

# CONTROL QUÍMICO DE POBLACIONES DE *LOLIUM MULTIFLORUM* Y *LOLIUM RIGIDUM* RESISTENTES A GLIFOSATO

Cruz-Hipólito H<sup>1</sup>, Osuna MD<sup>1</sup>, Vidal R<sup>2</sup> y De Prado R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Agrícola, Universidad de Córdoba, España.

<sup>2</sup>UFRGS, Porto Alegre, Brasil, CNPQ Fellow

## RESUMEN

La presencia de biotipos resistentes a herbicidas es uno de los problemas actuales más importantes en el control de malas hierbas. Este hecho empieza a ser especialmente preocupante en *Lolium multiflorum* y *Lolium rigidum* especies infestantes de cultivos herbáceos y perennes (olivar y cítricos) en España.

El uso repetido de glifosato en situaciones de monocultivo como es el caso estudiado en el que se ha aplicado más de una vez al año por más de 10 años ha sometido a presión de selección a *L. multiflorum* y *L. rigidum* y actualmente han desarrollado resistencia a éste herbicida, pues las dosis recomendadas ya no las controlan, lo que hace necesario la búsqueda de herbicidas alternativos que replacen al glifosato.

En el presente trabajo se analiza la eficacia del control químico de biotipos resistentes de ambas especies. La eficacia estudiada se centra en el uso de herbicidas alternativos, evaluando Fluazifop-p-butil, Paraquat, Pinoxaden y Tralkoxidim.

Los herbicidas testados, tienen un control satisfactorio para ambas especies resistentes, en donde el Pinoxaden y el Paraquat resultaron ser los más efectivos.

**Palabras clave:** Resistencia, Herbicidas alternativos, glifosato, ballico.

## ABSTRACT

Currently, the presence of herbicide-resistant biotypes is one of the most important problems in weed control. This is becoming increasingly worrying in *Lolium multiflorum* and *Lolium rigidum* species, which are infesting herbaceous and perennial crops (olive groves and citrus orchards) in Spain.

The repeated use of glyphosate in single-crop situations, the case studied in this work, and which has been used more than once a year for over 10 years, has subjected *L. multiflorum* and *L. rigidum* to a selection pressure. This means that they have now developed a resistance to this herbicide and the recommended doses do not control them, making it necessary to search for alternative herbicides to replace it.

In this work, the effectiveness of a chemical control of resistant biotypes of both species has been analysed, focussing on the use of alternative herbicides. For this purpose, Fluazifop-p-butyl, Paraquat, Pinoxaden and Tralkoxidim have been evaluated.

The herbicides tested have satisfactorily controlled both resistant species, the most effective ones being Pinoxaden and Paraquat.

**Key words:** Resistance, alternative herbicides, glyphosate, ryegrass.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente es posible disponer de varios métodos de control de malas hierbas como: rotaciones, labores, fecha de siembra, herbicidas, etc. Sin embargo, existe una creciente dependencia de los herbicidas modernos pues se han convertido en una herramienta indispensable en el control de éstas, pero debido a un uso indiscriminado, ha traído una serie de problemas, el más importante la resistencia. Se han adoptado alternativas de cultivos buscando mayores producciones, confiando cada vez más en éstos productos diseñados para controlarlas.

El primer caso de resistencia a herbicidas en malas hierbas fue identificado en 1964. En la actualidad hay registrados más de 150 biotipos de gramíneas y dicotiledóneas resistentes en unos 50 países de todo el mundo (Heap, 2007) y la lista va en aumento año con año. A pesar de este desarrollo, aparentemente dramático, los herbicidas no se han perdido para la agricultura; son todavía, y serán, una parte integral no obstante deben manejarse con cautela y en rotación, para que la eficacia y disponibilidad perdure por más tiempo.

