

Análisis de la tolerancia de *Lolium multiflorum* a glifosato en sistemas de promoción de raigrás. Comunicación

*Analysis of glyphosate tolerance of *Lolium multiflorum* in ryegrass promotion systems*

Diez de Ulzurrun¹, P., Margueritte Paz, C. y Leaden, M.I.

Universidad Nacional de Mar del Plata – Facultad de Ciencias Agrarias

Resumen

El raigrás anual (*Lolium multiflorum*) es un recurso forrajero de gran importancia en la Pampa Deprimida, ya que ofrece forraje en una época de baja producción. Sin embargo, la implantación natural del raigrás es deficiente, debido a la competencia con otras especies. La técnica conocida como promoción de raigrás, consiste en la eliminación de dicha competencia y estimulación de la germinación mediante aplicaciones de glifosato. Se desconoce el efecto de selección ejercido por las reiteradas aplicaciones de glifosato en dichos sistemas. El objetivo de este trabajo fue analizar la sensibilidad de *L. multiflorum* a glifosato en poblaciones provenientes de sistemas de promoción de raigrás. Se colectaron semillas de tres a ocho años bajo el sistema de promoción. Se realizaron bioensayos en cajas de Petri y de planta entera en cinco poblaciones. Se calculó la GR₅₀ con el modelo log-logístico. Si bien, el lote bajo ocho años de promoción presentó una baja sensibilidad a glifosato, la misma fue similar a la observada en poblaciones de tres años. Por lo que no se estableció una relación entre la GR₅₀ y el número de años en promoción de raigrás.

Palabras clave: sensibilidad a herbicidas, GR₅₀, rejuvenecimiento de raigrás anual.

Summary

Annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) is a very important fodder resource in the Depressed Pampas, since it offers forage in a moment of low production. Natural implantation of ryegrass is deficient, because of competition with other species. The technique known as ryegrass promotion consists of the elimination of the competition and stimulation of the germination by glyphosate applications. The effect of selection of repeated applications of glyphosate in those systems is unknown. The aim of this work/trial/study was to analyze the sensibility to glyphosate of *L. multiflorum* populations from systems of ryegrass promotion. Seeds were collected from three to eight years under the system of promotion. Bioassays in handles and whole plant in five populations were carried out. Calculations of GR₅₀ were done following the model log-log. Although the population of eight years in promotion had a low sensitivity to glyphosate, it was similar to that found in a population of three years. Therefore no relation was found between GR₅₀ and ageing in promotion systems of ryegrass.

Key words: sensibility to herbicides, GR₅₀, rejuvenation of annual ryegrass.

Recibido: diciembre 2010

Aceptado: octubre 2011

1. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. Ruta 226 Km 73,5 (7620) Balcarce, Argentina. pdiezulzurrun@balcarce.inta.gov.ar

Introducción

La Pampa Deprimida es una extensa llanura que se extiende hacia el noreste y sudoeste de las sierras de Tandilia, en la provincia de Buenos Aires. Abarca una superficie estimada en 7.500.000 ha (Soriano, 1975). Las limitaciones edáficas de dicha región han frenado el avance de la frontera agrícola, por lo cual la producción predominante se desarrolla a través de la ganadería extensiva de cría bovina.

La vegetación predominante es el pastizal natural, el cual ocupa aproximadamente el 80% de la superficie. Dichos pastizales están compuestos por un complejo de comunidades vegetales conformadas por especies de crecimiento primavera-verano, así como también otoño-invernal (Fernández Grecco y Agnusdei, 2005). El pastizal natural se caracteriza por presentar tasas de crecimiento mínimas durante el invierno, y mayor producción durante la primavera y principio del verano (Fernández Grecco, 2000).

El bache forrajero invernal se complementa en muchos casos con la introducción de verdes anuales en zonas de loma y/o media loma, entre los cuales se destaca la incorporación de la especie *L. multiflorum* ("raigrás anual") (Fernández Grecco, 2000).

El raigrás anual es una especie perteneciente a la subfamilia Festucoideae de la familia de las Gramíneas (Terrell, 1968). Es nativa de Europa, norte de África y Asia, y fue introducida por el hombre en el Norte de África y América para producción de forraje (Jahuar, 1993). En la región pampeana *L. multiflorum* es una especie naturalizada (Marzocca, 1976). Es un recurso forrajero de producción otoño-invernal, que tiene una importancia fundamental en la producción de carne de la Pampa Deprimida, ya que genera una elevada producción de forraje en una época en la cual las praderas naturales disminuyen su crecimiento (Fernández Grecco, 2000). Actualmente, la siembra de semillas de raigrás provenientes de poblaciones mejoradas es una técnica difundida para utilización directa como verdeo, si bien, existen distintas poblaciones naturalizadas y sus semillas normalmente son parte del stand o

"banco de semillas" característico de dicha región. Sin embargo, por falta de condiciones óptimas de germinación y por la competencia excesiva con otras especies, el raigrás no es una especie dominante en el pastizal (De la Vega, 2009).

