

Poblaciones de *Lolium sp* resistentes a cletodim en el sur de Buenos Aires

Vigna, M.R.¹; Carretto, L. M.²; Mendoza, J.³
 vigna.mario@gmail.com,² Becario Doctoral CONICET,
 EEA INTA Bordenave, carretto.luis@inta.gob.ar,
³Asesor privado mendozajor@bvconline.com.ar



RESUMEN

En la Argentina la resistencia de *Lolium sp.* a glifosato se ha comprobado desde hace tiempo, como también a otros herbicidas. Relevamientos previos indicarían que también se manifiesta la resistencia a cletodim. El objetivo de este trabajo fue comparar dos poblaciones de *Lolium sp.* (A y B) provenientes de lotes con 25 y 18 años de agricultura continua y putativamente resistentes a cletodim, respecto a una sensible (C) y evaluar su comportamiento frente a glifosato y haloxifop-R-metil. Se efectuaron dos experimentos simultáneos en macetas, a dosis crecientes de cletodim (48, 96, 192, 288, 576 g p.a. ha⁻¹) y otro con dosis fija de glifosato (1240 g p.a. ha⁻¹) y haloxifop-R-methyl (97.2 g p.a. ha⁻¹). La aplicación (volumen 250 l ha⁻¹) se efectuó el 16 de septiembre de 2019 sobre plantas en macollaje. El índice de Resistencia de población A y B respecto a la C fue de 81.3 y 109.6 veces, respectivamente. La población C mostró sensibilidad normal a glifosato y haloxifop, pero A solo respondió a glifosato, mientras que haloxifop-R-metil no tuvo efecto sobre A y B.

Palabras clave: resistencia, glifosato, haloxifop.

SUMMARY

The *Lolium sp.* resistance to glyphosate has long been proven in Argentina, as well as for other herbicides. Previous surveys would indicate that resistance to cletodim is also manifested. In order to get an overview of this herbicidal resistance status we compared two populations of *Lolium* (A and B) from commercial lots with 25 and 18 years of continuous agriculture and putatively resistant to cletodim, versus a sensitive one (C) and evaluate their behavior against glyphosate and haloxifop-methyl. Two simultaneous experiments were carried out in pots: to evaluate the response to increasing doses of cletodim (48, 96, 192, 288, 576 g a.i..ha⁻¹) and

other with a fixed dose of glyphosate (1240 g pa ha⁻¹) and haloxifop-R-methyl (97.2 g a.i..ha⁻¹). The application (volume 250 l.ha⁻¹) was carried out on 9/16/19 on plants in tillering. The Resistance Index of population A and B versus C was 81.3 and 109.6 times, respectively. Population C showed normal sensitivity to glyphosate and haloxifop, but only A responded to glyphosate, while haloxifop-R-methyl had no effect on A and B.

Keywords: resistance, glyphosate, haloxifop-R-methyl

INTRODUCCIÓN

El raygras (*Lolium sp.*) ha sido una maleza tradicional en los cultivos de trigo del sur del área triguera Argentina (Catullo *et al.* 1982), principalmente en los partidos de Cnel. Dorrego y Tres Arroyos (Pcia. Buenos Aires). Sin embargo, hasta los 90 fue considerada de importancia menor, sobre todo respecto a otra maleza poácea, *Avena fatua*. Con la expansión del sistema de siembra directa se intensificó la dependencia de los herbicidas desde la etapa de barbecho y, paulatinamente, comenzó a crecer la problemática de *Lolium sp.*, primero como maleza en barbecho y luego durante el cultivo en trigo y cebada.

Se habla de *Lolium sp* para referirse en general a las poblaciones arvenses de la Argentina, ya que cuando se inició el problema de la resistencia surgieron inconvenientes para definir la especie cuando comenzó a identificarse individuos en las mismas poblaciones con características similares a *Lolium multiflorum*, *L. perenne* y también individuos con características de ambas especies. En la página www.weedscience.org se considera como *Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum* (Lam.) Husnot. (USDA, 2017).

