúngico en la agricultura. Juan Carlos Díaz Ricci; Ursula Tonello; Gustavo Martínez-Zamora; Sergio Salazar; Nadia Chalfoun; Gabriel Vellicce; Carlos Grellet; Paula Filippone; Alicia Mamani; Marta Ontivero y Atilio Pedro Castagnaro.	467
Capítulo 9: Utilización de cultivos de tejidos para la obtención y conservación de plantas libres de enfermedades. Vilma Conci.	481
Capítulo 10: Obtención de plantas resistentes a insectos. Dalia Lewi y Clara Rubinstein	495
Capítulo 11: Aplicaciones biotecnológicas al manejo de malezas. Germán Ferrari y Julio E. DeLucchi.	507
Capítulo 12: Obtención de plantas tolerantes a distintos tipos de estreses abióticos. Florencia del Viso, Andrea F. Puebla, Néstor Carrillo y Raquel L. Chan	519
Capítulo 13: Manipulación genética del metabolismo secundario en plantas. Alicia Zelada, María Binaghi	529
Capítulo 14: Mejoras de calidad en alimentos. Clara Rubinstein, Gabriela Levitus	539
Capítulo 15: Fitorremediación. María Eugenia Segretín, Paula Bey y Alejandro Mentaberry	545
Capítulo 16: Plantas como biorreactores. Fernando Bravo Almonacid, Sonia Wirth, María Eugenia Segretin, Mauro Morgenfeld, Ezequiel Matías Lentz.	559
 Parte VI: Manejo responsable de la tecnología	 569
 Capítulo 1: Criterios científicos para la evaluación de la bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. Clara Rubinstein	 571
Capítulo 2: Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados - Marcos Regulatorios. Moisés Burachik	583
Capítulo 3: Flujo génico y su posible impacto ambiental. Mónica Poverene, Soledad Ureta y Agustina Gutiérrez.	595
Capítulo 4: Detección de OGM en la cadena agroalimentaria. Florencia Longo y Ana Vicario.	603
Capítulo 5: Manejo integrado de plagas – Programa de Refugios. Viviana Confalonieri y Cecilia Roca.	613
Capítulo 6: Resistencia de malezas a herbicidas: evolución y estrategias de manejo. Daniel Tuesca, Luisa Nisensohn, Mario R. Sabbatini, Guillermo Chantre.	621
 Parte VII: Biotecnología y sociedad	 631
 Capítulo 1: La transformación tecnológica y los nuevos desafíos. Carmen Vicién.	 633

Capítulo 2: Adopción de los cultivos genéticamente modificados en Argentina y en el mundo. Gabriela Levitus	639
Capítulo 3: Biotecnología en la mira: el problema de la percepción. Valeria Durand	643

PREFACIO

En oportunidad de la Primera Edición de “Biotecnología y Mejoramiento Vegetal”, nos habíamos propuesto responder a la necesidad de un texto en idioma español, dirigido a docentes y estudiantes de los cursos de Agronomía y de otras formaciones relacionadas con las tecnologías aplicadas al mejoramiento vegetal, así como brindar un recurso de información general y consulta para no especialistas. Esta Segunda Edición, intenta actualizar, profundizar y extender estas temáticas, atendiendo a la rápida evolución en este campo del conocimiento.

En el contexto de los principios básicos del mejoramiento, es decir, generar variabilidad genética y seleccionar características deseables, las tecnologías evolucionan rápidamente y, del mismo modo, se acelera la transferencia del conocimiento básico a las aplicaciones. Esta edición intenta reflejar este proceso dinámico y aportar información actualizada con ejemplos de aplicaciones al mejoramiento de diferentes especies vegetales.

En este trabajo se han reunido las contribuciones de investigadores y especialistas en diferentes campos relacionados con el mejoramiento. En las secciones dedicadas a las herramientas básicas, se ha hecho foco en las técnicas de cultivo de tejidos y micropropagación que se utilizan en sí mismas para generar variabilidad, conservar germoplasma, producir clones libres de enfermedades o como paso obligado en la construcción de plantas transgénicas. En la sección que se ocupa de las aplicaciones de estas técnicas a casos específicos, se brindan ejemplos de mejoramiento logrado en diferentes especies.

La tecnologías “ómicas” (genómica, transcriptómica, metabolómica) constituyen una de las herramientas más importantes en el mejoramiento, por la potencialidad que presentan, tanto en el campo de la investigación básica, en el mapeo de genes y la identificación de marcadores moleculares, como en la identificación de funciones y redes regulatorias que influyen en las características que se desean mejorar: resistencia a enfermedades y plagas, rendimiento, calidad nutricional y respuestas a diferentes tipos de estrés ambiental, entre otras.

Es claro que dentro de las tecnologías de mejoramiento, la transgénesis o transformación genética es una de las herramientas más versátiles y poderosas, ya que permite resolver problemas que por vía del mejoramiento convencional no sería posible enfrentar. En esta edición se presentan numerosos ejemplos de transgénesis para la obtención de cultivos tolerantes a estrés biótico y abiótico, a plagas y enfermedades o con mejoras en su calidad nutricional.

Desde 1996, cuando se cultivaron por primera vez, la superficie mundial de cultivos transgénicos aumentó 80 veces, alcanzando las 134 millones de hectáreas en 2009. Según el último informe del ISAAA (Servicio Internacional para las Adquisiciones Agrobiotecnológicas) estas hectáreas fueron cultivadas por 14 millones de agricultores de 25 países, siendo Argentina uno de los líderes en adopción, con el 16% del área global.

Por otro lado, es importante notar que se han establecido sistemas de control a nivel internacional para regular el desarrollo y la aplicación de la ingeniería genética al mejoramiento de organismos vivos (conocidos como organismos genéticamente modificados u OGMs). Si bien éstos no se limitan a plantas, en este trabajo se presentan sólo los aspectos regulatorios y de bioseguridad relacionados con los cultivos transgénicos.

Esperamos que esta nueva edición constituya una herramienta útil y accesible para docentes, estudiantes y profesionales que se dedican y se dedicarán a la noble tarea de mejorar la agricultura.

Los Editores

AGRADECIMIENTOS

A todos y cada uno de los 141 autores, en su mayoría investigadores y profesionales de instituciones argentinas, que han contribuido con sus aportes.

Al Dr. Francisco García Olmedo, reconocido investigador y catedrático español, por regalarnos también el prólogo de esta segunda edición.

Al Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología (ArgenBio), por auspiciar la publicación del libro.

A los revisores, colegas y personal de apoyo, por sus valiosas contribuciones para concretar este proyecto.

Los Editores

El uso de fuentes y nombres comerciales en este documento es sólo para fines de identificación y no implica ningún aval ni recomendación. Además, los contenidos u opiniones expresadas en esta publicación son de exclusiva responsabilidad de los autores.