Desde su descubrimiento en los años 1970, el amplio espectro del glifosato (N-(phosphonomethyl) glicina), se ha hecho un componente clave de programas de control de malas hierbas en todo el mundo (Baylis, 2000). Los primeros casos de resistencia desarrollada a glifosato fueron documentados en *Lolium rigidum* Gaud. (ballico anual) poblaciones de Australia a 20 años después de su introducción (Powles et al., 1998; Pratley et al., 1999). Otras especies de *Lolium* han desarrollado resistencia a glifosato en Chile (Pérez & Kogan, 2003), Sudáfrica (Heap, 2004) y en EE.UU. (Simarmata et al., 2003). La resistencia a glifosato también ha sido reportada en *Eleusine indica* de Malasia (Lee & Ngim, 2000) y es ahora extendida en *Conyza canadensis* en los EE.UU. (Main et al., 2004; Van Gessel, 2001).

En España ha sido denunciada en el 2006 la resistencia de *Lolium multiflorum* y *Lolium rigidum* en campos de olivar y cítricos respectivamente, donde el factor de resistencia encontrado en *L. multiflorum* fue de 3.83 y *L. rigidum* 11.18, niveles bastante considerables (Cruz-Hipólito et al., 2007).

## **OBJETIVOS**

Evaluar la sensibilidad ( $ED_{50}$ ) de *Lolium multiflorum* y *Lolium rigidum* a Paraquat, Pinoxaden, Fluazifop-p-butil y Tralkoxidim como herbicidas alternativos para el control de éstas malas hierbas resistentes

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material Vegetal**

Comprende 2 especies de *Lolium* (*Lolium multiflorum* y *Lolium rigidum*). Ambas con dos poblaciones que no habían sido controladas en campo con altas dosis (4 veces superiores a la dosis recomendada) de glifosato. Las poblaciones de *L. multiflorum* de dos campos de olivar localizados en Villanueva del Arzobispo (Jaén, Carretera Nacional 322 Bailén-Albacete km. 196.8) y un biotipo sensible a glifosato suministrado por la empresa Herbissed. La segunda especie de *L. rigidum* fue recolectada en el 2006 de campos de cítricos en Villarreal (Castellón) (UTM x: 748985,31 y: 4421955,45 . Geo Lat.: 39° 54' 37,59" N Long.: 0° 5' 14,14" W ), mientras que el biotipo sensible fue igualmente suministrado por la empresa Herbissed.

### **Condiciones de Crecimiento**

Las semillas de *L. multiflorum* L. y *L. rigidum* L. germinaron en placa Petri con papel de filtro y 5 ml de agua. Las placas se sellaron con parafilm y se colocaron en la cámara de cultivo con una temperatura día/noche de 25/18 °C, un fotoperíodo de 16 h de luz 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y humedad relativa constante al 80 %. Cuando las plantas germinaron se transplantaron a macetas en número de tres plantas por maceta, cada una de las cuales presentaba un volumen de 0,510 L de sustrato (2:1 suelo: turba). Las condiciones de crecimiento fueron: temperatura día/noche de 28/20 °C y un fotoperíodo de 13 h de luz 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , manteniendo la humedad a capacidad de campo mediante riego por inmersión. Se realizaron cuatro repeticiones por dosis y población.

## **Tratamiento con Herbicidas**

Para evaluar el efecto de los distintos herbicidas sobre el crecimiento y desarrollo de las distintas poblaciones se realizaron los tratamientos utilizando una máquina de tratamientos de laboratorio equipada con boquillas de abanico plano (8002 TeeJet). El volumen de mezcla para la aplicación fue de 200 y 400 l ha<sup>-1</sup> el menor volumen para Pinoxaden, Fluazifop-p-butil y Tralkoxidim y el volumen mayor para Paraquat, presión de 200 kPa y las plantas en estadio de 3-4 hojas, las dosis de herbicida aplicadas fueron de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8 y 25 litros por hectárea.

Los ensayos de herbicidas sobre las poblaciones se llevaron hasta los 21 días después de tratadas las plantas, momento en el cual se evaluaron cuantitativamente los efectos de los tratamientos mediante el peso fresco de la parte aérea de las plantas (corte realizado a ras de la superficie del suelo).

