

3 B.16 - RESISTENCIA CRUZADA DE TRIGO CLEARFIELD A IMIDAZOLINONAS

A.M. Rojano-Delgado¹, R. De Prado¹, H.E. Cruz-Hipólito¹,²N. Espinoza y ²J. Díaz

¹Departamento de Química Agrícola y Edafología, Universidad de Córdoba, Campus Rabanales,
España. E-mail: arakidonis@hotmail.com

² INIA. Carillanca. Temuco. Chile.

Resumen: Los datos obtenidos en los experimentos realizados han demostrado que el *Triticum aestivum* var. Pandora-R es más resistente a las Imidazolinonas estudiadas que *T. aestivum* var. Pandora-S; registrándose un alto nivel de resistencia a Imazametabenz-metil. Los valores de I_{50} calculados para la variedad Pandora-R mostraron el siguiente orden de resistencia: Imazametabenz-metil \geq Imazamox \geq Imazapir > Imazaquin > Imazetapir. No obstante, en la variedad Pandora-S el orden resultó diferente: Imazapir > Imazamox \geq Imazaquin \geq Imazametabenz-metil > Imazetapir. El alto valor del factor de resistencia a las Imidazolinonas presentado por la variedad Pandora-R es un rasgo que podría ser utilizado como un método eficaz para el control de malezas resistentes a otros herbicidas en cultivos de trigo en Chile.

Palabras clave: Trigo Clearfield, Imidazolinonas, ALS.

INTRODUCCIÓN

La tecnología Clearfield es un cultivo que se emplea en el control de malezas en trigos de invierno y consiste en el fomento de variedades tolerantes a herbicidas de la familia de las Imidazolinonas donde no hay inserción de genes resistentes a estos herbicidas y por ello no son considerados como organismos modificados genéticamente (OMG) (COLQUHOUN, J. et al., 2003). La variedad de trigo Pandora (*Triticum aestivum*) resistente a Imazamox se ha utilizado de forma eficaz en el control de un gran número de malezas tolerantes y/o resistentes a herbicidas en Chile. El objetivo de este trabajo fue determinar el nivel de resistencia de éste cultivar a otras Imidazolinonas, como Imazametabenz-metil, Imazapir, Imazaquin e Imazetapir con respecto a un trigo sensible. Para ello se hizo un estudio con herbicidas inhibidores de la enzima Acetolactato Sintasa (ALS), responsable de la síntesis de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina), calculando los valores de I_{50} de acuerdo a la metodología desarrollada por DE PRADO et al. (2006).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas de las poblaciones *T. aestivum* utilizadas se obtuvieron de plantas procedentes de Chile (INIA-Carillanca). Se usaron semillas de dos cultivares de *T. aestivum* var. Pandora, uno de los cuales es un mutante resistente al que denominaremos Pandora-R y el otro sensible se denominará Pandora-S.

Herbicidas

Los ensayos *in vivo*, dosis respuesta, se realizaron con el herbicida formulado Imazamox (Pulsar 40, BASF). Mientras que los ensayos enzimáticos se realizaron con productos puros (> 98%) suministrados por la casa BASF.

Curvas dosis respuesta

Todas las semillas fueron desinfectadas con CaCl_2 1mM para evitar la aparición de problemas en la germinación. Las plantas se obtuvieron sembrando las semillas en macetas de 2 l de sustrato (2:1 suelo:turba) con 3 plantas cada maceta. Las condiciones de crecimiento fueron: temperatura día/noche de $28 \pm 2/20 \pm 3$ °C y un fotoperíodo de 12 h de luz, manteniendo la humedad relativa constante al 80 ± 5.8 %.

