

DetECCIÓN DE RESISTENCIA A HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ENZIMA ACCasa en *Eleusine indica* en la provincia de Tucumán, Argentina

Luciano Devani, Pablo D. Vargas, Sebastián Sabaté, Humberto F. Vinciguerra e Ignacio L. Olea
Sección Manejo de Malezas, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, R.
Argentina. malezas@eeaoc.org.ar

Introducción

Eleusine indica (L.) Gaertn. (ELEIN) es una maleza poácea anual primavero-estival, frecuente en los cultivos de granos de Tucumán (Turpe, 1975) y conocida vulgarmente como pata de gallina. A partir del año 2012 ha cobrado importancia en dicha provincia debido a la aparición de biotipos resistentes a glifosato (Heap, 2016).

A nivel mundial, ELEIN a desarrollado resistencia a los herbicidas inhibidores de la enzima acetil coenzima-A carboxilasa (ACCasa) en Malasia, Brasil y Bolivia (Heap, 2016). En todos los casos se indican resistencias cruzadas entre herbicidas de las familias Ariloxifenoxipropionatos (FOP's) y Ciclohexanodionas (DIM's).

El intercambio genético durante la polinización cruzada entre individuos del género *Eleusine* fue comprobada por Ganeshaiyah *et. al.*, (1980), por lo que no puede descartarse esta vía para la difusión y apilamiento de resistencia a herbicidas. En el año 2014 un productor de la localidad de Piedrabuena (Dpto. Burruyacú, Tucumán) alertó sobre fallas en el control de ELEIN con aplicaciones del herbicida haloxifop-r-metil. El lote tiene un antecedente de producción de soja no transgénica durante los últimos 20 años, con el uso de herbicidas graminicidas ACCasa para el control de gramíneas en postemergencia, lo que permitía suponer la probable existencia de una selección de individuos resistentes. El objetivo del trabajo fue estudiar la población sospechada, para determinar la posible existencia de un biotipo de *Eleusine indica* resistente a herbicidas que actúan sobre la enzima ACCasa.

Materiales y Métodos

Determinación del índice de resistencia

Durante la campaña 2014/15 se recolectaron semillas del biotipo sospechado (R), de plantas que habían sobrevivido a una aplicación comercial de haloxifop-r-metil. Por otra parte se recolectaron semillas de un biotipo de conocida susceptibilidad a los graminicidas inhibidores de la enzima ACCasa (S) en la localidad de Monte Grande (Dpto. Famaillá, Tucumán). Se sembraron las semillas de ambos biotipos en bandejas con sustrato (Kekkila profesional) en mezcla con perlita 3:1, luego se colocaron en una cámara de germinación (periodo de oscuridad 11,5 h y 25°C). Cuando las mismas alcanzaron

2 hojas se trasplantaron a macetas individuales (8 cm de diámetro por 9 cm de alto) de modo de obtener el número de plantas necesario por biotipo para los ensayos. Posteriormente las plantas fueron llevadas a invernáculo y cuando alcanzaron una altura de 12 cm se procedió a la aplicación. Se realizaron 2 ensayos, uno con el herbicida haloxifop-r-metil y otro con cletodim. Las dosis seleccionadas en ambos ensayos se detallan en la Tabla 1, las mismas surgieron de experiencias preliminares realizadas para detectar el rango de dosis más adecuada para cada biotipo.

Tabla 1. Dosis de los herbicidas haloxifop-r-metil y cletodim aplicados en los ensayos en invernáculo.

Herbicidas	Biotipos	Dosis														
Haloxifop (g e.a. ha⁻¹)	S	0	0.96	1.9	3.8	8	15	31	58	135	385	-	-	-	-	-
	R	0	-	-	-	-	15	31	58	135	385	1538	3846	7692	19231	28846
Cletodim (g i.a. ha⁻¹)	S	0	1.2	2.4	4.8	12	24	48	96	240	720	1680				
	R	0	-	2.4	4.8	12	24	48	96	240	720	1680	3600	-	-	-

El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con 4 repeticiones de una planta por dosis y biotipo.

Las aplicaciones se realizaron empleando una mochila experimental de espalda de presión constante con fuente de CO₂, con pastillas modelo Turbo Teejet 11002, calibrada para descargar un volumen de aplicación de 200 l ha⁻¹. Al momento de la aplicación se tomaron 6 plantas de cada biotipo para determinar la biomasa aérea al inicio de los ensayos. A los 20 DDA se procedió al corte del material vegetal aéreo. Los mismos se llevaron a estufa 80 °C hasta peso constante para luego medir la biomasa aérea.