En este sistema, la eliminación de la competencia de otras especies y la adecuada disponibilidad de nitrógeno favorecen el crecimiento y desarrollo del raigrás. Las prácticas de manejo que favorecen tal condición se denominan promoción o rejuvenecimiento del pastizal, y las bases para dicha práctica son la eliminación de las especies en competencia, generalmente por el uso de un herbicida total como el glifosato, y la fertilización a base de nitrógeno.

La práctica de promoción de raigrás está actualmente muy difundida y su adopción ha sido generalizada en los establecimientos ganaderos de la Pampa Deprimida (Fernández et al., 2008).

La variabilidad en la tolerancia de biotipos de *Lolium* sp expuestos al uso frecuente del herbicidas se corrobora en los múltiples casos de resistencia a herbicidas documentados hasta la fecha en dicha especie (Heap, 2010). Actualmente, se desconoce el efecto de selección ejercido por las reiteradas aplicaciones de glifosato en los sistemas de promoción de raigrás.

Es por ello que se propuso como objetivo de este trabajo analizar la sensibilidad de *L. multiflorum* a glifosato en poblaciones provenientes de sistemas de promoción de raigrás.

Materiales y Métodos

Se realizaron bioensayos de planta entera y en cajas de Petri en la Estación Experimental de INTA de Balcarce (37° 45' S; 58° 18' W) y en el Laboratorio de Terapéutica Vegetal de la Unidad Integrada Balcarce (EEA INTA Balcarce – Fac. Cs. Agrarias UNMdP).

Para su realización se contó con semilla de cinco poblaciones de raigrás anual, cosechadas en forma manual durante el mes de diciembre de 2008, en dos establecimientos pertenecientes al Partido de Mar Chiquita con sistemas de promoción de raigrás (Cuadro 1).

Cuadro 1: Establecimientos, ubicación geográfica e historia de promoción de raigrás de las distintas poblaciones seleccionadas.

Table 1: Lot, geographical location and history of promoting of ryegrass in different populations.

Establecimiento	Denominación	Ubicación Geográfica	Historia
"La Blanqueada"	LB III	S: 37°28'47,4"; W: 57°34'29,8"	3 años
	LB IIIb	S: 37°28'36,4"; W: 57°34'27,3"	3 años
	LB IV	S: 37°29'51"; W: 57°33'48,3"	4 años
	LB VIII	S: 37°29'51"; W: 57°33'45,4"	8 años
"San Leoncio"	SL II	S: 37°22'17,4"; W: 57°25'7,75"	5 años
	Progrow		0 años

Los lotes elegidos cubrían un rango de tres a ocho años de promoción.

Además, en los bioensayos en cajas de Petri, se utilizó semilla de un cultivar comercial de raigrás anual (Progrow, KWS), como población testigo sin historia de manejo bajo promoción (0 años). Se eligió este cultivar ya que fue el utilizado para enriquecer la comunidad de raigrás en los establecimientos de los cuales provinieron las poblaciones en estudio.

Bioensayos en cajas de Petri

Se realizaron ensayos de dosis respuesta en cajas de Petri para cada una de las poblaciones en estudio, las mismas fueron realizadas en cámaras de crecimiento, con una temperatura de 18-22°C y un fotoperíodo de 16:8 horas de luz y oscuridad, respectivamente.

Se colocaron 15 semillas en cada caja de Petri, sobre papeles de filtro embebidos con 5 ml de alícuotas de distintas concentraciones de glifosato (0; 6.25; 12.5; 25; 50; 100; 200; 400 mg e.a. litro⁻¹). Se realizaron tres repeticiones para cada una de las dosis. A los siete días después de la siembra, se determinaron el porcentaje de germinación (considerando como planta emergida aquella que tuviera emergencia de radícula) y la longitud de la parte aérea (suma del largo de coleoptile y primera hoja). Se calculó la dosis de glifosato

necesaria para reducir el crecimiento en un 50% (GR₅₀) para cada una de las poblaciones.

Bioensayos de planta entera

Se sembraron tres repeticiones de cinco plantas para cada una de las dosis, en maceas de 1000 cm³, en cada una de las poblaciones evaluadas. Las plantas se mantuvieron al aire libre, realizando riegos diarios de acuerdo a los requerimientos hídricos (niveles de suficiencia).

