

### 3 B.13 - EVALUACIÓN DE LA POSIBLE RESISTENCIA METABÓLICA DE POBLACIONES DE *ECHINOCHLOA COLONA* (L.) Link] A LOS HERBICIDAS CYHALOFOP-BUTYL, CLEFOXIDYM, FENOXAPROP P-ETIL Y BISPIRIBAC SODIO

D. Pérez<sup>1</sup>, C. Zambrano<sup>2</sup> y J. V. Lazo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Metabolismo y Fisiología de cultivos y malezas tropicales. Departamento e Instituto de Botánica Agrícola. Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela, Venezuela. E-mail: perezd@agr.ucv.ve; lazoj@agr.ucv.ve

<sup>2</sup> Instituto de Agronomía. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Venezuela. E-mail: zambranoc@agr.ucv.ve

**Resumen:** se colectaron poblaciones de paja americana provenientes de diferentes localidades del estado Portuguesa (La Toma: LT; Potrero de Armo: PA; Natalino: N; Simón Pacífico: SP y Testigo: UCV), las cuales los productores de esas zonas reportaron que no estaban siendo controladas por los herbicidas cyhalofop-butyl, clefoxidym, fenoxaprop p-etil y bispiribac sodio. Se verificó la resistencia de estas poblaciones con un ensayo dosis respuesta en un cobertizo ubicado en el Departamento de Agronomía en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Una vez determinado el Índice de resistencia de las poblaciones a estos herbicidas, se realizó un ensayo con el insecticida organofosforado malation que es un inhibidor del complejo enzimático P450. Se aplicó 1 Kg ia/ha de una formulación comercial de malation 4 horas antes de la aplicación de los herbicidas en sus dosis comerciales. Las evaluaciones se realizaron a los 15 días después de la aplicación. Las variables evaluadas fueron: fitomasa aérea fresca y altura promedio. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado. Se logró disminuir el peso fresco en las poblaciones resistentes a los herbicidas clefoxidim, cyhalofop-butyl, fenoxaprop y bispiribac sodio después de la aplicación de un inhibidor del complejo enzimático citocromo P450, verificándose así la posible resistencia metabólica vía este complejo enzimático de las poblaciones de paja americana a los herbicidas bajo estudio.

**Palabras clave:** arroz, mecanismo, control, manejo integrado

## INTRODUCCIÓN

La resistencia por metabolismo no implica el sitio de unión del herbicida sino que por el contrario el herbicida es desintegrado por los procesos bioquímicos que desintoxican el herbicida. La mayoría de las plantas tienen la capacidad de romper los herbicidas hasta cierto punto pero el índice creciente de la desintoxicación permite que la planta sea resistente al herbicida (Tharayil-Santhakumar, 2003).

Tres grupos de enzimas han estado implicados en resistencia basada en metabolismo, la glutatión transferasa (GST), aryl acylamidasa, y las citocromo P450 monooxigenasas. Siendo éstas últimas el grupo más común de enzimas responsables de resistencia basada en el metabolismo (Mallory-Smith y Namuth, 1999).

El insecticida malation es un inhibidor de la actividad del citocromo P450, ha sido utilizado como antagonista de los herbicidas clorsulfuron y pendimetalin en plantas de *Lolium rigidum* Gaud. (Christopher *et al.*, 1994; Tardif y Powles, 1999).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de *Echinochloa colona* colectadas por Espinoza (2004) provenientes de cuatro fincas arroceras LT, SP, SA y N ubicadas en el estado Portuguesa. En estas fincas se sospecha que existan poblaciones resistentes a los herbicidas cyhalofop-butyl, clefoxidym, fenoxaprop p-etil y bispiribac sodio. Como testigo se emplearon semillas donde nunca se han aplicado estos herbicidas (UCV). Se realizó un ensayo con un insecticida organofosforado malation una vez determinado el Índice de resistencia a las poblaciones de *E. colona*; para aquellos que se comportaron resistentes a los herbicidas bajo estudio (Espinoza, 2003 y Medina, 2006). Se rompió latencia con escarificación mecánica manual de las semillas y se logró la germinación con agua destilada y 2 ml de KNO<sub>3</sub> al 0.2% adaptadas a un sistema de aireación (Espinoza, 2004). Una vez emergida la radícula se colocaron en bandejas plásticas con sustrato Sunshine® y se colocaron en un cuarto de germinación a una temperatura de 30°C hasta que presentaron un par de hojas verdaderas, y se trasplantaron y llevaron al invernadero donde se aplicaron los tratamientos donde se aplicó 1 kg ia/ha de una formulación comercial de malation 4 horas antes de la aplicación de los herbicidas en sus dosis comerciales (Osuna *et al.*, 2002). Las evaluaciones se realizaron a los 15 días después. (1) Fitomasa aérea fresca de las malezas (g) y (2) Altura promedio de las plantas (cm). Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con diez (10) repeticiones por cada tratamiento, utilizando estadística descriptiva (media y error estándar) y pruebas de medias. Los datos de peso fresco del ensayo dosis respuesta fueron expresados como porcentaje del tratamiento control en el programa Sigma Plot 2001.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa el efecto del insecticida organofosforado Malation sobre el peso fresco expresado en % de control; el cual disminuye luego de la aplicación de los herbicidas bajo estudio; pudiendo ser este insecticida un inhibidor del complejo citocromo P450, ya que la disminución en el peso fresco de las poblaciones que eran resistentes expresa que ésta aporta el complejo enzimático que fue inhibido.

