

Seijas, Paula

Estudio de la asociación entre la tolerancia a estrés salino y la tolerancia al herbicida glifosato en Lotus tenuis

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Seijas, P. 2014. Estudio de la asociación entre la tolerancia a estrés salino y la tolerancia al herbicida glifosato en Lotus tenuis [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en:
<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/estudio-asociacion-tolerancia-estres-salino.pdf> [Fecha de consulta:.....]

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

Estudio de la asociación entre la tolerancia a estrés salino y la tolerancia al herbicida glifosato en *Lotus tenuis*.

Trabajo final de graduación para optar por el título de:
Ingeniero en Producción Agropecuaria

Autor: Seijas, Paula.

Profesor Tutor: Duarte Silveira, Erica.
Profesor Co-Tutor: Zapiola, María Luz.

Fecha: 2014

Resumen

El gran crecimiento de la agricultura en los últimos años ha desplazado la ganadería a zonas marginales como la Pampa Deprimida, por lo que es necesario identificar especies con alta tolerancia a la salinidad para estas geografías. Además es importante asegurar una rápida implantación de la pastura libre de malezas. Como parte de un proyecto Nacional, el INTA Pergamino identificó familias de medios hermanos con distintos niveles de tolerancia a la salinidad en *Lotus tenuis*. Una asociación entre la tolerancia a salinidad y la tolerancia a herbicidas implicaría un potencial para un mejor control de malezas, sumado al ya incremento potencial de producción bajo condiciones adversas, logrando indirectamente una mayor producción de forraje. El objetivo del trabajo fue analizar si existe asociación entre la tolerancia a salinidad y la tolerancia a glifosato en *L. tenuis*. Para probar la asociación entre las dos tolerancias se determinó la curva de dosis respuesta de una familia de medios hermanos (FMH) susceptible a salinidad y una tolerante a salinidad a dosis crecientes de glifosato. El ensayo se realizó desde agosto a noviembre de 2012 en la Facultad de Ciencias Agrarias de la UCA, Capital Federal. Se sembraron semillas de la FMH de *L. tenuis* 22-41, susceptible a salinidad, y de la FMH 4-90, tolerante a estrés salino. La aplicación de glifosato se realizó cuando las plantas tenían entre 4 y 8 hojas verdaderas. El herbicida utilizado fue la formulación sal potásica de N-fosfometil glicina de glifosato al 54% p/v (662 gr/L). Las dosis ensayadas del herbicida fueron las siguientes: 0X, 0,06X, 0,125X, 0,25X, 0,5X, X, 2X y 4X (X= dosis 1.5 kg e.a/ha), y se evaluaron en seis repeticiones. La evaluación se realizó 21 días luego de la aplicación del herbicida. Se determinó el porcentaje de plantas vivas versus plantas muertas, las plantas se cosecharon y se determinó su peso en materia seca. Se determinó la dosis letal media mediante el modelo log-logístico para el análisis de dosis-respuesta. Los valores de DL_{50} de la población tolerante y susceptible a la salinidad se compararon para generar el índice de resistencia (IR: DL_{50R}/DL_{50S}). Las dosis que causaron una disminución del 50% en la biomasa de las plantas fueron 0.36 kg e.a/ha y 0.25 kg e.a/ha para la población susceptible y tolerante a salinidad, respectivamente. Dado que el IR resultó ser de 1.44 se puede afirmar que en este ensayo no se detectó tolerancia a glifosato en una población de *L. tenuis* tolerante a la salinidad. Pareciera que no existe ninguna relación entre la tolerancia a la salinidad y la tolerancia a glifosato en las poblaciones evaluadas de *L. tenuis*. Se recomienda repetir el ensayo para confirmar los resultados.

Índice

Introducción	pág 4
Objetivos	pág 6
Importancia y justificación del tema	pág 6
Materiales y Métodos	pág 8
Resultados y discusión.....	pág 12
Conclusiones.....	pág 17
Bibliografía.....	pág 18

1. Introducción:

En los últimos años, como consecuencia de la fuerte presión agrícola sobre suelos con mayor aptitud, la ganadería ha sido desplazada a zonas marginales, como La Pampa Deprimida, caracterizadas por tener limitantes agronómicas. Para obtener una adecuada producción de forrajes en ambientes con limitantes es importante considerar, al momento de la elección de especies forrajeras, la tolerancia a estreses abióticos de las diferentes especies, como también su velocidad de implantación y la capacidad de competencia con las malezas. La elección de las especies adecuadas, con una buena adaptación a estos ambientes maximizará el potencial de producción de forraje y en consecuencia de carne.

La Pampa Deprimida abarca una importante superficie de la Provincia de Buenos Aires donde se desarrolla la ganadería bovina de cría y re cría. Se caracteriza por la presencia de sales en porcentajes tóxicos, altos niveles de sodio en el complejo de intercambio de los suelos y el consiguiente elevado pH que limitan las posibilidades de especies a sembrar. La temperatura media anual de ésta área es de 13,8°C y la precipitación media anual es de 800 a 1000 mm (Maddaloni y Ferrari, 2005).

