

Evaluación a nivel de campo de la resistencia a diferentes herbicidas en un biotipo de Raigrás en el departamento Gualeguaychú, Provincia de Entre Ríos.

Esteban Muñiz Padilla^{3, 4}, Fabián Ayala³, Nelson Landini⁵, Gabriela Breccia^{1, 2}, Mara Depetris¹, Daniel Tuesca¹.

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino. Zavalla. Argentina. (2) IICAR - UNR - CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino. Zavalla. Argentina. (3) Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos. Ruta Prov. Nº11 Km 10, 5. Oro Verde. Argentina. (4) Facultad de Ciencia y Tecnología de Entre Ríos. Ruta Prov. Nº11 Km 10, 6. Oro Verde. (5) Asesor privado.

Introducción:

Entre las especies de gramíneas, *Lolium multiflorum* Lam. (raigras anual), se encuentra como maleza asociada a sistemas agrícolas, pudiendo provocar pérdidas de rendimiento cercanas al 40%. Existe una gran cantidad de citas sobre biotipos resistentes de raigrás alrededor del mundo. Algunos aspectos de la especie relevantes en este sentido son su gran adaptabilidad, su autoincompatibilidad (alógama obligada), la alta producción de semillas y la baja longevidad de las mismas en el suelo, explican la rapidez con que evoluciona la resistencia a herbicidas. Esta propensión a desarrollar resistencia ha tornado dificultoso el manejo de estas especies en los cultivos. En Argentina, en el año 2007 se reportó en poblaciones de *Lolium* resistencia a Glifosato, y con el paso del tiempo la presencia de individuos resistentes se ha tornado cada vez más frecuente. En respuesta a este problema, se han utilizado herbicidas inhibidores de la ACCasa; generalmente Cletodim o Haloxifop. Sin embargo, la evolución de *Lolium spp.* resistentes a herbicidas inhibidores de la ACCasa ha sido demostrado en varios países y poblaciones sospechosas han sido detectados en Argentina.

Problema:

La situación problema se encuentra en un lote ubicado en el departamento Gualeguaychú (ER), localidad de Perdices. De acuerdo con lo reportado por el técnico asesor, en los últimos años se han tenido problemas de control con diferentes principios activos. Debido a las fallas con dosis normales de Glifosato, se han utilizado herbicidas del grupo de los inhibidores de la ACCasa. De acuerdo a los registros disponibles, se verifican fallas adicionales en los controles logrados con Haloxifop y

Cletodim. Además, se han reportado problemas importantes en el control con Pinoxaden en el cultivo de trigo de la campaña 2022.

La aplicación del experimento se realizó sobre un sector que ya tenía un tratamiento previo de 700 cc ha⁻¹ de Cletodim 36% (Latium) + 1800 cc ha⁻¹ Glifosato 54%ea (Power Plus) + coadyuvantes en dosis marbete (Imagen 1 a). Al llegar al lote se observaron plantas aisladas controladas pero la gran mayoría sin efectos visibles por la aplicación mencionada (Imagen 1 b y c).



Imagen 1: a) vista general del estado del lote, b) y c) plantas aisladas controladas.

Objetivos generales:

- Evaluar la sensibilidad en condiciones de campo a herbicidas inhibidores de la ACCasa y de la EPSPS en un biotipo de raigrás del departamento Gualeguaychú (ER) (*Lolium multiflorum* L.) con sospecha de resistencia.

Objetivos específicos:

- Evaluar la sensibilidad a herbicidas formulados en base a Pinoxaden.
- Evaluar la sensibilidad a herbicidas formulados en base a Haloxifop r metil.
- Evaluar la sensibilidad a herbicidas formulados en base a Cletodim
- Evaluar la sensibilidad al herbicida Glifosato en dosis normales de uso.