En los ensayos de dosis respuesta solo se usó Imazamox. Los tratamientos se realizaron sobre plantas de *T. aestivum*, usando un aspersor provisto de una boquilla Tee Jet de abanico plano 8002 EVS con un volumen de $300 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$ a 200 kPa. El Imazamox formulado se aplicó en dosis de 0; 17.5; 35; 70; 140; 280; 420 y 560 g. de m.a. en un volumen de $300 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$. El peso fresco de la parte aérea por maceta se determinó 25 días después de la aplicación y los datos se expresaron como porcentaje de reducción de peso fresco con respecto al testigo. La dosis del herbicida que inhibe el crecimiento de las plantas en un 50% con relación al testigo (ED_{50}) se determinaron para cada cultivar de acuerdo a la metodología descrita por DE PRADO et al., (2006). El experimento se realizó 2 veces, con 3 plantas para cada dosis. Los datos se combinaron y se ajustaron a un modelo de regresión no lineal (STREIBIG et al., 1993; SEEFELDT et al., 1995). Los parámetros para cada especie se estimaron con un intervalo de confianza del 95%, utilizando el programa de análisis estadístico Sigma Plot 8.0 (RUIZ-SANTAELLA et al., 2006).

Actividad ALS

La actividad ALS se midió como la formación de producto, Acetolactato, después de su conversión a Acetoína por descarboxilación en presencia de ácido (RAY, 1984). El material vegetal utilizado para estos ensayos fue obtenido a partir de plantas de *T. aestivum* var. Pandora R y S a Imazamox. La extracción de la enzima y los estudios de la actividad enzimática se realizó sobre hojas jóvenes siguiendo la metodología descrita por CALHA et al., (2007). Los ensayos de actividad se realizaron sobre extractos enzimáticos incubados con Imazamox, Imazametabenz-metil, Imazapir, Imazaquin e Imazetapir. Los resultados se expresaron como la concentración de herbicida necesaria para reducir la actividad ALS en un 50% (I_{50}) con respecto al control sin herbicida.

RESULTADOS

Curvas dosis respuesta

Los valores ED_{50} obtenidos a partir de las curvas dosis respuesta muestran que la variedad resistente es 11.5 veces más resistente a Imazamox que la variedad sensible (Figura 1).

Actividad ALS

Los ensayos *in vitro* muestran que la variedad resistente presenta valores superiores al sensible frente a todos los herbicidas de la familia de las Imidazolinonas (Tabla 1). El factor de resistencia (fr) de Pandora-R es 300 veces más resistente a Imazamox que el del biotipo sensible, mientras que para Imazetapir ese valor baja a 6.58. *T. aestivum* var. Pandora-R presenta resistencia cruzada a Imidazolinonas a nivel enzimático (Tabla 1).

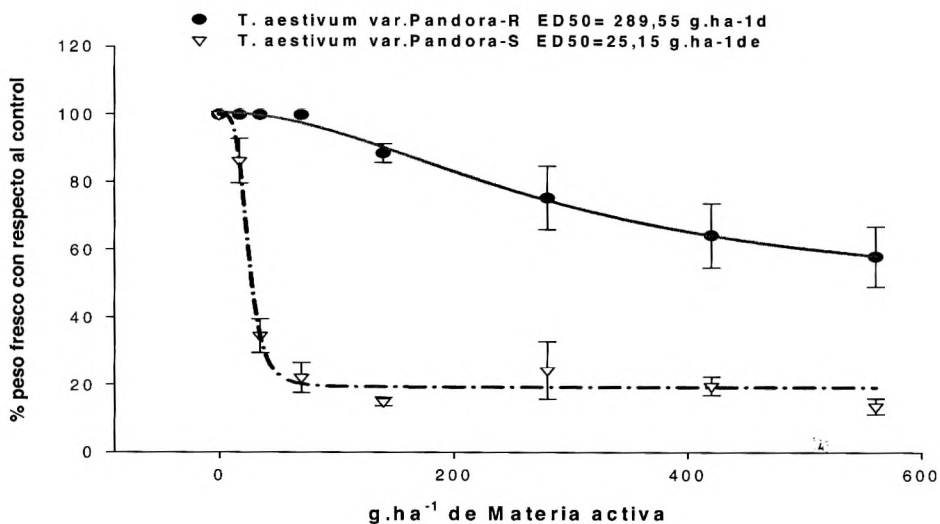


Figura 1. Efecto de diferentes dosis de Imazamox sobre el crecimiento de *T. aestivum* var. 'Pandora' -R y S al herbicida.

