

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE UNA POBLACIÓN DE *Echinochloa colona* L. A LOS HERBICIDAS GLIFOSATO Y FLUAZIFOP- P- BUTIL

Alvaro Anzalone¹; Dany Peña² y Deryk García²

¹Departamento de Fitotecnia. ²Estudiantes graduados. Decanato de Agronomía.

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apartado postal 400.Venezuela. aanzalone@ucla.eduve

ABSTRACT

Resistance to glyphosate and fluazifop-p-butyl herbicide of a *Echinochloa colona* L. population

Echinochloa colona L. is one of the most important weed in rice crop under direct sowing in Venezuela and its control mainly is based on the use of herbicides. The inefficient control of populations of this weed by glyphosate and fluazifop-p-butyl in rice fields in Cojedes state, made think the resistance occurrence, reason why it was carried out be this evaluation. The field affected by the problem was sampling and seeds of the weed were collected (resistant population); also seeds of the same weed in a field in ecological production were collected where applications of herbicide have been made never (susceptible population). The used methodology is based on the proposal by Seefeldt et al. (1995). It was used a completely randomized design with 6 treatments (herbicide dose) and 22 repetitions for each population and herbicide evaluated. Each repetition consisted of a pot with 2 to 3 plants of the weeds. The doses of herbicide evaluated were: 0; 21,88; 43,75; 87,5,175 and 350 g.ha⁻¹ of fluazifop-p-butyl and 0; 337,5; 675; 1350; 2700 and 5400 g.ha⁻¹ for glyphosate. Passed 21 days it was come to determine the aerial fresh weight of the plants for the calculation of the weight average by plant in each repetition. The data was analyzed by analysis of variance and fit to log-logistic model of dose-response for the calculation of the resistance index (RI). The evaluated population was resistant to both herbicides, obtaining a RI= 2.25 for fluazifop-p-butyl and RI=4,18 for glyphosate.

RESUMEN

La paja americana (*Echinochloa colona* L.), es una de las malezas más importantes en el cultivo de arroz bajo siembra directa en Venezuela y su control principalmente se basa en la utilización de herbicidas. El control ineficiente de poblaciones de esta maleza en arrozales en el sector Mata Oscura del estado Cojedes por los herbicidas glifosato y fluazifop-p-butyl, hizo pensar la ocurrencia de resistencia, por lo que se llevó a cabo sido esta evaluación. Se procedió a realizar un muestreo la finca arrocera afectada por el problema, donde se recolectaron semillas de la maleza (población resistente); también se recolectaron semillas de la misma maleza provenientes de una parcela de producción ecológica donde nunca se han hecho aplicaciones de herbicidas (población susceptible). La

metodología utilizada se basa en la propuesta por Seefeldt et al. (1995). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 6 tratamientos (dosis de herbicida) y 22 repeticiones para cada población y herbicida evaluado. Cada repetición consistió de una maceta con 2 a 3 plantas de la maleza. Las dosis de herbicidas evaluadas de 0; 21,88; 43,75; 87,5, 175 y 350 g.i.a.ha⁻¹ para fluazifop-p-butil y de 0; 337,5; 675; 1350; 2700 y 5400 g i.a.ha⁻¹ para glifosato. Transcurridos 21 días se procedió a determinar el peso fresco aéreo de las plantas para el cálculo del peso promedio por planta en cada repetición. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza y ajustados a un modelo log-logístico de dosis-respuesta para el cálculo del índice de resistencia (IR). La población evaluada resultó resistente a ambos herbicidas, obteniendo un IR= 2,25 para fluazifop-p-butil y un IR=4,18 para glifosato.

Palabras claves: *Oryza sativa*, arroz, paja americana,

INTRODUCCIÓN

El control químico constituye una práctica casi indispensable para lograr el manejo eficiente de malezas en el cultivo del arroz, en especial en los sistemas de siembra directa con labranza reducida. Sin embargo, uno de los problemas con mayor riesgo para este tipo de sistema de producción en la aparición de malezas resistentes a herbicidas, ya que el manejo de estas poblaciones puede ser costoso y complicado si no se conoce con exactitud el problema presente y las técnicas apropiadas para su solución.

En Venezuela, los distintos trabajos realizados (Ortiz et al., 1999; Zambrano y Espinosa, 2004a y b; Delgado et al., 2004) han probado la presencia de distintas especies resistentes a herbicidas en el país, concentrándose el mayor número de casos en sistemas de producción de arroz. Sin embargo, hasta la fecha no se habían reportado casos de malezas resistentes al glifosato en Venezuela en sistemas de siembra directa con mínima labranza en arroz, debido principalmente a que esta tecnología ha sido aplicada en una reducida área de producción de manera continua y que la enzima EPSPs (el blanco de acción del glifosato) presenta una baja probabilidad de desarrollar el mecanismo de resistencia por la modificación de la enzima “blanco”, que es el mecanismo de resistencia más común, debido a que las mutaciones que podrían conferírsele tienen alta probabilidad de afectar también la actividad de esta enzima, esencial para la vida misma de la planta. Esto se debe a la particular conformación que adopta la enzima para ejercer su función biológica. Por ello, la frecuencia de mutaciones "viables" que afectan la sensibilidad de la enzima EPSPs al glifosato es muy baja, ya que casi cualquier cambio en ella será letal para la planta. A pesar de esta realidad, en la actualidad existen casos comprobados de resistencia de gramíneas a glifosato en diferentes situaciones en todo el mundo, en especial en cultivos frutales o en zonas con continuo uso de glifosato para el control total de la vegetación (Monsanto, 2006; Menza y