Lotus tenuis Waldst. et Kit. (ex *Lotus glaber*), conocida vulgarmente como trébol de cuernitos de hoja angosta, es una especie que se adapta a las condiciones antes mencionadas. *Lotus tenuis* es una leguminosa perenne, alógama, que aporta nitrógeno al sistema, con una buena calidad forrajera y una adecuada capacidad de establecimiento por la variabilidad genética de sus poblaciones. Además, se destaca por su tolerancia al anegamiento y la tolerancia a la salinidad, por lo que crece en suelos bajos (Maddaloni y Ferrari, 2005; Miñón et al., 1990; Vignolio y Fernandez, 2006). Al ser una especie que se caracteriza por un lento crecimiento inicial, es importante un adecuado control de malezas, ya que la alta competencia de las mismas puede afectar la implantación, el rendimiento y la persistencia de las pasturas. El manejo de malezas más frecuente en *L. tenuis* consiste en el uso de herbicidas como glifosato o trifluralina en preemergencia y 2,4-D o 2,4-DB en postemergencia (Miñón et al., 1990).

En el último medio siglo, mundialmente se ha utilizado a los herbicidas como método principal de control de malezas (Kogan y Pérez, 2003). El glifosato es el herbicida más difundido y actualmente dominante en el mundo por el uso de los cultivos resistentes. El glifosato es un herbicida sistémico, total o no selectivo, de gran versatilidad, empleado para controlar un amplio espectro de malezas. Puede ser considerado uno de los herbicidas más seguros ambientalmente y toxicológicamente (Duke y Powles, 2008). El glifosato es un potente inhibidor de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). La EPSP sintasa es una enzima muy importante en la ruta metabólica del shikimato donde se producen los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano, que son esenciales para la síntesis de algunas proteínas (Arregui et al., 2008). Consecuentemente, el glifosato inhibe la enzima EPSPS y la planta muere por falta de amino ácidos esenciales para la síntesis de proteínas.

La susceptibilidad o tolerancia de una especie a un herbicida es la base de la selectividad de los herbicidas y define su espectro de acción. Sin embargo, determinadas poblaciones de malezas pueden evolucionar resistencia a estos productos, resultando en fallas de control de un biotipo de una especie que antes era controlada por un herbicida determinado. Una población de malezas puede manifestarse como susceptible, tolerante o resistente ante la aplicación de un herbicida, por lo que es importante diferenciar principalmente estos dos últimos conceptos. La tolerancia es la capacidad inherente de una especie para sobrevivir y reproducirse después de la aplicación de un herbicida a la dosis normal de uso. En cambio, la resistencia es la capacidad heredable de una población para sobrevivir y reproducirse después de la aplicación de una dosis de herbicida que antes era letal para la población filial (Kogan et al., 2003).

En el mundo hay por lo menos 219 dicotiledóneas y en más de 195 monocotiledóneas reportadas con resistencia a herbicidas (Heap, 2014). Los casos de resistencia reportados se distribuyen de la siguiente manera: 34% a inhibidores de la enzima ALS, 17% a las Triazinas, 10% a inhibidores de la enzima ACCasa, 7% a Auxinas sintéticas, 7% a Bipiridilos, 6% a Glicinas, 3% a Dinitroanilinas, y el restante porcentaje pertenece a otros grupos químicos (Heap, 2014).

La evolución de la resistencia en una determinada población está directamente relacionada con factores como: la naturaleza y frecuencia de uso del herbicida, el tamaño de la población de malezas, la dominancia del gen o genes que otorgan resistencia, y por último la frecuencia inicial de alelos resistentes (Kogan y Pérez, 2003). Cuando se emplea uno o más herbicidas con el mismo mecanismo de acción se incrementa la presión de selección sobre las malezas, seleccionando los individuos resistentes que pudieran haber evolucionado en la población. La resistencia puede evolucionar en forma natural (por la pérdida de afinidad del sitio de acción, la detoxificación por metabolización y la reducción de absorción, transporte, aislamiento o secuestro, entre otros), o ser inducida por técnicas de la ingeniería genética como en los cultivos transgénicos resistentes a herbicidas (Villalba, 2009).

Hay reportes en la bibliografía sobre el uso del herbicida glifosato en el género *Lotus*. En cultivos de *L. tenuis* en Nueva Zelanda, la dosis de uso de glifosato en presembrado fue de 0,7 Kg i.a/ha (Lambrechtsen et al., 1989 en Miñón et al., 1990). En cultivos de *L. corniculatus*, en Estados Unidos, se evaluó el mecanismo y nivel de tolerancia al herbicida glifosato. Se observó que la actividad específica de EPSPS se correlacionó positivamente con el nivel de tolerancia a glifosato, mostrando que es el principal mecanismo de tolerancia en esta especie (Boerboom et al., 1990). Además se demostró que es posible aumentar la tolerancia a glifosato a través de la selección recurrente. La dosis de glifosato utilizada, para la selección de las plántulas, fue de dos aplicaciones de 0,56 Kg e.a/ha (Boerboom et al., 1991).

La combinación de la tolerancia a la salinidad con la tolerancia a glifosato en biotipos de *Lotus tenuis* sería una característica deseable para facilitar el manejo de la pastura. Existen pocos estudios publicados acerca de la posible relación entre la resistencia a herbicidas y la tolerancia a estrés abiótico. Para *Echinochloa*

phyllopon en cultivos de arroz en California se demostró una relación entre la resistencia a herbicidas como los tiocarbamatos e inhibidores de la ACCasa y ALS y la tolerancia a la inundación (Fischer et al., 2009). En campos de maíz se observó que había también una relación entre la resistencia de *Chenopodium album* a atrazina, paraquat y clomazone y la tolerancia a sequía (Fischer et al., 2009).