Al estadio de macollaje (3-4 hojas) las plantas se pulverizaron con distintas dosis de glifosato (0.0625, 0.125, 0.25, 0.50, 1, 2, 4 kg e.a. litro⁻¹) (Round-Up Ultra Max). La aplicación se efectuó con una mochila de presión constante (volumen arrojado 128 litros ha⁻¹).

A los 21 días después de la aplicación, las plantas se cortaron a ras de suelo individualmente y se llevaron a estufa a una temperatura de 60°C hasta peso constante (durante 48 hs aproximadamente). Se determinó el peso seco de las mismas, de manera tal de expresar la biomasa como porcentaje del control no tratado.

Se calculó la dosis de glifosato necesaria para reducir el crecimiento en un 50% (GR₅₀) para cada una de las poblaciones con las variables longitud de coleoptile y peso seco (las mismas se expresaron como porcentaje del control no tratado para estandarizar la comparación entre las distintas poblaciones).

Análisis estadístico

Con los valores de la longitud de coleoptile y el peso seco de las plantas en relación al control no tratado, se confeccionaron las curvas de dosis respuesta para los bioensayos de caja de Petri y de planta entera, obtenidas por medio de un modelo de regresión no lineal utilizando la ecuación log-logística (Streibig, 1988; Streibig et al., 1993; Seefeldt et al., 1995).

$$Y = C + (D - C) / [1 + (x/GR_{50})^b]$$

Donde Y representa la longitud de coleoptile (bioensayo en caja de Petri) o el peso seco (bioensayo de planta entera), en ambos como proporción entre el control no tratado y la dosis de glifosato x; C es la respuesta media a una dosis de herbicida muy alta (límite inferior); D es la respuesta media cuando la dosis de herbicida tiende a cero (límite superior); b es la pendiente de la línea cuando hay una reducción del 50% del crecimiento (GR_{50}) y GR_{50} es la dosis de herbicida requerida para reducir el crecimiento en un 50%. Los parámetros de regresión de los distintos biotipos fueron obtenidos usando Sigma Plot (versión 8.0, SPSS Inc, USA).

Para los casos en los que se encontraron diferencias significativas en la GR_{50} de los distintos biotipos, se determinó el índice de resistencia (IR) mediante el cálculo de la relación entre la GR_{50} del biotipo más sensible y la GR_{50} del biotipo menos sensible.

Resultados y Discusión

Los resultados de los bioensayos en caja de Petri mostraron que las poblaciones con menor GR_{50} fueron SL II, Progrow y LB III (23.89; 23.66; 27.99 mg e.a. glifosato $litro^{-1}$), lo cual indicaría la mayor sensibilidad de las mismas a glifosato, en tanto, las poblaciones LB IV, LB VIII y LB IIIb (38.95; 42.17; 51.65 mg e.a. glifosato $litro^{-1}$), presentaron menor sensibilidad al herbicida (Cuadro 2). La población bajo ocho años de promoción fue la que mostró menor sensibilidad al herbicida, mientras que el cultivar comercial fue el que mostró mayor sensibilidad al mismo. No obstante, no se mantuvo una tendencia clara entre los años de promoción y la tolerancia a glifosato.

En el Cuadro 3 se observan los valores de GR_{50} obtenidos de las distintas poblaciones expuestas al herbicida glifosato en planta adulta. Las poblaciones con menor GR_{50} fueron SL II y LB IV (768.34; 741.37 g e.a. glifosato ha^{-1}) lo cual indicaría la mayor sensibilidad de las mismas a glifosato, en tanto, las poblaciones LB VIII, LB III y LB IIIb (996.7; 1150; 1067 g e.a. glifosato ha^{-1}), presentaron mayor tolerancia al mismo. Los valores de GR_{50} obtenidos no guardan relación con los observados en la bibliografía para poblaciones susceptibles de la misma especie no expuestas al herbicida, ya que los mismos oscilan entre 220-370 g e.a. glifosato ha^{-1} (Perez Jones et al., 2007; Perez and Kogan, 2003).

Cuadro 2: Estimación de la reducción del coleoptile en un 50% (GR_{50}) de *L. multiflorum* al herbicida glifosato en poblaciones provenientes de sistemas de promoción de raigrás anual.

Table 2: Estimated coleoptille reduction (GR_{50}) in *L. multiflorum* to the herbicide glyphosate in populations from promotion of annual ryegrass.

