

Evolución de la resistencia a graminicidas en biotipos de raigras (*Lolium multiflorum* L.) bajo selección recurrente con dosis subletales de herbicidas

Muñiz Padilla, Esteban T.¹; Ayala Fabián A.¹; Ahumada, Miguel A.¹; Gieco, Lucrecia C.¹; Lassaga, Sergio L.¹; Tuesca, Daniel H.²

Autoras/es: 1. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. Ruta provincial N°11, km 10,5. Oro Verde, Entre Ríos, Argentina. 2. Universidad Nacional de Rosario
Contacto: dtuesca@gmail.com y/o esteban.muniz@uner.edu.ar

ARK: <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/fsmtlvfqu>

RESUMEN

La Weed Science Society of America (WSSA, 1998) define la resistencia a herbicidas como la habilidad hereditaria que adquieren algunos biotipos dentro de una población para sobrevivir y reproducirse con determinadas dosis de un herbicida a la cuales la población original era susceptible. Los mecanismos que confieren resistencia pueden ser agrupados en dos categorías: a) resistencia asociada al sitio de acción (TSR) y b) resistencia no asociada al sitio de acción (NTSR), dentro de este último grupo, la capacidad de metabolizar los herbicidas ha sido mencionada como una característica capaz de otorgar resistencia a los herbicidas y se ha demostrado que posee variabilidad genética en las poblaciones. El raigrás (*Lolium multiflorum* L) es una gramínea de amplia difusión en la región pampeana, donde se la encuentra como maleza asociada a barbechos y cultivos invernales. Desde el punto de vista reproductivo es una especie alógama generalmente autoincompatible y de gran producción de semillas. En plantas alógamas seleccionadas recurrentemente con herbicidas, el cruzamiento entre individuos sobrevivientes puede provocar la acumulación de genes de resistencia en las progenies, disminuyendo su sensibilidad al herbicida. El quizalofop-p-etil y el Pinoxaden son inhibidores de la enzima ACCasa (HRAC 1). El objetivo de este trabajo fue evaluar la evolución de la resistencia en dos biotipos de raigrás sometidos a sucesivos ciclos de selección recurrente con dosis subletales de los herbicidas Quizalofop p etil y Pinoxaden, sometida a 2 ciclos de selección con recurrente con subdosis de dichos herbicidas. Se trabajó con dos poblaciones locales El Empalme (EE) y Hernadarias (HE) se realizaron experimentos de dosis respuesta de las diferentes combinaciones de población/herbicida (EES0, EES1, EES2, HES0, HES1 y HES2 con quizalofop p etil y Pinoxaden). Se observó respuesta a la selección recurrente en el rango de subdosis para el herbicida quizalofop p etil en los biotipos EE y HE. Los valores GR50 se incrementaron desde 10,98 (EE0) a 23,04 (EES2) en la población EE, en tanto que en la población HE los valores de GR50 aumentaron de 26,5 (HE0) a 32,57 (HES2). En ambas poblaciones los controles en la dosis de uso fueron satisfactorios en todas las generaciones. No se observó respuesta a la selección realizada con el herbicida Pinoxaden en ninguna de las dos poblaciones evaluadas.

INTRODUCCION

Una especie vegetal es considerada maleza cuando interfiere con la utilización de los recursos del suelo o aéreos, y/o afecta a la economía, el bienestar a la salud del ser humano. No existe un carácter común biológico o ecológico que sea común a todas las malezas, ya que dependen de la fisiología, morfología y el hábito de crecimiento de la especie. Aunque con un rango de distribución muy amplio dentro del reino vegetal, todas ellas exhiben la característica común de interferir con las plantas cultivadas, al adaptarse a vivir en asociación con el hombre, sus animales y las plantas que cultiva (Fernandez et al., 2014). Las malezas presentan distintos atributos que explican la adaptación a prácticas agrícolas y su trascendencia agroecológica, entre estos: similitud morfológica y fisiológica con los cultivos, abundante y amplia producción de semillas, las cuales a menudo presentan diferentes mecanismos de dormición, adaptación a la dispersión, capacidad de regeneración a partir de diferentes propágulos, tolerancia y adaptación a ambientes variables (Yannicari, 2014). Las especies de malezas que son capaces de sobrevivir a las presiones selectivas estarán ecológicamente bien adaptadas e invariablemente se volverán más frecuentes y difíciles de manejar. La variación tanto inter-específica como intra-específica de la vegetación espontánea hace que las malezas de un mismo ambiente presenten distintas características, ya que los individuos que conforman las poblaciones presentan una gran variación fenotípica (Yannicari, 2014). En los comienzos de la agricultura el control de estas especies problemáticas fue muy dificultoso y moderadamente efectivo, hasta que fueron comercializados los primeros herbicidas a finales de la década de 1940 (Oerke, 2006). El raigrás anual (*Lolium multiflorum* L.) fue descrito por primera vez por Lamark en 1778. Es una especie cultivada y también se la encuentra como maleza asociada a sistemas agrícolas (Marzocca, 1976). Tiene una amplia difusión en la Argentina encontrándolo en la Pampa Húmeda, Patagonia y Mesopotamia. Es considerado una maleza muy importante en los sistemas agrícolas pampeanos que se destinan a la producción de trigo, cebada y avena, donde el control químico es la principal estrategia empleada (Istilart y Yannicari, 2011). Es una especie del tipo "OIP" (crecimiento otoño-invierno-primaveral). Vegeta muy bien desde el otoño y durante el invierno. Su floración ocurre normalmente desde mediados de octubre a principios de noviembre, en la región pampeana. Por lo cual y dada su profusa producción de semillas, es capaz de mantenerse en el tapiz vegetal del suelo, por largo tiempo, a causa de una resiembra natural. Es una de las gramíneas forrajeras, invernales y primaverales más importantes de los pastizales naturales de la provincia de Entre Ríos (Burkart, 1969). Se lo encuentra en todos los departamentos de la provincia, en campos sin cultivar, asociado a cultivos, praderas, en banquinas de rutas y caminos vecinales (Beltramino et al., 2005). En Argentina las especies de raigrás más importantes agrónomicamente son *L. perenne* y *L. multiflorum*, tanto por sus características forrajeras como por ser componentes de céspedes y campos naturales. El *Lolium multiflorum* es una especie diploide ($2n=2x=14$) alógama obligada (Brunharo y Streisfeld, 2021). Las especies alógamas del género *Lolium*, presentan alta variabilidad genética lo que les permite una rápida evolución de las poblaciones en condiciones de fuerte presión de selección (Matzrafi et al., 2021) como la ejercida por los herbicidas (Suzukawa et al., 2021). Hasta el momento la resistencia en el género *Lolium* ha evolucionado a doce modos diferentes de acción en *L. rigidum*, *L. multiflorum*, *L. perenne* y *L. persicum*, en un total de 23 países (Heap, 2023). La *Weed Science Society of America* (WSSA, 1998) define la resistencia a herbicidas como la habilidad hereditaria que adquieren algunos biotipos dentro de una población para sobrevivir y reproducirse con determinadas dosis de un herbicida a la cuales la población original era susceptible. La resistencia a herbicidas puede estar conferida por uno o varios mecanismos, y