La eficiencia de un herbicida se evalúa relacionando la dosis de un herbicida y su respuesta en la planta. Para cuantificar la sensibilidad de una planta a determinadas dosis de herbicidas o la posible relación entre la tolerancia al herbicida y la tolerancia a estrés abiótico se realiza una curva de dosis-respuesta (Seefeldt et al., 1995). Se aplican dosis crecientes del herbicida a dos poblaciones con respuesta supuestamente diferente al herbicida y se registran los efectos en cada población. Finalmente, los datos se analizan mediante una regresión no lineal, empleando el modelo log-logístico (Streibing et al., 1988).

Para cultivos resistentes a glifosato, la dosis de uso promedio a campo en postemergencia para controlar malezas anuales es de 1,2 Kg e.a/ha y para malezas perennes es de 1,7 Kg e.a/ha (Monsanto, 2012).

Hay identificadas, por el INTA de Pergamino, familias de medios hermanos (FMH) en *L. tenuis* con distintos niveles de tolerancia a la salinidad, dentro de estos un biotipo más susceptible (22-41) y un biotipo más tolerante (4-90) a condiciones de estrés salino (Franco, 2011).

El objetivo del presente trabajo es analizar si existe una asociación entre la tolerancia a salinidad y la tolerancia a glifosato en *L. tenuis* usando estas dos FMH. Una asociación entre ambas tolerancias implicaría un potencial para un mejor control de malezas, sumado al ya incremento en el potencial de producción bajo condiciones adversas otorgado por la tolerancia a la salinidad, logrando indirectamente una mayor producción de forraje.

Hipótesis

La tolerancia a la salinidad esta asociada a una tolerancia a glifosato en *Lotus tenuis*.

Importancia y justificación del tema

Es importante contar en la Pampa Deprimida con una línea de *L. tenuis* tolerante a la salinidad y tolerante a glifosato ya que beneficiaría el manejo de la pastura. *L. tenuis* se adapta a las condiciones edáficas y climáticas de la zona, pero como se caracteriza por ser una especie de lento crecimiento inicial, es importante realizar un adecuado control de malezas para lograr una mejor implantación, mayor persistencia y rendimiento.

En la actualidad no se encuentran trabajos publicados acerca de la respuesta de esta especie a dosis de uso de glifosato, por lo que este trabajo será de gran aporte. Además poco se conoce de la asociación entre tolerancia a la salinidad y tolerancia al glifosato. El conocimiento de la curva de dosis-respuesta de glifosato

de las dos poblaciones de medio hermanos de *L. tenuis* permitirá evaluar si existe asociación entre estas dos tolerancias.

2. Materiales y métodos

Para determinar la respuesta de cada población de *L. tenuis* a distintas cantidades de herbicida, se realizó la curva de dosis-respuesta a glifosato. Para obtener la misma se realizó un ensayo en macetas desde agosto a noviembre de 2012, en las instalaciones del laboratorio de Producción Vegetal y en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Católica Argentina, sede Capital Federal.

1.1. Siembra y germinación de *Lotus tenuis*

Se sembraron aproximadamente 90 semillas de cada una de dos familias de medios hermanos (FMH) de *L. tenuis*: una susceptible (22-41) y otra tolerante (4-90) al estrés salino, cedidas por el INTA Pergamino y recolectadas en el año 2010.

Las semillas fueron escarificadas utilizando papel de lija fino y sembradas en cajas de Petri desinfectadas con alcohol 70% (v/v), conteniendo dos hojas de papel de filtro humedecidas con 6 mL de agua. Las cajas de Petri con las semillas fueron mantenidas en bolsas plásticas herméticas, en cámara de germinación, a 30°C/20°C, con 16 h de luz/8 h de oscuridad (Figura 1).

Las plántulas en el estadio de dos cotiledones (7 días post siembra) fueron trasplantadas a bandejas de germinación con compost orgánico y estas colocadas en cámara de germinación por 5 días. Al quinto día, las plántulas fueron trasplantadas a recipientes de tergopor de 300 cm³ (Figura 2).

Las bandejas se mantuvieron en el invernadero bajo condiciones ambientales no controladas y con permanente agua para asegurar el riego por capilaridad.

1.2. Condiciones de aplicación y dosis de glifosato

El rango de dosis de glifosato utilizado fue de 0 a 6 Kg e.a/ha. La formulación comercial de glifosato utilizada fue de la sal potásica de N-fosfonometil glicina al 54% p/v (662 g/L).

Para la aplicación se utilizó la mochila de presión constante con una barra de dos metros de labor con cuatro boquillas. El volumen de aplicación fue de 152,5 L/ha a una presión de 2,2 bar, con una velocidad media de 4,77 km/h, y a una altura de 0,7 m. La pulverización se realizó con el equipo de protección personal requerido. Se utilizaron traje protector y delantal impermeable, guantes, botas y protector facial (Figura 3).

La aplicación del herbicida fue realizada en plantas en el estadio de 4-8 hojas verdaderas (contando a partir de la primera hoja pentafoliada como verdadera), 61 días post siembra. Se utilizaron un total de 48 plántulas de cada FMH, divididas aleatoriamente en 8 grupos, correspondientes a los 8 tratamientos, con 6 replicas cada uno. La pulverización se efectuó en el día 10 de octubre del 2012, entre las 16 y 18 horas. Las dosis ensayadas del herbicida fueron las siguientes: 0X, 0,06X, 0,125X, 0,25X, 0,5X, X, 2X y 4X (X= dosis 1,5 Kg e.a/ha) (Tabla 1). La dosis X

es la dosis promedio de uso a campo de distintas especies anuales y perennes. Las dosis utilizadas tuvieron como objetivo cubrir desde ningún efecto visible hasta la muerte de la planta. Las diluciones se realizaron a partir de la solución más concentrada (6 Kg e.a/ha).