Con los valores obtenidos se procedió a determinar las curvas de dosis-respuesta aplicando un modelo log-logístico propuesto por Seefeldt *et. al.* (1995), el mismo utiliza la expresión matemática de $y = f(x) = C + [(D - C) / (1 + (X / DL50)^b)]$ donde D y C son el límite superior e inferior, b es la pendiente de la curva, X es la dosis del herbicida y DL50 es la dosis que provee una reducción del 50% del peso seco con respecto al testigo. Además se calculó el índice de resistencia (IR) definido como el cociente de DL50 del biotipo sospechado y la DL50 del biotipo susceptible (Valverde *et. al.*, 2000).

Experiencias a campo

Durante los años 2014 y 2016 se llevaron a cabo experiencias en la localidad de Piedrabuena (Dpto. Burruyacú, Tucumán) (26° 39'S - 64° 35'O) en el campo donde se habían detectado fallas en el control de ELEIN al emplearse el herbicida haloxifop-r-metil.

Se realizaron cuatro ensayos con plantas de ELEIN de diferentes diámetros, todos en estado vegetativo. El diámetro más chico fue de 5 cm y 1 a 2 macollos momento óptimo para la aplicación de graminicidas ACCasa, los otros tres fueron 10, 20 y 30 cm con 4 a 8 macollos de diferentes longitudes. Los herbicidas

aplicados fueron haloxifop-r-metil y cletodim. Los detalles de los ensayos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Detalles de los ensayos realizados en la localidad de Piedrabuena (Dpto. Burruyacú, Tucumán) sobre *Eleusine indica*.

Herbicidas	Tratamientos	Dosis
Testigo	T1	-
Haloxifop	T2	120 (g e.a. /ha)
	T3	240 (g e.a. /ha)
	T4	480 (g e.a. /ha)
Cletodim	T5	240 (g i.a. /ha)
	T6	480 (g i.a. /ha)
	T7	960 (g i.a. /ha)

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con 3 repeticiones, con un tamaño de parcela de 14 m² (2 m de ancho por 7 m de largo). Para la aplicación de los tratamientos se empleó una mochila experimental de espalda de presión constante con fuente de CO₂, con pastillas modelo Turbo Teejet 11002, calibrada para descargar un volumen de aplicación de 150 l/ha. Se realizaron evaluaciones a los 10, 20 y 30 días después de cada aplicación (DDA), utilizándose una escala porcentual de 0 a 100 para representar el efecto herbicida (EH). El valor 0 indica falta total de control y 100 la muerte de todos los individuos presentes en la parcela. La escala descriptiva de referencia es la sugerida por la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM, 1974), la cual considera seis índices o rangos porcentuales que se identifican con las denominaciones de pobre (0-40), regular (41-60), suficiente (61-70), bueno (71-80), muy bueno (81-90) y excelente (91-100). Con los datos obtenidos a los 30 DDA se efectuó el análisis de la varianza, a un nivel de significancia de 0,05, y se realizó la comparación de medias mediante el método LSD de Fisher.

Resultados

Los resultados de la curva de dosis-respuesta con haloxifop-r-metil (Figura 1) demuestran que para el biotipo R se necesitaron 279 g e.a. ha⁻¹ para reducir el 50% de la biomasa (DL50) y 4 g e.a. ha⁻¹ para el biotipo S. Dichos valores indican un índice de resistencia de 66.