En el sur de la provincia de Buenos Aires la resistencia de *Lolium sp.* a glifosato ha sido confirmada (Vigna *et al.* 2008 y Yannicari *et al.* 2009),

Cuadro 1. Análisis estadístico de dosis respuesta a cletodim a los 20 y 30 días desde la aplicación

Variable	P	
	20 DDA	30DDA
Población	<0,0001	<0,0001
Dosis cletodim	0,0002	<0,0001
Población x dosis cletodim	0,1472	0,0180

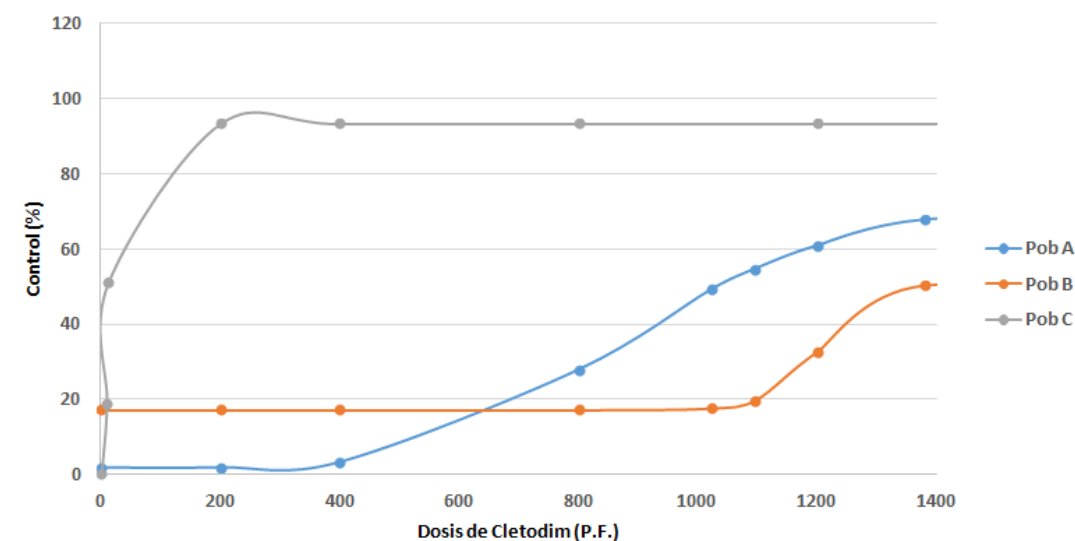
luego a ACCasa (Vigna *et al.* 2011) y la resistencia múltiple a glifosato +ACCasa y glifosato +ALS en el SE (Diez Ulzurum y Leaden 2011, alcanzando también la zona núcleo sojera (Papa *et al.* 2012). En el caso de cletodim, si bien se asume que la resistencia existe en poblaciones del SO de Buenos Aires debido a relevamientos de lotes efectuados previamente (Vigna *et al.* 2017), no se han hecho pruebas con poblaciones específicas. En general, desde el comienzo de la problemática de resistencia, se apeló al control en barbecho con las mezclas de glifosato + haloxifop y sobre todo a glifosato + cletodim, considerando a ésta como la más efectiva en lotes comerciales. Existen antecedentes sobre la complejidad de expresión de la resistencia a cletodim en condiciones de campo, que podrían estar relacionada con la existencia de

mutaciones específicas en la enzima ACCasa, como resistencia metabólica y penalidades biológicas ("fitness") (Yu *et al.* 2007, Saini *et al.* 2016, Vila Aiub *et al.* 2015). Por ello pareció importante tomar poblaciones de lotes identificados con el problema y compararlas con poblaciones sensibles para conocer más sobre la problemática y disponer de información precisa.

