

3 B.15 - EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A GLIFOSATO DE UNA POBLACIÓN DE *LOLIUM PERENNE* DEL SUR DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

M. E. Yannicari¹, M. C. Istilart² y D. O. Giménez¹

¹ Instituto de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
Universidad Nacional de La Plata. Diagonal 113 N° 495.

La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: marcosyannicari@gmail.com

² Chacra Experimental Integrada Barrow (Convenio MAA-INTA). Ruta 3 km 487.

Tres Arroyos, Buenos Aires, Argentina. E-mail: cistilart@correo.inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, se han producido cambios importantes en las poblaciones de malezas en los sistemas de producción del sur de la provincia de Buenos Aires (Istilart, 2005).

En la campaña 2007-2008, se advirtió en el partido de Coronel Dorrego (sur de la provincia de Buenos Aires) la presencia de una población de *Lolium perenne* L. que habría mostrado insensibilidad al control con glifosato durante el tiempo de barbecho, previo a la siembra de trigo. El lote ha sido trabajado bajo el sistema de siembra directa durante trece años, con un promedio de tres aplicaciones de glifosato anuales (dosis de 480 a 960 g e. a. (equivalente ácido) ha⁻¹).

Dentro del género *Lolium* sp., a nivel mundial, existen antecedentes de resistencia a glifosato en biotipos de las especies: *L. multiflorum* y *L. rigidum*; cuyos mecanismos de resistencia aún son discutidos (Perez-Jones *et al.*, 2007).

El objetivo del trabajo fue evaluar la sensibilidad/resistencia a glifosato de una población problema de *Lolium perenne* L. del sur de la provincia de Buenos Aires.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con la descendencia de plantas de *Lolium perenne* L. provenientes de la población problema identificada en campo. El biotipo sensible se aisló de una población de la zona, sin historial de glifosato. Los ensayos se realizaron en las instalaciones del INFIVE.

Ensayo de dosis-respuesta de germinación en cajas de petri: Se evaluó el comportamiento de la germinación y crecimiento del coleoptilo de semillas problema y susceptibles. Se colocó una serie de 30 semillas por caja de petri con papel de filtro, agua destilada y una alícuota de 5 ml de soluciones de glifosato en agua a razón de 0; 10; 20; 40; 80 y 160 g e. a. L⁻¹ por tratamiento, realizando 3 repeticiones. Se incubaron durante 7 días con alternancia térmica: de 25±2°C y 15±3°C y con un fotoperiodo de 12h. Por medio del modelo log-logístico propuesto por Streibig *et al.* (1993), se calculó la dosis a la cual se redujo al 50% el porcentaje de germinación (DL50) y la longitud del coleoptilo (GR50) respecto al testigo. En base a estas dosis, se calculó el índice de resistencia (IR).

Ensayo de plantas cultivadas en macetas en condiciones controladas: Se sembraron semillas del biotipo problema y susceptible en macetas de 100cm³ con tierra estéril de manera de lograr 2 plántulas por pote. Se mantuvieron en invernadero, en condiciones semi-controladas de temperatura y con fertirrigación. Cuando las plantas tenían de 2 a 3 macollos, se iniciaron los tratamientos realizando 15 repeticiones utilizando cada maceta como unidad de repetición.

Cada tratamiento consistió en la aplicación de una pulverización de glifosato 48% (Roundup®) con las siguientes dosis: 0; 360; 720; 1440 y 2880 g e.a. ha⁻¹.

Utilizando el instrumental Minolta® SPAD 502 se midió indirectamente el contenido de clorofila de la penúltima hoja expandida luego de 2, 3, 7 y 10 días de la aplicación de glifosato para evaluar el efecto fitotóxico del herbicida en cada biotipo.

Se cuantificó la concentración de shikimato utilizando la técnica descrita por Singh y Shaner (1998), a las 24 y 72h post-aplicación, discriminando láminas y vainas de biotipos problema y susceptibles para cada una de las dosis utilizadas.

Se evaluó el porcentaje de plantas supervivientes por tratamiento a los 15 y 30 días de la aplicación. Se confeccionaron curvas de dosis-respuesta por regresión no lineal utilizando el modelo log-logístico (Streibig *et al.*, 1993), se determinó la DL₅₀ para ambos biotipos e IR. Se utilizó el software Bioassay 97 v. 2.511 macro Excel® de libre acceso (Onofri, 2008).