puede brindar insensibilidad a uno o varios herbicidas. En Argentina el primer caso de resistencia reportado fue en 1996 con la aparición de biotipos de *Amaranthus quitensis* resistentes al imazetapir (Heap, 2023). En la actualidad, a nivel global, unas 247 especies presentan resistencia a herbicidas con más de 523 biotipos. Actualmente en Argentina existen reportes de resistencia sobre 21 especies distintas, 13 de ellas *Poaceas* y sobre 5 sitios de acción (Heap, 2023). Los mecanismos que confieren resistencia pueden ser agrupados en dos categorías: a) resistencia de sitio específico (TSR *target site resistance*) y b) resistencia de sitio no específico (NTSR *non target site resistance*) (Mithila y Godar, 2013, Gaines et al., 2021, Susukawa et al., 2021). En la TSR ocurren mutaciones que provocan cambios en el comportamiento de la proteína target frente al herbicida, dichas alteraciones pueden causar, un incremento en la expresión o en la actividad intrínseca de la proteína target, que compensa la acción inhibitoria del herbicida o una disminución de la afinidad entre la molécula herbicida y su sitio de acción (Délye, 2013, Gaines et al., 2021). La TSR es principalmente de herencia monogénica ya que es controlada por genes de efecto mayor (Yuan, 2007, Gaines et al., 2021). Un caso especial que puede considerarse TSR es la amplificación génica, en donde la resistencia está dada por un incremento en el número de copias del gen que codifica para la proteína/enzima target, lo que conduce a un incremento en la actividad de la misma que compensa el efecto del herbicida (Gaines et al., 2010; Powles, 2010; Salas et al., 2011 y 2015, Gaines et al., 2021). La NTSR es producida por diferentes mecanismos, los que pueden ser altamente complejos y variables tanto entre diferentes especies como entre diferentes genotipos de la misma especie. Los mecanismos de resistencia no específicos incluyen cambios en diferentes factores, entre los que se puede mencionar: modificación en la absorción del herbicida en los biotipos resistentes debido a características morfológicas como área foliar reducida, superproducción de ceras, mayor espesor de la cutícula, mayor presencia de pelos, entre otros; traslocación disminuida del herbicida, tanto por modificaciones a nivel del apoplasto o de la membrana plasmática (Qasem, 2013; Sammons, 2014, Susukawa et al., 2021, Jugulam y Shyam 2019, Torra et al. , 2021); compartimentalización, el herbicida puede ser secuestrado en la vacuola, limitando de esta forma su acceso al sitio de acción (Ge et al., 2010, Susukawa et al., 2021, Jugulam y Shyam 2019, Torra et al. , 2021); detoxificación del herbicida, que es metabolizado lo suficientemente rápido como para que la planta no muera (Yuan et al., 2007, Susukawa et al., 2021, Jugulam y Shyam 2019, Torra et al. , 2021) y/o el aumento en la función de enzimas protectoras de sustancias con oxígeno altamente reactivo, etc. (Délye, 2013; Powles 2010; Yuan et al., 2007). La capacidad de metabolizar los herbicidas es una característica que posee variabilidad genética en las poblaciones. La resistencia otorgada por metabolismo puede ser debida al incremento en la actividad de enzimas de los grupos Citocromo P450, glucosil transferasas y glutatión S transferasas, además de otros sistemas enzimáticos. Una característica fundamental de este tipo de resistencia es que puede producir resistencia cruzada a varios grupos químicos, incluso a principios activos que nunca se hayan utilizado en la población (Yu y Powles, 2014, Gaines et al., 2021). Este tipo de resistencia es generalmente controlada por múltiples loci (Mithila y Godar, 2013 Gaines et al., 2021, Susukawa et al., 2021), avanza en las poblaciones por acumulación de genes con efecto pequeño, en un proceso equivalente a la selección recurrente, luego de ciclos de selección con el herbicida y cruzamiento entre individuos con algún grado de resistencia (Délye, 2013). La resistencia a herbicidas puede explicarse como un proceso de adaptación en las poblaciones de malezas que evolucionan al estar expuestas a altas presiones selectivas como consecuencia de la aplicación continua de los productos (Délye et al. ,2013, Powles y Yu, 2010, Jugulam y Shyam 2019, Gaines et al., 2021,). La evolución de la resistencia en cualquier población solo es posible si existe variabilidad genética en la misma para esa característica siendo la fuente primaria de

variabilidad probablemente la mutación espontánea (Jasieniuk et al., 1996 y 1994). La resistencia poligénica evoluciona como resultado de la acumulación sucesiva de muchos genes de efecto menor (Délye et al., 2013). Dicho apilamiento de genes puede tomar varias generaciones de recombinación sexual, especialmente cuando la frecuencia inicial de los alelos es baja. Cada gen en este caso puede contribuir con un mecanismo de resistencia diferente (Mithila y Godar, 2013). Las malezas presentan una considerable variación genética, incluyendo variabilidad heredable en la susceptibilidad a herbicidas. Cuando especies de polinización cruzada son seleccionadas recurrentemente con dosis bajas de herbicidas, genes con efecto menor pueden ser seleccionados y acumulados en los sobrevivientes hasta que la resistencia se torna evidente (Ashworth et al., 2016). Este proceso ha sido demostrado por diferentes autores en varias especies de malezas y a diferentes principios activos (Neve and Powles, 2005; Busi et al., 2012; Manalil et al., 2011; Ashworth et al., 2016; Tehranchian et al., 2017; Norsworthy et al., 2021; Matzrafi et al., 2020). Además de la reducción de dosis que podría realizarse en forma errónea para disminuir costos, existen otros escenarios que conducen a la utilización de subdosis en condiciones de campo. Algunos ejemplos de estos escenarios pueden ser las aplicaciones realizadas con condiciones ambientales inadecuadas, o con un tamaño de maleza excedido, o las realizadas con equipos aplicadores con fallas de funcionamiento, también las caídas de presión producidas en los equipos en las zonas de cabeceras de lote, cárcavas, bordes de terrazas y canales, la utilización de aguas de baja calidad que inactiven parcialmente los activos, etc. Durante los últimos años se ha observado en lotes comerciales que los tratamientos con glifosato para el control de raigrás comenzaron a ser deficientes. La pérdida de efectividad de control de glifosato ha promovido necesariamente cambios en los tratamientos tradicionales con la modificación de dosis, coadyuvantes y/o la incorporación de nuevos principios activos solos en mezcla. (Lopez et al., 2008). Entre estas modificaciones se ha visto incrementado el uso de gramínicidas inhibidores de la ACCasa. Los ariloxifenoxipropionatos (FOPs) son herbicidas sistémicos que controlan gramíneas anuales y perennes (Puricelli, 2007). El sitio de acción de estos herbicidas es la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACCasa) que cataliza el primer paso para la biosíntesis de ácidos grasos esenciales para la producción de lípidos celulares, la formación de malonil CoA a partir de acetil CoA y dióxido de carbono en el inicio del proceso de síntesis (Oliveira, 2011; Takano et al., 2021). La muerte de las plantas es principalmente causada por el bloqueo en la síntesis de ácidos grasos mediante la inhibición de la enzima ACCasa, pero existen también otros efectos secundarios como las alteraciones a los potenciales de membrana que también contribuyen en este sentido (Kukorelli et al., 2013). Para este grupo de herbicidas se han encontrado casos de resistencia tanto de sitio específico (TSR) como de no sitio específico (NTSR). En el caso de la TSR, varias sustituciones aminoacídicas han sido identificadas (Kukorelli et al., 2013; Cruz-Hipolito et al., 2015; Jalaludin et al., 2015; Kaundun et al., 2013; Raghav et al., 2016, Takano et al., 2021). La resistencia mediante NTSR a inhibidores de la ACCasa también ha sido reportada por diferentes autores. Dentro de los mecanismos de NTSR se ha encontrado, disminución en el ingreso del herbicida (De Prado et al., 2005, Takano et al., 2021), metabolización mediada por citocromo P450 (De Prado et al., 2005; Yu et al., 2009), protección contra daños colaterales del herbicida causado por moléculas con oxígeno reactivo (Délye, 2013), entre otros. La resistencia a inhibidores de la ACCasa es un fenómeno de amplia difusión, se han registrado casos de resistencia para este grupo en 51 especies y en 268 citas a nivel mundial, siendo el cuarto grupo en cantidad de especies con reportes de resistencia. En Argentina se ha reportado resistencia a éstos herbicidas en 3 especies, siendo el raigrás una de ellas con reportes de resistencia a diclofop metil desde 2009 (Heap, 2023).