Materiales y Métodos:

Aplicación:

La aplicación de los diferentes tratamientos químicos se realizó cuando las plantas se encontraban en estado de macollaje (Z24-Z25) (Imagen 2 a) (Zadocks et al., 1974). El procedimiento se realizó utilizando una mochila con mochila fuente de presión constante de CO₂ a una presión de 3,5 km.cm² provista de boquilla abanico plano ultra baja deriva ULD 120015 y con un caudal de 100 l ha⁻¹ (Imagen 2 b). En el momento de la aplicación las condiciones ambientales fueron: viento de 6,8 km/h, humedad relativa de 61,5% y temperatura de 23,9°C (Imagen 2 c).

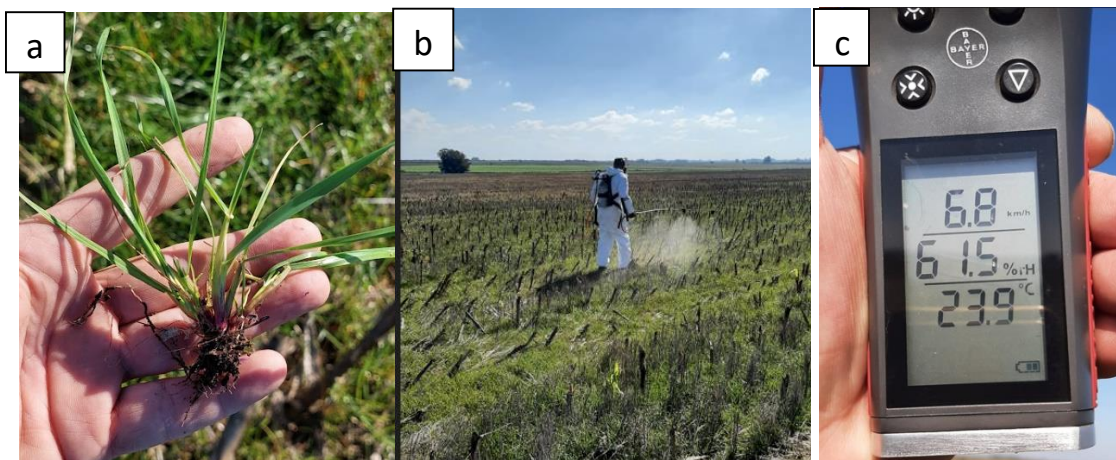


Imagen 2: a) estado de macollaje raigrás. b) aplicación con mochila. c) condiciones ambientales

Herbicidas probados:

Se testearon tres herbicidas del grupo de los inhibidores de la ACCasa, pertenecientes a los grupos de los ariloxifenoxipropionatos (Haloxifop r metil 94% / GALANT PLUS® CORTEVA), Ciclohexadionas (Cletodim 36% / LATIUM ® ARYSTA) y Fenilpirazolinás (Pinoxaden 5% / AXIAL PLUS® SYNGENTA) y inhibidores de la EPSPS (Glifosato 54% / POWER PLUS ® ATANOR). Las dosis testeadas se detallan en la tabla 1.

AXIAL PLUS	PINOXADEN 5%			CLETODIM	LATIUM 36%		
TRAT	Dosis PC	X	Dosis i.a	TRAT	Dosis PC	X	Dosis i.a
T1	0	0	0	T1	0	0	0
T2	400	0.5X	20	T7	300	0.5X	108
T3	800	X	40	T8	600	X	216
T4	1600	2X	80	T9	1200	2X	432
T5	3200	4X	160	T10	2400	4X	864
T6	6400	8X	320	T11	4800	8X	1728

HALOXIFOP	GALANT plus 90%			GLIFOSATO	GLIFO 54%EA		
TRAT	Dosis PC	X	Dosis i.a	TRAT	Dosis PC	X	Dosis i.a
T1	0	0	0	A	2000	X	1080
T12	59	0,5	53,1	B	4000	2X	2160
T13	118	X	106,2	C	8000	4X	4320
T14	236	2X	212,4				
T15	472	4X	424,8				
T16	944	8X	849,6				

Tabla 1: Productos y dosis probadas a campo

Evaluación:

A los 15, 40 y 60 días después de la aplicación (DDA) se evaluó visualmente el grado de control de los distintos tratamientos utilizando para ello una escala con valores de 0 a 100%, donde 0 representa ausencia de control y 100% implica la muerte de la planta (Frans et al, 1986). En la evaluación final de los 60 DDA, se utilizó el software CANOPEO® para la evaluación de la cobertura verde remanente en cada tratamiento. Se tomaron valores dentro de cada parcela tratada y en el testigo apareado. Luego se expresó el porcentaje de control como:

$$\text{Control} = (\text{Cob}_{\text{apareado}} - \text{Cob}_{\text{tratado}}) / \text{Cob}_{\text{apareado}} \times 100 \quad \text{y} \quad \text{Cobertura Remanente (CR)} = 100 - \text{Control}$$

El análisis de datos se realizó con el software Infostat (Di Rienzo et al., 2017). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de DGC ($\alpha=0,05$). En el presente trabajo se presentan solo los datos recolectados a los 60 DDA.

RESULTADOS PRELIMINARES A CAMPO (60 DDA)

Resultados de control:

Herbicida PINOXADEN

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	179,96	7	25,71	0,81	0,5987
Tratamiento	126,62	5	25,32	0,80	0,5756 ns
repetición	53,35	2	26,67	0,84	0,4599
Error	317,44	10	31,74		
Total	497,40	17			

Tratamiento	Medias	n	E.E.
5(4X)	7,15	3	3,58
3(X)	3,71	3	3,58
6(8X)	3,23	3	3,58
4(2X)	0,00	3	3,58
2(0,5X)	0,00	3	3,58
1(0X)	0,00	3	3,58

Tabla 2: ANAVA Pinoxaden 60 DDA

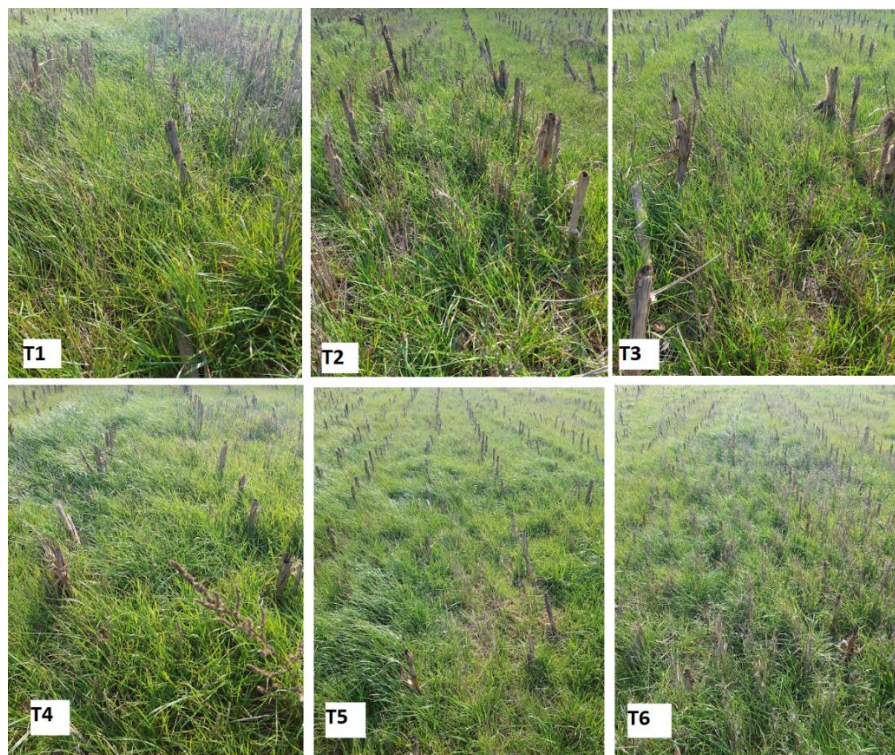
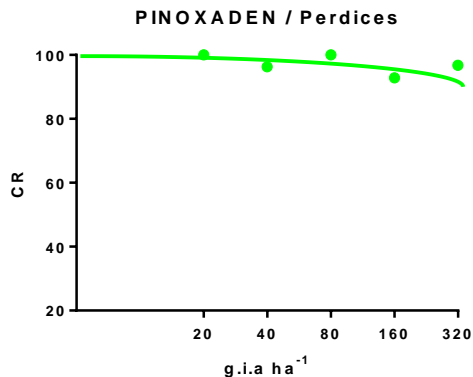