LISTAS DE AUTORES (por orden alfabético)

Abriata	Luciano A.	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Aguilar	O. Mario	IBBM, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP
Almasia	Natalia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Altieri	Emiliano	Nidera Semillas
Asurmendi	Sebastián	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Bazzini	Ariel	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Bey	Paula	INGEBI, CONICET
Binaghi	María	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Bravo Almonacid	Fernando	INGEBI, CONICET
Bulos	Mariano	Nidera Semillas
Burachik	Moisés	Dir. de Biotecnología, Min. de Agricultura, Ganadería y Pesca
Cardone	Susana	Facultad de Agronomía, UBA
Carrari	Fernando	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Carrera	Alicia	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Carrillo	Néstor	IBR - Facultad de Cs Bioquímicas y Farmaceuticas, UNR
Casati	Paula	CEFOBI, Universidad Nacional de Rosario
Castagnaro	Atilio Pedro	EEAOC, Tucumán
Cervigni	Gerardo D.	CEFOBI, Universidad Nacional de Rosario
Chalfoun	Nadia	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Chan	Raquel L.	Universidad Nacional del Litoral
Chantre	Guillermo	CERZOS, CONICET, Universidad del Sur
Conci	Vilma	INTA – IFFIVE
Confalonieri	Viviana	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA)
Conti	Verónica	INTA-EEA Bordenave
del Vas	Mariana	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
del Viso	Florencia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Delucchi	Julio E.	Monsanto Argentina

Díaz	Marina L.	CERZOS, CONICET, Universidad del Sur
Díaz Ricci	Juan Carlos	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
DiRienzo	Miguel	Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Córdoba
Distéfano	Ana Julia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Drincovich	María F.	CEFOBI, Universidad Nacional de Rosario
Durand	Valeria	Ketchum Argentina - ArgenBio
Echenique	Viviana	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Escandón	Alejandro S.	Instituto de Floricultura, INTA Castelar
Feingold	Sergio E.	INTA - EEA Balcarce
Felitti	Silvina	Universidad Nacional de Rosario
Fernández	Aveliano	Fac. Cs Exactas y Naturales y Agrimensura UNNE IBONE
Fernández	Paula	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Ferrari	Germán	Monsanto Argentina
Ferrari	María Rosa	Universidad Nacional de Buenos Aires
Filippone	Paula	EEAOC, Tucumán
Flaschland	Eduardo	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) – IBONE
Franzone	Pascual M.	IGEAF INTA Castelar
Fresco	Analía	Nidera Semillas
Friedrich	Pablo	Universidad Nacional del Sur
Fusari	Corina	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Galdeano	Ernestina	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) – IBONE
Gallo	Leonardo	INTA - EEA Bariloche
Garayalde	Antonio	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Garbus	Ingrid	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
García	Ana María	Facultad de Agronomía, UBA
García Olmedo	Francisco	Universidad Politécnica de Madrid
Gear	Nicolás	Syngenta
Gómez	Marisa	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
González	Graciela	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Grasso	Daniel H.	Instituto de Suelos, INTA Castelar
Greizerstein	Eduardo	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA
Grellet	Carlos	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Gutiérrez	Agustina	Universidad Nacional del Sur
Heinz	Ruth	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Helguera	Marcelo	INTA EEA Marcos Juárez
Hopp	Esteban	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Ibáñez	Mercedes	Universidad Nacional de Río Cuarto
Labarta	Marcelo	Instituto Nacional de Semillas – INASE
Landau	Alejandra	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Lavia	Graciela I.	Fac. de Cs Exactas y Naturales y Agrimensura UNNE, IBONE
Lentz	Ezequiel M.	INGEBI, CONICET
Levitus	Gabriela	ArgenBio
Lewi	Dalia	IGEAF INTA Castelar
Lia	Verónica	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Longo	Florencia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Loray	María Alicia	Dirección de Calidad - INASE
Luciani	Gabriela	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Mamani	Alicia	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Marcucci Poltri	Susana	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Marfil	Carlos F.	INTA - EEA Mendoza
Marinangeli	Pablo A.	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Martínez	Ma. Carolina	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar

Martínez-Zamora	Gustavo	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Masuelli	Ricardo W.	INTA - EEA Mendoza
Meier	Mauro	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Mentaberry	Alejandro	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Miranda	Rubén	Asociación Cooperativas Argentinas (ACA), Univ. del Sur
Morgenfeld	Mauro	INGEBI, CONICET
Mroginski	Luis	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) – IBONE
Nisensohn	Luisa	Universidad Nacional de Rosario
Olmos	Sofía	Laboratorio de Biotecnología, INTA Pergamino
Ontivero	Marta	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Ortiz	Juan Pablo	Facultad de Ciencias Agrarias, UNR
Pacheco	Ma. Gabriela	IGEAF INTA Castelar
Paniego	Norma	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Pérez Camargo	Gladys	Facultad de Agronomía, UBA
Pérez de la Torre	Mariana	Instituto de Floricultura, INTA Castelar
Pessino	Silvina C.	Facultad de Ciencias Agrarias, UNR
Picca	Aurora	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Poggio	Lidia	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Polci	Pablo	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Poverene	Mónica	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Prina	Alberto	IGEAF INTA Castelar
Puebla	Andrea F.	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Radice	Silvia	INTA Castelar
Rey	Hebe	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) - IBONE
Ríos	Raúl D.	IGEAF INTA Castelar
Rivero	Mercedes	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Robledo	Germán	Fac. de Cs Exactas y Naturales y Agrimensura UNNE, IBONE
Roca	Cecilia	Dow Agrosiences
Rodríguez	Cecilia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar
Roncallo	Pablo	CERZOS, CONICET
Rubinstein	Clara	Monsanto Argentina – ILSI
Sabbatini	Mario R.	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Sala	Carlos	Nidera Semillas
Salazar	Sergio	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Sansberro	Pedro	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) - IBONE
Scarpeci	Telma E.	IBR - Facultad de Cs Bioquímicas y Farmaceuticas, UNR
Schrauf	Gustavo	Facultad de Agronomía, UBA
Scocchi	Adriana	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) - IBONE
Segretin	Ma. Eugenia	INGEBI, CONICET
Seijo	Guillermo	Fac. de Cs Exactas y Naturales y Agrimensura UNNE, IBONE
Selva	Juan P.	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Sharry	Sandra	Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata
Solís Neffa	Viviana G.	Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) – IBONE
Spangenberg	Germán	Victorian Department of Primary Industries (DPI)
Tomas	Pablo	FCA, Universidad Nacional del Litoral
Tonello	Ursula	INSIBIO, CONICET, Universidad Nacional de Tucumán
Torales	Susana	IRB, INTA Castelar
Tranquilli	Gabriela	IRB, INTA Castelar
Tuesca	Daniel	Facultad de Ciencias Agrarias, UNR
Ureta	Soledad	CERZOS, CONICET, Universidad Nacional del Sur
Valle	Estela M.	IBR - Facultad de Cs Bioquímicas y Farmaceuticas, UNR
Vázquez Rovere	Cecilia	Instituto de Biotecnología, INTA Castelar

Vellicce	Gabriel	EEAOC, Tucumán
Vicario	Ana Laura	Dirección de Calidad – INASE
Vicién	Carmen	Facultad de Agronomía, UBA
Vila	Alejandro J.	IBR - Facultad de Cs Bioquímicas y Farmaceuticas, UNR
Vojnov	Adrián	Fundación Pablo Cassará
Winzer	Nélida	Universidad Nacional del Sur
Wirth	Sonia	INGEBI, CONICET
Wulff	Arturo	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Zappacosta	Diego C.	Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
Zelada	Alicia	Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
Zelener	Noga	IRB, INTA Castelar

PRÓLOGOS

Prólogo a la primera edición

Recientemente, un periodista, que compartía una ensalada con un biólogo, exclamó: ¡Si yo sólo aspiro a que la lechuga que yo tenga que consumir no tenga genes! Cuando el biólogo le explicó que al comer ésta no había más opción que engullir unos 25.000 genes del genoma de *Lactuca sativa* y varios miles de genes adicionales correspondientes a los genomas de los microorganismos que habitual y cómodamente habitan en la superficie de las turgentes hojas, el periodista quedó atónito.