1.5. Recolección de datos

Las observaciones se tomaron a los 21 días después de la aplicación. Se determinó el porcentaje de plantas vivas versus plantas muertas. Luego se cosecharon las plantas y se determinó el peso en materia seca de la parte aérea de las plantas. Para determinar el peso en materia seca se secaron las muestras de la parte aérea de las plantas en el horno a 60°C, por 72 horas.

1.6. Análisis de datos

Se utilizó el modelo log-logístico para el análisis de dosis-respuesta (Seefeldt et al., 1995), utilizando el software Infostat (www.infostat.com.ar) para determinar la dosis letal media (DL₅₀- dosis requerida para matar el 50% de la población), para *L. tenuis* susceptible y tolerante a estrés salino a partir de la curva de dosis-respuesta. Los valores de DL₅₀ de las poblaciones tolerante y susceptible a la salinidad se compararon para generar el índice de resistencia (IR: DL₅₀ Resistente a glifosato/DL₅₀ Susceptible a glifosato).

La expresión matemática es $Y=C+ ((D-C)/1+(x/ DL_{50})^b)$.

Y = variable evaluada (peso seco, peso verde, vivas/muertas),

C y D = límites inferior y superior de la respuesta de peso a una dosis muy alta y baja de herbicida, respectivamente,

b = pendiente de la curva,

x = dosis del herbicida (Kg e.a/ha) y

DL₅₀ = dosis que causa el 50% de disminución de la variable evaluada.

Para estimar los parámetros del modelo, los datos fueron sometidos a un análisis de regresión no lineal, utilizando el programa Infostat.

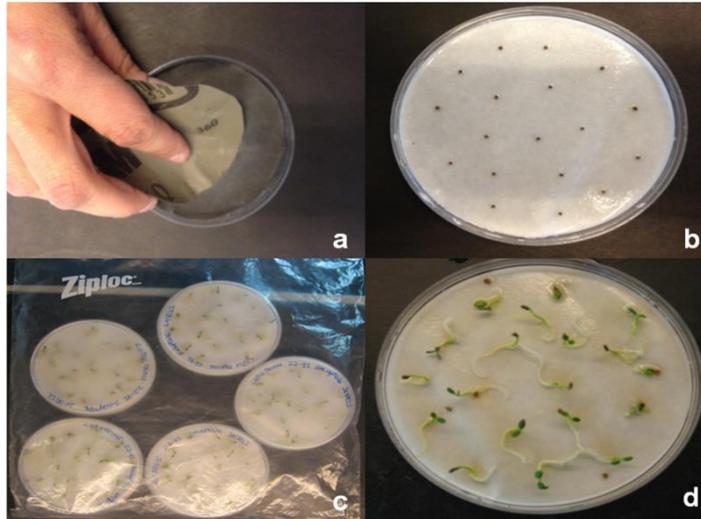


Figura 1. Germinación de semillas de *L. tenuis* en condiciones de temperatura controlada. (a) Escarificación de las semillas con papel de lija fino; (b) Semilla en cajas de Petri; (c) Cajas de Petri en bolsa hermética; (d) Semillas germinadas.



Figura 2. Estadio de desarrollo de plantas de *L. tenuis* previo de la aplicación



Figura 3. Ropa adecuada para la aplicación de agroquímicos (a) y aplicación de glifosato (b).

Tabla 1. Dosis de herbicida

Tratamiento	EXPERIMENTO N°1	
	Dosis relativa de aplicación (X=1,5 Kg e.a/ha)	Dosis de aplicación (Kg e.a/ha)
1	0X	0
2	0,06X	0,094
3	0,125X	0,19
4	0,25X	0,38
5	0,5X	0,75
6	1X	1,5
7	2X	3
8	4X	6

3. Resultados y discusión

En este trabajo fueron analizados los efectos de distintas dosis de glifosato en dos poblaciones de medios hermanos de *L. tenuis* con distintos grados de tolerancia a la salinidad, para comprobar si existe asociación entre la tolerancia a la salinidad y la tolerancia a glifosato. Con respecto a las dosis elegidas de glifosato, como no había información publicada acerca del rango de la dosis de glifosato para la especie, se determinaron las dosis utilizadas a partir de la dosis promedio de uso a campo para control de especies anuales y perennes. Las dosis utilizadas tuvieron como objetivo cubrir desde ningún efecto visible hasta la muerte de la planta. El rango de dosis de glifosato utilizado fue de 0 a 6 Kg e.a/ha.

Con respecto a la evaluación de plantas vivas versus plantas muertas, se observó que todas las plantas de *L. tenuis* tolerante a salinidad sobrevivieron hasta una dosis de glifosato de 0.38 Kg e.a/ha; entre 0.75 y 1.5 Kg e.a/ha la mayoría de las plantas se encontraron vivas (83%); con 3 Kg e.a/ha solamente sobrevivió el 17% y por último, con 6 Kg e.a/ha todas las plantas murieron. En *L. tenuis* susceptible a salinidad hasta 0.19 Kg e.a/ha la totalidad de las plantas se encontraron vivas; Entre 0.38 y 0.75 Kg e.a/ha la mayoría de las plantas se encontraron vivas (83%); con 1.5 Kg e.a/ha todas las plantas se encontraban vivas y por último con 3 y 6 Kg e.a/ha todas las plantas estaban muertas (Figura 4). Esta evaluación en el porcentaje de vivas indica una leve diferencia a favor de la población tolerante a la salinidad.