OBJETIVOS

- Evaluar la evolución de la resistencia en dos biotipos de raigrás sometidos a sucesivos ciclos de selección recurrente con dosis subletales de los herbicidas Quizalofop p etil y Pinoxaden. Cumplido
- Evaluar la aparición de resistencia cruzada a herbicidas de otros MOA diferentes. No cumplido

METODOLOGIA

Se trabajó con dos poblaciones de *Lolium multiflorum* L. locales. Una de ellas es resistente a glifosato, corresponde a un predio agrícola y tiene historia de uso de gramínicidas inhibidores de la ACCasa, población Hernadarias (HE). La otra población corresponde a un predio ganadero sin historia de uso de herbicidas, población El Empalme (EE). Para los ensayos de selección/dosis respuesta se llevó a cabo la siembra en bandejas rellenas con un sustrato de suelo/perlita 70/30 con semillas de cada población, se dejaron en invernadero hasta su emergencia, el riego de las plantas se realizó periódicamente en forma manual. A los 20 días de la emergencia cuando las plántulas tenían una hoja aproximadamente se efectuó el trasplante a macetas de un litro, conteniendo el mismo sustrato utilizado en las bandejas. Se colocaron cuatro plántulas por cada maceta. Se sembraron también macetas de 10 litros con las poblaciones originales las que se destinaron a su regeneración. Los herbicidas a utilizados en el proceso de selección fueron: quizalofop p etil (Sheriff Max® CORTEVA) como representante de los gramínicidas no selectivos en cereales de invierno de uso muy difundido para el control del raigrás RG en barbechos otoño invernales y pinoxaden (Axial Plus® SYNGENTA) como representante de los gramínicidas selectivos en trigo. Las aplicaciones fueron efectuadas con un dispositivo para la aplicación experimental de herbicidas accionado mecánicamente y con presión constante de CO₂, equipado con boquillas abanico plano ULD120-015 que, a presión constante de 3 kg cm⁻², erogaron un caudal de 110 l ha⁻¹ de caldo. Las dosis utilizadas en el experimento de selección fueron 0,0625X, 0,125X, 0,25X, 0,5X, X y 2X siendo X la dosis de marbete de uso del producto (quizalofop p etil X=86,4 g.i.a ha⁻¹ y pinoxaden X= 40 g.i.a ha⁻¹). Se trabajó con 12 a 15 repeticiones en la zona de subdosis (0,0625X, 0,125X, 0,25X, 0,5X) y 8 en las demás dosis. A los 40 días después de la aplicación (DDA) se procedió a la evaluación del experimento de selección/dosis respuesta, comenzando desde las dosis más altas, se evaluaron las plantas sobrevivientes y 40 de ellas aproximadamente fueron trasplantadas a macetas de 10 l con un sustrato de suelo/perlita (70/30) para asegurar que lleguen a su etapa reproductiva. Antes de antesis se procedió a aislar las plantas selectas de cada combinación de producto/población y de los testigos sin selección, para evitar la migración de genes de una población a otra y asegurar que la polinización se produzca solamente entre las plantas de cada grupo. Se generaron 6 sitios de aislamiento (HE /quizalofop p etil, EE/ quizalofop p etil, HE/pinoxaden, EE/pinoxaden, Testigo HE y Testigo EE). Cuando se alcanzó la madurez fisiológica de las semillas se procedió a la cosecha de la semilla S1 en forma individual por sitio de aislamiento. En el año 2 con la semilla S1 de cada combinación población/producto y de los testigos se repitió el proceso para obtener semilla S2. Finalmente se realizaron experimentos de dosis respuesta de las diferentes combinaciones de población/herbicida (EES0, EES1, EES2, HES0, HES1 y HES2 con

quizalofop p etil y pinoxaden en las dosis ya mencionadas). Para la estimación de la respuesta a la dosis de estas combinaciones, a los 40 DDA se cosechó el material verde remanente de cada maceta y se secó en estufa a 60°C por 72 hs hasta peso constante. Se calculó el porcentaje de materia seca de cada tratamiento de acuerdo a la siguiente expresión: $\%MS = (MS \text{ tratamiento} / MS \text{ testigo}) \times 100$. El valor de GR_{50} es el mejor estimador posible de la sensibilidad de una planta a un herbicida y es útil para realizar comparaciones entre diferentes experimentos de dosis respuesta (Puricelli y Faccini, 2009). La estimación del GR_{50} de cada población se realizó con los modelos log-logístico descrito por Seefeldt et al. (1995). Con los valores de GR_{50} obtenidos se calculó el índice de resistencia (R/S), como el cociente entre los GR_{50} de los biotipos sospechosos de ser resistentes (S1 Y S2) y el valor de GR_{50} del biotipo original (S0).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Comparación de las poblaciones originales (0) con las generadas luego de un ciclo de recombinación entre sobrevivientes (S1) y luego de dos ciclos (S2).

Comportamiento de las poblaciones frente a la aplicación de quizalofop p etil:

De los resultados obtenidos en los experimentos realizados (Figura 5 y 6) se generó información para realizar curvas de dosis respuesta. En el caso de la población El Empalme (EE) los valores de GR_{50} estimados por el modelo en EE0, EE S1 y EE S2 mostraron diferencias significativas entre ellos. El análisis estadístico permitió diferenciar las curvas de las poblaciones S1 y S2 en comparación a la curva obtenida a partir de la población EE 0 (original) (Tabla 4 y Gráfico 3), estas diferencias se detectaron principalmente en el rango de subdosis.

Tabla 4: Resumen curvas dosis respuesta de las poblaciones EE0, EES1 y EES2 para quizalofop p etil.

Poblacion	R ²	GR ₅₀	IR ₅₀	GR ₉₀	IR ₉₀
EE 0	0,928	10,98		17,99	
EE S1	0,754	18,36	1,67	57,53	3,20
EE S2	0,797	23,04	2,10	46,59	2,59

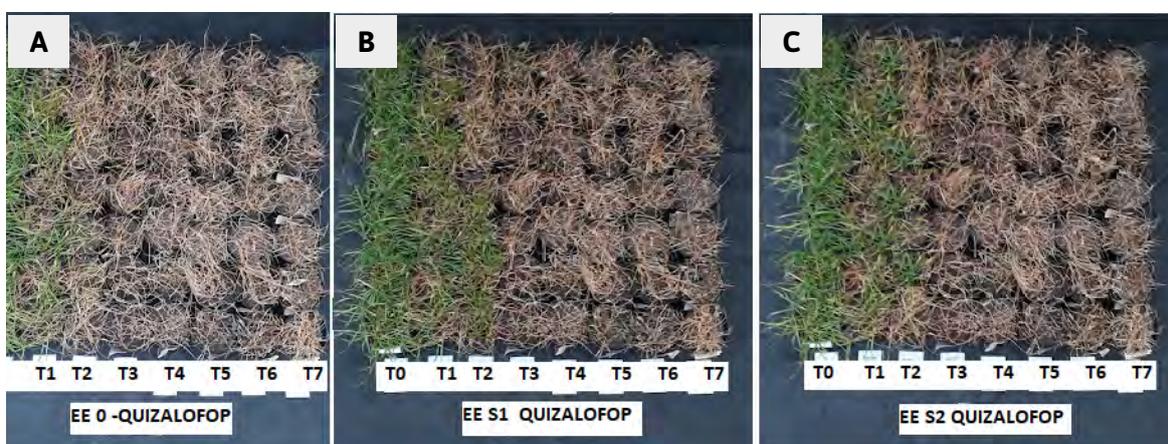


Figura N°5: Experimentos de dosis respuesta a quizalofop p etil en las poblaciones analizadas (A) EE0, (B) EES1 y (C) EES2

El índice de resistencia (IR_{50}) mostró un valor de 2,1 para la población EES2 (Tabla 4). Dentro de las consideraciones que permiten definir a una población como resistente es necesario que la misma muestre un comportamiento diferencial (baja sensibilidad) a las dosis de uso del herbicida. Esto no sucedió en nuestro experimento ya que con las dosis de uso habituales de 800 cc/ha (86,4 g.i.a/ha) la eficacia de control fue superior al 90% (Gráfico 3).