Para el cálculo del ED<sub>50</sub> (dosis de herbicida necesaria para reducir el 50% de peso fresco con respecto al control), se realizó mediante la regresión curvilínea (no lineal) utilizando el programa estadístico Sigma Plot v. 8.0, en la cual la variable de respuesta correspondió al porcentaje de peso fresco con respecto al del control, y la variable fija a la concentración de herbicida. Los datos fueron tratados estadísticamente mediante análisis de regresión basados en los modelos exponencial, logarítmica según el ajuste con una probabilidad ( $P \leq 0,05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Calculo de los valores de ED<sub>50</sub>**

#### *Lolium multiflorum*

Este parámetro es el resultado de la división de la cantidad de herbicida que reduce el peso fresco un 50% entre el biotipo sospechoso y el sensible respecto al control no tratado.

#### Fluazifop-p-butil

Este herbicida controla satisfactoriamente ambas especies con valores que están muy por debajo de las dosis recomendadas, pero una de las desventajas que presenta junto con

Tralkoxidin y Pinoxaden es su acción específica (graminicida), pues en la mayoría de los cultivos infestados rara vez encontraremos solo gramíneas, un eficiente control solo de gramíneas, por ejemplo en la parcela estudiada *Lolium*, *Malva parviflora*, *Diplotaxis virgata*, *Ecballium elaterium* se encuentran en poblaciones bajas, con lo cual se corre el riesgo de que la flora cambie a lo largo del tiempo. Los valores de  $ED_{50}$  de este herbicida para *L. multiflorum* sensible es de 0.2 l/ha y para Villanueva del Arzobispo de 0.21 l/ha (Fig. 1). *L. rigidum* resulta ser ligeramente más sensible pues los valores de  $ED_{50}$  son de 0.19 l/ha y el de Villarreal en 0.12 l/ha (Fig. 2). Siendo el Fluazifop un herbicida con posibilidades en el control de *L. multiflorum* y *L. rigidum* resistentes a glifosato, tomando en cuenta las consideraciones anteriores, a continuación se muestran 2 gráficos para el cálculo de  $ED_{50}$ , el procedimiento fue igual para los herbicidas estudiados, en la tabla 1, se pueden ver los demás parámetros y en la tabla 2 el factor de resistencia, que son el cociente del valor de  $ED_{50}$  del biotipo sospechoso entre el biotipo sensible.

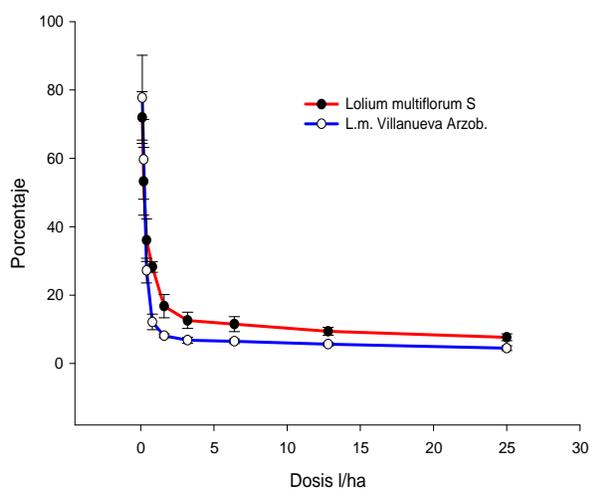


Figura 1. Porcentaje de reducción de peso fresco de *Lolium multiflorum* tratados con Fluazifop-p-butil biotipos sensible y Villanueva del Arzobispo.

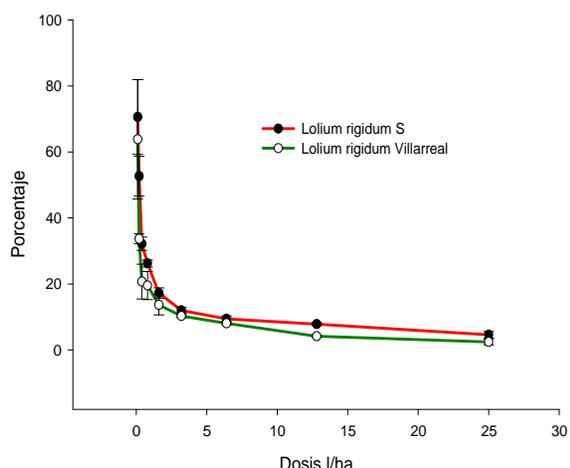


Figura 2. Porcentaje de reducción de peso fresco de *Lolium rigidum* tratados con Fluazifop-p-butil.