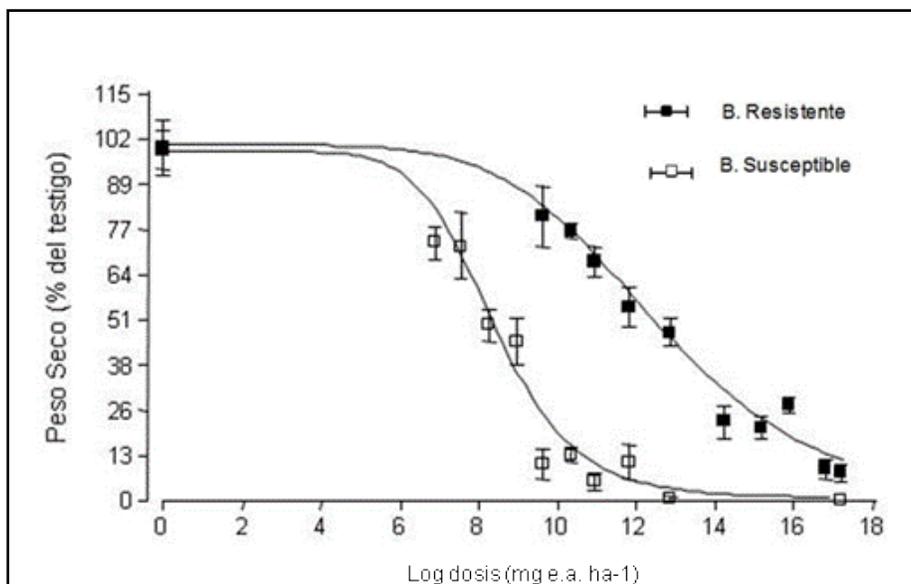


Figura 1. Curva dosis-respuesta. Biomasa en peso seco (% del testigo sin herbicida) de dos biotipos de *Eleusine indica* en función de la dosis del herbicida haloxifop-r-metil a los 20 DDA. Cada símbolo representa el valor promedio (n=4) y las barras el error estándar de la media. Biotipo resistente= $Y=-3,53+((99,04+3,53)/(1+(x/12,54)^{5,96}))$, $R^2=0,94$. Biotipo susceptible= $y=-0,78+((97,25+0,78)/(1+(x/8,35)^{8,23}))$, $R^2=0,91$.

A partir de los datos obtenidos de la curva de dosis-respuesta de cletodim (Figura 2), se encontró una DL50 de 135 para el biotipo R y 29 para el biotipo S, con lo cual se cuantifica un índice de resistencia de 4,6.

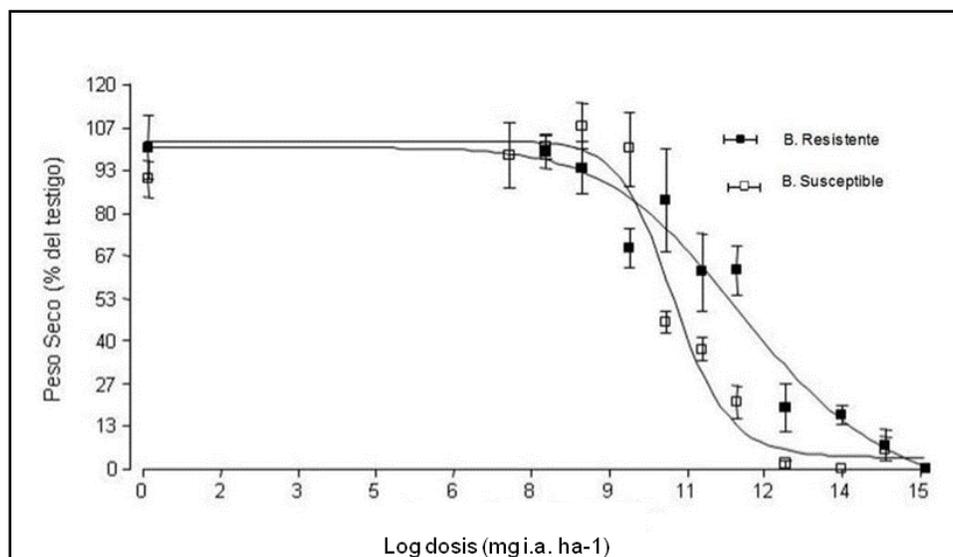


Figura 2. Curva dosis-respuesta. Biomasa en peso seco (% del testigo sin herbicida) de dos biotipos de *Eleusine indica* en función de la dosis del herbicida cletodim a los 20 DDA. Cada símbolo representa el valor promedio (n=4) y las barras el error estándar de la media. Biotipo resistente= $Y=-13,19+((99,43+13,19)/(1+(x/11,81)^{8,22}))$, $R^2=0,83$. Biotipo susceptible= $y=2,93+((101,32-2,93)/(1+(x/10,29)^{19,43}))$, $R^2=0,92$.

En la Figura 3 y 4 se presentan los resultados obtenidos en los diferentes ensayos realizados a campo para control de ELEIN con los herbicidas haloxifop-r-metil y cletodim.

En la citada figura, se puede observar que el doble de la dosis recomendada comercialmente para haloxifop-r-metil ($120 \text{ g e.a. ha}^{-1}$) para el control de ELEIN (Casafe, 2013) mostró un efecto herbicida menor al 7% para todos los tamaños evaluados. En la medida en que la dosis fue más alta el efecto herbicida aumentó, logrando un control de 37% en el tamaño menor, pero fueron prácticamente nulos cuando el tamaño de la maleza no fue óptimo.