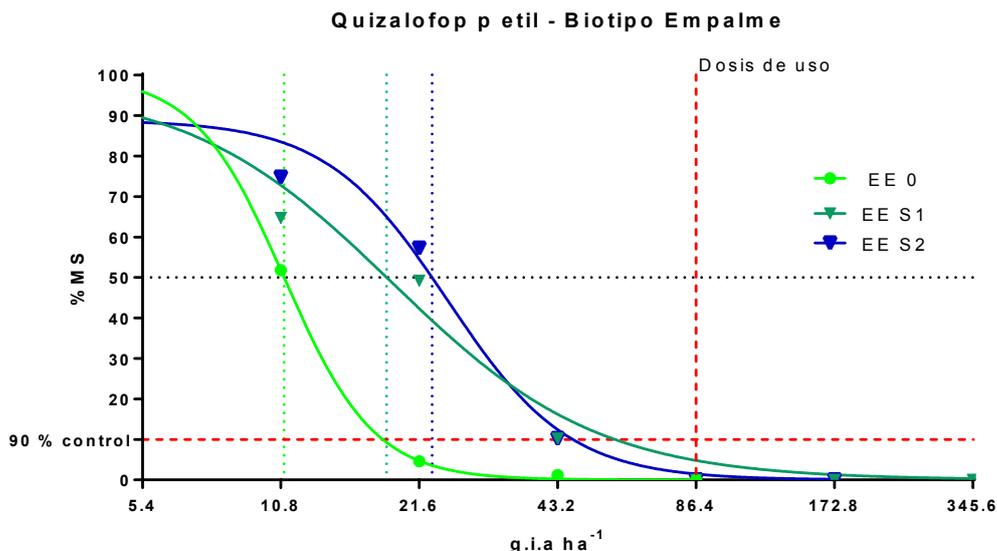


Gráfico 3: Curvas dosis respuesta de la biomasa en función de la dosis de quizalofop p etil en las poblaciones de El empalme (EE). La línea horizontal segmentada representa el 90% de reducción en la biomasa. La línea vertical segmentada marca la dosis de uso recomendada del producto. Las líneas de puntos verticales marcan los GR₅₀ estimados para cada población.

En el caso de la población Hernandarias (HE) los valores de GR₅₀ estimados por el modelo en HE0, HE S1 y HE S2 mostraron diferencias entre ellas. El análisis estadístico permitió diferenciar las curvas de la población HES2 en comparación a la curva obtenida a partir de la población HE 0 y S1 (Tabla 5 y Gráfico 4), estas diferencias se encontraron principalmente en el rango de subdosis.

Tabla 5: Resumen curvas dosis respuesta de las poblaciones HE0, HES1 y HES2 para quizalofop p etil.

Poblacion	R ²	GR ₅₀	IR ₅₀	GR ₉₀	IR ₉₀
HE 0	0,909	26,50		81,31	
HE S1	0,768	27,48	1,04	86,90	1,07
HE S2	0,841	32,57	1,23	87,63	1,08

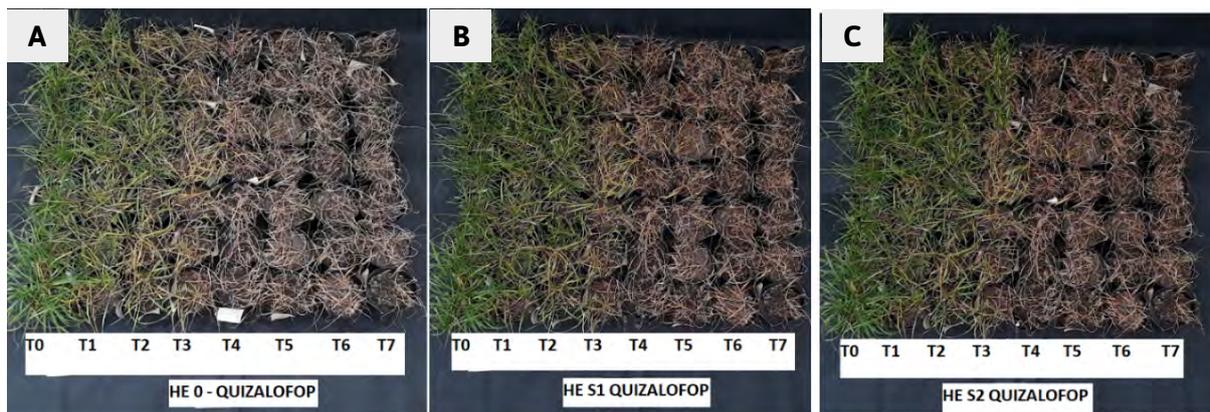


Figura N°6: Experimentos de dosis respuesta a quizalofop p etil en las poblaciones analizadas (A) HE0, (B) HES1 y C) HES22

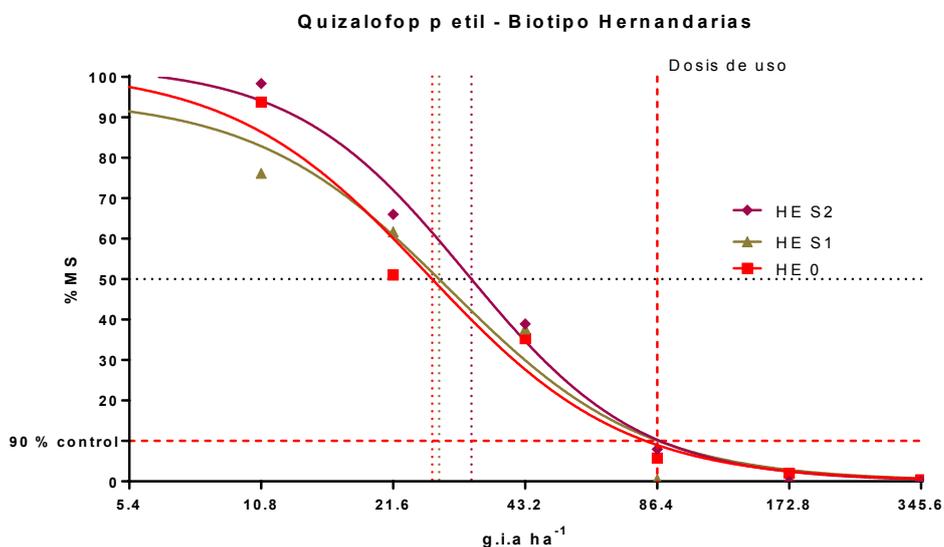


Gráfico 4: Curvas dosis respuesta de la biomasa en función de la dosis de quizalofop p etil en las poblaciones de Hernandarias (HE). La línea horizontal segmentada representa el 90% de reducción en la biomasa. La línea vertical segmentada marca la dosis de uso recomendada del producto. Las líneas de puntos verticales marcan los GR50 estimados para cada población.

