

LONGEVIDAD DE SEMILLA DE BIOTIPOS DE *Echinochloa crus-galli* RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE AL QUINCLORAC

Ana Laura Pereira¹; Nestor Saldain²; Claudia Marchesi³; Mabel Oxley⁴; Ariel Pimenta⁵

Palabras clave: Capin, banco de semillas, dormancia

Introducción

En Uruguay, 40% del área sembrada cada año se hace sobre rastrojos de arroz y el resto del área en rotación con pasturas o en retornos de dos o más años. Los herbicidas han sido una herramienta efectiva en el manejo integrado de malezas en estos sistemas. El uso continuo de herbicidas determina presión de selección en las poblaciones hacia individuos que toleran la acción de los mismos. La resistencia a herbicidas es resultado de la selección de características que permiten a las especies malezas sobrevivir a prácticas de manejo específicas que deberían causar mortalidad (Powles, 1994).

El quinclorac es un herbicida altamente selectivo que ha tenido un uso importante en la mayoría de las regiones donde se realiza el cultivo de arroz. En diversas regiones productoras de arroz se ha reportado resistencia por parte de malezas a este herbicida. En la zona este del Uruguay, Saldain y Sosa (2015) reportaron resistencia de un número muy reducido de biotipos de capín al quinclorac, mostrando un nuevo aspecto a tener en cuenta en el manejo integrado de las malezas para el cultivo de arroz en el Uruguay. Merotto (2013), ya había reportado en Brasil resistencia del capín al quinclorac entre otros herbicidas,

Gressel (2009) menciona que al adquirir resistencia a herbicidas, las malezas pierden o disminuyen alguna de sus capacidades de sobrevivencia. Como la longevidad de las semillas es una característica de gran importancia en la capacidad de sobrevivencia de las especies maleza, esta podría ser afectada por la adquisición de la resistencia a herbicidas.

Bekker et al., (1998) señalaron que tanto el suelo como el clima pueden influir en la longevidad de las semillas, entretanto, esta influencia no es determinante, pues la persistencia es sobre todo una característica de la semilla, que puede ser o no modificada por las condiciones ambientales (Fenner y Thompson, 2005). Factores del ambiente, particularmente temperatura y humedad, promueven gran efecto en la viabilidad de la semilla. Bajas temperaturas y humedad favorecen la viabilidad de la semilla y según Roberts (1972), disminuyendo la presión de oxígeno también se aumenta la longevidad. Otro elemento que afecta la longevidad en el suelo es la profundidad de enterramiento en el suelo. En general, semillas que se encuentran enterradas a mayores profundidades presentan mayor longevidad (Miller y Nalewaja, 1990).

Conocer la dinámica de la viabilidad y dormancia de las semillas de estas especies se torna relevante en el manejo del cultivo de arroz.

El objetivo de este trabajo es el de conocer si existen diferencias en la longevidad de semillas de biotipos resistente y susceptible al herbicida quinclorac en la superficie del suelo y enterradas a 15 cm de profundidad.

Materiales y métodos

El experimento está siendo realizado en la Estación Experimental de Paso de La Laguna del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) en el departamento de Treinta y Tres, Uruguay. Se determinará la longevidad de semillas de biotipos de *Echinochloa crus-galli* susceptibles y que presentan resistencia al herbicida quinclorac sobre la superficie del suelo y enterradas a 15 cm en un período de cuatro años con extracciones realizadas cada tres meses correspondientes a cada estación del año.

Las semillas utilizadas en el experimento son oriundas de dos multiplicaciones, luego de una prueba de dosis respuesta en planta con el herbicida quinclorac provenientes de materiales colectados en áreas de arroz. Se seleccionaron biotipos susceptibles al herbicida y otros con distintos factores de resistencia. Los biotipos seleccionados para este ensayo fueron dos: Zapata1, con un factor de resistencia de 414 ± 162 y A33P2 susceptible al herbicida, colectados en la región este del Uruguay. De las semillas tolerantes colectadas a campo, 1000 plántulas fueron transplantadas y con dos a tres hojas se le asperjaron 375 g ha⁻¹ de quinclorac. A las tres semanas de la aplicación, se pasaron a una maceta de mayor tamaño cinco plántulas que sobrevivieron al tratamiento. Se realizaron dos multiplicaciones en forma aislada para evitar cruzamientos y así obtener la semilla que se usó en el experimento