Imagen 3 : Estado de los tratamientos con Axial Plus a los 60 DDA

- A los 60 DDA no existieron diferencias estadísticas en los controles logrados a campo con las diferentes dosis del herbicida Pinoxaden (AXIAL PLUS®) (Tabla 2 e Imagen 3).



- Curva Dosis respuesta estimada para la Variable CR. Se observa una clara insensibilidad de variable analizada ante el incremento de la dosis de Pinoxaden.

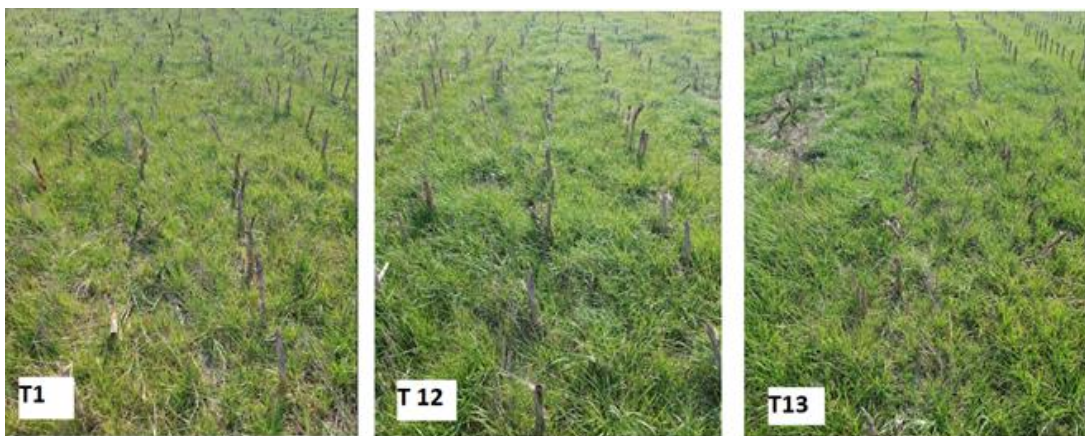
Herbicida HALOXIFOP

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	752,27	7	107,47	1,74	0,2053
Tratamiento	701,58	5	140,32	2,28	0,1258 ns
repetición	50,69	2	25,35	0,41	0,6737
Error	616,68	10	61,67		
Total	1368,95	17			

Tratamiento	Medias	n	E.E.
15(4X)	17,76	3	5,03
12(0,5X)	13,35	3	5,03
13(X)	5,58	3	5,03
16(8X)	4,94	3	5,03
14(2X)	2,19	3	5,03
1(0X)	0,00	3	5,03