Cletodim a la dosis $240 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ (2X) logró un efecto herbicida pobre para todos los tamaños de ELEIN, a medida que la dosis aumentó el control fue mayor. Con la dosis más alta ($960 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) el control fue excelente en los tamaños óptimos (5 y 10 cm) y regular en los tamaños de 20 y 30 cm de diámetro.

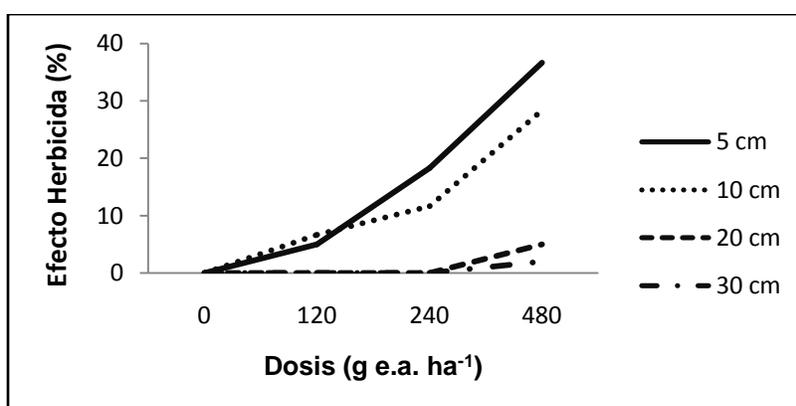


Figura 3. Efecto herbicida (%) de haloxifop-r-metil sobre diferentes diámetros de *Eleusine indica*.

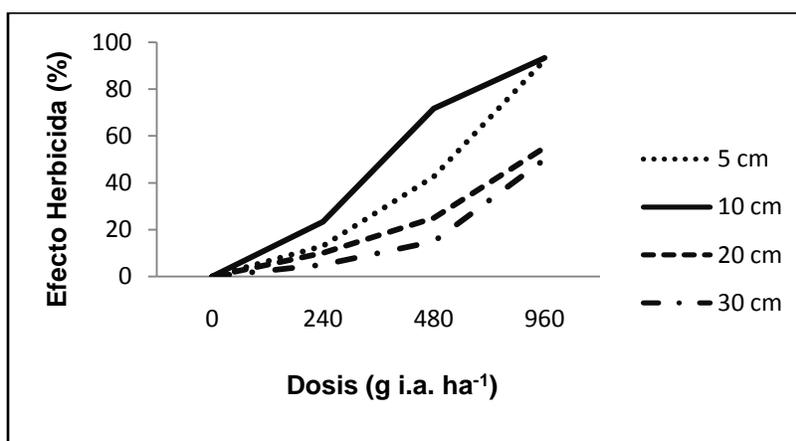


Figura 4. Efecto herbicida (%) de cletodim sobre diferentes diámetros de *Eleusine indica*.

Conclusión

Se ha confirmado que el biotipo de *Eleusine indica* de la localidad de Piedrabuena (Dpto. Burruyacú, Tucumán) es resistente a los herbicidas haloxifop-r-metil y a cletodim.

Sería conveniente controlar la diseminación de este biotipo para evitar la selección de una posible resistencia múltiple a glifosato y herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa, ya que se encuentra próximo al área donde se localizan biotipos de la misma especie con resistencia a glifosato.

Agradecimientos

A la Dra. Cecilia Díaz (UNT-FAZ) por su colaboración con el análisis estadístico de los datos y a los Ings. Agr. Diego Roig y Oscar Ricci en la contribución con los ensayos de campo.

Bibliografía

Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). 1974. Resumen del panel sobre Métodos para la Evaluación de Ensayos en Control de Malezas en Latinoamérica. Revista de la Asociación Latinoamericana de Malezas. II Congreso de ALAM, Cali, Colombia: 6-12.

Casafe. 2013. Guía de productos fitosanitarios. 16^o Edición 2013/2015.

Ganeshaiha K. N. y Umashaanker R. 1980. Evolution of Reproductive Behaviour in the Genus *Eleusine*. Euphytica 31 (1982) 397-404.

Heap I. 2016. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [En línea] Disponible en www.weedscience.com. Consultado: 16 de junio de 2016.

Seefeldt S. S., Jensen J. E. y Fuerst E. P. 1995. Log-logistic Analysis of Herbicide Dose-Response relationships. Weed Technology 9 (2): 218–227.

Turpe A. M. 1975. Los géneros de gramíneas de la provincia de Tucumán (Argentina). Opera Lilloana XXIV.

Valverde B., Riches C. Y Caseley J. 2000. Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz: experiencias en America Central con *Echinochloa colona*. Cámara de Insumos Agropecuarios. Primera edición. San José, Costa Rica. 136p.