Para obtener semilla de buena calidad, a partir del momento que comenzaron a madurar, las semillas se cosecharon diariamente en forma manual. Las inflorescencias eran sacudidas levemente dejando caer en un sobre las semillas maduras que se desprendían de la planta. Finalizado el período de la cosecha, se separaron las semillas vanas y de bajo peso utilizando soplador. Se caracterizó la semilla de cada biotipo en cuanto al peso de mil semillas, su germinación a través del test de germinación y su viabilidad a través del test de tetrazolio. El peso de mil semillas fue de 2,99 g para el biotipo Zapata 1 y 2,76 g para el biotipo A33P2. Ambos biotipos presentaron al momento de la instalación del ensayo 0% de semillas germinadas y una viabilidad de 96,5% para Zapata 1 (resistente) y 96,8% para A33P2 (susceptible).

El experimento fue instalado el 28 de abril de 2013 en la Estación Experimental de Paso de La Laguna sobre un suelo arrozable. El diseño experimental es en bloques completos al azar con arreglo de parcelas sub sub divididas, constituyendo las parcelas grandes el año de desentierro (2013 a 2016), la subparcela la profundidad (0 y 15 cm) y la sub-subparcela el biotipo (susceptible y resistente a quinclorac). Las variables fueron analizadas a través del PROC GLM (SAS, 2003) siendo realizado el análisis de varianza y la comparación de medias utilizando el test de Tukey (P<0,05).

En cada repetición fueron utilizadas 100 semillas colocadas en tubos de PVC conteniendo tierra. Se llenaron los tubos con tierra hasta la mitad, se depositaron las semillas y luego se completó la otra mitad con tierra. Para enterrar los tubos a 15 cm se retiraron panes de tierra colocando los tubos a la profundidad correspondiente. Luego el pan de tierra fue colocado íntegramente ocasionando el mínimo disturbio. Los tubos correspondientes a la semilla en superficie fueron enterrados hasta la mitad y luego se distribuyó la semilla. Se colocó en la extremidad de cada tubo una malla para impedir que roedores o pájaros la consumieran

Se enterraron 96 cilindros por tratamiento (4 años x 4 extracciones por año x 6 bloques) extrayendo un cilindro por bloque por tratamiento en cada estación desde la fecha de instalación hasta el cuarto año. Los tubos de PVC desenterrados fueron llevados al laboratorio donde se recuperaron las semillas. La tierra fue retirada del tubo contándose plántulas vivas y muertas. Posteriormente, en una primera etapa se procede a desmenuzar la tierra buscando las semillas visualmente. La segunda etapa en la recuperación de semillas consistió en el pasaje de la tierra por zarandas de malla y se lavaba con colador para recuperar las semillas remanescentes. Las mismas son secadas a temperatura ambiente sobre papel y se adicionan a las recuperadas en la primera etapa. Las semillas que no se presentaron visualmente deterioradas fueron colocadas a germinar sobre papel con temperaturas alternadas de 20-30°C. Los conteos de germinación se realizaron a los 4 y 10 días según las reglas ISTA, obteniéndose el resultado de semillas viables quiescentes (no dormantes). La porción de semillas dormantes se obtuvo analizando la viabilidad de las semillas no germinadas en el test de germinación a través del test de tetrazolio (0,5%).

¹Ing. Agr. PhD, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Ruta 8, km 281- Treinta y Tres- Uruguay, apereira@tyt.inia.org.uy

²Ing. Agr. MSc. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

³Ing. Agr. PhD. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

⁴Laboratorista, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

⁵Técnico Agropecuario, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Resultados y discusión

En este trabajo se resumen los dos primeros años de extracción de las semillas. La viabilidad de las semillas para los dos primeros años es presentada en la Figura 1, donde se observan los cambios ocurridos en las sucesivas extracciones para los dos biotipos y profundidades en estudio. En otoño de 2013, cuando es instalado el ensayo, las semillas presentaban un 97% de viabilidad (corregido a 100 %). La viabilidad de las semillas se reduce en las sucesivas extracciones, siendo significativamente mayor para las semillas depositadas en superficie ($P < 0,05$). Estos resultados ya han sido verificados por muchos autores para las más diversas especies donde las semillas enterradas a mayor profundidad presentan mayor longevidad (Miller y Nalewaja, 1990; Peske et al., 1997; Noldin, 2006; Pereira, 2011).