La población El Empalme originalmente fue recolectada en un predio con escasa historia agrícola y que está caracterizada como susceptible a glifosato (Muñiz Padilla, 2018), no ha sufrido selección previa con gramínicidas como el quizalofop dada su simplicidad para su manejo con glifosato. Se puede hipotetizar que en esta población existía algún reservorio de genes vinculados a bajos niveles de resistencia y que producto de la selección por subdosis realizada se ha producido un cambio en el comportamiento que queda evidenciado por las diferencias entre los GR50 de las poblaciones EE0 y EES2 como se mencionó anteriormente. Si bien, esta población actualmente es controlada eficazmente con las dosis de uso de estos herbicidas, los resultados de este experimento muestran un cambio en el comportamiento que se manifiesta fundamentalmente en rangos inferiores a la dosis de uso. En la población HE que es resistente a glifosato (Muñiz Padilla, 2018) en condiciones de campo, el uso de gramínicidas podría

haber erosionado la variabilidad existente en la población, habiéndose seleccionado a campo genotipos con menor sensibilidad, por lo que esta podría ser una explicación al menor cambio observado en esta población. Si se comparan los valores de GR_{50} de las poblaciones EE0 (10,98 g.i.a ha⁻¹) y HE0 (26,5 g.i.a ha⁻¹) se puede observar la diferente sensibilidad original de las mismas, lo que podría deberse a la historia de uso de gramínicas sobre las mismas, si bien ambas son controladas en la dosis de uso. Las plantas sobrevivientes en el rango de subdosis podrían poseer genes con efecto menor que serían seleccionados y acumulados por el cruzamiento entre ellas generando así poblaciones con niveles mayores de resistencia (Ashworth et al., 2016; Baucom, 2019). Este proceso de incremento en los valores de Gr_{50} en sucesivos ciclos de selección ha sido demostrado por diferentes autores como fue descrito anteriormente (Vila-Aiub y Ghersa, 2005; Neve and Powles, 2005; Busi et al, 2012; Manalil et al., 2011; Ashworth et al, 2016; Tehranchian et al., 2017; Norsworthy et al., 2021; Matzrafi et al., 2020). Investigaciones recientes plantean que efectos epigenéticos podrían estar implicados en la respuesta de las plantas al estrés producido por los herbicidas. La selección por subdosis genera un importante estrés en las plantas sobrevivientes, este estrés podría desencadenar cambios a nivel epigenético que podrían modular la expresión de genes vinculados al metabolismo de xenobióticos y a la protección contra especies reactivas de oxígeno. Estos cambios epigenéticos podrían heredarse tanto mitóticamente como meióticamente por lo que este efecto modulador del estrés podría transmitirse a la descendencia (Marcus et al., 2018; Sen et al., 2022).

Comportamiento de las poblaciones frente a la aplicación de pinoxaden:

En los experimentos realizados, los valores de GR_{50} estimados por los modelos en EE0, EE S1 y EE S2 (Figura 7) no tuvieron diferencias estadísticas entre ellas. No se observó en esta población un cambio estadísticamente significativo en los valores de GR_{50} producto de la selección realizada (Tabla 6 y Gráfico 5).

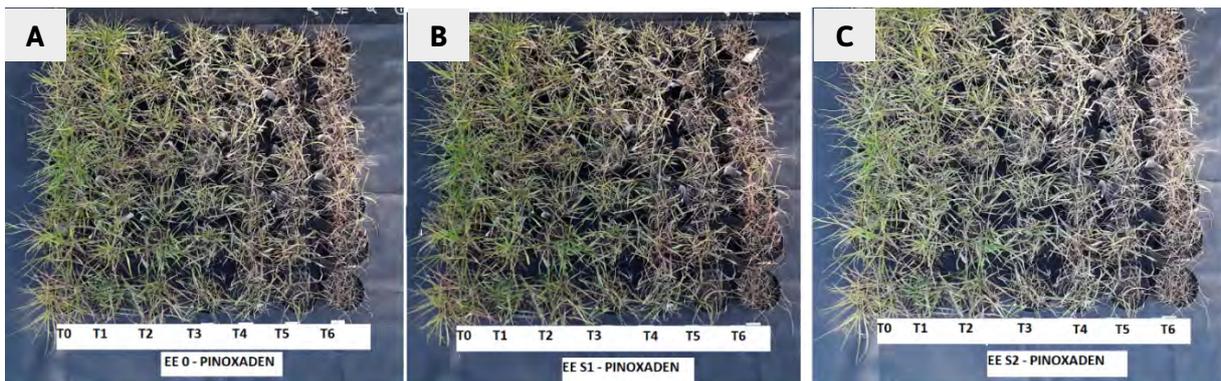


Figura N°7: Experimentos de dosis respuesta a pinoxaden en las poblaciones analizadas (A) EE0, (B) EES1 y (C) EES2

Tabla 6: Resumen curvas dosis respuesta de las poblaciones EE0, EES1 y EES2 para pinoxaden.

Poblacion	R ²	GR ₅₀	IR ₅₀	GR ₉₀	IR ₉₀
EE 0	0,854	10,05		41,85	
EE S1	0,766	9,49	0,94	46,22	1,10
EE S2	0,763	8,46	0,84	42,45	1,01

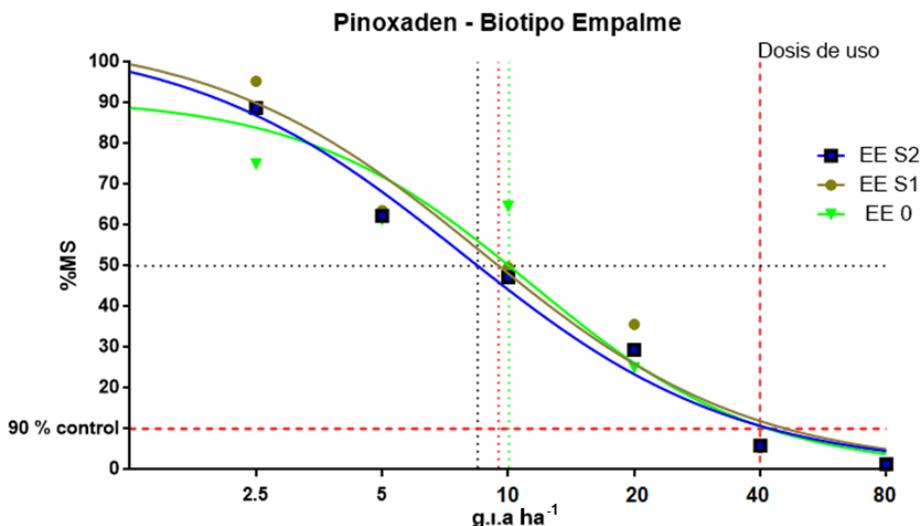


Gráfico 5: Curvas dosis respuesta de la biomasa en función de la dosis de pinoxaden en las poblaciones de El Empalme (EE). La línea horizontal segmentada representa el 90% de reducción en la biomasa. La línea vertical segmentada marca la dosis de uso recomendada del producto. Las líneas de puntos verticales marcan los GR₅₀ estimados para cada población.

En el caso de la población Hernandarias (HE) (Figura 8) los valores de GR₅₀ estimados por el modelo en HE0, HE S1 y HE S2 no tuvieron diferencias entre ellas. No se observó en esta población un cambio estadísticamente significativo en los valores de GR₅₀ producto de la selección realizada (Tabla 7 y Gráfico 6).