Tabla 3: ANAVA Haloxifop 60 DDA



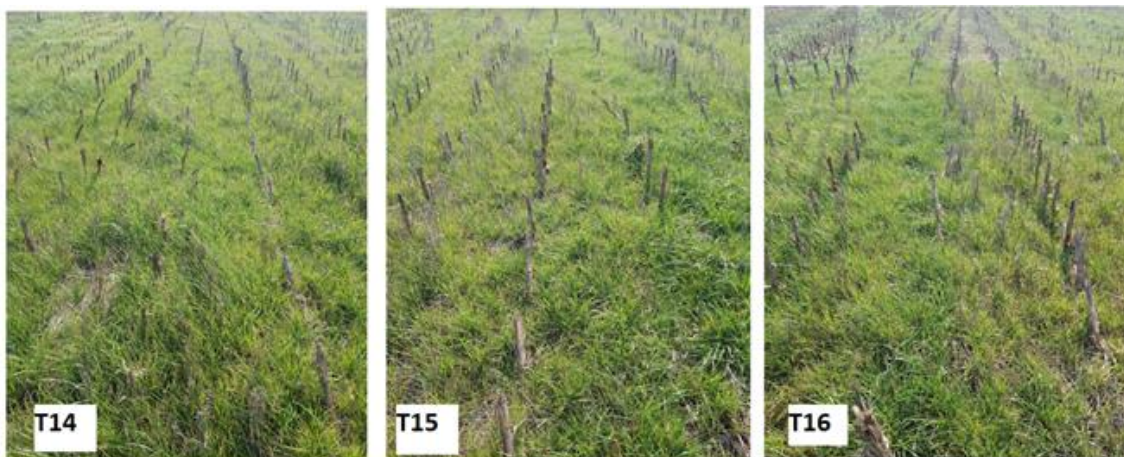
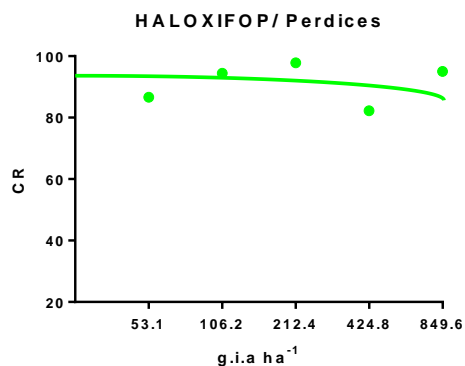


Imagen 4: Estado de los tratamientos con GALANT PLUS a los 60 DDA

- A los 60 DDA no existieron diferencias estadísticas en los controles logrados a campo con las diferentes dosis del herbicida Haloxifop r metil (GALANT Plus®).



- Curva Dosis respuesta estimada para la Variable CR. Se observa una clara insensibilidad de variable analizada ante el incremento de la dosis de Haloxifop r metil.

Herbicida CLETODIM

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21897,42	10	2189,74	15,76	<0,0001
Tratamiento	21209,39	5	4241,88	30,53	<0,0001 ds
repetición	688,02	5	137,60	0,99	0,4435
Error	3473,5725		138,94		
Total	25370,98	35			

Tabla 4: ANAVA Cletodim 60 DDA

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=14,6772

Error: 138,9427 gl: 25

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
11(8X)	70,95	6	4,81	A
10(4X)	46,58	6	4,81	B
9(2X)	19,65	6	4,81	C
8(X)	16,07	6	4,81	C
7(0,5X)	9,18	6	4,81	C
1(0X)	0,00	6	4,81	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 5: TEST DGC Cletodim 60 DDA