Se verificaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los biotipos donde el resistente presenta mayor viabilidad que el susceptible contrariamente a la hipótesis inicial. Al término de dos años en promedio, las semillas enterradas a 15 cm mantienen un elevado porcentaje de semillas viables, 78 % para el biotipo resistente y 71% para el susceptible. En superficie la viabilidad es menor para ambos biotipos (50 % para el biotipo resistente y 28% para el susceptible). Los resultados de este trabajo son contrarios a los obtenidos por Egley y Chandler (1978) con esta especie donde obtuvieron viabilidad de 1% en semillas enterradas por 2,5 años en el suelo. Otros autores (Dawson y Bruns, 1962) encontraron que semillas de *Echinochloa crus-galli* enterradas en el suelo pueden ser viables hasta 13 años (3% de viabilidad) y que no se encuentran semillas viables después de 15 años de entierro.

No se encontró para la viabilidad, interacción entre la profundidad y el biotipo, ni entre biotipos y los diferentes momentos pero sí interacción entre la profundidad en los diferentes momentos de extracción.

La porción de semillas del total depositadas va disminuyendo con el correr del tiempo, sobre todo en superficie donde se recuperan aproximadamente la mitad de las semillas encontradas a 15 cm. Estas pérdidas son dadas entre otros factores por la germinación de las semillas en la superficie, acción de la microfauna y mayor exposición a factores climáticos.

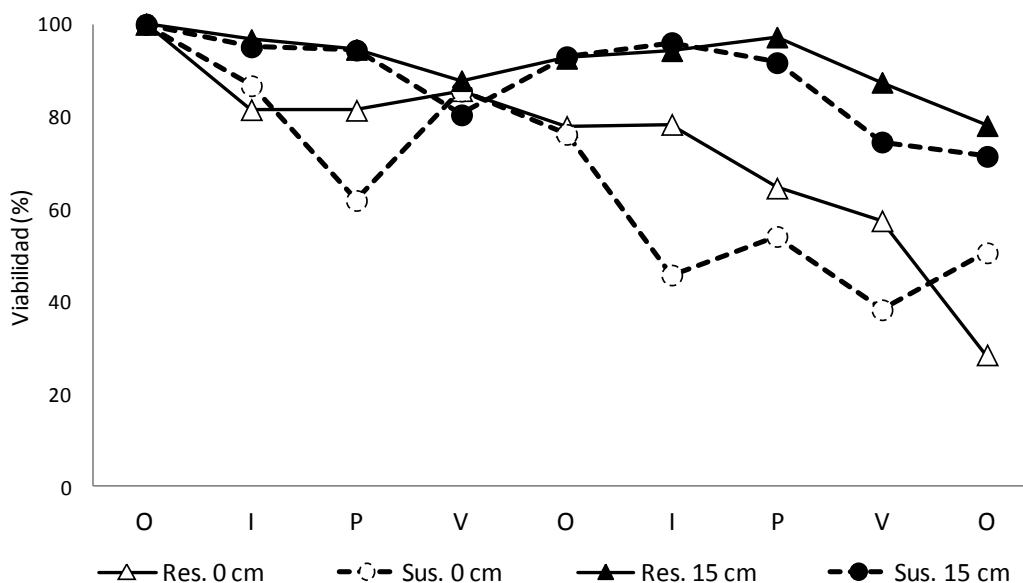


Figura 1. Evolución de la viabilidad (%) de semillas de biotipos resistente (Res) y Susceptibles (Sus.) de *Echinochloa Crus-galli* enterrados a 15 cm y en superficie (0 cm) en extracciones realizadas estacionalmente (O=otoño; I=invierno; P=primavera; V=verano) comenzando en otoño 2013. Momento de extracción (O;I;P;V), profundidad y biotipos fueron significativos $P < 0,05\%$, no siendo significativa la interacción entre las mismas.

En las semillas viables obtenidas en cada estación del año se verifican cambios en las proporciones de dormantes y quiescentes. En la figura 2 se muestra la evolución por estación de la dormancia y quiescencia de semillas de los dos biotipos y en las dos profundidades. A fines de abril del 2013, las semillas a menos de dos meses de su cosecha, presentaban un 97 % de dormancia y 0% de quiescencia. Este valor corresponde a la dormancia primaria, inducida desde la formación de la semilla en la planta. La dormancia de las semillas inducida durante su desarrollo es afectada por luz, temperatura, humedad y por las condiciones nutricionales de la planta (Takahoshi, 1995). Varias causas pueden interactuar para determinar el grado de dormancia de las semillas, además de la predisposición genética (Bewley & Black, 1994). Ha sido comprobado que altas temperaturas durante el proceso de maduración reducen la dormancia de las semillas de algunas especies.