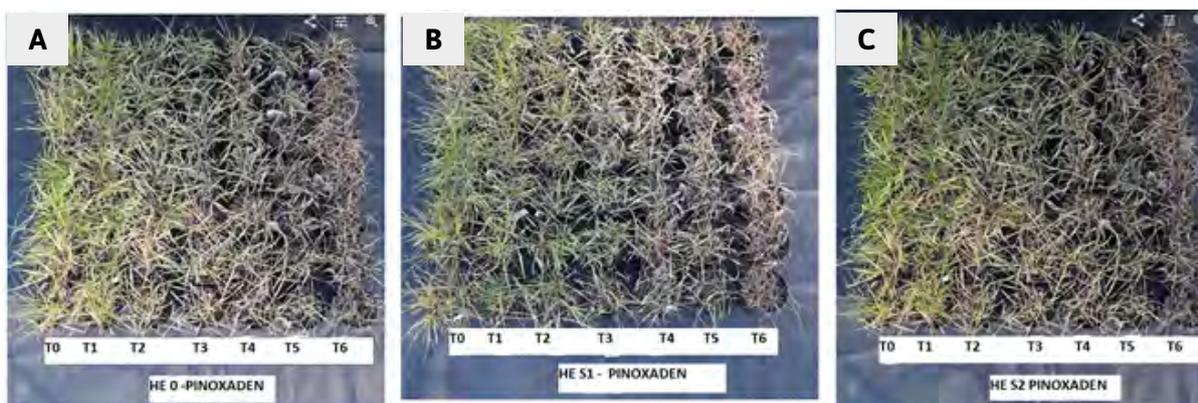
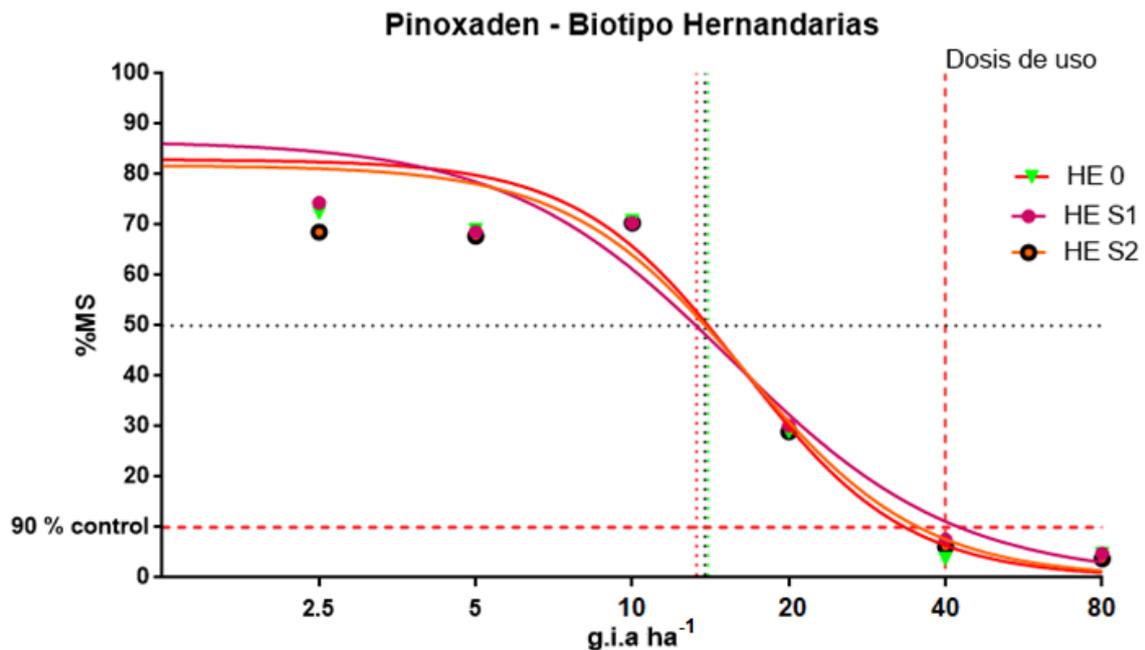


Figura N°8: Experimentos de dosis respuesta a pinoxaden en las poblaciones analizadas (A) HE0, (B) HES1 y (C) HES2.

Tabla 7: Resumen curvas dosis respuesta de las poblaciones HE0, HES1 y HES2 para pinoxaden.

Poblacion	R ²	GR ₅₀	IR ₅₀	GR ₉₀	IR ₉₀
HE 0	0,883	14,00		33,48	
HE S1	0,854	13,27	0,95	42,60	1,27
HE S2	0,846	13,82	0,99	35,57	1,06

**Gráfico 6:** Curvas dosis respuesta de la biomasa en función de la dosis de pinoxaden en la población de Hernandarias (HE). La línea horizontal segmentada representa el 90% de reducción en la biomasa. La línea vertical segmentada marca la dosis de uso recomendada del producto. Las líneas de puntos verticales marcan los GR50 estimados para cada población.

Ninguna de las dos poblaciones originales (sin selección) tanto de El Emplame como Hernandarias mostraron respuesta a la selección por subdosis con el herbicida pinoxaden. Estos resultados fueron inesperados, dado que pinoxaden está considerado como un herbicida metabolizable, por lo que hubiera sido esperable que la sensibilidad fuera modificada por el proceso de selección realizado. Este principio activo es selectivo en el cultivo de trigo y cebada, la selectividad en estos cultivos está mediada por una metabolización diferencial del herbicida potenciada con el uso de un safener (cloquintocet-mexyl) que potencia la degradación del activo en los cultivos (Muehlebach *et al.*, 2011). La capacidad de metabolización en las malezas es también un carácter fenotípico que presenta variabilidad en las poblaciones naturales (Baucom, 2019; Yannicari *et al.*, 2020). En el presente experimento la selección no fue efectiva en reducir la sensibilidad al pinoxaden. La eficacia de la selección depende de la variabilidad genética existente y de la heredabilidad de la característica seleccionada (Falconer y Mckay, 1996). La falla en este caso podría deberse a una reducción en la variabilidad genética producto del número de plantas seleccionadas o a una baja heredabilidad que podría

estar asociada al carácter poligénico inherente a los mecanismos NTSR (Délye et al., 2013) y/o a la variabilidad en el comportamiento frente al herbicida observada en el rango de subdosis, que podría tener un componente ambiental importante.

CONCLUSIONES

- Se observó respuesta a la selección recurrente en el rango de subdosis para el herbicida quizalofop p etil en los biotipos El Empalme y Hernandarias. Los valores GR50 se incrementaron desde 10,98 (EE0) a 23,04 (EES2) en la población El Empalme, en tanto que en la población Hernandarias los valores de GR50 aumentaron de 26,5 (HE0) a 32,57 (HES2). En ambas poblaciones los controles en la dosis de uso fueron satisfactorios en todas las generaciones.
- No se observó respuesta a la selección realizada con el herbicida pinoxaden en ninguna de las dos poblaciones evaluadas.

Indicadores de producción

Artículos publicados en revistas de difusión científica

Validation of Reference Genes for Quantitative PCR in Johnsongrass (*Sorghum halepense* L.) under

Glyphosate Stress. María Noelia Ulrich 1, Esteban Muñiz Padilla 2, Alejandra Corach 1, Esteban Hopp 3 and Daniela Tosto 1,* *Plants* 2021, 10, 1555. <https://doi.org/10.3390/plants10081555>

**ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD AL GLIFOSATO EN 7 POBLACIONES DE RAIGRÁS (*Lolium multiflorum* L.) DE LA PROVINCIA DE ENTRE RIOS (ARGENTINA) Y SU RELACIÓN CON LA ACUMULACION DE ACIDO

SHIKIMICO Muñiz Padilla, E.1,2; Sequin, C.1,2; Ayala, F.1; Comas, E.1; Vera, J.1; TUESCA, D.3 *Revista Científica Agropecuaria* 25 (2): 15-27 (2022) - Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER | ISSN 0329-3602

Premios y distinciones

Premio al mejor trabajo en la categoría profesional en la mesa de Malezas problemáticas de “Malezas 2018: II Congreso argentino de Malezas” ASACIM