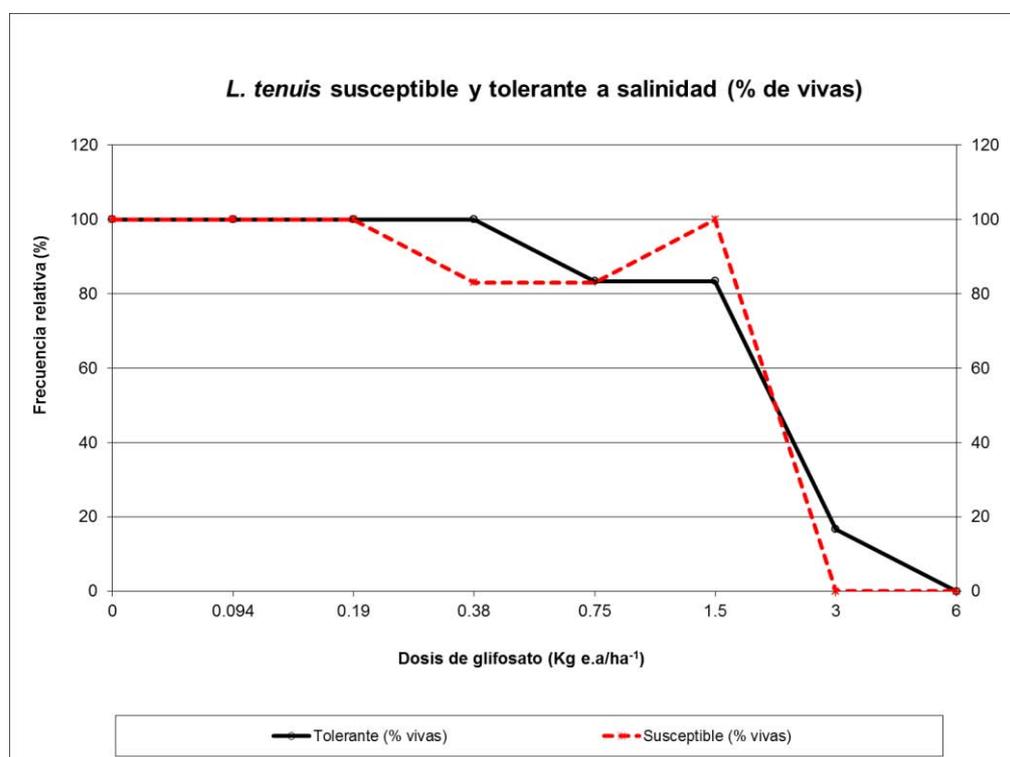


Figura 4. Supervivencia de *L. tenuis* tolerante y susceptible a salinidad a los 21 días de la aplicación de glifosato.

En cuanto a los efectos de la aplicación del glifosato sobre la producción de biomasa en las dos FMH de *L. tenuis*, susceptible (22-41) y tolerante (4-90) al estrés salino se pudo observar que, 21 días pos aplicación, el peso seco de la parte aérea de las plantas disminuyó a medida que las plantas fueron expuestas a dosis crecientes del herbicida (Figura 5). El peso seco fue semejante para los dos biotipos para cada una de las dosis evaluadas.