### Paraquat

De los herbicidas empleados en el presente ensayo el Paraquat resultó ser uno de los herbicidas más eficaces, pues a dosis bajas controló satisfactoriamente a *L. multiflorum*, prueba de ello están reflejados en la Tabs. 1 y 2 en la cual se observa una  $ED_{50}$  para el biotipo sensible y el de Villanueva del Arzobispo con valores de 0.0927 y 0.165 l/ha (Tabla 1 y 2), cuando las dosis recomendadas de 1.5 a 3 l/ha.

Para *Lolium rigidum* el herbicida mostró la misma efectividad que para *L. multiflorum* con valores de  $ED_{50}$  para el biotipo sensible de 0.071 l/ha y el de Villarreal 0.024 l/ha (Tabs. 1 y 2), haciendo un análisis general, éste herbicida es un posible candidato a ser una

alternativa para el control de especies resistentes a glifosato, ya que cumple con ciertas características que para el productor son “ideales” como su eficiente control y su bajo coste; sin embargo, es necesario hacer pruebas con más ingredientes activos capaces de controlar las malas hierbas resistentes y tener un amplio abanico de posibilidades de mantener bajas las poblaciones y opciones de rotación de herbicidas, para minimizar la selección de especies, la principal desventaja de éste herbicida es la toxicidad (Smith, 1988).

#### Pinoxaden

De los herbicidas aplicados, fue el que mayor efectividad presentó, si tomamos en cuenta la riqueza de materia del producto formulado, el biotipo sensible presenta una ED<sub>50</sub> de 0.07 l/ha y el de Villanueva del Arzobispo de 0.109 l/ha (Tabs.1 y 2), éste herbicida provoca más rápidamente la muerte en malas hierbas, pues sus efectos fueron notorios antes que los demás graminicidas actuaran (inhibidores de la ACCasa). *L. rigidum* experimenta la misma reducción de peso fresco, el cual para el biotipo S es de 0.011 l/ha y el de Villarreal 0.068 (Tabs.1 y 2).

#### Tralkoxidim

Controló satisfactoriamente, sin embargo en media es el que necesitó mayor dosis para el control de ambas especies, con dosis que se encuentran en el rango recomendadas por la casa comercial, presenta una ED<sub>50</sub> para *L. multiflorum* es de 0.606 l/ha para el biotipo sensible y 0.122 para el de Villanueva del Arzobispo (Fig. 3). *L. rigidum* experimenta una reducción similar con valores de ED<sub>50</sub> para el sensible de 0.102 l/ha y 0.129 para el biotipo de Villarreal (Tabs.1 y 2).

Tabla 1. Dosis efectiva del peso fresco para los biotipos estudiados.