Según un eurobarómetro de hace unos meses, más de dos tercios de los europeos estaban en contra de los alimentos transgénicos. Sin embargo, en la misma encuesta se incluía una aseveración - los tomates normales no tienen genes, los transgénicos sí - frente a la que también más de dos tercios de los encuestados se mostraban de acuerdo o confesaban su ignorancia. Es una lástima que dicho eurobarómetro no registrara la proporción correspondiente al encabezamiento “no saben, pero sí contestan”, aunque es fácil colegir que dicha fracción era alta y en extremo vergonzante.

Los avances del conocimiento biológico y de la biotecnología destacan en el panorama científico-técnico de este fin de siglo y han impregnado las más diversas vertientes de nuestra vida cotidiana sin que se haya aceptado que un mínimo de estos conocimientos debería formar parte integral de la cultura general. La ignorancia de los hechos básicos relativos a nuestra herencia genética o a nuestra alimentación se considera incluso de buen tono. Esto se refleja de entrada en el caos semántico que se ha creado en torno a la biotecnología, del que hay que culpar no sólo a la ignorancia del ciudadano sino también a la torpeza de los científicos y a la dictadura de los medios de comunicación. Es preciso despejar este caos si queremos entendernos a partir de la ciencia, y no a sus espaldas.

Términos tales como organismos genéticamente modificados (OGMs), alimentos transgénicos, ingeniería genética, ADN recombinante, transferencia génica, clonación, alimentos naturales, mejora genética e, incluso, biotecnología, han invadido nuestro lenguaje cotidiano sin orden ni concierto. A estas alturas empieza a ser difícil normalizar la situación, pero tratemos de contribuir a ello.

La definición de biotecnología abarca a todas las tecnologías mediadas por un ser vivo o por partes de él, sean éstas células o enzimas aisladas. Bajo esta definición se incluyen desde la propia agricultura, inventada hace diez milenios, y la fabricación de las veinticuatro clases de cerveza mesopotámica, que tanto gustaban a Nabucodonosor, hasta la última forma de producir

insulina humana. No es apropiado, por tanto, usar el término de forma restringida para referirse exclusivamente a los últimos avances basados en la biología molecular. Para esto último resulta más adecuado el uso de la expresión “biotecnología molecular”.

Prácticamente la totalidad de lo que ponemos en nuestra mesa ha sido genéticamente modificado. La domesticación de plantas y animales supuso una alteración muy drástica de sus genomas y la mejora genética subsiguiente ha ido añadiendo modificaciones extensas y sustanciales. Lo importante es la naturaleza de los cambios introducidos y no los métodos empleados para ello. De hecho, la ingeniería genética es sólo uno de esos métodos - una modalidad más de mejora genética - y sólo sirve para modificar uno o pocos genes de forma muy selectiva. No serviría para obtener razas de perro tan distintas - en su tamaño, morfología y temperamento - como el Chihuahua y el Pit Bull Terrier, que en cambio han surgido de la mano del hombre gracias a los métodos genéticos más tradicionales. En consecuencia, resulta absurdo denominar OGMs sólo a los productos de la ingeniería genética para contraponerlos a los supuestamente “naturales”.

Casi nada de lo que ponemos en nuestra mesa es natural, hasta el punto que la mayoría de los organismos de los que derivamos nuestro alimento han perdido su capacidad de sobrevivir por sí mismos en la naturaleza. Es más, para llegar a nuestra mesa han debido sufrir alteraciones genéticas que les priven de infinidad de sustancias naturales que son tóxicas o inhibitorias para el ser humano. Una variedad moderna, modificada por ingeniería genética, está tan lejos de ser natural como las que la precedieron. ¡Por fortuna! Ya que es obvio que natural no es sinónimo de inocuo.

Se consideran organismos transgénicos aquellos cuyo genoma ha sido alterado por ingeniería genética o, si se prefiere, por sastrería genética, ya que las operaciones fundamentales de esta vía experimental consisten en cortar y coser (unir) piezas de ADN. Un gen es un tramo de ADN (una secuencia construida con las bases A, T, G, C) que, en general, determina una proteína (una secuencia de aminoácidos), de acuerdo con las equivalencias plasmadas en la clave genética. Mediante la nueva tecnología se puede alterar un genoma por la adición de uno o varios (pocos) genes que previamente no formaban parte de él o por la inutilización de uno o varios genes entre los ya existentes. Estas operaciones se hacen para conferir caracteres deseables y para eliminar caracteres indeseables del organismo, respectivamente, objetivos que no difieren de los de la mejora genética tradicional.

En lo que difieren la vieja y la nueva tecnología es en el repertorio génico que se puede manejar - genes de la misma especie, en el caso de la vieja, y de cualquier especie, en el de la nueva - y en el modo de introducir y transferir la modificación genética, por vía sexual o por adición exógena (transformación), respectivamente. Los organismos modificados por transformación se suelen denominar transgénicos. Llamar transgénicos a los alimentos derivados de dichos organismos resulta menos apropiado porque, como dice el refrán, “degradado es todo gen que entra por boca de cristiano”. Es absurdo llamar transgénico al azúcar procedente de una remolacha transgénica, ya que es un producto químico puro, esencialmente indistinguible del aislado de la remolacha normal o de la caña de azúcar.

Con acertado criterio, los editores de esta obra han adoptado un tratamiento integral de todos los métodos, objetivos y logros de la alteración genética de las plantas con fines prácticos. Faltan en nuestro idioma obras que acerquen con rigor a una parte tan importante de nuestra cultura general. Las adaptaciones a los nuevos avances de textos preexistentes, hechas a menudo por un único autor, suelen adolecer de falta de familiaridad con la nueva tecnología. De aquí que la aproximación adoptada en esta obra, según la cual cada capítulo está a cargo de verdaderos especialistas, sea la más apropiada en la actualidad.

Dr. Francisco García Olmedo, 2004

Prólogo a la segunda edición

La buena fortuna de un libro lleva aparejada la esclavitud de su autor o autores, que quedan encadenados a la necesidad de mantenerlo vivo en sucesivas ediciones. Estamos ante la segunda edición de “Biotecnología y Mejoramiento Vegetal”, un texto que, hace seis años, supuso una espléndida y afortunada aportación a la recensión de un área tecno-científica en vigorosa ebullición y de gran relevancia práctica. La necesidad de esta edición surge de múltiples circunstancias, entre las que cabe resaltar el enorme avance del conocimiento que ha tenido lugar, la redefinición de los retos entonces planteados y la aparición de otros nuevos que han diversificado los objetivos prácticos de la disciplina. Además, entre la aparición de la primera edición y la de esta segunda, ha ocurrido una crisis alimentaria significativa que no es separable de otras, tales como la económica, la climática o la energética.