Tres meses después, en el invierno, ocurre la quiebra de dormancia y pasan la mayor parte de las semillas a una condición de quiescencia. Esta diferencia es mayor en las semillas enterradas a 15 cm presentando en promedio casi un 90 % de quiescencia, estando la semilla en superficie más afectada por las variaciones en las condiciones de suelo y clima. Tres meses después, en primavera, comienza a revertirse esta situación aumentando lentamente el número de semillas dormantes y disminuyendo las quiescentes hasta llegar a un máximo de dormancia en el verano. Este comportamiento cíclico se reitera en el segundo año para las dos profundidades y biotipos.

Entre los biotipos no se encontraron diferencias en las proporciones de semillas dormantes y quiescentes, observándose un comportamiento similar en ambas profundidades. Entre las profundidades sí hay diferencias tanto en el porcentaje de semillas dormantes como el de quiescentes. Hay diferencias en el promedio de los distintos momentos de extracción en el porcentaje de semillas dormantes y viables así como en la interacción del momento con la profundidad. Para las semillas dormantes se encontraron diferencias en la interacción entre momento de extracción y biotipo.

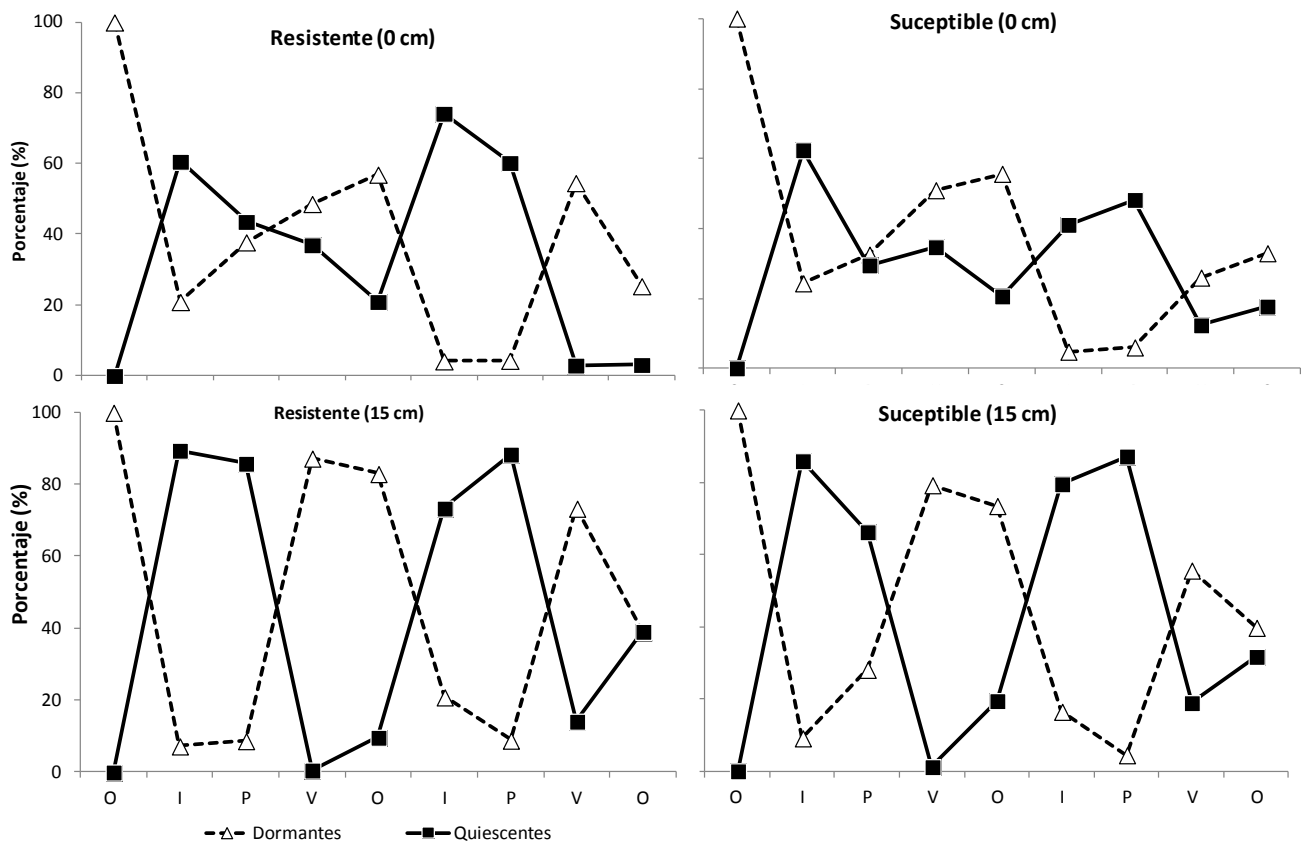


Figura 2. . Evolución del porcentaje de semillas dormantes y quiescentes de Biotipos resistente (Res) y Susceptible (Sus.) de *Echinochloa Crus-galli* enterradas a 15 cm y en superficie (0 cm) en extracciones realizadas estacionalmente (O=otoño; I=invierno; P=primavera; V=verano) comenzando en otoño 2013. Momento de extracción y profundidad fueron significativos al 5% para dormantes y quiescentes y la interacción orden*biotipo para las semillas dormantes.

Conclusiones

Las semillas enterradas a mayor profundidad presentan viabilidad superior a las enterradas en superficie para biotipos resistentes y susceptibles al quinclorac. La resistencia al herbicida quinclorac no redujo la viabilidad de la semilla ni modificó los ciclos estacionales de dormancia de *Echinochloa crus-galli* en superficie o profundidad. Profundizar el conocimiento de la evolución de la viabilidad y los ciclos de dormancia de *Echinochloa crus-galli* pueden permitir adecuar medidas de manejo que permitan controlar las poblaciones de maleza en las condiciones de producción de arroz del este del Uruguay.