La participación de P450 monooxigenasas en la degradación de herbicidas se detectó con el uso de inhibidores específicos tales como 1-aminobenzo-triazol (ABT) e insecticidas organofosforados los insecticidas (malatión, disulfotón) para acelerar el daño en biotipos resistentes cuando se aplica con el herbicida (Gressel, 1990; Christopher *et al.*, 1994).

En la Figura 1 se observa que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos para cada población. Al aplicar clefoxidym, cyhalofop-butil, bispiribac sodio y fenoxaprop a dosis comercial seguido de malation (T4) sobre plantas de poblaciones resistentes se logra ejercer un control eficiente de estas poblaciones, lo que sugiere que la resistencia de estas poblaciones se debe a la habilidad de degradar el herbicida vía citocromo P450. Acordando con lo señalado por Yun *et al.*, (2005) quienes estudiaron la actividad del citocromo P450 en poblaciones de *E. phyllopogon* resistentes a bispiribac sodio y fenoxaprop- etil demostrando que en la resistencia a bispiribac sodio no está involucrada la alteración del sitio de unión del herbicida con la enzima ALS, pero sí la degradación mediada por el citocromo P450. Mientras que para fenoxaprop puede estar involucrada una forma insensible de la enzima ACCasa o por la vía metabólica por monooxigenasa o glutation S transferasa (Romano *et al.*, 1993).

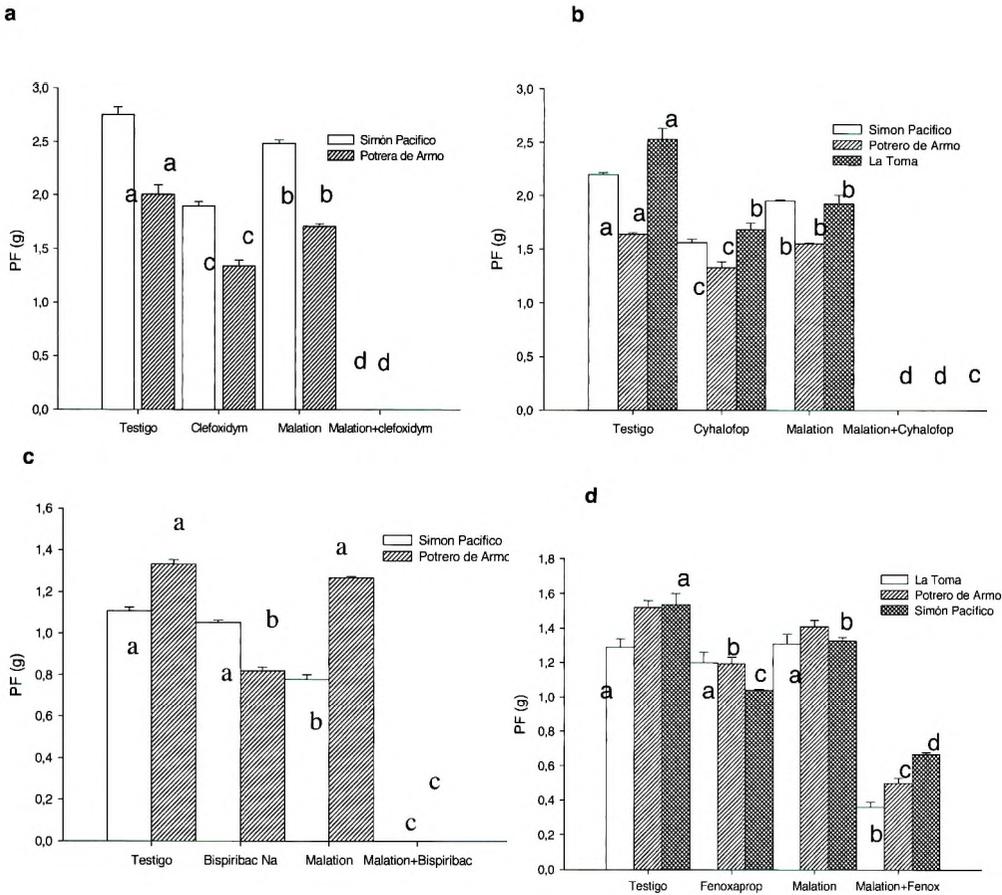
Muchos estudios han demostrado el rol de la glutatión S transferasa (GST) en la desintoxicación de fenoxaprop vía conjugación con glutatión en otras especies (Tal *et al.*, 1993 y Cummins, 1997). Este mecanismo también fue implicado en la resistencia de *Alopecurus myosuroides* Huds en Europa a múltiples herbicidas incluyendo fenoxaprop y se ha postulado que los sistemas de desintoxicación de xenobióticos por GST y P540 pueden ser coordinadamente regulado (Cummins, 1999). Por lo tanto, se deberían realizar más estudios para investigar el papel de la actividad GST en la resistencia a fenoxaprop sobre poblaciones resistentes de *Echinochloa colona* (L.) Link. Bakkali *et al.*, (2007) reportaron poblaciones de *E. phyllopogon* resistente a fenoxaprop-p-etil con alta tasa de esterificación y conjugación con glutatión (GSH) o cisteína.