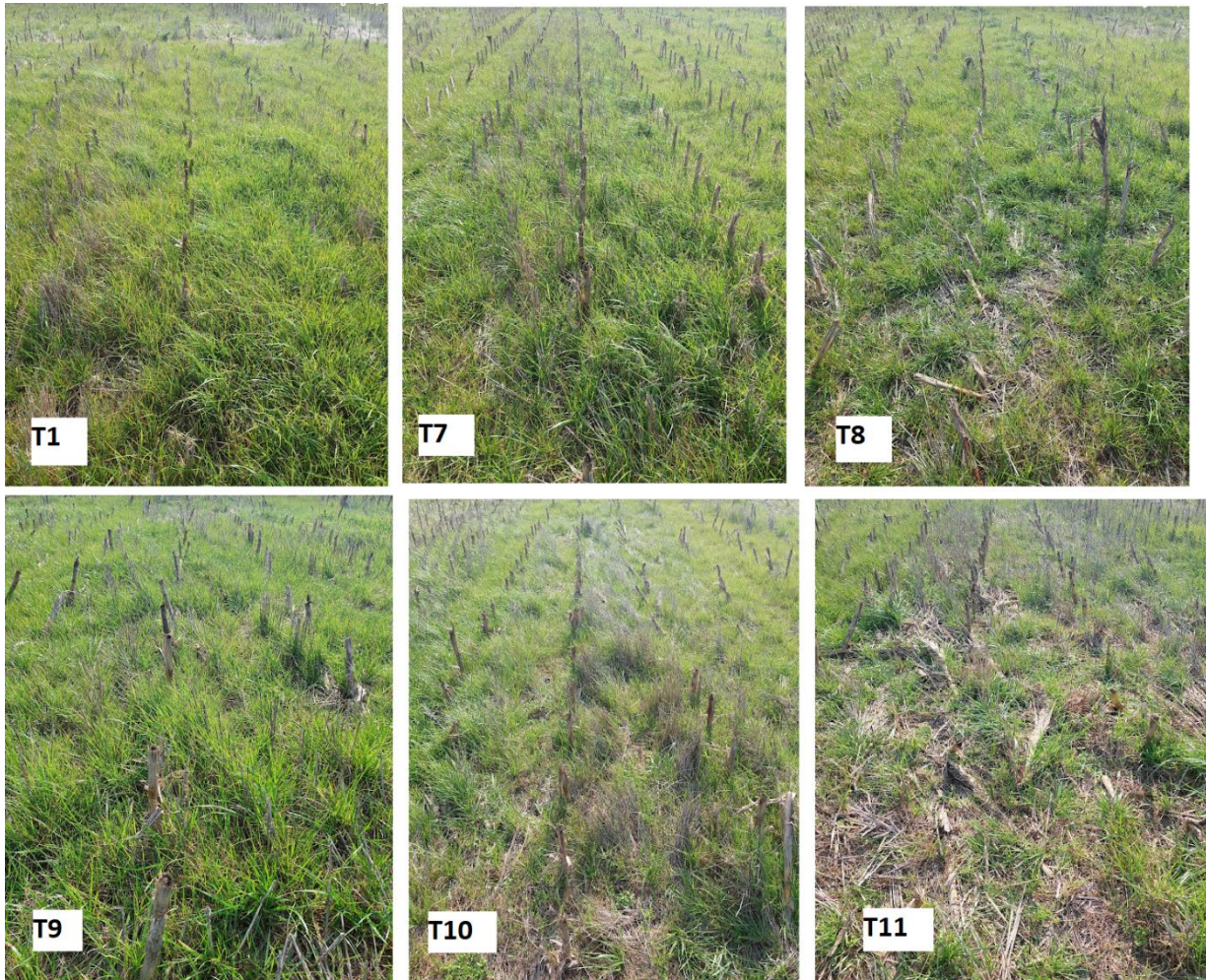


Imagen 5: Estado de los tratamientos con LATIUM a los 60 DDA

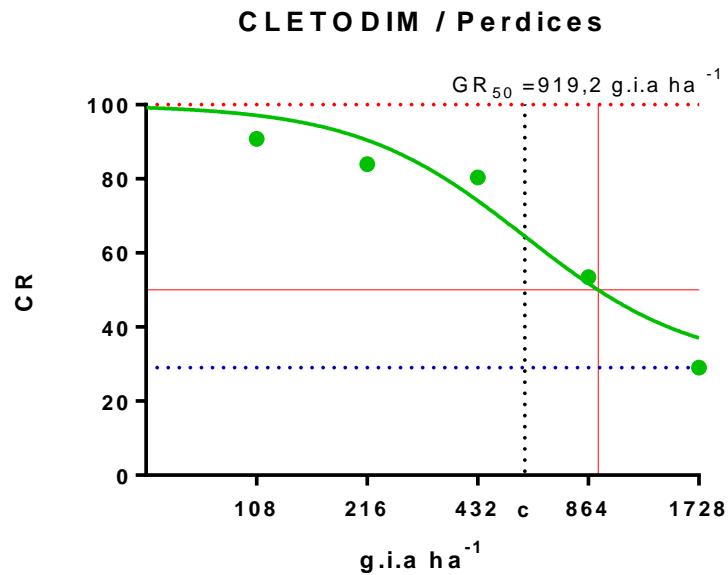
- A los 60 DDA existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 4 e, Imagen 5).
- A los 60 DDA no existieron diferencias estadísticas en los controles logrados a campo entre los tratamientos 7 (0,5X), 8 (X) y 9 (2X), los controles de este grupo de tratamientos estuvieron por debajo del 20% (Tabla 5).