Población	GR_{50} (mg e.a. l^{-1} glifosato)	R ² ajustado
LB III	27,99	0,95
LB IIIb	51,65	0,95
LB IV	38,95	0,94
LB VIII	42,17	0,97
SL II	23,89	0,99
Progrow	23,66	0,96

Cuadro 3: Estimación de la reducción de peso seco en un 50% (GR_{50}) de *L. multiflorum* al herbicida glifosato en poblaciones provenientes de sistemas de promoción de raigrás anual.

Table 3: Estimation of dry weight reduction (GR_{50}) in *Lolium multiflorum* to the herbicide glyphosate in populations from promoting of annual ryegrass.

Población	GR_{50} (g e.a. ha ⁻¹ glifosato)	R ² ajustado
LB III	1150,05	0,93
LB IIIb	1067,9	0,96
LB IV	741,37	0,94
LB VIII	996,7	0,97
SL II	768,34	0,98

Dichos valores están muy por debajo de los obtenidos en el presente estudio, sin embargo debido a que el presente ensayo no se realizó bajo condiciones controladas no es posible compararlos.

En ambos ensayos se corroboró que las poblaciones LB VIII y Lb IIIb son las que poseen menor sensibilidad a glifosato, en tanto SL II mantuvo alta sensibilidad al mismo, siendo variable la sensibilidad de la población LB IV.

No se han encontrado antecedentes en Argentina, por lo tanto asumimos que este es el primer trabajo que evalúa la sensibilidad de poblaciones de raigrás con distinta antigüedad en sistemas de promoción en el país. Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que la sensibilidad de raigrás anual se modificó en dichas poblaciones, si bien no hubo una tendencia clara con los años de antigüedad en el sistema. La población de tres años bajo promoción como la de ocho años de antigüedad tuvieron una sensibilidad similar, por lo que sería necesario conocer no sólo la antigüedad de las poblaciones bajo promoción sino también el número de aplicaciones de glifosato en trabajos futuros y poder compararlos con los datos obtenidos.

Bibliografía

De la Vega, 2009. Promoción de Rye Grass. Impacto e interrogantes de la técnica. INTA Agencia Extensión Azul. EEA Cuenca del Salado. Marzo del 2009.

- Fernández, O.N., Pereira, M., Agnusdei, M., Colabelli, M. y Vignolio O.R. 2008. Degradación de pastizales asociada a la promoción de raigrás en la Pampa Deprimida. 31 Congreso Argentino de Producción Animal. Potrero de los Funes, San Luis. 15 y 17 de octubre 2008. Vol. 28, Sup. 1: 395-396.
- Fernández Grecco, R. 2000. Promoción de raigrás anual en un pastizal natural de la Pampa Deprimida bonaerense. Cong. Arg. Prod. Anim. Actas 23 a. 165-166 pp.
- Fernández Grecco, R. y Agnusdei, M. 2005. Fertilización nitrogenada en pastizales de la pampa deprimida: acumulación y calidad del forraje y composición botánica. 3ª Jornada de Actualización Ganadera, 10 de Junio de 2005, Balcarce. Comisión Organizadora: C.E.C.A.B *Estación Experimental Agropecuaria, INTA, Balcarce.
- Heap, I.M. 2010. International survey of herbicide resistant weeds. Available at <http://www.weedscience.com> [Consultado 13/8/10].
- Jauhar, P.P. 1993. Cytogenetics of the *Festuca-Lolium* complex. Relevance to breeding. Monogr Theor Appl Genet No. 18. Springer-Verlag, Berlin
- Marzocca, A. 1976. Manual de Malezas. Editorial Hemisferio Sur. 564 p.
- Pérez, A. and Kogan, M. 2003. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. Weed Res. 43:12-19.
- Perez Jones, A., Polge ParK, K.W.N., Colquhoun, J. and Mallory-Smith, C.A. 2007. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. Planta 226(2):395-404.
- Seefeldt, S.S., Jensen, J.E. and Fuerst, E.P. 1995. Log-logistic analysis of herbicide rate-response relationships. Weed Technol. 9(2)218-227.

- Soriano, A. 1975. Productividad primaria neta de sistemas herbáceos. Monografía 5. CIC, La Plata, Pcia. de Bs. As. Pg. 9-17.
- Streibig, J.C. 1988. Herbicide bioassay. *Weed Res.* 28:479-484.
- Streibig, J.C., Rudemo, M. and Jensen, J.E. 1993. Dose response curves and statistical models. *In: STREIBIG, J. C.; KUDSK, P. (Eds.), Herbicide bioassays.* Boca Raton: CRC Press, p. 30-55.
- Terrel, E.E. 1968. A Taxonomic Revision of the Genus *Lolium*. Technical Bulletin 1392, U.S. Dept. of Agriculture. Washington DC.