



PRESENCIA DE POBLACIONES DE *Hirschfeldia incana* (L.) RESISTENTES METSULFURON-METIL EN EL SO DE BUENOS AIRES, ARGENTINA.

VIGNA, M.R¹, MENDOZA, JORGE².

¹) EEA INTA Bordenave . Ruta 76 km 36.5 .8187. Bordenave . Correo electrónico: vigna.mario@inta.gob.ar

²) Asesor Privado. 8000 Bahía Blanca Correo electrónico: mendozajor@bbconline.com.ar

INTRODUCCION.

La comunidad de malezas crucíferas ha sido tradicional en los cultivos de invierno de la Argentina (Marzocca, 1976), principalmente en trigo en el Sur de Buenos Aires (Catullo, et al, 1982, Istilart, C.M (1991).

La facilidad de control, principalmente mediante los históricos herbicidas fenoxi como 2,4-D, MCPA y luego a partir de fines de los 80' con sulfonil-ureas (SU) como metsulfuron –metil y otros de alta efectividad sobre las mismas fue minimizando la atención puesta para su manejo.

Relevamientos efectuados (Gigon, et al 2012) comprando lotes con una historia mayor de 5 años en labranza convencional y siembra directa mostró frecuencia de crucíferas oscilo entre 76.9 y 2.6 según la especie en Labranza convencional y de 43.6 % a cero en siembra directa evidenciándose un ranking de especies diferente entre los sistemas de labranzas. Las especies presentes y que son difíciles de diferenciar en estadio de roseta son *Rapistrum rugosum*, *Hirschfeldia incana* principalmente y *Sysimbrium officinale* y *S. orientale* cuya frecuencia posiblemente este relacionada con la zona, tipo de suelo, rotación, etc.

Estos últimos años en sistemas estabilizados en siembra directa comenzó a evidenciarse la presencia de “nabos” o “mostacillas” que permanecían vegetando en rastrojos de trigo aún luego de los primeros tratamientos de barbecho para el próximo cultivo. Asimismo ante consultas reiteradas sobre el escaso control de estas malezas en cultivos de trigo y cebada mediante los tratamientos tradicionales con sulfonil-ureas (metsulfuron, principalmente) se planteo investigar las causas apuntando finalmente a un posible problema de resistencia a herbicidas.

La especie fue identificada como *Hirschfeldia incana* (L.) Lagr.-Foss en la cátedra de Sistemática Vegetal del Dpto. de Agronomía de la UNS. (Cabrera, 1967). Troiani y Steibel (2008) la consideran anual o bienal, con brotación y emergencia otoñal y primaveral, vegetando y floreciendo prácticamente todo el año. Asimismo se la considera una maleza tanto de invierno como de verano y una de las más importantes de las pasturas en la región Subhúmeda-Semiárida pampeana.

La resistencia a herbicidas inhibidores de la enzima ALS (acetolactato–sintasa) de especies de la familia crucíferas (*Cruciferae*) o brasicáceas (*Brassicaceae*) se conoce desde 1990 (Heap, 2014) cuando en Australia se identifico como tal un biotipo de *S.orientale*. . Posteriormente se fueron registrando sucesivamente 16 especies mas, de los géneros *Brassica*, *Diploaxis*, *Rapistrum*, *Camelina*, *Capsella*, *Descurainia*, *Sinapis*., entre otros y recientemente Pandolfo el al (2013) detectaron un biotipo resistente a ALS de *Raphanus sativus* (“nabón”) en el Sur de la Provincia de Buenos. Sin embargo en la bibliografía específica consultada no se registran biotipos de *H. incana* resistentes a herbicidas.

Los herbicidas inhibidores de ALS comprende 5 familias químicas entre las que se encuentran las sulfonil ureas (SU) e imidazolinonas (IMI) (Heap ,2014) de amplio uso en nuestros sistemas productivos.

Durante los años 2013 se comenzó a trabajar en la EEA Bordenave para determinar la sensibilidad relativa a metsulfuron y glifosato de poblaciones putativamente resistentes.