Salazar, 2006 y Lee y Ngim, 2000) y se reportan 13 biotipos de especies de malezas que han generado resistencia al herbicida glifosato, lo que supone que algún mecanismo de resistencia que pudiera ser no específico para glifosato puede estar confiriendo la resistencia a este herbicida en diferentes plantas. En el caso particular de *Echinochloa colona*, ya para el año 2007 se reportó un caso de resistencia a glifosato en Australia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de *Echinochloa colona* (L) recolectadas de un lote de arroz bajo la modalidad de siembra directa con al menos 4 años de actividad, y en donde se sospechaba la resistencia a los herbicidas glifosato y fluazifop-p-butyl, ya que se habían observados fallas en el control de la malezas con estos herbicidas (población resistente). Los lotes se encuentran ubicados en el sector Mata Oscura del Estado Cojedes. Por su parte se recolectaron otras semillas de la misma especie de un lote de una finca cercana a la ciudad de Quibor, Estado Lara, en donde no se aplica control químico como alternativa para el control de malezas, por ser una parcela de manejo ecológico, las cuales se tomaron como control (población susceptible).

Luego de separar manualmente las semillas de las espigas, estas se sembraron al voleo en materos de plástico con capacidad de 1500 cc, los cuales contenían una mezcla conformada por 66% de tierra negra, 14% de concha de coco, 8% de cascarilla de arroz, 8% de arena, y 4% de Urea. Cabe señalar que a las semillas no se les hizo ningún tratamiento pregerminativo. El riego se aplicó a diario. Cuando las plantas tuvieron entre 3 y 4 hojas, se realizó un raleo dejando entre 3 a 4 plantas por matero, seleccionando aquellas que se encontraran en similares condiciones, las más vigorosas y que no presentaran algún signo de enfermedad, ni ataque por algún insecto.

Se utilizó un modelo completamente aleatorizado con 22 repeticiones y 6 tratamientos por herbicida evaluado; además se utilizó un control susceptible (población susceptible) para cada herbicida. Las dosis utilizadas se presentan en el cuadro 1, donde T4 se corresponde a la dosis comercial recomendada.

Cuadro 1. Tratamientos aplicados.

Tratamiento	glifosato (g.ha ⁻¹)	fluazifop-p-butyl (g.ha ⁻¹)
T1	0 g	0
T2	337,5	21,875
T3	675,0	43,75
T4	1350,0	87,5
T5	2700,0	175
T6	5400,0	350

La aplicación de los herbicidas se realizó cuando las plantas poseían cuatro hojas verdaderas bien desarrolladas; para ello se utilizó un sistema de aspersión automático en una cámara de aplicación

de productos químicos con el que cuenta el laboratorio de malezas. Este sistema está calibrado para una descarga de 300 l.ha⁻¹, utilizando boquillas TeeJet® 8003.

La variable evaluada fue el peso fresco de las plantas a los 21 días después de la aplicación de los tratamientos, dicho peso se obtuvo de la parte aérea de las malezas, las cuales fueron cortadas a nivel del cuello y pesadas por maceta para luego promediar su peso individual.

Análisis estadístico

Previo al análisis de los resultados de los datos de peso fresco, a todos estos se les aplicó un análisis de caja (gráfico de caja) y se eliminaron todos aquellos datos que no cumplieran con el criterio de estar dentro del rango del promedio ± 3 veces la varianza. Luego de ello, a los valores de peso se les aplicó un análisis de varianza previa comprobación de los supuestos de dicho análisis, y posteriormente se realizó la prueba de media con el uso del programa estadístico Statistix V. 8.0. Una vez hecho lo anterior se procedió a determinar las curvas de dosis-respuesta, para lo cual se aplicó la metodología propuesta por Seefeldt et al. (1995).

Se utilizó el programa “bioassay97”, un macro de Excel® diseñado por Onofri (2005), que permite el análisis del ajuste de los datos al modelo escogido y la estimación de los parámetros de dicho modelo. Es importante aclarar que para el análisis estadístico de los modelos se comenzó por el ajuste de los datos a una distribución normal. Para la transformación de estos datos se utilizó el valor “Lambda” (valor al cual se deben elevar los datos para que sigan una distribución normal), el cual se obtuvo por la aplicación del método gráfico y de cálculo de Box-Cox. Para obtener el índice de resistencia (IR) se utilizó el criterio propuesto por Valverde (2000). Este índice se calcula como el cociente del I₅₀ obtenido para la población y el I₅₀ de la población conocida como susceptible. Si el valor del IR calculado es mayor a 2, puede considerarse que la población en cuestión es resistente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza inicialmente aplicado sobre los resultados indica que existen diferencias significativas entre los valores de peso fresco entre las plantas de ambas poblaciones para los diferentes tratamientos de los dos herbicidas evaluados (datos no mostrados). Se observó una evidente diferencia en el peso fresco de las plantas susceptibles y resistentes, donde las susceptibles eran más robustas y de mayor porte que las resistentes.