- El tratamiento T10 (4X) fue diferente estadísticamente a todos los demás con valores de control cercanos al 50% de control (Tabla 5).
- El tratamiento T11 (8X) fue diferente estadísticamente a todos los demás con valores de control cercanos al 70% de control (Tabla 5).
- En las parcelas 8X de cletodim 36% (4800 cc/ha de formulado) si bien hubo una alta mortalidad de plantas existieron gran cantidad de plantas sobrevivientes (Imagen 5 T11 e, Imagen 6).



Imagen 6: Sobrevivientes a T11 (8X cletodim)

- El GR₅₀ (dosis que reduce la variable respuesta en un 50%) estimado fue de 919,2 g.i.a ha⁻¹, equivalente a 2555 cc ha⁻¹ de formulado al 36%.



CONCLUSIONES PRELIMINARES RESPECTO A LOS INHIBIDORES DE LA ACCasa.

- La población perdices se comporta con muy altos niveles de resistencia a los herbicidas Pinoxaden y Haloxifop.
- La población analizada presenta altos niveles de resistencia al herbicida cletodim dado que con 8X (4800 cc/ha de formulado al 36%) solo se logran controles aproximados del 70%, con gran cantidad de plantas sobrevivientes prácticamente sin efectos visibles.
- El valor de GR₅₀ (preliminarmente estimado) se considera muy alto dado que para reducir un 50% la variable respuesta hacen falta dosis muy superiores (2555 cc ha⁻¹) a las recomendadas por marbete para el uso a campo.
- Es necesario realizar un experimento en condiciones semicontroladas a fin de llegar a conclusiones definitivas.

Herbicida GLIFOSATO

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4630,45	4	1157,61	8,56	0,0305
Tratamiento	4419,99	2	2210,00	16,34	0,0119 ds
repetición	210,46	2	105,23	0,78	0,5183
Error	540,98	4	135,24		
Total	5171,43	8			

Tabla 6: ANAVA Glifosato 60 DDA

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=25,1785

Error: 135,2444 gl: 4

Tratamiento	Medias	n	E.E.
C	90,72	3	6,71
B	68,33	3	6,71
A	36,70	3	6,71

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 7: TEST DGC Glifosato 60 DDA

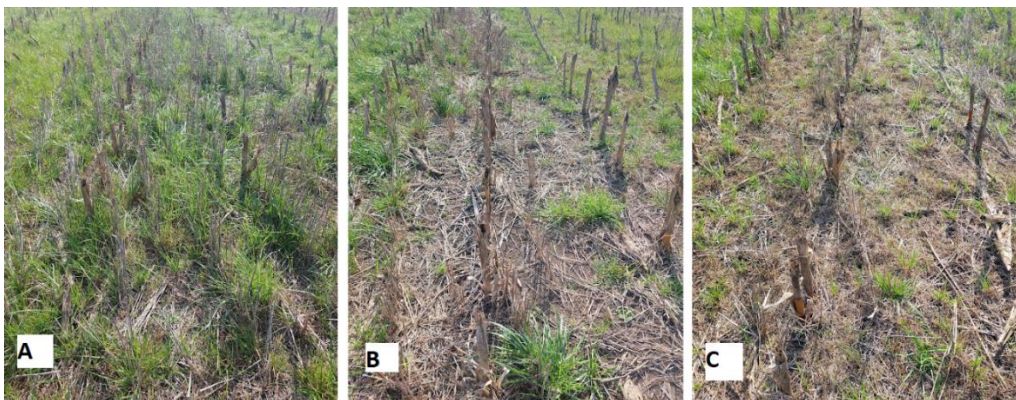


Imagen 7: Tratamientos con glifosato 60 DDA

CONCLUSIONES PRELIMINARES RESPECTO A GLIFOSATO

- A los 60 DDA existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 6 e Imagen 7).
- A los 60 DDA no existieron diferencias estadísticas en los controles logrados a campo entre los tratamientos B (2X), C (4X) (Tabla 7).
- Con la dosis 4 X (8 lt/ha del Glifosato 54 % ea) se lograron controles cercanos al 90%, en tanto que la dosis de 4 lt/ha logro controles cercanos al 70%.
- En las parcelas "C" permanecían plantas sobrevivientes en buen estado general (Imagen 8).