Trabajo “CARACTERIZACION FENOTIPICA Y MOLECULAR DE LA RESISTENCIA A GLIFOSATO EN CUATRO POBLACIONES DE RAIGRAS (*Lolium multiflorum* L.) DE ENTRE RIOS”

Presentación a Congresos nacionales

Asacim 2018

Jornada de Comunicación Científica, de Extensión y Docencia 2019 y Semana de la Ciencia y la Tecnología FCA UNER 2019

Asacim 2021 y RAFV 2021

Congreso ASACIM 2023

Bibliografía:

- Ashworth, M. B.; Walsh, M.J.; Flower, K.C y Powles, S.B. (2016) Recurrent selection with reduced 2,4-D amine doses results in the rapid evolution of 2,4-D herbicide resistance in wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). *Pest Manag Sci* 72: 2091–2098
- Baucom, R.S. (2019) Evolutionary and ecological insights from herbicide-resistant weeds: what have we learned about plant adaptation, and what is left to uncover?. *New Phytol*, 223: 68-82. <https://doi.org/10.1111/nph.15723>
- Beltramino, H.; Medvecigh, J.; De Battista, J. y Costa, M. (2005). Efecto del hongo endófito *Neotyphodium occultans* en laproducción de semilla de raigrás anual. *Revista Científica Agropecuaria* 9(1): 25-31 (2005)
- Brunharo, C. A. and Streisfeld, M. A. (2021) Multiple evolutionary origins of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Evolutionary Applications*. 2022;15:316–329. DOI: 10.1111/eva.13344
- Burkart, A. (1969). Flora ilustrada de Entre Ríos. Colección Científica del INTA, Tomo IV, Parte II. Gramíneas. La familia botánica de los pastos. Bs. As. 1969. 551p.
- Busi, R.; Gaines, T. A.; Walsh, M. J. y Powles, S. B. (2012). Understanding the potential for resistance evolution to the new herbicide pyroxasulfone: field selection at high doses versus recurrent selection at low doses. *Weed Res* 52:489–499 (2012).
- Cruz-Hipólito, H.; Fernández, P.; Alcántara, R.; Gherekhloo, J.; Osuna, M. y De Prado, R. (2015). Ile-1781-Leu and Asp-2078-Gly Mutations in ACCase Gene, Endow Cross-resistance to APP, CHD, and PPZ in *Phalaris minor* from Mexico *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 21363-21377; doi:10.3390/ijms160921363
- Délye, C. (2013). Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. *Pest. Manag. Sci.*, 69:176–187. doi:10.1002/ps.3318
- Délye, C.; Jasieniuk, M.; Le Corre, V. (2013). Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics*, November, Vol. 29, No. 11.
- De Prado J; Osuna, M.; Heredia, A. y De Prado, R. (2005). *Lolium rigidum*, a pool of resistance mechanisms to ACCase inhibitor herbicides *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 2185-2191.
- Falconer, D.S.; Mackay, T.(1996). Introducción a la genética cuantitativa. CECSA, Méjico. 469 p.
- Fernández, O.; Leguizamón, E. y Acciaresi, H. (2014). Malezas e invasoras de la Argentina: ecología y manejo / Bahía Blanca : Editorial de la Universidad Nacional del Sur. EDI UNS, 2014. ISBN 978-987-1907-70-0. 964 p.
- Gaines, T.; Zhang, W.; Wang, D.; Bukun, B.; Chisholm, S.; Shaner, D.; Nissen, S.; Patzoldt, W.; Tranel, P.; Culpepper, S.; Grey, T.; Webster, T.; Vencill, W.; Sammons, D.; Jiang, J.; Preston, C.; Leach, J. y Westra, P. (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(3), 1029-1034.
- Gaines, T.; Duke, S.; Morran, S.; Rigon, C.; Tranel, P.; Küpper, A.; Dayan, F. (2021) Mechanisms of evolved herbicide resistance, *Journal of Biological Chemistry*, Volume 295, Issue 30, 2020, Pages 10307-10330, ISSN 0021-9258, <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.013572>.

- Ge, X.; d'Avignon, D.; Ackerman, J. y Sammons, R. (2010). Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Management Science* 66: 345-348.
- Heap, I. (2023). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Thursday, February 15, 2023. Available www.weedscience.org
- Istilart, C. y Yannicari, M. (2011). Análisis de la evolución de malezas en cereales de invierno durante 27 años en la zona sur de la pampa húmeda argentina. *Revista Técnica Especial (Aapresid), Malezas problema*: 47-50 ISSN1850:0633.
- Jalaludin A.; Yu Q. y Powles, S. (2015). Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in an *Eleusine indica* population. *Weed Research* 55, 82-89.
- Jasieniuk, M. y Maxwell, B. (1994). Population genetics and the evolution of herbicide resistance in weeds. *Phytoprotection*, vol. 75, n° 4, 1994, p. 25-35.
- Jasieniuk, M.; Brûlé-Babel, A.; Morrison, I. (1996). The Evolution and Genetics of Herbicide Resistance in Weeds Source: *Weed Science*, Vol. 44, No. 1 (Jan. - Mar., 1996), pp. 176-193.
- Jugulam M, y Shyam C. (2019) Non-Target-Site Resistance to Herbicides: Recent Developments. *Plants (Basel)*. 2019 Oct 15;8(10):417. doi: 10.3390/plants8100417. PMID: 31618956; PMCID: PMC6843234.
- Kaundun, S.S.; Hutchings S. J.; Dale, R. P. y McIndoe, E. (2013). Role of a Novel I1781T Mutation and Other Mechanisms in Conferring Resistance to Acetyl-CoA Carboxylase Inhibiting Herbicides in a Black-Grass Population. *PLOS ONE* www.plosone.org 1 July 2013 | Volume 8 | Issue 7 | e69568
- Kukorelli, G.; Reisinger, P. y Pinke, G. (2013). ACCase inhibitor herbicides-selectivity, weed resistance and fitness cost: a review *International Journal of Pest Management*, 2013. Vol. 59, No. 3, 165-173, <http://dx.doi.org/10.1080/09670874.2013.821212>
- López, R.; Vigna, M. y Gigón, R. (2008). Evaluación de Herbicidas para el Control de *Lolium multiflorum* Lam. En Barbecho para Cereales de Invierno. XXVI Congreso Brasileiro de Plantas Daninhas XVIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. 4 a 8 de mayo 2008. Ouro Preto: MG: BRASIL. ISBN: 978-85-98410-04
- Manalil, S.; Busi, R.; Renton, M. y Powles, S. B. (2011). Rapid evolution of herbicide resistance by low herbicide dosages. *Weed Sci* 59:210-217 (2011).
- Markus, C.; Pecinka, A.; Karan, R.; Barney, J.; Merotto, A., Jr (2018), Epigenetic regulation - contribution to herbicide resistance in weeds?. *Pest. Manag. Sci*, 74: 275-281. <https://doi.org/10.1002/ps.4727>
- Marzocca, A. (1976). Manual de malezas. 3a ed. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Matzrafi, M.; Morran, S.; Jasieniuk, M. (2020) Recurrent Selection with Glufosinate at Low Rates Reduces the Susceptibility of a *Lolium perenne* ssp. *multiflorum* Population to Glufosinate. *Agronomy* 2020, 10, 1288. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091288>
- Matzrafi, M., Preston, C. and Brunharo, C.A. (2021) Review: evolutionary drivers of agricultural adaptation in *Lolium* spp.. *Pest Manag Sci*, 77: 2209-2218. <https://doi.org/10.1002/ps.6219>
- Mithila, J. y Godar, A.S. (2013). Understanding Genetics of Herbicide Resistance in Weeds: Implications for Weed Management. *Adv Crop Sci Tech* 1:115. doi:10.4172/2329-8863.1000115