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

El objetivo de este trabajo fue determinar la posible resistencia a herbicidas de un biotipo de *H. incana* presente en lotes comerciales de trigo y cebada en el SO de la Provincia de Buenos Aires.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizó una población sospechosa de ser resistente a herbicidas proveniente del partido de Cnel. Dorrego (CF) y una considerada de sensibilidad normal (BO) por la baja o nula historia de uso de herbicidas en el lote de la EEA Bordenave donde se la obtuvo.

Las semillas de *H. incana* cosechadas en el campo en marzo-abril de 2013 fueron colocadas en pequeñas bandejas con suelo y puestas en cámara de crecimiento para obtener las plántulas que fueron transplantadas en macetas de 3 litros de capacidad con suelo fértil de la EEA Bordenave sin historia de agricultura reciente. Pasado un período de adaptación permanecieron afuera continuando con su desarrollo en un sector cuidado y protegido de vientos, manteniéndose con el riego suficiente para su desarrollo normal.

Las aplicaciones, coincidentes con tres diferentes experimentos se efectuaron en estadio de:

A) plántula-roseta pequeña, con 4-6 hojas verdaderas y 6-8 cm de diámetro. Aplicación 29/8 Temperatura alta (30C) ambiente seco previamente 11 horas regadas

B) de roseta ente 7-10 hojas y aproximadamente 12-15 cm de diámetro. Aplicación 1/10 10,30, HR 100%, buena temperatura parcialmente soleado.

C) estado de roseta muy desarrollada entre 12 y 16 hojas y diámetro y entre 18 y 25 cm. Aplicación 23 /10/13 10,30 horas día fresco riego leve antes de aplicar.

Los tratamientos de dosis crecientes de los herbicidas glifosato y metsulfuron fueron seleccionadas bajo un esquema de prueba de dosis- respuesta como se indican en las tablas 1 y 2. En todos los ensayos se emplearon 3 repeticiones por tratamiento y las plantas una vez tratadas fueron colocadas en un diseño en bloques al azar en el sitio donde previamente habían sido criadas.

Se efectuaron evaluaciones secuenciales de porcentaje de control (escala visual 0-100) I y se registró altura y Peso Seco de las plantas. Cuando se registraron las diferencias significativas dentro de las poblaciones y para la interacción población dosis se construyeron curvas de respuesta en relación a la dosis aplicada, utilizando el Modelo log-logístico descrito por Seefeld et al. (1995).

RESULTADOS

A. Ensayos en estadio de plántula , dosis respuesta a Metsufuron

A los 40 días desde la aplicación, el control fue lento en general, posiblemente por las bajas temperaturas, pero las diferencias de sensibilidad fueron muy claras, La población CF mostró muy escaso o nulo control (Figura A.1).

B. Ensayos en estadio de roseta,

B.1. Dosis respuesta a Glifosato.

Las dosis crecientes de glifosato produjeron diferencias muy altamente significativas en las variables evaluadas (Tabla B.1.1). Las diferencias de control entre poblaciones se manifestaron hasta los 34 DDA, pero no a los 50 DDA y la interacción de Población X Dosis también fue significativa solo los primeros días después de aplicación. Esto estaría indicando una mayor actividad inicial de glifosato en la población BO (Figura B.1) pero que no se tradujo en el control final. Los resultados finales de análisis de regresión mostraron que a mediada que avanzo el control las diferencias entre poblaciones



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

desapareció. En la tabla B.1.2 se comparan EC50 y se presenta el Índice de Resistencia (IR) para las diferentes fechas de observación.

Los parámetros altura y Peso seco mostraron diferencias entre poblaciones pero no se registró interacción entre población y dosis.

B.2 Dosis respuesta a Metsulfuron.

La sensibilidad de la población CF a metsulfuron fue extremadamente baja (Tabla B.2.1), contrastando con el control registrado en BO con las diferentes dosis y a lo largo del tiempo (Figura B.2) No se manifestaron diferencias entre dosis dentro de cada población en el PS, dado que BO fue extremadamente sensible a las dosis empleadas (diferenciándose del testigo) y CF casi insensible no diferenciándose del testigo.