Imagen 8: Rescate de plantas sobrevivientes a 8 lt/ha glifosato 54%ea.

- La dosis del tratamiento "A" (2 l ha^{-1} de formulado al 54% e.a.) tuvo controles inferiores al 40%. Esta dosis de acuerdo a experiencias previas debería ser suficiente para controlar una población con sensibilidad normal al glifosato.
- La población perdicés se comporta con niveles de resistencia moderados al herbicida Glifosato en condiciones de campo.
- Es necesario realizar un experimento en condiciones semicontroladas a fin de llegar a conclusiones definitivas.

Conclusiones finales del presente trabajo:

El biotipo analizado ha demostrado que posee alguna característica que le estaría otorgando resistencia a los herbicidas post emergentes más comunes. Los resultados son concluyentes para Haloxifop y Pinoxaden sobre los que el control fue prácticamente nulo. Para el herbicida Cletodim los resultados indican resistencia a dosis de campo, obteniéndose controles solo con dosis muy elevadas no recomendadas. Para el caso del Glifosato se obtuvieron controles aceptables solo con dosis elevadas (4x), aunque aún en estas condiciones existen sobrevivientes. El hecho de haber encontrado en los diferentes tratamientos plantas muertas y sobrevivientes indica que esta población aún se está seleccionando, existiendo un remanente de individuos susceptibles (principalmente a Cletodim y Glifosato). Es importante continuar con el trabajo sobre esta población en estudios en condiciones semicontroladas a fin de poder estimar más adecuadamente la sensibilidad y los valores de resistencia en comparación a testigos sensibles.

Es evidente el problema existente para el control del raigrás con herbicidas post emergentes a nivel regional. El Glifosato ha perdido su efectividad en gran cantidad de lotes sobre los cuales se utiliza de modo frecuente graminicidas post emergentes (fops o dims) en un modo discrecional. En este uso discrecional de los graminicidas muchas veces se repiten aplicaciones sin rotación de activos, sin respetar tamaños de las malezas, realizando mezclas antagónicas (Ej: graminicidas/2,4-D), etc., que terminan colaborando en la selección de diferentes mecanismos que, en forma preexistente, las poblaciones poseen en frecuencias variables y que conducen, por su repetición, a el fenómeno que denominamos resistencia. *Lolium multiflorum*, es una especie alógama obligada por lo que naturalmente presenta una alta variabilidad genética lo que le ha permitido una rápida evolución de las poblaciones en condiciones de fuerte presión de selección como la ejercida por los herbicidas. Esta especie ha desarrollado resistencia a gran cantidad de herbicidas con diferentes mecanismos moleculares involucrados con más de 70 citas de resistencia alrededor del mundo.

El biotipo analizado al poseer posiblemente mecanismos que le otorguen resistencia a inhibidores de ACCasa y EPSPS tiene el potencial de transformarse en un verdadero problema a nivel regional dada la pérdida de estas dos herramientas químicas actualmente utilizadas. En cuanto al manejo es importante considerar todas las recomendaciones establecidas para el manejo integrado de malezas. En este sentido la rotación de diferentes escenarios de selección sobre las poblaciones de malezas es fundamental. Las rotaciones exponen a las poblaciones a diferentes situaciones, disminuyendo la presión de selección. Para el caso del biotipo analizado resulta fundamental la inclusión de herramientas preemergentes para el manejo tanto en situaciones de barbecho como dentro de futuros cultivos invernales.