Según todos los indicios, la crisis alimentaria va a ser duradera y obedece a factores múltiples: la subida del precio del petróleo, el bajo nivel de reservas, la especulación, el incremento de la población y del consumo per capita, el desvío de una parte sustancial de la producción agraria hacia la fabricación de biocombustibles, la disminución de los rendimientos por el estrés debido al cambio climático y la falta de inversión en innovación agropecuaria. Parece como si el éxito relativo de las últimas décadas hubiera hecho bajar la guardia.

En particular, la tasa de crecimiento de la producción de alimentos ha ido por detrás de la del crecimiento de la población durante la última década, justo el tipo de comportamiento relativo que propuso Malthus hace más de dos siglos. En el último medio siglo, ha sido la mejora genética la que ha tenido el protagonismo técnico en la derrota de la amenaza maltusiana, ya que la superficie de suelo laborable apenas ha crecido. En la actualidad, se ha adquirido de pronto conciencia de que no se sabe bien cómo se va a conseguir el aumento de la producción de alimentos en un 70-100 % para el año 2050, necesidad que se considera mínima para alimentar una población proyectada de unos 9.000 millones de seres humanos que, además, tendrán una demanda per cápita significativamente superior a la actual. Si se quiere lograr dicho objetivo, habremos de ser aún más eficaces en las próximas décadas de lo que lo hemos sido en las precedentes.

Por supuesto, las respuestas a los retos planteados ni han sido ni serán exclusivamente técnicas, pero todas las estrategias posibles han tenido y tendrán un importante componente técnico y es sobre este componente sobre el que se centra el libro que ahora se reedita.

El cambio climático está alterando los estreses bióticos y abióticos a que deben hacer frente las cosechas, lo que hace prioritaria la investigación básica y aplicada tanto en el esclarecimiento de los mecanismos involucrados como en la adaptación de las cosechas tradicionales a las nuevas condiciones, así como el desarrollo de nuevas cosechas que sean más apropiadas para condiciones extremas.

La crisis energética ha impulsado un nuevo interés por los biocombustibles, en los que se han centrado algunas esperanzas infundadas que han dado lugar a la formulación de objetivos políticos que pueden tener consecuencias perjudiciales para la alimentación mundial. Así por ejemplo, los objetivos declarados para fechas próximas, tanto por lo EEUU como por la UE, están determinando una competencia por el suelo agrícola de la generación de biocombustibles con la producción de alimentos que no puede sino encarecer significativamente los alimentos y aumentar el número de hambrientos en el mundo, así como contribuir a la destrucción de bosque tropical. Por otra parte, La búsqueda de especies y variedades aptas para la producción de biocombustibles plantea retos formidables a la investigación de su agronomía y a su mejora convencional y biotecnológica.

Es en el escenario que a grandes rasgos acabamos de esbozar, donde la presente edición de “Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II” manifiesta su pleno potencial y debe alcanzar su máxima funcionalidad.

Dr. Francisco García Olmedo, 2010

VI. CAPÍTULO 6

Resistencia de malezas a herbicidas: evolución y estrategias de manejo

Danie I Tuesca; Luisa Nisensohn;
Mario R Sabbatini; Guillermo Chantre

Introducción

En los agroecosistemas la presencia de malezas interfiere dificultando las tareas de siembra y cosecha y generando pérdidas de rendimiento por competencia con los cultivos. La magnitud de estas pérdidas varía en función de la interacción de numerosos factores tales como la composición de la comunidad de malezas, la abundancia relativa de cada una de las especies que la integran, las condiciones ambientales, la modalidad de conducción del cultivo, entre otros. Los niveles de pérdida causados por las malezas pueden oscilar entre 0 y 30% para especies poco agresivas con bajos niveles de infestación hasta un 80% para malezas más competitivas, en densidades muy altas y frecuentemente coexistiendo con el cultivo durante todo su ciclo.

La reducción del grado de abundancia de las poblaciones de malezas que acompañan los cultivos puede efectuarse mediante el control mecánico, empleando diversas herramientas de labranza; el control biológico, que utiliza agentes biocontroladores (fundamentalmente insectos y hongos) que afectan malezas específicas; el control cultural, donde se aprovechan las características propias de los cultivos que integran la secuencia, y el control químico, que involucra el empleo de herbicidas. Actualmente, el control mecánico tiene una utilidad limitada debido a la adopción masiva de sistemas con labranza mínima o directamente sin labranza (siembra directa). El control biológico, si bien es una metodología de manejo de plagas altamente recomendado por su bajo impacto ambiental, se encuentra limitado a aquellas especies de malezas de las cuales se han aislado y autorizado el uso de agentes biocontroladores. El control cultural, utilizado por los agricultores desde el inicio mismo de la agricultura, ha recibido en los últimos años una

especial atención, por constituir una alternativa ante el uso excesivo de herbicidas. Una de las opciones más conocidas y aplicadas es la rotación de cultivos con diferente ciclo y hábito de crecimiento, la elección de cultivares competitivos, la modificación de la fecha de siembra y el acortamiento de la distancia entre surcos a los fines de aumentar la habilidad competitiva de los cultivos frente a las malezas.

En las últimas décadas el enfoque alternativo más utilizado para solucionar el problema de las malezas consistió en el control químico utilizando herbicidas. Una de las razones de este predominio radica en la relativa simplicidad de la tecnología, que permite su empleo aún con conocimientos escasos de los fundamentos en que se sustenta. La elección de estrategias de reducción o de erradicación de malezas en reemplazo de estrategias de prevención y contención se vio favorecida no sólo por factores tecnológicos, como la eficacia de los principios activos y la tecnología de aplicación, sino también por factores económicos y socio-culturales como la disminución de los costos relativos, el aumento de la escala productiva y las características de los actores involucrados en el proceso de producción. A pesar de la continua generación y sustitución de diversos herbicidas en las últimas dos décadas no fue posible erradicar a las malezas sino que por el contrario se seleccionaron biotipos tolerantes y/o resistentes a algunos principios activos. La resistencia de diferentes biotipos de insectos a diversos plaguicidas es el mayor desafío del control de plagas desde hace medio siglo en todo el mundo. En los últimos años, este mismo desafío se ha trasladado al control de malezas, fundamentalmente en aquellos cultivos en los que se aplican intensamente herbicidas.

En el manejo de malezas en cultivos se han diferenciado dos conceptos que se relacionan con la capacidad que tienen algunas plantas de sobrevivir a los tratamientos con herbicidas. Así, el término tolerancia se emplea para definir la capacidad natural heredable de una especie para sobrevivir y reproducirse luego de un tratamiento herbicida, mientras que la resistencia a herbicidas se define como la capacidad heredable de una población o biotipo para sobrevivir y reproducirse después de la aplicación

de una dosis de herbicida que era letal para la población original. Desde la aparición de los primeros herbicidas selectivos en el mercado argentino en los años 60', los agricultores han lidiado con el problema de la tolerancia. Así por ejemplo, varias especies de malezas son tolerantes al 2,4-D y a la atrazina, dos herbicidas selectivos ampliamente utilizados desde hace muchos años en los cultivos de trigo y maíz, respectivamente. Para controlar esas malezas tolerantes se utilizan otros herbicidas o se emplean diferentes métodos de control. En cambio, la resistencia es un fenómeno relativamente nuevo, y si bien en nuestro país se ha manifestado en unas pocas especies, está generando una creciente preocupación en los agricultores.