Los datos obtenidos para la población CF no permitieron efectuar el cálculo del IR por no poderse aplicar el modelo Log logístico. Sin embargo los datos mostrados en la tabla B.2.1 y en la figura B2 permitirían inferir que el mismo sería muy alto.

C. Ensayos en estadio de roseta avanzada, dosis respuesta a Metsulfuron

La baja sensibilidad de la población CF respecto a la BO quedó evidenciada en el experimento con dosis crecientes en estadio de roseta avanzado (Tabla C.1 y Figura C.1). Dosis tan altas como 256 gr de i.a. no alcanzaron para disminuir estadísticamente el PS de las plantas respecto al testigo sin herbicida.

DISCUSION.

La diferencia de sensibilidad de las poblaciones CF y BO de *H. incana* respecto a metsulfuron fue muy clara, sin embargo ambas se manifestaron sensibles a glifosato.

La población CF fue obtenida en un lote donde se tenían registrados 12 años de uso continuo de glifosato y SU, excepto uno que incluyó girasol en la rotación. Los últimos 7 años las aplicaciones tuvieron una frecuencia anual de SU, incluyendo 3 años con dos intervenciones, cultivo y barbecho. Metsulfuron participó en la mayoría de las aplicaciones.

En Australia (Adkins, et al ,1997) se detectaron poblaciones de *Rapistrum rugosum* resistentes a chlorsulfuron provenientes de lotes con 3 y 6 años de historia de uso en una zona de 100 km junto a otras con historia de uso de 2, 4 y 6 años que resultaron susceptibles. Asimismo dos poblaciones de *Sisymbrium orientale* resultaron resistentes luego de 6 y 10 años de uso pero otras fueron susceptibles luego de 2,5,6,10 y 11 años de uso del herbicida. Chlorsulfuron es un herbicida SU de espectro de control y uso muy similar a metsulfuron. El costo del ajuste o *fitness* de los biotipos que sufren mutaciones en la enzima ALS puede variar dependiendo del entorno en el cual se desarrollan esas poblaciones (Vila –Aiub, et al 2009).

Los niveles de resistencia a inhibidores de la ALS en general son altos o muy altos, sin embargo pueden variar entre herbicidas. En una población de *S. orientale* resistente mostró relaciones de LD50 de 110, 15, 7, 24 y 29 veces mayores que la susceptible para chlorsulfuron, sulfometuron -methyl, metsulfuron-methyl, flumetsulam and Imazethapyr (Boutsalis y Powles, 1995). En nuestra región Pandolfo et al (2013) observaron en una población de *R. sativus* emergente de un lote proveniente de un cultivar de colza IMI-tolerante un factor de resistencia superior a 900 para imazetapyr y de 12 para metsulfuron. En otra crucifera (*Camelina microcarpa*), Hanson et al (2004) encontraron poblaciones con sensibilidad 1000 y 10000 veces menor que el testigo susceptible para metsulfuron y Chlorsulfuron



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

respectivamente. Yu et al (2003) también observaron esta variación entre herbicidas en ocho poblaciones de *R. raphanistrum* resistentes a ALS, que a su vez presentaban diferentes puntos de mutación de la enzima.

En nuestros ensayos la población CF no mostró diferencias significativas respecto al testigo en el peso seco final de las plantas tratadas con dosis equivalentes a 32 y 256 gr de i.a. de metsulfuron.ha⁻¹ en dos estadios de roseta (7-10 hojas con 12-15 cm de diámetro y 12 -16 hojas con 18-25 cm diámetro) . En la población sensible (BO) la reducción significativa del peso seco respecto a testigo se produjo a partir de 2gr de metsulfuron.ha⁻¹ en cualquier estadio de la planta. Esta baja sensibilidad a las dosis evaluadas no permitió establecer un factor o índice de resistencia mediante el ajuste de curvas con el modelo log logístico (Seefeldt et al 1995) pero posiblemente sea muy alto.

Contemporáneamente con estos experimentos se efectuaron pruebas similares con otra población de *H. incana* recolectada en el partido de Cnel. Suarez sobre un lote con larga historia de agricultura continua en un sistema de siembra directa, con al menos cinco años de monocultivo de invierno (trigo-cebada) donde se registraron fallas de control con metsulfuron y otras sulfonil ureas. La aplicación de dosis crecientes de metsulfuron (ensayo dosis-respuesta) en estadio de roseta (8-10 cm) mostró una sensibilidad muy baja respecto a la población BO similar a la población CF (información no publicada).