El objetivo fue comparar la respuesta de 2 poblaciones de *Lolium* spp. putativamente resistentes a cletodim respecto a una sensible a este herbicida y paralelamente conocer su respuesta a glifosato y haloxifop-metil.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron las poblaciones 02-18 (A) y 07-18 (B) provenientes de lotes de 25 y 18 años de agricultura continua, respectivamente, y la 998-

**Figura 1.** Curvas de respuesta de 3 poblaciones de *Lolium* sp a dosis crecientes de cletodim (P.F: 24%).

13(C) considerada sensible, colectada en el Partido de Cnel. Dorrego y sur del Partido de Cnel. Pringles. El experimento se efectuó en la EEA INTA Bordenave durante el año 2019.

Las semillas se colocaron en cámara de germinación y las plántulas en macetas de 3 litros y puestas afuera en un lugar protegido. El suelo fue de un lote agrícola típico de la región con baja infestación de semillas de malezas y se regó convenientemente para asegurar el desarrollo de las plantas.

Se efectuaron dos experimentos simultáneos: uno destinado a ver la sensibilidad relativa a dosis creciente de cletodim (experimento dosis-respuesta) 0, 200, 400, 800, 1600 y 2400 ml de producto formulado (p.f.) ha⁻¹ (Select 24% EC) y otro destinado a evaluar la respuesta a una dosis fija de glifosato (2000 ml ha⁻¹ de Sulfosato Touchdown -62% SL) y haloxifop (180 cc ha⁻¹ Galant HL 54%EC). Los ensayos tuvieron un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones. La aplicación de los tratamientos se efectuó el 16/9/19 por la mañana (9 hs, 8,7°C) en día soleado y sin viento. La aplicación se realizó mediante un equipo experimental de presión contante (volumen 250 l ha⁻¹) con una barra de 3 picos (1102) y una presión de 40lbs. psi⁻¹. Se realizó evaluación de % de control mediante una escala

porcentual (0: sin efecto del herbicida, 100: muerte de la planta) a los 21 y 30 días desde la aplicación. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza y para la comparación de medias se utilizó el test LSD ($P \leq 0.05$) (software paquete estadístico Infostat) y para el modelo dosis-respuesta se utilizó un ajuste no-lineal a un conjunto de datos usando Solver de Excel (Optimización y Estadística (SOE SC) (Macario Hernández Garza, 2008).

RESULTADOS

El control de las diferentes dosis de cletodim mostró diferencias significativas entre sí y una interacción entre poblaciones y dosis a los 30 días de la aplicación (Cuadro 1) El posterior ajuste del modelo dosis-respuesta (Figura 1) mostró una clara diferencia de respuesta de la población A y B respecto a C, mostrando un Índice de Resistencia (A o B respecto a C) muy alto (Cuadro 2).

La respuesta a glifosato y haloxifop-metil a los 20 y 30 días de aplicación por parte de las tres poblaciones fue diferente. El análisis estadístico mostró diferencia entre poblaciones, herbicidas e interacción entre ambos (Cuadro 3). La población C fue altamente sensible a ambos herbicidas, mientras la A solo fue sensible a Glifosato pero ni A ni B fueron sensibles a haloxifop.



Cuadro 2. Índices de resistencia de las poblaciones A y B, respecto a C, a partir de las DL50 calculadas por el modelo de dosis - respuesta utilizado.

Población	LD50	IR
A	1023.3	81.3
B	1380.4	109.6
C	12.6	

DISCUSIÓN

Los primeros trabajos australianos referidos a la resistencia de *Lolium* y la actividad de cletodim indicaban que la manifestación de la resistencia al mismo permanecía baja aunque crecía en otros inhibidores de la ACCasa (Llewellyn & Powles 2001). Sin embargo posteriormente se comenzó a registrar un incremento sostenido de la misma en lotes comerciales (Preston *et al.* 2015). En nuestra historia de la resistencia de *Lolium* en la Argentina, también fue considerado como la "bala de plata" (Vigna *et al.* 2013). Yu *et al.* (2007) observaron que había doce combinaciones de alelos mutantes en relación con la resistencia de cletodim en *Lolium* y que algunos de ellos expresaban resistencia cruzada a otros inhibidores de la ACCasa como clodinafop, diclofop, fluazifop, haloxyfop, butroxydim, sethoxydim, tralkoxydim, and pinoxaden. Luego de