**Tabla 1.** Respuesta de las poblaciones resistentes de paja americana (peso fresco expresado como % de control de plantas no tratadas) para los herbicidas cyhalofop-butyl, clefoxydim, fenoxaprop, bispiribac sodio y el antagonista del cyt P450 Malation

Población	Tratamientos (g.ia/ha)	PF (% control) Herbicidas (HB)	PF (% control) Malatión	PF (% control) Malation seguido de HB	PF (% control)
La Toma (LT)	Testigo		97,76±4,35		100,00 ±4,07
	Fenoxaprop (45)	89,43±4,71		29,03±2,94	
	Cyhalofop-butil (32)	66,47±2,58		0,04±0,00	
Simón Pacífico (SP)	Testigo		90,36±1,19		100,08±0,72
	Fenoxaprop (45)	67,67±0,45		43,21±0,77	
	Cyhalofop-butil (32)	70,95±1,58		0,05±0,00	
	Clefoxydim (160)	68,88±1,59		0,05±0,00	
	Bispiribac sodio (40)	94,94±0,97		0,09±0,00	
Potrero de Armo (PA)	Testigo		92,76±2,31		100,20±2,39
	Fenoxaprop (45)	78,40±1,66		32,57±1,75	
	Cyhalofop-butil (32)	81,05±3,41		0,06±0,00	
	Clefoxydim (160)	66,58±2,72		0,05±0,00	
	Bispiribac sodio (40)	95,36±0,97		0,08±0,00	

### CONCLUSIONES

Se logró disminuir el peso fresco en las poblaciones resistentes a los herbicidas clefoxydim, cyhalofop-butyl, fenoxaprop y bispiribac sodio después de la aplicación de un inhibidor del complejo enzimático citocromo P450 (insecticida organofosforado Malation), verificándose así la posible resistencia metabólica vía este complejo enzimático de las poblaciones de *E. colonum* a los herbicidas bajo estudio.



Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas al 95% por población.

**Figura 1.** Efecto de la aplicación de malatión (1000 g i.a./ha) como un inhibidor del citocromo P450 monooxigenasa sobre las poblaciones de *E. colona* testigo y tratadas con (a) clefoxydim 160 g i.a./ha; (b) cyhalofop-butil 31.5 g i.a./ha; (c) bispiribac sodio 40 g i.a./ha; (d) fenoxaprop p-etil 45 g i.a./ha.