Referencias bibliográficas

- BEKKER, R.M. et al. Soil nutrient input effects on seed longevity: a burial experiment with fen-meadow species. **Functional Ecology**, v.12, n.4, p.673-682, 1998.
- BEWLEY, J. D., BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994.
- DAWSON, J. H.; BRUNS, V. F.. Emergence of barnyardgrass, x green foxtail, and yellow foxtail seedlings from various soil depths. **Weeds**. 10: 136-139, 1962.
- EGLEY, G.H.; J.M. CHANDLER.. Germination and viability of weed seeds after 2.5 years in a 50-year buried seed study. **Weed Science**. 26 (3): 230-239, 1978
- FENNER, M., THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.
- GRESSEL, J. Evolving understanding of the evolution of herbicide resistance. **Pest Management Science**. 65: 1164-1173. 2009.
- MILLER, D.S.; NALEWAJA, J.D. Influence of burial depth on wild oats (*Avena fatua*) seed longevity. **Weed Technology**, v.4, p. 514-517, 1990.
- NOLDIN, J.A.; et al. Seed longevity of red rice ecotypes buried in soil. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p. 611-620, 2006.
- PEREIRA, A.L. **Longevidade de sementes de arroz e de biótipos vermelho e preto no solo**. 2011. 54 f. Tesis (Doutorado), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- Powles (1994) **Herbicide Resistance in Plants: Biology & Biochemistry**. Editors Stephen B. Powles & Joseph A.M. Holtum CRC Press. 1994. 368 p.
- ROBERTS, H. A. Dormancy: a factor affecting seed survival in the soil. In: ROBERTS, E. H. (ed) **Viability of Seed**. Chapman and Hall, London, 1972. p. 321-359.
- SALDAIN, N; SOSA, B. Resistencia metabólica en capín (*Echinochloa crus-galli*) resistente al quinclorac o al imazapir + imazapic en la zona este del Uruguay. XII Conferencia Internacional de Arroz para América Latina y el Caribe. Horizontes para a competitividade. Porto Alegre, RS, Brasil. 23-26 fevereiro de 2015
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT User's Guide. Release 6.11 Edition Cary: SAS Institute Inc. Cary, NCm USA, 2003.
- PESKE, S. T. et al. Sobrevivência de sementes de arroz vermelho depositadas no solo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.3, n.1, p.17-22, 1997.
- TAKAHOSHI, N. Physiology of dormancy. In: MATSUO, T., KUMAZAWA, K., ISHII, R. **Science of the rice plant**. Tokyo: Food and Agricultural Policy Research Center, 1995. v.2, p.45-65.