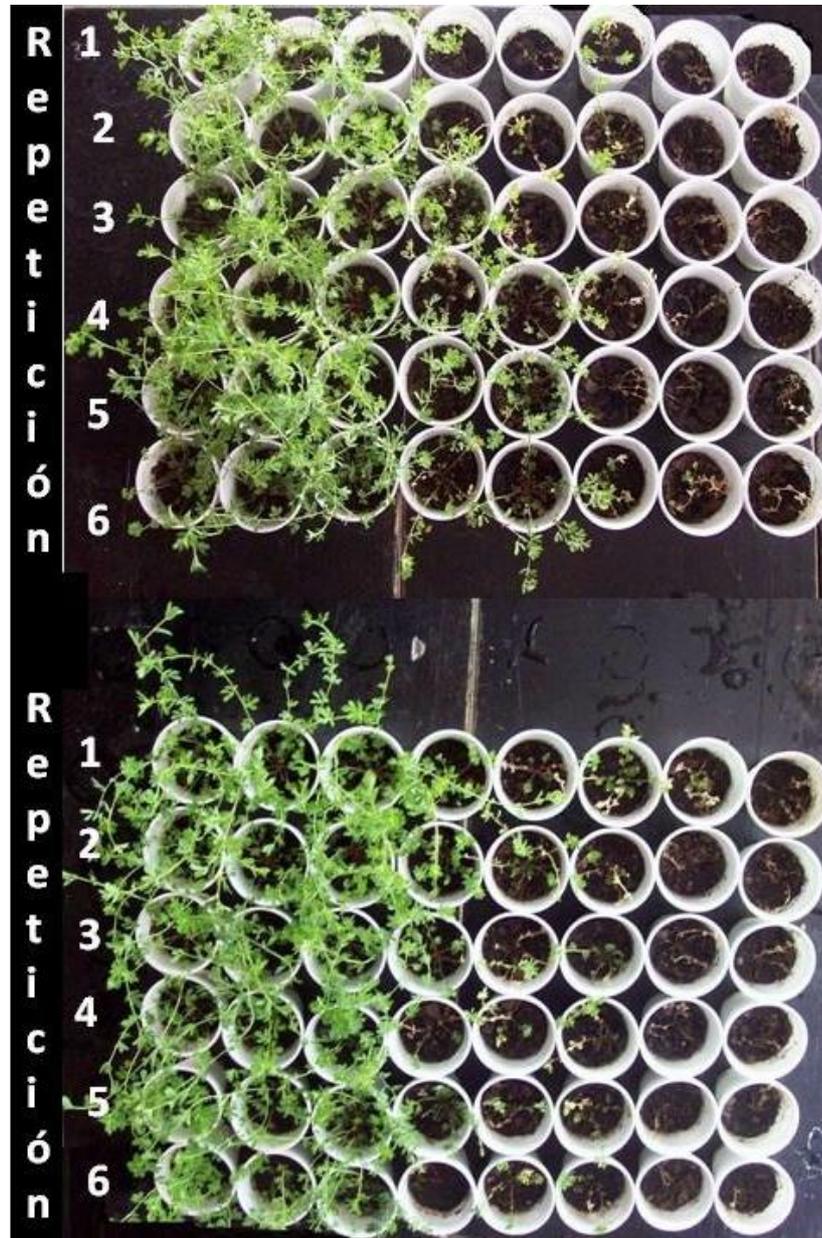


Figura 5. Plantas de *L. tenuis* susceptible (inferior) y tolerante (superior) a la salinidad, 21 días post aplicación del herbicida (De izquierda a derecha las dosis de glifosato: 0, 0.094, 0.19, 0.38, 0.75, 1.5, 3 y 6 Kg e.a/ha).

El modelo de regresión log-logístico propuesto por Seefeldt et al. (1995) para obtener la curva de dosis-respuesta presentó un buen ajuste de la respuesta en peso seco a las distintas dosis de glifosato. En la figura 6 se presenta la curva de dosis-respuesta en relación a las dosis y el peso seco de las dos FMH. En la tabla 2 se detallan los parámetros obtenidos por el modelo log-logístico. La dosis que causó una disminución del 50% en la biomasa de las plantas (DL_{50}) fue de 0.36 Kg e.a/ha para la población susceptible a salinidad, y 0.25 Kg e.a/ha para la población tolerante a la salinidad. El índice de resistencia IR (DL_{50} resistente a glifosato/ DL_{50} susceptible a glifosato) presentó un valor de 1.44 (DL_{50} de *L. tenuis* susceptible a salinidad/ DL_{50} de *L. tenuis* tolerante a la salinidad) lo que indica que se requiere para la población susceptible una dosis de herbicida 1.44 veces mayor que la requerida para la población tolerante. Con respecto a la resistencia de estas dos FMH al glifosato, los resultados indican que no hay diferencia entre el nivel de tolerancia de las mismas a este herbicida, ya que en general se considera resistente a una población a partir de un IR= 2.00 (Diez De Ulzurrun y Leanden, 2012).

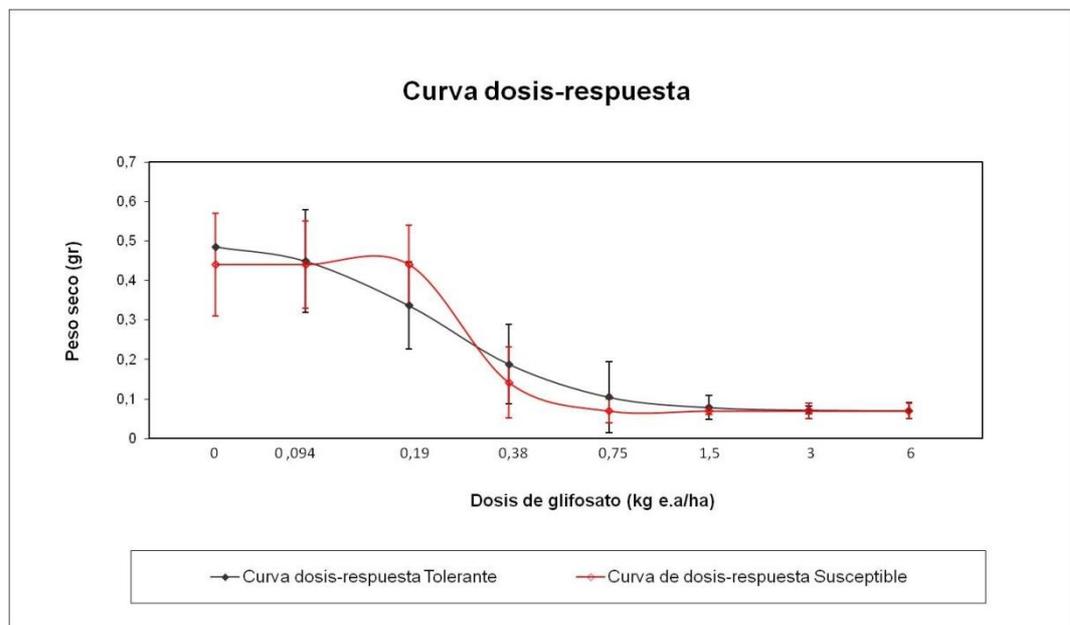


Figura 6. Curva de dosis-respuesta a glifosato para *L. tenuis* tolerante y susceptible a la salinidad.