## BIBLIOGRAFIA

- BAKKALI, Y.; RUIZ-SANTAELLA, J.; FISCHER, A.; DE PRADO, R. (2007). Late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*) mechanisms involved in the resistance to fenoxaprop-*p*-ethyl. *Journal Agriculture Food Chemistry* 55:4052–4058.
- CHRISTOPHER, J.; PRESTON, C.; S., POWLES. (1994). Malathion antagonizes metabolism-based chlorsulfuron resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry Physiology* 49, 172.
- CUMMINS, I.; COLE, D.; R., EDWARDS. (1997). Purification of multiple glutathione transferases involved in herbicide detoxification from wheat (*Triticum aestivum* L.) treated with the safener fenchlorazole-ethyl. *Pesticide Biochemistry Physiology* 59. 35–49.

- CUMMINS, I.; COLE, D.; R., EDWARDS. (1999). A role for glutathione transferasas functioning as glutathione peroxidases in resistance to multiple herbicides in black-grass. *The Plant Journal*, 18:285-292.
- ESPINOZA, H. (2004). Evaluación de la resistencia de poblaciones de *Echinochloa colonum* (L.) Link al fenoxaprop-p-etil en arroz (*Oryza sativa* L.) provenientes de diferentes localidades del estado Portuguesa. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 131 p.
- GRESSEL, J. (1990). Synergizing herbicides, *Weed Science*. 5 49.
- MALLORY-SMITH, C.; NAMUTH, D. (1999). Herbicide Resistance: Mechanisms, Inheritance, and Molecular Genetics. Overview & Objectives of Herbicide Resistance: Mechanisms, Inheritance & Molecular Genetics.
- MEDINA, A. (2006). Evaluación de la resistencia de poblaciones de *Echinochloa colonum* (L.) Link al herbicida Bispyribac sodio en arroz (*Oryza sativa* L.) Trabajo de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 44 p.
- OSUNA, M.; VIDOTTO, F.; FISCHER, A.; BAYER, D., DE PRADO, R.; A. FERRERO. (2002). Cross-resistance to bispyribac-sodium and bensulfuron-methyl in *Echinochloa phyllopogon* and *Cyperus difformis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 73 9–17
- ROMANO, M., STEPHENSON, G., TAL, A.; J. HAL. (1993). The effect of monooxygenase and glutathione S-transferase inhibitors on the metabolism of diclofop-methyl and fenoxaprop-methyl in barley and wheat, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 46 . 181–189.
- TAL, A.; ROMANO; G., STEPHENSON; G.; SCHWAN, A.; J., HALL. (1993). Glutathione conjugation: a detoxication pathway for fenoxaprop-ethyl in barley, crab-grass, oat and wheat, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 46 (1993) 190–199.
- TARDIF, F.; S. POWLES. (1999). Effect of malathion on resistance to soil-applied herbicides in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*), *Weed Science*. 47, 258
- THARAYIL-SANTHAKUMAR, N. (2003). Mechanism of herbicide resistance in Weeds. *Plant & Soil Sciences*. University of Massachusetts. U.S.A. 39 p.
- YUN, M.; YOGO, Y.; MIURA, R.; YAMASUE, Y.; A., FISCHER. (2005). Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83. 107–114

Abstract: Evaluation of possible metabolic resistance of populations echinochloa (L.) Link| for herbicides cyhalofop -butyl, clefoxydim, fenoxaprop p-ethyl and bispyribac sodium. *Echinochloa colona* populations were collected from different localities in Portuguesa state (taken: LT; Potrero Armo: PA; Natalino: N; Simon Pacific: SP and control: UCV), which the producers of these areas reported that they were not being controlled by herbicides cyhalofop-butyl, clefoxydim, fenoxaprop p-ethyl and bispyribac sodium. Resistance was observed in these populations with a dose response test in a shed located in the Department of Agronomy at the Faculty of Agronomy, Central University of Venezuela. A After determining the rate of resistance these populations to herbicides, a test organophosphate insecticide malathion is a P450 enzyme inhibitor complex. 1 kg ai/ha was applied of a commercial formulation of malathion 4 hours before the application of herbicides in their dose trade. Evaluations were performed at 15 days after application. The variables evaluated were: phytomass fresh air and average height. We used a completely randomized experimental design. Was achieved lower fresh weight in populations resistant to herbicides clefoxydim, cyhalofop-butyl, fenoxaprop and bispyribac sodium after application of an inhibitor cytochrome P450 enzyme complex, verifying and potential resistance this complex metabolic pathway enzyme of *Echinochloa colona* to the straw herbicides under study.

Key words: rice, mechanism, control, integrated management