En todas las determinaciones, los resultados se compararon mediante el test de Tukey (p<0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo de dosis-respuesta de germinación en cajas de petri: Las semillas evaluadas de ambos biotipos presentaron diferente comportamiento considerando la germinación en función de distintas dosis de glifosato. La DL₅₀ calculada para el biotipo resistente fue de 157,3 g e. a. L⁻¹, para el biotipo susceptible la DL₅₀ calculada fue de 41,8 g e. a. L⁻¹. La relación entre ambas DL₅₀ indica que se requiere incrementar 3,7 veces la dosis de glifosato en resistentes para obtener el mismo porcentaje de inhibición de la germinación que en biotipos susceptibles.

El efecto de la máxima dosis empleada (160 g e. a. L⁻¹) en el biotipo problema no difirió estadísticamente (p<0,05) en la longitud del coleoptile respecto al efecto de la dosis de 20 g e. a. L⁻¹ en el susceptible. Mediante la relación GR₅₀ resistente/GR₅₀ susceptible se determinó que el IR es de 4,7.

Ensayo de plantas cultivadas en macetas en condiciones controladas: A los 7 días de realizada la aspersión con glifosato, en el biotipo susceptible se registró la disminución del contenido de clorofila de significancia estadística (p<0,05), independientemente de la dosis empleada. En contraste a esto, el biotipo resistente no presentó diferencias entre tratamientos a lo largo del tiempo (Figura 1). En este biotipo, el efecto fitotóxico del herbicida no se reflejó en síntomas cloróticos hasta los diez días observados.

La máxima dosis de glifosato elevó el nivel de shikimato en láminas de plantas susceptibles significativamente por encima a los valores de éste ácido detectados en el biotipo resistente, independientemente del momento de muestreo. Las contrastaciones realizadas entre la acumulación de shikimato en vainas de ambos biotipos no presentó diferencias significativas a las 24h. Sin embargo, a las 72h post-aplicación los niveles mayores de ácido shikímico detectados en vainas de plantas susceptibles diferían estadísticamente del biotipo resistente cuando las dosis empleadas eran 720 y 1440 g e.a. ha⁻¹. Sin embargo, comparando con los resultados obtenidos en USA (Perez-Jones *et al.*, 2005 y Perez-Jones *et al.*, 2007) las evidencias no son suficientes para distinguir diferencias contrastantes en la acumulación de shikimato.

Mediante la relación de las DL₅₀ calculadas a los 15 días post-aplicación se determinó el IR encontrando que es necesario incrementar la dosis de glifosato 7,1 veces en el biotipo resistente respecto al susceptible para lograr un efecto similar en el control de individuos (Figura 2).

A los 30 días post-aplicación, el IR se vio afectado a causa del registro de plantas susceptibles sobrevivientes a los 15 días pero que con posterioridad no toleraron el efecto fitotóxico; y del rebrote de individuos del biotipo resistente. Para ese momento, el IR estimado es de 29,4.

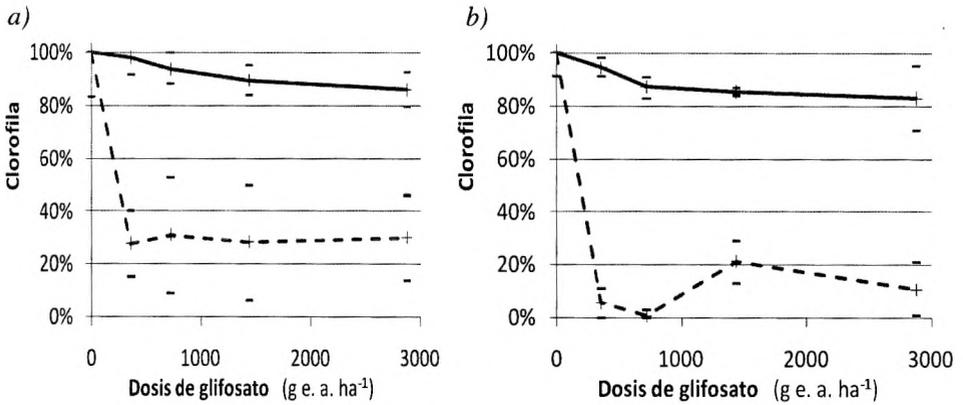


Figura 1: Efecto de la dosis de glifosato sobre el valor relativo de clorofila (comparaciones con el tratamiento testigo sin herbicida) del biotipo resistente y susceptible: *a)* A los 7 días post-aplicación. *b)* A los 10 días post-aplicación. Se presenta el intervalo de confianza (95%).