Tabla 2. Parámetros de la regresión no lineal estimados y el error estándar (EE).
Modelo: Peso seco de las plántulas = $C + ((D-C)/1+(x/ DL_{50}) B)$.

Herbicida	Población	D (±EE)	C (±EE)	B (±EE)	DL ₅₀ (kg e.a/ha ⁻¹) (±EE)
Glifosato	Susceptible	0,07 (0,02)	0,44 (0,03)	-60,09 (8558147)	0,36 (2444)
	Tolerante	0,07 (0,03)	0,5 (0,06)	-4,86 (2,07)	0,24 (0,6)

En el mundo, han sido reportados biotipos de distintas especies resistentes a glifosato, como por ejemplo *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus rudis*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Ambrosia trifida*, *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis*, *Digitaria insulares*, *Echinochloa colona*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla*, *Lolium multiflorum*, *Lolium rigidum* y *Sorghum halepense*. (Villalba, 2009; Heap 2012). En trabajos de investigación se ha determinado el DL₅₀ de algunas de estas especies resistentes. En Australia (Nueva Gales del Sur) una población de *L. rigidum* presentó un DL₅₀ de 0,623-1,718 Kg e.a/ha manifestando de siete a once veces más resistencia que la población susceptible (Powles et al., 1998 en Kogan y Pérez, 2003). Otra población de *L. rigidum* en Australia (Victoria del Norte) presentó un DL₅₀ de 0,796-1,140 Kg e.a/ha manifestando diez veces más resistencia que la población susceptible (Pratley et al., 1999 en Kogan y Pérez, 2003). En Malasia, una población de *E. indica* presentó un DL₅₀ de 4,691-4,979 Kg e.a/ha siendo ocho a doce veces más resistente que la población susceptible (Lee y Ngim, 2000 en Kogan y Pérez, 2003). En Chile, para dos poblaciones de *L. multiflorum*, fue necesario aplicar una dosis dos a cuatro veces mayor, con respecto a la población susceptible, para alcanzar el GR₅₀ (Kogan y Pérez, 2003). En Argentina fueron descritos biotipos de *S. halepense* y de *L. multiflorum* resistentes. En cuanto a los biotipos de *S. halepense* resistentes al herbicida, uno se encuentra en la localidad El Trébol y su GR₅₀ fue de 2.27 Kg e.a/ha dando un índice de resistencia de 10.92 y otro en la localidad de Las Rosas (Santa Fe) y Etruria (Córdoba) cuyo GR₅₀ fue de 1.94 Kg e.a/ha (Papa, et al 2008). En el Sudoeste de la provincia de Buenos Aires, a través de bioensayos en caja de Petri, los biotipos de *L. multiflorum* resistentes a glifosato dieron como resultado un GR₅₀ 3,6 a 4 veces superior que la población sensible (Vigna, et al 2008). En el biotipo de *L. multiflorum* resistente, el GR₅₀ fue de 46,72 mg e.a/L, presentando un IR de 3,37 y confirmando la resistencia de este biotipo (Diez De Ulzurrun y Leanden, 2012). En el Noreste de la provincia de Buenos Aires, a través de experimentos realizados en macetas, el biotipo Rojas de *L. multiflorum* resistente a glifosato presentó un GR₅₀ de 0.885 Kg e.a/ha y un IR de 10.19 (Papa, et al 2012). Para *Lotus corniculatus*, en un estudio realizado en Estados Unidos, la tolerancia a glifosato en el estadio de 8 hojas fue de 0,56 Kg

e.a/ha. Existe una tolerancia natural a este herbicida en esta especie (Boerboom et al., 1991).

En nuestro caso se aplicó glifosato en *L. tenuis* en un estadio de 4 a 8 hojas verdaderas y se evaluó la tolerancia a los 21 días postaplicación. Las dosis que causaron una disminución del 50% en la biomasa de las plantas fueron 0.36 kg e.a/ha y 0.25 kg e.a/ha para la población susceptible y tolerante a salinidad, respectivamente. Estos resultados sugieren una mayor susceptibilidad de estos materiales cuando comparados con los datos de *L. corniculatus* (Boerboom et al., 1991).

En *Echinochloa phyllopogon* fue verificada una asociación entre la resistencia a varios herbicidas y la tolerancia a la inundación en cultivos de arroz (Fischer et al., 2009). Del mismo modo, se observó una asociación entre la resistencia a un herbicida y la tolerancia a estrés hídrico de *Chenopodium album* en cultivos de maíz. En ambos casos los biotipos presentan una resistencia multifactorial que puede deberse a una sobre regulación de mecanismos de tolerancia a estreses (Fischer et al., 2009). Aunque estudios de tolerancia realizados para otras especies evidenciaron una posible relación entre la resistencia a herbicidas y tolerancia a estrés abiótico, en el ensayo realizado en este trabajo no se encontró una asociación entre la tolerancia a glifosato y la tolerancia al estrés salino para *L. tenuis*.