Desarrollo de resistencia en poblaciones de malezas

El primer registro de resistencia a herbicidas se reportó en 1970 en Estados Unidos, en una población de *Senecio vulgaris* (senecio) que mostró resistencia a simazina y atrazina luego de un período de diez años en el que estos principios activos se aplicaban una o dos veces por año. A nivel mundial, la tasa de aparición de biotipos resistentes se ha incrementado notablemente. En 1983 se habían detectado 60 casos de resistencia y en la actualidad se registran 321 biotipos resistentes que corresponden a 185 especies, de las cuales 111 son dicotiledóneas y 74 son gramíneas. Si bien se ha documentado resistencia a la mayoría de los grupos químicos, un alto porcentaje de los casos corresponden a inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS), de los fotosistemas I y II, de la síntesis de ácidos grasos y de las auxinas sintéticas (figura 1).

En las poblaciones de malezas, el desarrollo de resistencia es un proceso evolutivo en respuesta a la presión de selección ejercida por el uso repetido de herbicidas con el mismo sitio de acción. Los biotipos susceptibles mueren, mientras que los resistentes sobreviven y producen semillas. Si continúa la aplicación de herbicidas que actúan sobre el mismo sitio de acción, la proporción del biotipo resistente se incrementa en relación al biotipo susceptible (figura 2).

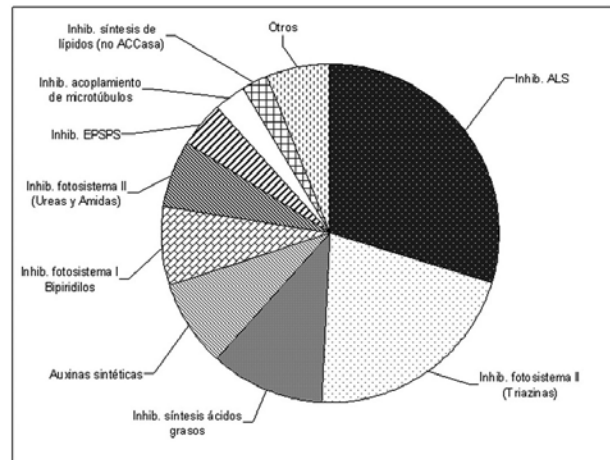


Figura 1. Distribución de los casos registrados de resistencia en función de los distintos grupos de herbicidas.

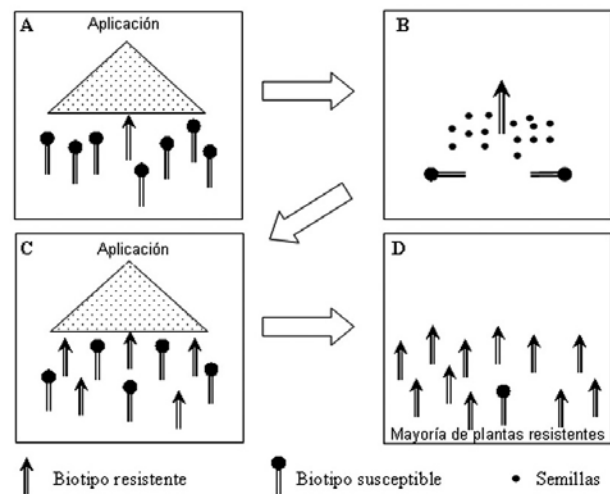


Figura 2. Evolución de la resistencia. (A) una población de malezas que presenta mayoría de plantas susceptibles es pulverizada con un herbicida. Como el biotipo resistente al herbicida se encuentra en una frecuencia muy baja, la población en general es eficientemente controlada. (B) Con la aplicación recurrente del mismo herbicida (u otros herbicidas que actúan en el mismo sitio de acción) las plantas susceptibles son eliminadas antes de formar semillas que garantizan su supervivencia. Contrariamente, la frecuencia del biotipo resistente se incrementa ya que dispersan sus semillas normalmente. (C) Al persistir la aplicación de estos herbicidas, la densidad del biotipo resistente se incrementa significativamente. (D) Luego de algunos años la mayoría de los individuos de la población es resistente y el herbicida ya no resulta una herramienta eficiente para el control de la maleza.

La detección de biotipos resistentes no es inmediata; este proceso sólo comienza a percibirse cuando los individuos resistentes representan aproximadamente el 30% de la población. Uno de los requisitos para la evolución de resistencia en las poblaciones de malezas es la presencia de variación genética heredable para la resistencia. Así, en poblaciones no seleccionadas se pueden distinguir dos situaciones:

la población no posee alelos que confieren resistencia al herbicida cuando se inicia el proceso de selección. En este caso la probabilidad de que la población adquiera resistencia a través de mutación, dependerá de i) la frecuencia de mutación, ii) las desventajas selectivas de los alelos o genes que confieren resistencia en un ambiente sin selección y iii) el tamaño de la población.

preexistencia de genes resistentes. En este caso los alelos que confieren resistencia están presentes en la población antes de aplicarse el herbicida, aunque en una frecuencia muy baja para ser detectados. En esta situación, la evolución de la resistencia será más rápida que en 1.

Mecanismos de resistencia

Existen tres mecanismos por los cuales se anula la actividad fitotóxica del herbicida dentro de la planta y se genera resistencia:

Modificación del sitio de acción. Se producen cambios estructurales en la molécula que constituye el sitio de acción del herbicida. De esta manera, el herbicida no puede unirse a dicha molécula y se inhibe el efecto fitotóxico (ej.: resistencia a las triazinas o a los inhibidores de ALS).

Detoxificación por metabolización. Se producen cambios en la tasa de detoxificación del herbicida. En una planta resistente, el herbicida se degrada a metabolitos no fitotóxicos en forma más rápida que en una planta susceptible (ej.: algunos casos de resistencia a los inhibidores de la síntesis de ácidos grasos).

Reducida absorción, transporte o secuestro. El secuestro o aislamiento implica que el herbicida sea apartado de las regiones metabólicamente activas de la célula vegetal, y trasladado a sitios menos activos (por ejemplo, una vacuola) donde es inocuo para el cre-

cimiento vegetal. Este paso frecuentemente es precedido por una desactivación por conjugación con otra molécula (por ejemplo, un azúcar). Se produce de este modo una reducción de la concentración del herbicida en el sitio de acción. Este mecanismo ha sido sugerido en algunos casos de resistencia a los inhibidores de la síntesis de ácidos grasos y del fotosistema I.

Factores que modifican la tasa de evolución de la resistencia

En las poblaciones de malezas existen diferentes factores que influyen en los procesos evolutivos y que interactúan para determinar tanto la probabilidad como la velocidad a la que puede ocurrir la resistencia. Estos factores están relacionados con características de las poblaciones de malezas, de los herbicidas y de los sistemas de manejo del agroecosistema.

1 Factores relacionados con la biología y genética de las poblaciones de malezas:

1.a. Frecuencia de alelos resistentes. A medida que dicha frecuencia aumenta en una población, la tasa de evolución de la resistencia será mayor.