realizar diferentes cruzamientos entre poblaciones resistentes y susceptibles (Saini *et al.* 2017) se observó que el nivel de dominancia en la F1 fue variable desde parcial a completa según las poblaciones, ajustando a diferentes modelos de herencia, indicando que existen diferentes patrones de resistencia para cletodim en *Lolium rigidum*. La expresión de la resistencia a cletodim también estaría influenciada por condiciones ambientales en el momento de la aplicación o por subdosis (Delye *et al.* 2008). Saini *et al.* (2016) mostraron que en *Lolium*, las heladas días previos a la aplicación de cletodim fueron más importantes en exacerbar la resistencia que heladas posteriores a la misma, pero el comportamiento del herbicida no fue afectado en plantas susceptibles. Por otra lado, Vila Aiub *et al.* (2015) mostraron que la importancia del impacto diferencial que tiene el sitio de la mutación (Ile-1781-Leu o

Cuadro 3. Análisis estadístico de la respuesta a glifosato y haloxyfop a los 20 y 30 días desde la aplicación

Variable	p-valor	
	20 DDA	30DDA
Población	<0,0001	<0,0001
Herbicida	<0,0001	0,0001
Población x Herbicida	0,0005	0,0024

Los primeros trabajos australianos referidos a la resistencia de *Lolium* y la actividad de cletodim indicaban que la manifestación de la resistencia al mismo permanecía baja aunque crecía en otros inhibidores de la ACCasa (Llewellyn & Powles 2001)



Asp-2078-Gly) sobre la penalidad de individuos resistentes a cletodim en el desarrollo del individuo, lo que podría ponerlo en inferioridad de condiciones para competir y así condicionar su persistencia en la población. En poblaciones de *L. perenne* var. *multiflorum* resistentes a cletodim de Mississippi y Carolina del Norte, Nandula *et al.* (2020) también observaron diferencias, ya sea en el nivel (10, 4 o 40 veces) o en la resistencia cruzada a otros ACCasa. Estas diferencias estuvieron asociadas al número y tipo de mutación de la enzima y no vieron

efecto de inhibidores metabólicos como el butóxido de piperonilo.

El presente ensayo mostró que las dos poblaciones resistentes a cletodim también mostraron baja sensibilidad a haloxyfop, sin embargo los antecedentes no permiten afirmar que todas las poblaciones resistentes a cletodim del SO de Buenos Aires tengan el mismo comportamiento.

La respuesta de las poblaciones A y B, resistentes a cletodim fue diferente, mostrando la posibilidad de resistencia múltiple a cletodim y glifosato en A. La