- Muehlebach, M., Cederbaum, F., Cornes, D., Friedmann, A.A., Glock, J., Hall, G., Indolese, A.F., Kloer, D.P., Le Goupil, G., Maetzke, T., Meier, H., Schneider, R., Stoller, A., Szczepanski, H., Wendeborn, S. and Widmer, H. (2011), Aryldiones incorporating a [1,4,5] oxadiazepane ring. Part 2: Chemistry and biology of the cereal herbicide pinoxaden. *Pest. Manag. Sci.*, 67: 1499-1521. <https://doi.org/10.1002/ps.2204>
- Muñiz Padilla, E (2018) Evaluación de la resistencia a glifosato en poblaciones naturalizadas de *Lolium multiflorum* Lam en la provincia de Entre Ríos. MAESTRIA EN CIENCIAS AGRARIAS – ORIENTACION: PRODUCCION SOSTENIBLE – UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN – Tesis de graduación
- Neve, P. y Powles, S. (2005). Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. *Theor Appl Genet* 110:1154–1166 (2005).
- Norsworthy J.; Varanasi, V.; Bagavathiannan, M.; Brabham, C.(2021) Recurrent Selection with Sub-Lethal Doses of Mesotrione Reduces Sensitivity in *Amaranthus palmeri*. *Plants (Basel)*. 2021 Jun 25;10(7):1293. doi: 10.3390/plants10071293. PMID: 34202011; PMCID: PMC8308957.
- Oerke, E.C. (2006). Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31–43
- Oliveira Jr, R. (2011). Mecanismo de Acao de Herbicidas. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. R.S Oliveira Jr. et al (Eds). Cap 7. 51p
- Powles, S.B. (2010). Gene amplification delivers glyphosate-resistant weed evolution. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0913433107 . PNAS | January 19, 2010 | vol. 107 | no. 3 | 955–956
- Powles, S.B. y Yu, Q. (2010). Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 61: 317 -347.
- Puricelli, E. (2007). Graminícidias. *Agroconsultasonline*. Disponible en: [http://www.agroconsultasonline.com.ar/ticket.html/Graminícidias%20\(2007\).pdf?op=d&ticket_id=7925&evento_id=16283](http://www.agroconsultasonline.com.ar/ticket.html/Graminícidias%20(2007).pdf?op=d&ticket_id=7925&evento_id=16283)
- Puricelli, E.; Faccini, D. (2009). Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, v. 27, n. 2, p. 303-307, 2009
- Qasem, J.R. (2013). Herbicide Resistant Weeds: The Technology and Weed Management. *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. Chapter 17.28 p. ISBN 978-953-51-1112-2
- Raghav, N.; Singh, R.; Singh Chhokar, R.; Sharma, D. y Kumar, R. (2016). Mutations in the plastidic ACCase gene endowing resistance to ACCase-inhibiting herbicide in *Phalaris minor* populations from India *Biotech* (2016) 6:12 DOI 10.1007/s13205-015-0331-4
- Salas, R.; Dayan, F.; Pan, P.; Watson, S.; Dickson, J. Scott, R. y Burgos, N. (2011). EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) from Arkansas *Pest Manag. Sci.* 2012; 68: 1223–1230
- Salas, R.; Scott, R.; Dayan, F. y Burgos, N (2015). EPSPS Gene Amplification in Glyphosate-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) Populations from Arkansas (United States). *J. Agric. Food Chem.* 2015, 63, 5885–5893
- Sammons, R. y Gaines, T. 2014. Glyphosate resistance: state of knowledge *Pest Manag. Sci.* 2014; 70: 1367–1377.
- Seefeldt, S.; Jensen, J.E. y Fuerst, E.P. (1995). Log–logistic analysis of herbicide dose–response relationships. *Weed Technol* 9:218–225.

- Sen, M.; Hamouzova, K.; Kosnarova, P.; Roy, A.; Soukup, J. (2022) Herbicide resistance in grass weeds: Epigenetic regulation matters too. *Front. Plant Sci.* 13:1040958. doi: 10.3389/fpls.2022.104095
- Suzukawa A. K.; Bobadilla L. K.; Mallory-Smith, C.; Brunharo, C. A. (2021) Non-target-Site Resistance in *Lolium* spp. Globally: A Review. *Front. Plant Sci.*, 22 January 2021 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.609209>
- Takano, H.; Lopez Ovejero, R.; Gross Belchior, G.; Potrich, G.; Maymone, L.; Dayan, F. (2021) *Sci. Agric.* v.78, n.1, e20190102, 2021 <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2019-0102>
- Tehranchian, P.; Norsworthy, J.; Powles, S.; Bararpour, M.; Bagavathiannan, M.; Barber, T. y Scott, R. (2017). Recurrent Sublethal-Dose Selection for Reduced susceptibility of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) to Dicamba *Weed Science* 2017 65:206–212
- Torra, J.; Osuna, M.; Merotto, A. ; Vila-Aiub, M. (2021) Editorial: Multiple Herbicide-Resistant Weeds and Non-target Site Resistance Mechanisms: A Global Challenge for Food Production *Front. Plant Sci.*, 28 October 2021 *Sec. Crop and Product Physiology* Volume 12 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.763212>
- Vila-Aiub, M.; Ghersa, C. (2005) Building up resistance by recurrently exposing target plants to sublethal doses of herbicide. *Europ. J. Agronomy* 22 (2005) 195–207. doi:10.1016/j.eja.2004.01.004
- Yannicari, M. (2014) Estudio fisiológico y genético de biotipos de *Lolium perenne* (L.) resistentes a glifosato. Facultad de Ciencias Exactas Departamento de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de La Plata. Tesis 229 p
- Yannicari, M.; Gigón, R.; Larsen, A. (2020) Cytochrome P450 Herbicide Metabolism as the Main Mechanism of Cross-Resistance to ACCase- and ALS-Inhibitors in *Lolium* spp. Populations From Argentina: A Molecular Approach in Characterization and Detection *Frontiers in Plant Science*; VOLUME 11 ;DOI=10.3389/fpls.2020.600301
- Yu, Q.; Abdallah, I.; Han, H.; Owen, M. y Powles, S. (2009). Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. *Planta* (2009) 230:713–723
- Yu, Q. y Powles, S. (2014) Metabolism-Based Herbicide Resistance and Cross-Resistance in Crop Weeds: A Threat to Herbicide Sustainability and Global Crop Production. *Plant Physiology*, November 2014, Vol. 166, pp. 1106–1118, www.plantphysiol.org
- Yuan, J.; Tranel, P. y Stewart, C. (Jr). (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business, *Trends in Plant Science*, Volume 12, Issue 1, January 2007, Pages 6-13, ISSN 1360-1385, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.001>.

PID 2193 Denominación del Proyecto

Evolución de la resistencia a Graminícidas en Biotipos de Raigras (*Lolium multiflorum* L.) bajo selección recurrente con dosis sub letales de herbicidas.

Director

Tuesca, Daniel Horacio

Codirector

Muñiz Padilla, Esteban Tobías

Unidad de Ejecución

Universidad Nacional de Entre Ríos

Dependencia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Contacto

dtuesca@gmail.com y/o esteban.muniz@uner.edu.ar

Instituciones intervinientes públicas o privadas:

Facultad de Ciencias Agrarias (UNR). INTA CEI-Barrow

Integrantes del proyecto

Docentes UNER: Ayala, Fabian Abel. Gieco, Lucrecia Cristina. Lassaga, Sergio Luis. Integrante externo: Yanniccari, Marcos. Integrante interno estudiante de grado: Ahumada, Miguel Angel. Integrante becario formación vinculado a PID: Dalzotto, Macarena Lujan

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

22/03/2018 y 13/06/2022

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. N° 143/24 (24-05-2024)