1.b. El modo de herencia de la resistencia. Si la resistencia es conferida por alelos dominantes la evolución será más rápida, debido a que tanto los individuos homocigotas como heterocigotas resultarán resistentes.

1.c. Número de genes que confieren resistencia. La herencia de la resistencia es comúnmente monogénica, es decir que está controlada por un solo gen, dando lugar a tasas de evolución relativamente elevadas. Por el contrario, cuando la resistencia es poligénica y está asociada con varios genes, la evolución es más lenta, ya que se requieren recombinaciones genéticas durante varias generaciones para reunir un número suficiente de alelos que den lugar a un genotipo resistente.

1.d. Características reproductivas de la especie. En las especies alógamas, los alelos de resistencia pueden dispersarse no sólo a través de las semillas, sino también mediante el polen transportado por el viento o por insectos. En las especies autóгамas el flujo génico es sumamente reducido entre individuos, y en

este caso la dispersión de alelos resistentes se produce casi exclusivamente a través de semillas.

1.e. Capacidad reproductiva de la maleza. La producción de un elevado número de semillas favorece la dispersión de la resistencia.

1.f. Tamaño de la población de malezas. En poblaciones de malezas con densidades elevadas, la probabilidad de que algunos individuos resistentes estén presentes será mayor.

1.g. Longevidad de las semillas en el suelo. En las especies que poseen un banco de semillas persistente, sólo una fracción de éste estará expuesto a la selección por el herbicida en cada estación de crecimiento. Así, en años sucesivos las poblaciones de plántulas reclutadas a partir del banco incluirán una proporción de individuos susceptibles. Esto resultará en una disminución de la frecuencia de alelos resistentes y hará más lenta la evolución de la resistencia.

1.h. Mecanismos de dispersión de semillas. En el caso de especies anemófilas, el viento puede dispersar semillas de genotipos resistentes a áreas no infestadas. La dispersión por efecto antrópico también debe tenerse en cuenta, ya que la maquinaria es una vía de transporte de estos genotipos hacia áreas libres de individuos resistentes.

1.i. Período de emergencia. En la medida en que las poblaciones de malezas tengan períodos prolongados de germinación, la probabilidad de que el herbicida afecte sólo a una parte de dicha población se incrementa. Los individuos susceptibles que emerjan con posterioridad a la aplicación contribuirán a disminuir la frecuencia de alelos resistentes y la evolución de la resistencia será más lenta.

1.j. El valor adaptativo (*fitness*) relativo de los genotipos resistentes y susceptibles. El valor adaptativo de un genotipo se mide a través del éxito reproductivo, es decir la cantidad de descendientes que están presentes en la siguiente generación. En poblaciones que se aparean al azar casi todos los alelos de la población van a estar en forma heterocigota durante los primeros estadios de la evolución de la resistencia. En el caso que frente a las aplicaciones de herbicidas, los individuos heterocigotas (RS) tengan más *fitness* que los homocigotas suscep-

tibles (SS), la evolución de la resistencia será rápida. Si en cambio, los heterocigotas poseen un *fitness* similar al de los susceptibles, la resistencia evolucionará más lentamente. En algunos casos, el genotipo resistente tiene un valor adaptativo menor que el susceptible, y en esta situación si se reduce la presión de selección. Por ejemplo, utilizando herbicidas con distinto sitio de acción, la frecuencia del genotipo resistente disminuye rápidamente en la población.

2 Factores relacionados con el herbicida

2.a. Dosis empleadas. Cuando la resistencia es monogénica, el empleo de dosis elevadas aumenta la presión de selección y favorece la evolución de la resistencia. Por el contrario, la utilización de sub-dosis, al disminuir la presión de selección, puede atrasar la aparición de la resistencia. En esta situación, las semillas provenientes de plantas susceptibles sobrevivientes al herbicida, contribuirán a que en la siguiente generación disminuya la frecuencia de alelos resistentes en la población total. **Si la resistencia es poligénica es necesario que se produzcan recombinaciones entre individuos durante varias generaciones para alcanzar un número suficiente de alelos que generen un genotipo resistente. En este caso, la utilización de sub-dosis de herbicidas permitirá que aquellos individuos que expresan mecanismos de resistencia relativamente débiles por no poseer la cantidad de alelos suficientes sobrevivan y contribuyan al *pool* de genes de resistencia.** En cambio, al aplicar dosis altas se elimina la mayoría de la población disminuyendo así la frecuencia de alelos resistentes en la población total.

2.b. Eficacia. La eficacia de un herbicida está relacionada con la mortalidad que causa en una población de malezas. Como se indicó en el punto anterior, en caso que la resistencia sea monogénica, los herbicidas más eficaces eliminarán una mayor proporción de individuos susceptibles y de este modo facilitarán la evolución de la resistencia. En cambio, si la resistencia es poligénica, una menor eficacia de los herbicidas podría beneficiar la sobrevivencia de algunos alelos que, por acumulación, incrementarán el *pool* de genes resistentes. Así, tanto los herbicidas eficaces como ineficaces

contribuyen a aumentar, mediante diferentes mecanismos, el desarrollo de la resistencia. La evolución de la resistencia por ello puede demorarse, pero es un proceso inevitable mientras se usen herbicidas como única herramienta del manejo de malezas.

2.c. Especificidad del sitio de acción. En el caso de herbicidas que interfieren con un solo sitio de acción, el cambio en un solo gen puede ser suficiente para afectar la unión de la molécula herbicida al sitio de acción. El uso de herbicidas con múltiples sitios de acción tendrá menor probabilidad de generar biotipos resistentes.

2.d. Residualidad. Los herbicidas no residuales sólo actúan sobre los individuos de la población ya emergidos. Los herbicidas residuales afectan además a las cohortes que emergerán posteriormente a la aplicación, eliminando así una mayor proporción de individuos susceptibles de la población y favoreciendo la evolución de la resistencia.

2e. Patrones de uso. El empleo repetido, dentro de la misma campaña agrícola o en campañas sucesivas del mismo herbicida o de herbicidas con igual sitio de acción favorecerá la evolución de poblaciones resistentes.

Clasificación de la resistencia

La clasificación de la resistencia se asocia con los mecanismos de resistencia involucrados. Así pueden distinguirse dos tipos de resistencia: cruzada y múltiple.

Resistencia cruzada: se refiere a la resistencia a dos o más herbicidas del mismo o de diferentes grupos químicos provocada por un único mecanismo. Dentro de este tipo se pueden definir dos categorías:

1. Resistencia cruzada asociada con la modificación del sitio de acción. Es el tipo más frecuente de resistencia cruzada y ocurre cuando un cambio en el sitio de acción de un herbicida confiere resistencia a herbicidas que inhiben el mismo sitio de acción. Esta modificación no necesariamente resulta en resistencia a todos los grupos de herbicidas con similar sitio de acción ni a todos los herbicidas dentro de un mismo grupo químico. Es el caso de biotipos de *Amaranthus quitensis* resistentes a sulfonilureas, imidazolinonas

y triazolopirimidinas, debido a una alteración de la ALS.