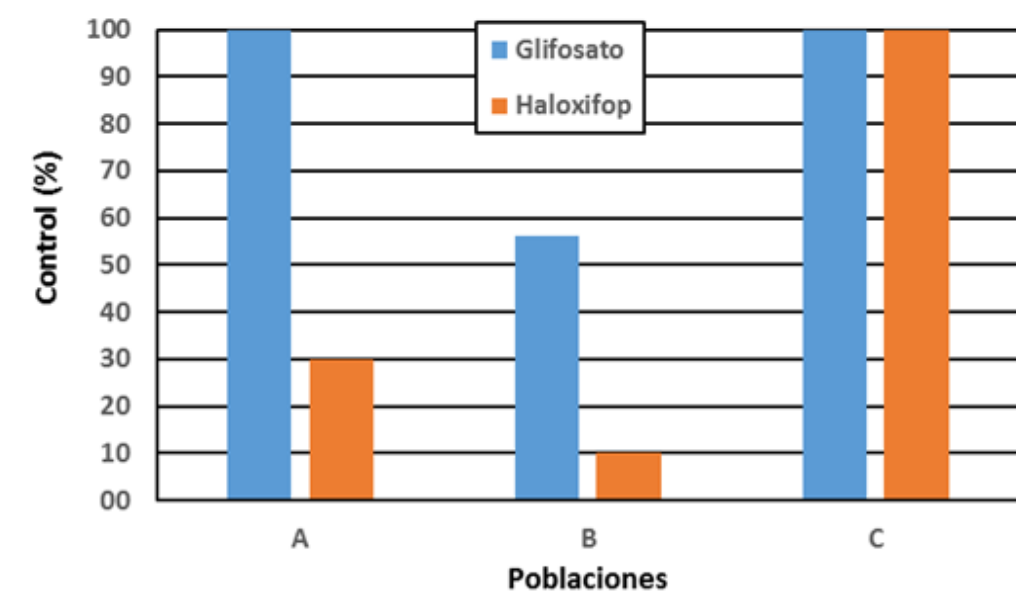


Figura 2. Sensibilidad de tres poblaciones de *Lolium* sp a glifosato y haloxyfop-metil.



resistencia múltiple en *Lolium rigidum* ya fue descrita en Australia entre otros casos, donde Yu *et al.* (2007) observaron resistencia múltiple a glifosato, inhibidores de la ACCasa y paraquat. La misma estaba sustentada por la ocurrencia de cuatro mecanismos de resistencia indicando la ocurrencia simultánea de dos mecanismos de resistencia a EPSPS. Tehranchian *et al.* (2019) trabajaron en dos poblaciones con resistencia múltiple a glifosato, setoxidim y paraquat de *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum* en California. Esas dos poblaciones también fueron resistentes a otros inhibidores de la ACCasa como fluazifop, fenoxaprop, cyhalofop, pero solamente una resistente a cletodim. Adicionalmente, esas poblaciones también manifestaron resistencia a los inhibidores de ALS imazamox y mesosulfuron- metil.

López *et al.* (2008) y Lindón *et al.* (2009) mostraron que la mezcla de glifosato y cletodim mejoró sustancialmente el control de poblaciones de *Lolium* con baja sensibilidad a glifosato provocando un efecto sinérgico sobre el control final de estas poblaciones. Hasta el presente son numerosos los ensayos que demuestran este efecto en condiciones de campo.

CONCLUSIONES

Las poblaciones de *Lolium* A y B provenientes de dos lotes con larga historia de agricultura de diferentes sitios del SO de Buenos Aires mostraron un alto Índice de resistencia a cletodim. Esta característica pareció estar asociada también con la muy baja sensibilidad a haloxifop-metil. La población A mostró sensibilidad normal a glifosato mientras que en la B fue menor. «

Esta característica pareció estar asociada también con la muy baja sensibilidad a haloxifop-metil. La población A mostró sensibilidad normal a glifosato mientras que en la B fue menor.

Bibliografía

- DÉLYE C, MATÉJICEK A & MICHEL S (2008). Cross-resistance patterns to ACCase-inhibiting herbicides conferred by mutant ACCase isoforms in *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass), re-examined at the recommended herbicide field rate. *Pest Management Science* 64: 1179–1186.
- DIEZ DE ULZURRUN P & LEADEN MI (2012). Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* a herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y glifosato. *Planta Daninha* 30(3):667-673.
- LINDON MB, IRIGOYEN, JH, SABBATINI MR & CRAGNAZ A (2009). Efecto sinérgico de la mezcla entre glifosato y cletodim para el control de un biotipo de *Lolium multiflorum* resistente a glifosato. XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Termas de Río Hondo, Santiago del Estero, 1 y 2 de octubre 2009: M07, 5 pp(CD)
- LLEWELLYN RS & POWLES SB (2001). High levels of herbicide resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in the wheat belt of Western Australia. *Weed Technology* 15: 242–248.
- LOPEZ RL, VIGNA MR & GIGON R (2008). Evaluación de herbicidas para el control de *Lolium multiflorum* Lam. en barbecho para cereales de invierno. In: Congreso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas (26); Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (18., 2008, Ouro Preto, MG, BR). Atas.Ouro Preto, SBPCPD.
- HERNÁNDEZ GARZA M (2008). Sistemas de Optimización y Estadística, S. C. Available at: <https://optyestadistica.wordpress.com/2008/05/29/ajuste-no-lineal-a-un-conjunto-de-datos-usando-solver-de-excel/comment-page-1/>. (Fecha acceso: febrero 2020)
- NANDULA V, GIACOMINI DA, LAWRENCE BH, MOLIN WT & BOND J (2020). Resistance to clethodim in Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) from Mississippi and North Carolina. *Pest Management Science*, 76(4):1378-1385.
- PAPA JC, TUESCA D, PONS JC & PICAPIETRA G (2012). Confirmación de la resistencia a glifosato en un biotipo de raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) del Noreste de la Provincia de Buenos Aires. In: CD Actas XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas 227: 9.
- PRESTON C, BOUTSALIS P, KLEEMANN S, SAINI R & GILL G (2015) Herbicides for control of clethodim-resistant annual ryegrass. In: GRDC, Grains Research Update.s 2015. (edAdelaide, SA)–(11th February,WaggaWagga, NSW - 17th February Corowa, NSW).
- SAINI RK, MALONE J, PRESTON C & GIL GS (2016) Frost reduces clethodim efficacy in clethodim-resistant rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations. *Weed-Science*.64(2): 207-215.