Tabla 1. Valores de I₅₀ para ALS en *T. aestivum*.

	Imazamox	Imazetapir	Imazapir	Imazaquin	Imazetabenz-metil
Pandora-S	1.4693	0.9895	3.8428	1.347	1.2815
Pandora-R	>300	6.5145	>300	12.4643	>300

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que el trigo Clearfield resistente a Imazamox presenta también una elevada resistencia a todas las Imidazolinonas y por tanto es una excelente herramienta para el control de gramíneas que son resistentes a herbicidas con diferentes modos de acción a los inhibidores de la ALS, lo mismo que aquellos biotipos de malas hierbas resistentes a Glifosato y a la ACCasa. Sin embargo, como muestran los resultados de la Tabla 1, Clearfield debe su alta resistencia a la falta de la proteína de enlace (ALS) por el herbicida. Pandora-S presenta, también como el biotipo R a Imazamox, un alto factor ED₅₀ y por ello se puede considerar resistente con respecto a las gramíneas sensibles. Este último resultado nos hace dirigir nuestra futura investigación en estudiar la secuencia aminoacídica de la ALS del material utilizado en este trabajo, con el fin de dilucidar si estamos ante secuencias diferentes y/o proteínas de enlace también diferentes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la subvención obtenida en el proyecto AGL2007-60771/AGR.

BIBLIOGRAFÍA

- CALHA I.M.; OSUNA M.D.; SERRA C.; MOREIRA I.; DE PRADO R.; ROCHA F. (2007). Mechanism of resistance to bensulfuron-methyl in *Alisma plantago-aquatica* biotypes from Portuguese rice paddy fields. Weed Research, vol. 47, Issue 3, 231 – 240.
- COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH C.; BALL D. (2003). Weed management in Clearfield wheat with imazamox. Oregon State University. Extension Service.
- DE PRADO R.; CRUZ-HIPÓLITO H.; MARTÍNEZ-CORDÓN M.J. (2006). Uso de herbicidas en olivicultura. Agrícola vergel: Fruticultura, horticultura, floricultura, ISSN 0211-2728, Año 25, N° 297, 419-431.
- RAY T.B.(1984). Site of Action of Chlorsulfuron. Inhibition of Valine and Isoleucine Biosynthesis in Plants. Plant Physiology, vol.75, 827-831.
- RUIZ-SANTAELLA J.P.; BASTIDA F.; FRANCO A. R.; DE PRADO R. (2006). Morphological and molecular characterization of different *Echinochloa spp.* and *Oryza sativa* populations. Journal of agricultural and food chemistry, vol.54(4), 1166-72.
- SEEFELDT S. S.; JENSEN J. E.; FUERST E. P. (1995). Log-logistic analysis of dose-response relationships. Weed Technology, vol. 9, 218–227.
- STREIBIG J.C.; RUDEMO M.; JENSEN J.E. (1993). Dose-response curves and statistical models. Herbicide Bioassays. Boca Raton, FL: CRC Press. J. C. Streibig and P. Kudsk, eds. 29–55.

Summary: Cross-resistance of Clearfield wheat to Imidazolinones. The data obtained in experiments was observed that the *Triticum aestivum* var. Pandora-R was more resistant to the imidazolinones studied than the *T. aestivum* var. Pandora-S; with a high level of resistance to imazamethabenz methyl being recorded. The I_{50} values calculated for the Pandora variety showed the following order of resistance: imazamethabenz-methyl \geq imazamox \geq imazapyr > imazaquin > imazethapyr. However, in the susceptible variety, the order was different: imazapyr > imazamox \geq imazaquin \geq imazamethabenz methyl > imazethapyr. The high value of the factor of resistance to the imidazolinones presented by the Pandora variety is a trait which could be used as an effective method for the control of weeds resistant to other herbicides in wheat crops in Chile.

Key Words: Clearfield wheat, Imidazolinones, ALS.