2. Resistencia cruzada no asociada con la modificación del sitio de acción. En este caso, la resistencia a dos o más herbicidas es debida a un mecanismo de resistencia diferente a la modificación del sitio de acción. Los mecanismos potenciales incluyen: reducida absorción y transporte, secuestro y detoxificación del herbicida. Biotipos de *Lolium rigidum* presentan resistencia cruzada a herbicidas del grupo de las triazinas y de las ureas debida a un aumento en la tasa de detoxificación de esos herbicidas.

Resistencia múltiple: comprende la resistencia a uno o más herbicidas del mismo o de diferentes grupos químicos debida a dos o más mecanismos. Los casos más simples de resistencia múltiple son aquellos donde un individuo o población posee dos o más mecanismos que le confieren resistencia a un herbicida o grupo de herbicidas. Una situación más compleja es aquella donde la resistencia es a diferentes grupos químicos. Tal es el caso de un biotipo de *Lolium rigidum* en Australia que presenta resistencia a nueve grupos de herbicidas conferida por distintos mecanismos.

Diagnóstico de malezas resistentes a herbicidas

La detección temprana de la resistencia permite maximizar la efectividad de los programas de manejo y prevenir su dispersión a campos vecinos. Las fallas en el control de malezas no siempre están asociadas con la presencia de biotipos resistentes sino que pueden relacionarse con empleo de dosis de herbicidas inadecuadas, deficiente incorporación del herbicida, incorrecto uso de coadyuvantes y surfactantes, condiciones ambientales desfavorables para la actividad del herbicida, momento inadecuado de aplicación o flujos de emergencia posteriores a la aplicación en el caso de herbicidas poco residuales.

Una vez que estas causas han sido descartadas deben considerarse los siguientes aspectos que caracterizan lotes con poblaciones de malezas que han desarrollado resistencia:

- La especie sospechosa está inicialmente confinada en pequeños manchones.
- Todas las especies susceptibles al herbicida son bien controladas, excepto la especie sospechosa.
- Se detectan individuos de la especie sospechosa sin síntomas y dispersos entre plantas de la misma especie que han sido controladas.
- La especie sospechosa normalmente es muy susceptible al herbicida empleado.
- Se ha utilizado el mismo herbicida en forma repetida sin emplear otros métodos de control (mecánico o cultural).
- La historia del lote indica un uso extensivo e intensivo a lo largo del tiempo del herbicida aplicado o de herbicidas con el mismo sitio de acción.

Cuantificación de la resistencia

La resistencia puede ser cuantificada comparando valores experimentales derivados de biotipos resistentes y susceptibles. Por ejemplo, se puede comparar la dosis de herbicida requerida para controlar el 50 % de la población de malezas (DL_{50}), la dosis que causa un 50% de reducción en la biomasa (GR_{50}) o la dosis que disminuye en un 50% la actividad de una enzima específica (I_{50}). La metodología empleada para la estimación de estos valores se basa en la construcción de *curvas de dosis-respuesta*. Los valores de estos índices serán menores en biotipos susceptibles y aumentarán a medida que los biotipos presenten mayor grado de resistencia (figura 3).

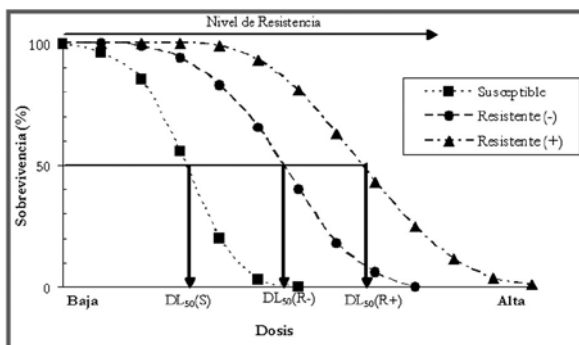


Figura 3. Curvas dosis-respuesta para biotipos con distinto grado de resistencia.

Otro indicador utilizado para comparar los diferentes grados de resistencia entre biotipos es el *factor de resistencia* que indica el número de veces que es necesario aumentar la dosis de un herbicida en un biotipo resistente para alcanzar un control similar al obtenido en el biotipo susceptible. Este factor resulta del cociente entre valores de DL_{50} , GR_{50} o I_{50} del biotipo resistente y los valores de éstos mismos índices del biotipo susceptible.

Casos de resistencia en Argentina

Hasta el año 2005, el único caso de resistencia documentado en Argentina correspondía a *Amaranthus quitensis* (yuyo colorado) resistente a herbicidas inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS) como por ejemplo, imazetapir, clorimurón etil y flumetsulam.

El empleo generalizado de siembra directa y la introducción de cultivares de soja resistentes a glifosato a partir de 1997 produjo importantes modificaciones en las comunidades de malezas. Asociado con algunas características específicas del glifosato, se estimaba una baja probabilidad de que las malezas desarrollaran resistencia a este principio activo; no obstante hasta la fecha se han detectado 15 casos de resistencia a glifosato en distintas especies de malezas a nivel mundial.

El primer caso de resistencia a glifosato en Argentina se confirmó en el año 2005 en biotipos de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*). Las primeras deficiencias en el control con este herbicida se observaron en las provincias de Salta y Tucumán, en el año 2003 y experimentos realizados posteriormente corroboraron la resistencia a ese principio activo. Investigaciones recientes permiten asegurar que el número de biotipos de sorgo de Alepo resistente a glifosato está aumentando, y el área de distribución de los mismos incluye la región sojera núcleo. En ensayos realizados comparando estos biotipos con otros susceptibles, se determinó un grado relativamente alto de resistencia a glifosato. Resta evaluar si estos biotipos resistentes se han generado en forma independiente o guardan alguna relación con los casos encontrados en el noroeste argentino.

Estudios realizados en el sudoeste de la Provincia de Buenos Aires indican la existencia

de poblaciones de raigrás (*Lolium multiflorum*) con una menor sensibilidad al glifosato, lo cual sugeriría el desarrollo de biotipos resistentes. En poblaciones con un historial de alta frecuencia de aplicación de glifosato se detectaron valores de GR_{50} entre 3,6 y 4 veces superiores al de poblaciones sin registro de uso de este herbicida. Además, se observaron valores de hasta 20% de supervivencia en individuos de poblaciones tolerantes a dosis de 1440 gr e.a.ha⁻¹, mientras que la supervivencia fue nula para los individuos de poblaciones sensibles a una dosis de 360 gr e.a.ha⁻¹. Experiencias recientes indicaron valores de supervivencia de hasta 40% a una dosis de 1680 gr e.a.ha⁻¹ en plántulas obtenidas a partir de semillas cosechadas de una población que sobrevivió a una aplicación comercial de glifosato. Existen casos confirmados de biotipos de raigrás resistentes a glifosato en Chile y Brasil.

El contexto favorable para el mercado internacional de *commodities*, el precio relativamente bajo del glifosato respecto a otros herbicidas y su probada eficacia en un amplio espectro de malezas, redundarán en un creciente aumento del área sembrada con cultivos resistentes a este herbicida. Es necesario implementar medidas de manejo integrado para prevenir el incremento en las poblaciones de malezas tolerantes y resistentes a glifosato.