La respuesta de la población CF a glifosato fue similar a la sensible cuando se evaluó el peso seco, si bien inicialmente (8 y 17 DDA) la velocidad de control pareció ser ligeramente menor.

Dado que la presión de selección ejercida bajo el sistema donde se desarrollaron estas poblaciones incluyo otros herbicidas como 2,4-D, se continúa trabajando para caracterizar su respuesta frente al mismo.

CONCLUSIONES

Estos resultados confirmarían la presencia de poblaciones de *Hirschfeldia incana* resistente a metsulfuron, explicando en parte las fallas de control observadas por los productores en lotes comerciales de trigo y cebada y el crecimiento posterior de esta maleza en los rastrojos posteriores.

Sería el primer caso registrado de resistencia de *H.incana* a herbicidas tomando como referencia la el sitio web del International Survey of Herbicide Resistant Weeds (Heap , 2014) y la bibliografía consultada.

Este caso se sumaría al de *R. sativus* resistente a ALS (Pandolfo et al, 2013) representando una seria complicación para el manejo de malezas crucíferas en el Sur de la Provincia de Buenos Aires, al que deberían agregarse las gramíneas resistentes a glifosato e inhibidores de la enzima Acetil Co-A carboxilasa- ACCasa (Vigna et al, 2013).

REFERENCIAS

ADKINS, S.W.; WILLS, D.; BOERSMA, M.; MCLEOD, R.J.; EINAM, J.P.; WALKER, S.R.; ROBINSON, G (1997). Weeds resistant to Chlorsulfuron and atrazine from the north-east grain region of Australia . Weed Research 37(5):343-349

BOUTSALIS, P. AND POWLES, S.B. (1995). Resistance of dicot weeds to acetolactate synthase (ALS)-inhibiting herbicides in Australia Weed Research 35.149-155

CABRERA, ANGEL L. (1967) Flora de la provincia de Buenos Aires. Parte III : 292-294. Colección Científica del INTA.

CATULLO, J.C. VALETTI, O.E. RODRIGUEZ, M.L Y SOSA, C.A. (1982) Relevamiento de malezas en cultivos comerciales de trigo y girasol en el centro sur bonaerense. IX Reunión Argentina sobre la Maleza y su Control. Revista Malezas (ASAM) Vol 11:204-235.



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

GIGÓN, R; VIGNA M. R.; LÓPEZ, R.L. 2012. Efectos del sistema de siembra sobre la comunidad de malezas en cultivos de trigo del sudoeste de la provincia de Buenos Aires. En Libro de Resúmenes de XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, 3,4 y 5 de octubre de 2012, San Luis, Argentina.

HANSON, B.D., PARK, K.W., MALLORY –SMITH, C:D: AND THILL, D. (2004) Resistance of Camelina microcarpa to acetolactato synthase inhibiting herbicides. Weed Research 2004 44,187–194

HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Utimo acceso May 21, 2014 . Disponible: www.weedscience.org

ISTILART, C.M (1991). Relevamiento de malezas en cultivos de trigo en los partidos de Tres Arroyos, González Chávez y Necochea. XII Reunión Argentina sobre la maleza y su control. ASAM. Tomo 2: 87-96, 1991.

MARZOCA, A. Manual de Malezas. p. 564. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 1976

PANDOLFO, C.E.; PRESOTTO, A.; POVERENE, M. and CANTAMUTTO, M.. (2013) Limited occurrence of resistant radish (*Raphanus sativus*) to AHAS-inhibiting herbicides in Argentina. Planta daninha [online].31 (3) : 657-666.