4. Conclusión

Las dosis de glifosato empleadas en el ensayo para las dos FMH de *Lotus tenuis* fueron las adecuadas para lograr una curva de dosis-respuesta, ya que incluyeron dosis donde no hubo síntomas en las plantas y dosis que resultaron en la muerte de la totalidad de las plantas bajo estudio. Igualmente, debido a que se observó que con la aplicación de las últimas dos dosis todas las plantas de las dos poblaciones murieron, se sugiere repetir el ensayo con un ajuste en las concentraciones. Se sugiere eliminar la dosis de 6 Kg e.a/ha y agregar en su lugar la dosis de 0.047 Kg e.a/ ha, para tener mayor sensibilidad en esa zona de la curva de dosis respuesta.

Las condiciones ambientales para el crecimiento de las plantas en el invernadero fueron apropiadas. Mientras no se cuente con posibilidad de controlar las condiciones en el invernadero durante el verano, se sugiere no prolongar los ensayos más allá de noviembre para evitar que las plantas se estresen por excesivas temperaturas o falta abrupta de agua.

En este primer ensayo, no se pudo observar una asociación entre la tolerancia al herbicida glifosato y la tolerancia al estrés salino en las poblaciones de *L. tenuis* evaluadas, ya que en ambas FMH fueron igualmente sensibles a la aplicación del herbicida. El índice de resistencia de 1.44 es un valor inferior al que indicaría resistencia, confirmando que no hay diferencias entre ambas.

Se recomienda hacer más ensayos, explorando las dosis sugeridas, agregando otras poblaciones de *L. tenuis* y en condiciones controladas, para confirmar los resultados. Además se podría evaluar si al aplicar el herbicida en estadíos de *L. tenuis* más avanzados con respecto a los estudiados, el nivel de tolerancia se incrementa en alguna población y se pueden diferenciar los niveles de tolerancia entre poblaciones. La tolerancia a glifosato en estadíos aún más avanzados sería una herramienta igualmente válida para lograr un establecimiento de las pasturas libre de malezas.

5. Bibliografía

- Arregui, M. C. y Puricelli, E. (2008). *Mecanismo de acción de plaguicidas*. Argentina, Rosario, Acquatint, pág. 168-174.
- Boerboom, C.M.; Ehlke, N.J.; Wyse, D.L.; Somers D.A. (1991), Recurrent selection for glyphosate tolerance in Birdsfoot Trefoil. *Crop Science*, 31: 1124-1129.
- Boerboom, C.M.; Wyse, D.L.; Somers D.A. (1990), Mechanism of glyphosate tolerance in Birdsfoot Trefoil (*Lotus corniculatus*). *Weed Science*, 6(38): 463-467.
- Díaz, J.; Espinosa, N. y Galdames, R. (2009). Test de germinación in vitro para detectar malezas resistentes a herbicidas. En seminario internacional: “Diagnóstico y manejo de la resistencia a herbicidas”. Series de actas 44. Instituto de investigaciones agropecuarias, INIA. Temuco, Chile, 114 pág.
- Diez De Ulzurrun, P. y Leanden M.I. (2012), Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y Glifosato, *Planta Daninha*, 30: 667-673.
- Duke, S.O.; Powles, S.B. (2008), Mini-review Glyphosate: a once-in-a-century herbicide, *Pest Management Science*, 64: 319-325.
- Franco, M.I. (2011). Estudio de la variabilidad genética en familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* sometido a estrés salino. Tesis de Magister en Genética Vegetal. INTA.
- Fischer, A. J; Pavlovic, D.; Yasuor, H.; Merotto, A. (2009). ¿Se relaciona la evolución de los mecanismos multifactoriales de Resistencia a herbicidas con la tolerancia al estrés?. En seminario internacional: “Diagnóstico y manejo de la resistencia a herbicidas”. Series de actas 44. Instituto de investigaciones agropecuarias, INIA. Temuco, Chile, 114 pág.
- Heap, I. (2014). International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Acceso Febrero 2014. Web page: www.weedscience.org.

- Kogan, M. y Perez, A. (2003). *Herbicidas. Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción*. Chile, Santiago, Universidad Católica de Chile, 332pp.
- Maddaloni, J. y Ferrari, L. (2005) *Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina*, ciudad de Buenos Aires, Argentina, Simagraf, 2ª edición, 522 pág.
- Miñón, D.P.; Sevilla G. H; Montes, L.; Fernández, O. (1990). *Lotus tenuis: leguminosa forrajera para la Pampa Deprimida*. Argentina, Buenos Aires, Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Boletín técnico 98, 15 pág.
- Monsanto (2012) Marbete de Roundup. Web page: www.monsanto.com
- Seefeldt, S.S; Jensen, J.E; Fuerst, E.P. (1995), Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationship, *Weed Tech*, 9:218-227.
- Papa, J.C.; Tuesca, D.H. y Nisensohn, L.A. (2008) El sorgo de alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) resistente a glifosato en Argentina. Seminario internacional “viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables”.
- Puricelli, E.; Faccini, D. y Nisensohn, L. (2008) Malezas tolerantes a Glifosato en Argentina. Seminario internacional “viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables”.
- Vigna, M.; Lopez, R.; Gigon, R.; Ulzurrun, P. y Leaden, M. (2008). Raigras anual (*Lolium multiflorum*) resistente a glifosato en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires Seminario internacional “viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables”.
- Vignolio, O.R. y Fernández, O.N. (2006). Biología de *Lotus glaber* Mill. (Fabaceae) en la Pampa Deprimida (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Revista Argentina de Producción Animal*, 26:113-130.
- Villalba, A. (2009). Resistencia a herbicidas. Glifosato. *Ciencia, docencia y tecnología*, 39: 169-186.