En el cuadro 2 se presentan los valores obtenidos por el análisis realizado para ambas poblaciones y herbicidas para los diferentes parámetros del modelo log-logístico.

Cuadro 2. Valores obtenidos para los parámetros de los modelos log-logísticos de dosis-respuesta.

Parámetros	glifosato				fluazifop-p-butyl			
	Susceptible		Resistente		Susceptible		Resistente	
	Valor Estimado	P	Valor Estimado	P	Valor Estimado	P	Valor Estimado	P
Asíntota Superior	4,42	$6,95 \times 10^{-6}$	0,65	$3,06 \times 10^{-12}$	1,21	$1,05 \times 10^{-7}$	0,84	$5,04 \times 10^{-31}$
Asíntota Inferior	0,33	0,011	0,12	$9,02 \times 10^{-10}$	0,14	$9,19 \times 10^{-7}$	0,32	$3,99 \times 10^{-15}$
Pendiente	4	0,031	4	0,030	3,5	0,01	4	0,08
Punto de Inflexión	174,71	0,0006	677,44	$4,67 \times 10^{-8}$	28,02	$1,06 \times 10^{-5}$	47,52	$1,57 \times 10^{-10}$
I ₁₀	103,08	0,0704	414,22	0,003	15,56	0,01	31,48	0,00
I ₃₀	145,40	0,007	591,72	$3,46 \times 10^{-6}$	23,16	0,00	46,79	$1,96 \times 10^{-10}$
I ₅₀	181,92	0,0003	760,16	$2,72 \times 10^{-9}$	30,21	$2,14 \times 10^{-06}$	68,02	$1,28 \times 10^{-05}$

P=probabilidad (prueba de t)

Al calcular los índices de resistencia para la población bajo estudio se obtuvo que el IR a glifosato fue de 4,18, mientras que para fluazifop-p-butyl fue de 2,25, por lo que se puede afirmar que dicha población posee resistencia a ambos herbicidas. Esta resistencia múltiple a herbicidas con diferentes mecanismos de acción puede estar basada en diferentes mecanismos de resistencia específicos o en uno o varios mecanismos de resistencia no específicos, como lo son los mecanismos de detoxificación por monoxigenasas P450 o por conjugación con glutatona, procesos ya identificados en *Echinochloa colona*.

CONCLUSION

La población bajo estudio es resistente a los herbicidas glifosato y fluazifop-p-butyl, por lo que será necesario adoptar medidas especiales en la zona donde fue recolectada para evitar su diseminación y/o la aparición de resistencia en otros biotipos de otras especies.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Delgado, M., Ortiz, A y Zambrano, C., 2004. Resistencia de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton al herbicida nicosulfuron. Memorias XI Congreso de Malezas. UNET. Táchira, Venezuela.
- Lee, L. y Ngim, J., 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. Pest Management Science, 56:336-339.
- Menza, H. y Salazar, L., 2006. Resistencia de *Eleusine indica* a glifosato en cafetales de la zona cafetera central de Colombia. Cenicafé, 57(2):146-157.

Monsanto, 2006. Se confirma la resistencia de un biotipo de *Sorghum halepense* a glifosato en Tartagal, Salta. [Documento en línea] Disponible en: <http://www.monsanto.com.ar/h/biblioteca/informes/AlepoResistComunicado2006>. [Consulta 2008, marzo 06].

Onofri A., 2005. BIOASSAY97: a new EXCEL VBA macro to perform statistical analyses on herbicide dose-response data. *Rivista Italiana di Agrometeorologia*, 3: 40-45.

Ortiz, A.; Pacheco, M.; Pérez, V.; Ramos, R. y Seijas, E. 1999. Identificación de biotipos de *Echinochloa colona* (L.) Link., potencialmente resistentes al propanil, en los estados Guárico y Portuguesa. *Revista COMALFI*. Bogotá-Colombia. 26(1-3):21-27.

Seefeldt, Jensen y Fuerst, 1995. Log-Logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*. 9:218-227

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.

Zambrano, C. y Espinoza, H. 2004a. Evaluación de la resistencia de poblaciones de *Echinochloa colona* (L.) Link al fenoxaprop-p-etil en arroz (*Oryza sativa* L.) provenientes de diferentes localidades del estado Portuguesa. Memorias XI Congreso de Malezas. UNET. Táchira. Venezuela.

Zambrano, C. y Espinoza, H. 2004b. Evaluación de la resistencia de poblaciones de *Ischaemum rugosum* al bispiribac sodio en arroz (*Oryza sativa* L.) provenientes de los estados Portuguesa y Guárico. Memorias XI Congreso de Malezas. UNET. Táchira. Venezuela.