SAINI, RK, MALONE J, GIL G & PRESTON C (2017) .Inheritance of evolved clethodim resistance in Australian *Lolium rigidum* populations .*Pest Mangement Science* 73 (8): 1604-1610.

TEHRANCHIAN P, NANDULA VK, MATZRAFI M & JASIENIUK M (2019) Multiple herbicide resistance in California Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*): characterization of ALS-inhibiting herbicide resistance. *Weed Science* 67: 273–280.

USDA (2017) Plan Data Base. *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum* (Lam.) Husnot Italian ryegrass Home / Profile Page / Data Source and Documentation for *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum* (Lam.) Husnot . <https://plants.usda.gov/java/reference?symbol=LOPEM2>

VIGNA MR, LÓPEZ RL & GIGÓN R (2011). Resistencia de *Lolium multiflorum* L. a Diclofop-metil en el SO de Buenos Aires, Argentina. In: XX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM), 9 pp. Actas del Congreso en CD Viña del Mar – Chile.

VIGNA MR, GIGON R, YANNICARI M, ISTILART C & PIZARRO MJ (2017). Evaluación preliminar del estado de la resistencia de *Lolium* sp. y *Avena fatua* L. en el SO de Buenos Aires, Argentina. In: XXXIII Congreso Latinoamericano de Malezas, III Congreso Iberoamericano de Malezas (26-30 junio de 2017)(La Habana, Cuba) 4 pp.

VIGNA MR, LÓPEZ RL, GIGON R & MENDOZA J (2008). Estudios de curvas dosis-respuesta de poblaciones de *Lolium multiflorum* a glifosato en el SO de Buenos Aires, Argentina. In: XXVI Congreso Brasileiro de Plantas Daninhas, XVIII Congreso de ALAM, (mayo 2008). (Ouro Preto, BRASIL). Editora: SBPCPD.

VIGNA M, LÓPEZ R & GIGON R (2013) Situación de la problemática y propuesta de manejo para *Lolium* y *Avena fatua* resistentes a herbicidas en el Sur de Buenos Aires. In: Viabilidad del Glifosato en Sistemas Productivos Sustentables. (INIA, Uruguay) Serie Técnica N° 204: 75-82.

VILA-AIUB MM, YU Q, HAN H & POWLES SP (2015). Effect of herbicide resistance endowing Ile-1781-Leu and Asp-2078-Gly ACCase gene mutations on ACCase kinetics and growth traits in *Lolium rigidum*. *Journal of Experimental Botany* 66(15): 4711-4718.

YANNICARI, M, ISTILART, C & GIMENEZ, D (2009). Evaluación de la resistencia a glifosato de una población de *Lolium perenne* L. del sur de la provincia de Buenos Aires. XII Congreso de SEMh. XIX Congreso de ALAM, II Congreso Iberoam. Cs. Maleza. Lisboa Actas Tomo 2:521-524.

YU Q, CAIRNS A & POWLES S (2007). Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta*.225:499-513.