SEEFELDT, S.S., JENSEN, J.E., FUERST, P.E. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. Weed Technology. v.9, p.218-227, 1995

TROIANI, H.O. Y STEIBEL, P.E. (2008) Reconocimiento de Malezas. Región Subhúmeda y Semiárida Pampeana. Fac. Agron UN La Pampa- CIALP. En CD. Ed: Colegio Ing. Agr. La Pampa (CIALP)

VIGNA, M. R.; LÓPEZ, R.L.Y 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. EN: Viabilidad del Glifosato en Sistemas Productivos Sustentables. Serie Técnica 204:75-82. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Uruguay. ISSN:1688-9266

Vila-Aiub, M.M., Neve , P. and Powles, S.B. (2009) Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. New Phytologist(2009)184: 751–767

YU, QI., ZHANG, X., HASHEM, A., WALSH, M. AND POWLES, S. (2003) ALS gene proline (197) mutations confer ALS herbicide resistance in eight separated wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations. Weed Science 51(6):831-838.

	glifosato gr e.a./ha	Round Full II l/ha
1	0	0
2	500	925,9
3	1000	1851,9
4	2000	3703,7
5	4000	7407,4
6	8000	14814,8

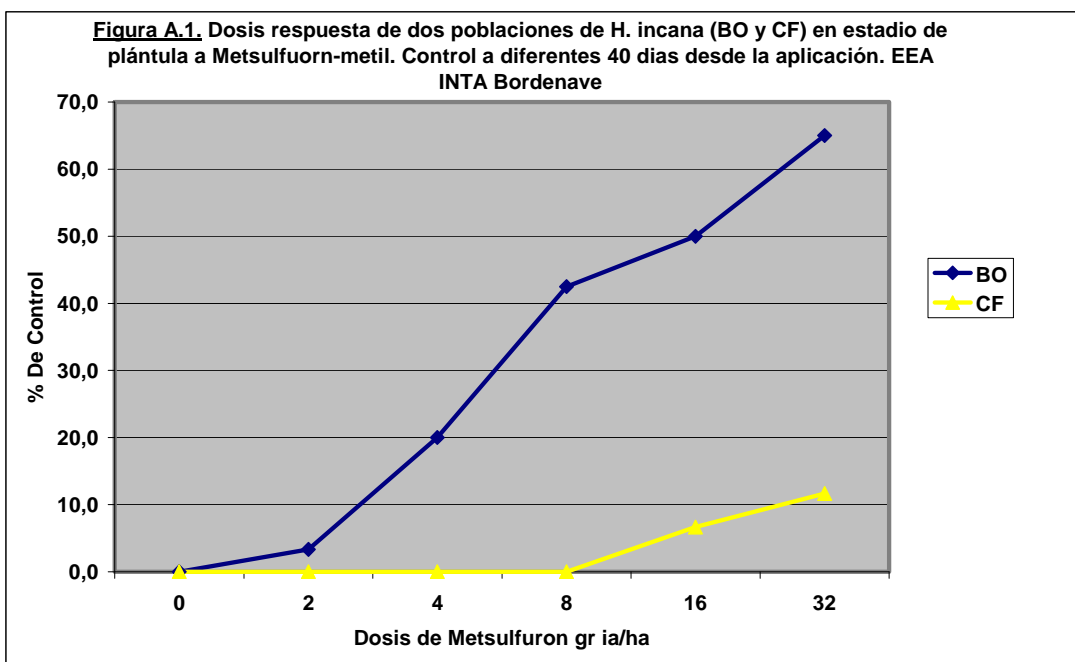
Tabla 1: Dosis crecientes de glifosato utilizadas



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

	Metsulfuron gr/ha		Metsulfuron (60 %)	
	Estadio roseta	Roseta avanzada	Estadio roseta	Roseta avanzada
1	0	0	0	0
2	2	2	3,3	3,3
3	4	4	6,7	6,7
4	8	8	13,3	13,3
5	16	16	26,7	26,7
6	32	32	53,3	53,3
7		64		106,7
8		128		213,3
9		256		426,7