Manejo integrado para prevenir la evolución de la resistencia

Existen dos estrategias principales para demorar la manifestación de la resistencia utilizando herbicidas:

1. Rotar herbicidas con distintos sitios de acción y no realizar más de dos aplicaciones consecutivas de herbicidas con el mismo sitio de acción en el mismo lote a menos que se incluyan otras prácticas de control efectivas en el manejo del sistema.
2. Emplear mezclas de herbicidas con distintos sitios de acción o aplicar en forma secuencial herbicidas con distintos sitios de acción pero similar espectro de acción sobre las malezas a controlar.

Como ya se indicó anteriormente, el uso del control químico como única medida de manejo

de las malezas puede demorar la aparición de resistencia, pero no erradicarla. Las prácticas conducentes a la erradicación de la resistencia son las del control integrado, que resulta de combinar el control químico con el control mecánico, cultural y/o biológico. Así, resulta aconsejable sumar al uso de herbicidas, algunas de las siguientes prácticas:

- Realizar rotaciones de cultivos con diferentes ciclos de crecimiento. Esta práctica presenta varias ventajas: permitir el uso de herbicidas con diferentes sitios de acción; y permite utilizar diferentes fechas de siembra en los distintos cultivos, formas de preparación del suelo y otros métodos culturales para controlar un problema particular de malezas.
- Laboreo antes de la siembra para controlar las plantas nacidas y enterrar semillas no germinadas.
- Retraso de la siembra de manera de controlar los primeros flujos de emergencia de malezas con control mecánico o herbicidas no selectivos.
- Evitar la dispersión de semillas de malezas resistentes. Para ello utilizar herbicidas no selectivos en precosecha de los cultivos antes de la madurez de las semillas de las malezas y limpiar los equipos de labranza y cosecha antes de transportarlos a otros lotes.
- Relevar los campos regularmente, identificando las malezas presentes de manera de responder rápidamente a cambios en las poblaciones de malezas para restringir la dispersión de biotipos resistentes que puedan haber sido seleccionados.
- Iniciar programas de control biológico a los fines de identificar biocontroladores que disminuyan los perjuicios ocasionados por las especies de malezas más importantes de la región.

Si bien la combinación de diferentes métodos de control es la estrategia más recomendada para demorar o evitar la evolución de resistencia, un enfoque interdisciplinario de esta problemática surge como esencial para una solución de largo plazo. Un programa de **Manejo Integrado de Malezas** es un sistema de manejo que enfoca el problema de forma compatible con la preservación de la calidad

del ambiente, utilizando diferentes tácticas y estrategias de control con el objeto de reducir la población de malezas a niveles tales que los perjuicios económicos producidos resulten inferiores a un umbral económico aceptable para el sistema general de producción. Este programa puede involucrar, además de los métodos de control ya señalados, estudios básicos de la bioecología de las malezas, medidas preventivas, entrenamiento de personal calificado, extensión a agricultores, entre otros. Un manejo integrado de malezas, en el que múltiples estrategias son implementadas de una manera racional, es la única solución en el marco de un manejo sustentable del sistema productivo.

Lecturas recomendadas

- Bradshaw L. D., S. R. Padgett S. L. Kimball, and Wells B. H. 1997. Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology*, 11:189–198.
- Christoffoleti, P.J. 2008. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. 3ª Edição, Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR). Piracicaba, Brasil.
- De Prado, R.; Cubero, S. y Osuna, M.D. 2001. Biotipos resistentes a herbicidas. Distribución mundial. En: *Uso de herbicidas en la agricultura del siglo XXI*. Capítulo 22: 279-291. De Prado, R. y Jarrín, J. (Eds). Servicio de Publicaciones, Universidad de Córdoba. Córdoba, España.
- Devine, M.D.; Duke, O. y Fedtke, C. 1993. *Physiology of herbicide action*. P.R.T. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- García Torres, L. y Fernández Quintanilla, C. 1991. *Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid - Mundi-Prensa, Madrid.
- Hall, L. Beckie, H. y Wolf, T.M. 1999. *How herbicides work. Biology to application*. Alberta Agriculture, Food and Rural Development Publishing Branch. Edmonton, Alberta. Canada.
- Jasieniuk, M., 1995. Constraints on the evolution of glyphosate resistance in weeds. *Resistant Pest Management*, 7: 31-32.
- Kogan, M. y Pérez, A. 2003. *Herbicidas. Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción*. Ediciones Universidad Católica e Chile. Santiago, Chile.
- Michitte, P., De Prado, R., Espinoza, N., Ruiz-Santaella, P. and Gauvrit, C. 2007. Mechanisms of resistance to glyphosate in a Ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. *Weed Science* 55:435-440.
- Powles S.B. y Preston C. 2006. Evolved Glyphosate Resistance in Plants: Biochemical and Genetic Basis of Resistance. *Weed Technology*, 20:282–289.
- Powles, S.B. y Holtum, J.M. 1994. *Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Puricelli, E. y Tuesca, D. 2005. Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection*, 24: 533-542.
- Sabbatini, M.R., Irigoyen, J.H. y Vernavá, M.N. 2004. Capítulo 11: Estrategias Para el Manejo Integrado de Malezas: Problemática, Resistencia a Herbicidas y Aportes de la Biotecnología, En: *Biotecnología y mejoramiento Vegetal*, Eds: V. Echenique, C. Rubinstein y L. Mroginski. Editorial INTA, 343-354.
- Tuesca, D. y Nisensohn, L. 2001. Resistencia de *Amaranthus quitensis* H.B.K. a imazetapir y clorimurón-etil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 36: 601-606.
- Tuesca, D. y Puricelli, E. 2007. Effect of tillage systems and herbicide treatments on weed abundance and diversity in a glyphosate resistant crop rotation. *Crop Protection*, 26:1765-1770.
- Tuesca, D.; Nisensohn, L y Papa, J.C. 2008. Resistencia a glifosato en biotipos de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) de la región sojera núcleo de Argentina. XXVI Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, XVIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas, Ouro Preto, Brasil.
- Vigna, M.R., López, R.L., Gigón, R. y Mendoza, J. 2008. Estudios de Curvas Dosis-respuesta de Poblaciones de *Lolium multiflorum* a Glifosato en el SO de Buenos Aires, Argentina. XVIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas, Ouro Preto, Brasil, 4 al 8 de mayo de 2008. 13 pp.
- Vila-Aiub, M.; Balbi, M.; Gundel, P.; Ghersa, C. y Powles, S., 2007. Evolution of Glyphosate-Resistant Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in Glyphosate-Resistant Soybean. *Weed Science*, 55:566-571.
- Vila-Aiub, M.M.; Vidal, R.A.; Balbi, M.C.; Gundel, P.E.; Trucco, F. y Ghersa C.M., 2008. Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview. *Pest Management Science*, 64:366–371.
- Vitta, J.; Faccini, D.; Nisensohn, L.; Puricelli, E.; Tuesca, D. y Leguizamón, E. 1999. Las malezas en la región sojera núcleo argentina: Situación actual y perspectivas. Cátedra de Malezas, Facultad de Ciencias Agrarias, U.N.R. Editada por DowAgro Sciences. Argentina S.A.
- Vitta, J.; Tuesca, D. y Puricelli, E. 2004. Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 103: 621-624.
- Weed Science. International Survey of Herbicide Resistant Weeds*. 2008. <http://www.weedscience.org/in.asp>