- Porcentaje relativo de clorofila del tercio medio de la penúltima hoja expandida del biotipo susceptible.
- Porcentaje relativo de clorofila del tercio medio de la penúltima hoja expandida del biotipo resistente.

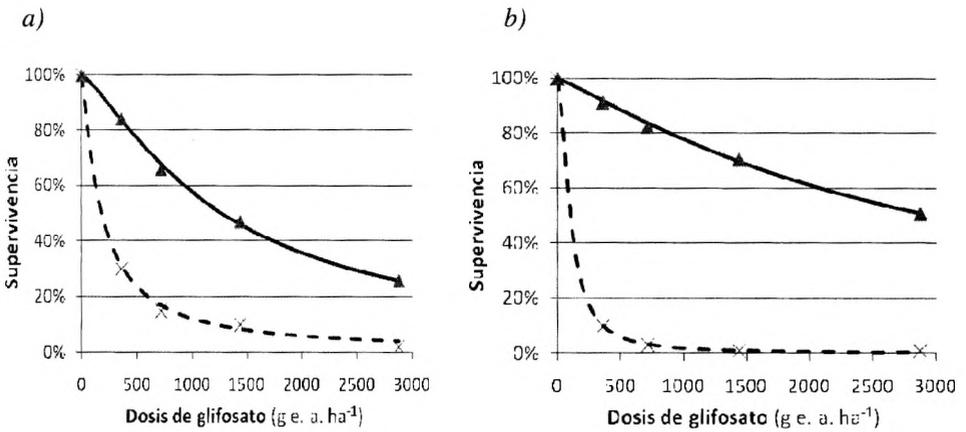


Figura 2: Porcentaje de supervivencia de plantas a los 15 días post-aplicación de glifosato en función de las dosis empleadas. Se grafican las curvas de regresión y valores promedio.

- Curva de regresión de supervivencia del biotipo susceptible ($R^2 = 0,90$).
- Curva de regresión de supervivencia del biotipo resistente ($R^2 = 0,92$).

CONCLUSIONES

Con el estudio de los biotipos descendientes de la población de *Lolium perenne* L. problema se advierte la aparición de un nuevo caso de resistencia a glifosato en Argentina. Cumpliendo con los objetivos establecidos, no existen dudas del comportamiento diferencial del biotipo resistente frente al susceptible evaluado. Los ensayos realizados en distintas etapas ontogénicas mostraron un incremento del IR a medida que avanzaba el ciclo de la planta.

BIBLIOGRAFÍA

- ISTILART, C. M. (2005). Relevamiento de malezas en girasol en el centro sur de la provincia de Buenos Aires. XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas; I Congreso Iberoamericano de Ciencia de las Malezas. Cuba.
- STREIBIG, J.; RUDEMO, M. y JENSEN, J. (1993). Dose-response curves and statistical models. En: Herbicide Bioassays. J. C. Streibig y P. Kudsk. CRC Press. Boca Raton, Florida, 29-55.
- PEREZ-JONES, A.; PARK, A.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C.; y SHANER, D. (2005). Identification of glyphosate resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Oregon. *Weed Science*, 53, 775-779.
- PEREZ-JONES, A.; PARK, K.; POLGE, N.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C. (2007). Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta*, 226, 395-404.
- SINGH, B. K. y SHANER, D. L. (1998). Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate resistant plants. *Weed Technology*, 12, 527-530.
- ONOFRI, A. (2008). BIOASSAY97 versión 2.512 (Excel® VBA Macro). Department of Agro-environmental Sciences - University of Perugia. Disponible en: <http://www.unipg.it/~onofri/Bioassay97/Bioassay97.htm>. Último acceso: 10/02/2009.