Tabla2 : Dosis crecientes de metsulfuron utilizada en los experimentos

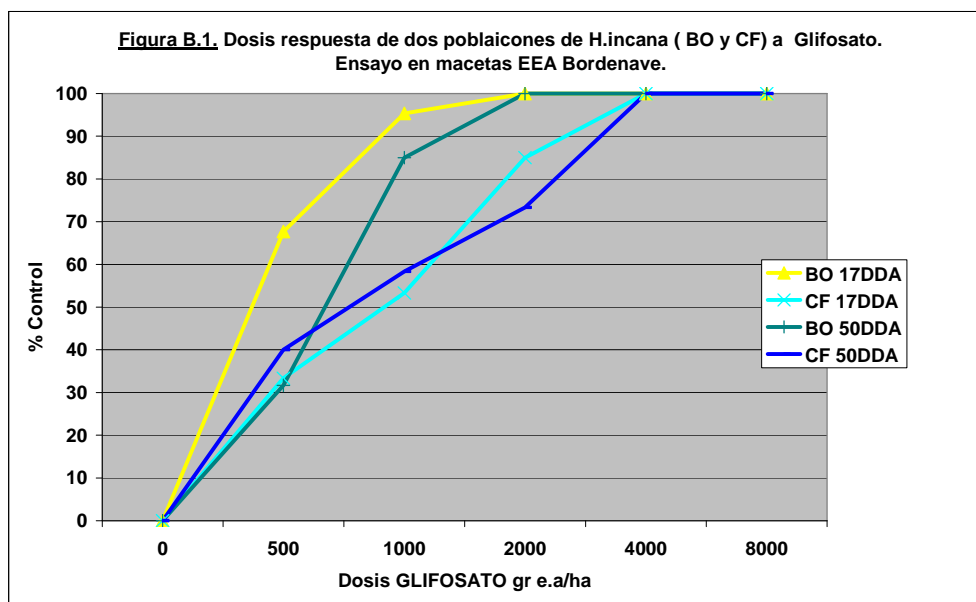




Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

Poblac.	gr e.a/ha	8DDA	17DDA	34DDA	50DDA	Altura (cm)	PS gr/pl
BO	0	0	0	0	0	78	44,5
BO	500	43	68	58	31,7	64	4,0
BO	1000	75	95	95	85	0,3	0,1
BO	2000	88	100	100	100	0,1	0,0
BO	4000	92	100	100	100	0,2	0,0
BO	8000	97	100	100	100	0,1	0,1
CF	0	0	0	0	0	78	56,3
CF	500	15	33	52	40	65	4,3
CF	1000	28	53	58	58,3	68	4,1
CF	2000	80	85	78	73,3	26	0,6
CF	4000	96	100	100	100	0,2	0,0
CF	8000	97	100	100	100	0	0,0
Población		**	***	**	ns	**	*
Dosis		***	***	***	***	***	***
Pobl. X Dosis		***	**	**	ns	ns	ns

Tabla B.1.1. Porcentaje de control, visual de dos poblaciones de H.incana (CF y BO) a diferentes días desde la aplicación de dosis crecientes de glifosato y efecto sobre la altura (cm) y el Peso Seco de las plantas.





Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave

Relación biotipos	BO	CF	IR (CF/BO)
8DDA	549,3	1252	2,28
ajuste	0.9581	0.943	
17DDA	400,4	816,9	2,04
Ajuste	0,9669	0,9591	
34DDA	461,2	570,7	1,24
Ajuste	0,987	0,9343	
50 DDA	617,9	737	1,19
ajuste	0,9498	0,8992	
Biomasa	1236	1236	1

Tabla B.1.2. Índice de resistencia medido sobre EC50 obtenido con regresiones no lineares (Modelo Log-logístico, (GraphPad Prism))