<b>Biotipo: <i>Lolium multiflorum</i> S</b>						
<b>Herbicida</b>	<b>ED<sub>50</sub></b>	<b>Hillslope</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R ajust.</b>	<b>Max</b>	<b>Min</b>
Paraquat	0.0927	1.3253	0.992	0.991	99.968	5.3148
Fluazifop-p-butil	0.200	1.066	0.950	0.944	100.264	8.288
Pinoxaden	0.07	2.292	0.955	0.950	100.04	7.36
Tralkoxidim	0.608	0.706	0.969	0.965	99.41	0
<b>Biotipo: <i>Lolium multiflorum</i> Villanueva Arzob.</b>						
Paraquat	0.165	1.369	0.923	0.915	99.906	1.722
Fluazifop-p-butil	0.2195	1.8153	0.945	0.939	98.94	5.311
Pinoxaden	0.1099	2.303	0.923	0.914	99.97	4.078
Tralkoxidim	0.122	1.342	0.843	0.825	100.41	5.596
<b>Biotipo: <i>Lolium rigidum</i> S</b>						
Paraquat	0.071	1.780	0.992	0.991	100.023	3.597
Fluazifop-p-butil	0.193	1.048	0.959	0.954	100.389	6.52
Pinoxaden	0.0112	0.546	0.990	0.989	100.02	2.711
Tralkoxidim	0.102	0.9355	0.88	0.866	100.018	8.07
<b>Biotipo: <i>Lolium rigidum</i> Villarreal</b>						
Paraquat	0.024	0.7983	0.985	0.983	99.99	0.9545
Fluazifop-p-butil	0.122	1.379	0.906	0.895	100.55	7.253
Pinoxaden	0,068	2,217	0,945	0,917	99,97	1,935
Tralkoxidim	0.129	1.350	0.977	0.974	99.98	4.253

Tabla 2. Factor de Resistencia (FR) para los biotipos estudiados

Herbicida	<i>L. multiflorum</i> S	<i>Lolium multiflorum</i> Villanueva. Arzob.		<i>L. rigidum</i> S	<i>Lolium rigidum</i> Villarreal	
	ED <sub>50</sub>	ED <sub>50</sub>	FR	ED <sub>50</sub>	ED <sub>50</sub>	FR
Paraquat	0,0927	0,165	1,7799	0,024	0,071	0.338
Fluazifop-p-butil	0,200	0,2195	1,0975	0,122	0,193	0.632
Pinoxaden	0,07	0,1099	1,57	0,068	0,0112	6.0714
Tralkoxidim	0,608	0,122	0,200	0,129	0,102	1.2647

FR=Factor de resistencia

## CONCLUSIONES

Los herbicidas controlaron satisfactoriamente a *Lolium multiflorum* y *L. rigidum*, pues la reducción al 50 % del peso fresco, estuvo muy por debajo de las dosis recomendadas.

Paraquat presenta un alto control sobre *Lolium multiflorum* y *L. Rigidum* sobre los biotipos resistentes a glifosato pudiendo ser usado como una herramienta en rotación con otros herbicidas para el control de biotipos resistentes a glifosato de estos biotipos.

## REFERENCIAS

- Baylis A. 2000. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest. Manag. Sci.* 56, 299–308.
- Cruz-Hipólito H. E., Díaz M. A., Ruiz-Santaella J. P, De Prado R., Menéndez J. and Vidal R. 2007. Glyphosate resistance in several populations of *Lolium* spp. from Spain. In: Abstracts of the 47<sup>th</sup> Meeting of the Weed Science Society of America. San Antonio Texas. February 4-8. no. 107.
- Heap I. 2004 y 2007. International survey of herbicide resistant weeds. <http://www.weedscience.org>.
- Lee L. and Ngim J. 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) in Malaysia. *Pest. Manag. Sci.* 56, 336–339.
- Main, C. L., T. C. Mueller, R. M. Hayes, and J. B. Wilkerson. 2004. Response of selected horseweed (*Conyza canadiensis* (L.) Cronq.) populations to glyphosate. *J. Agric. Food Chem.* 52:879-883.
- Pérez A. and Kogan M. 2003. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum*. Chilean orchards. *Weed Res.* 43, 12–19.
- Powles S., Lorraine-Colwill D., Dellow J. and Preston C. 1998. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Sci.* 46, 604–607.
- Pratley J., Urwin N., Stanton R., Baines P., Broster J., Cullis K. *et al.* 1999. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*. I. Bioevaluation. *Weed Sci.* 47, 405–411.
- Smith, J.G. 1988. Paraquat poisoning by skin absorption: a review, *Human Toxicology*, 7:15-19.
- Simarmata. M., J.E. Kaufman, and D. Penner. 2003. Potential basis of glyphosate resistance in California ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Sci.* 51:678-682.
- Van Gessel M. 2001. Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Sci.* 49, 703–705.