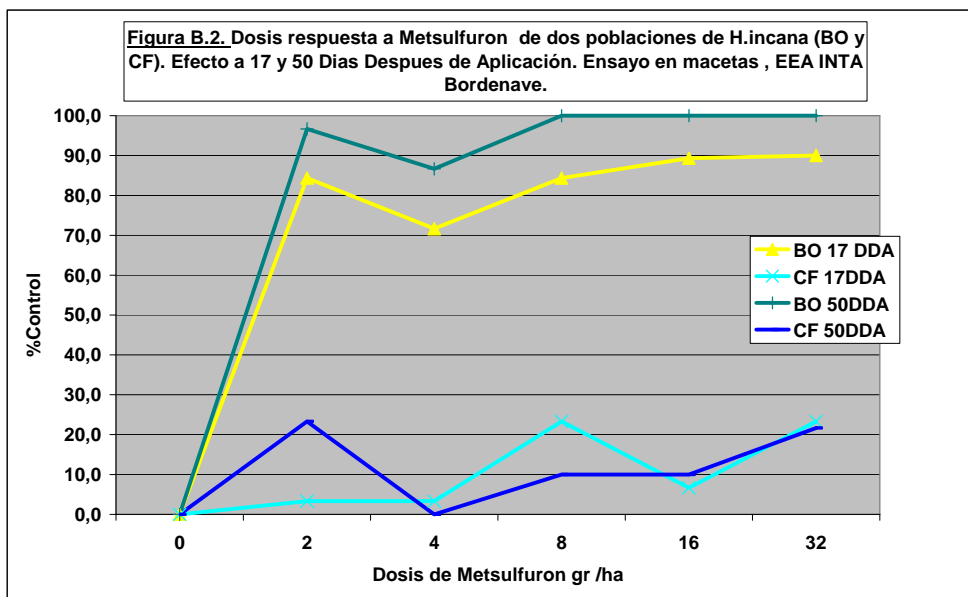
pobl	Dosis	8DDA	17DDA	34DDA	50DDA	Altura	PS
BO	0	0	0	0	0	95,7	54,9
BO	2	48,3	84,3	96	97	0,4	0,6
BO	4	51,7	71,7	86	87	0,4	0
BO	8	58,3	84,3	100	100	0,3	0,2
BO	16	63,3	89,3	100	100	0,2	0,4
BO	32	56,7	90	100	100	0,2	0,3
CF	0	0	0	0	0	90	32,2
CF	2	0	3,3	17	23	72,7	32,4
CF	4	0	3,3	0	0	75,3	42,1
CF	8	0	23,3	3,3	10	87	54,8
CF	16	6,7	6,7	0	10	73	30
CF	32	3,3	23,3	23	22	51	13,3

Población	***	***	***	***	***	***
Dosis	***	***	***	***	***	**
Pob X Dosis	***	***	***	***	ns	**

Tabla B. 2.1. Porcentaje de control visual de dos poblaciones de *H.incana* (CF y BO) a diferentes días desde la aplicación de dosis crecientes de metsulfuron -metil y efecto sobre la altura (cm) y el Peso Seco de las plantas. Resultados del análisis de varianza



Estación Experimental
Agropecuaria Bordenave



Población	Dosis(ia)	14DDA	41DDA	Altura	PS	
BO	0	0,0	0,0	36,8	7,4	a
BO	2	77,0	93,0	b 0,7	1,2	b
BO	4	60,0	93,3	b 3,7	0,6	bcd
BO	8	73,3	99,7	a 0,5	1,0	bc
BO	16	75,0	99,7	a 0,3	0,3	d
BO	32	76,0	99,3	a 0,5	0,7	bcd
BO	64	71,7	100,0	a 3,7	0,4	bcd
BO	128	70,0	99,7	a 3,7	1,0	bc
BO	256	78,3	100,0	a 0,4	0,5	cd
CF	0	0,0	0,0	58,3	11,5	a
CF	2	3,3	0,0	b 65,3	24,8	a
CF	4	6,7	0,0	b 62,3	15,7	a
CF	8	23,3	10,0	b 68,7	12,0	a
CF	16	10,0	0,0	b 70,0	19,9	a
CF	32	23,3	6,7	b 63,0	14,9	a
CF	64	46,7	10,0	b 64,3	10,3	a
CF	128	20,0	13,3	b 66,7	14,7	a
CF	256	35,0	31,7	a 41,8	14,1	a
población		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
dosis		0,058	0,002	0,219	0,030	
dosis x población		0,171	0,046	0,090	0,024	

Tabla C.1. Porcentaje de control y efecto sobre la altura y Peso seco de dosis crecientes de metsulfuron sobre dos poblaciones de *H.incana* BO y CF. Las cifras seguidas de la misma letra dentro de cada una de las poblaciones no difieren estadísticamente según test LSD ($P \leq 0.05$)