

Evaluación del grado de resistencia de especies de *Conyza* al glifosato en Aragón

El ensayo se realizó con siete poblaciones de *C. canadensis* y cuatro de *C. sumatrensis*

Gabriel Pardo¹, Raúl Langa², Joaquín Aibar³, Ana Isabel Marí² y Alicia Cirujeda¹.

¹ Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza).

² Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Zaragoza.

³ Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza).



En Aragón, en los últimos años se vienen recibiendo consultas por falta de control de *Conyza* con glifosato en zonas frutícolas. Por ello, el primer objetivo del trabajo fue confirmar que la supervivencia en campo de estas poblaciones de *Conyza* no se debió a fallos de control en campo (fallos en la aplicación, *Conyza* demasiado desarrollada etc.) sino a la aparición de un fenómeno de resistencia. Una vez confirmado este hecho se cuantificó la intensidad de esta resistencia.

El género *Conyza* abarca un conjunto de especies arvenses cada vez más problemáticas en sistemas de no laboreo, sobre todo en cultivos leñosos, donde el control se basa únicamente en la aplicación de herbicidas. En este sentido, el glifosato suele ser el herbicida que más frecuentemente se usa. El empleo rutinario de esta materia activa y el hecho de que *Conyza* spp. sea propensa a desarrollar resistencias a herbicidas (Torres *et al.*, 2005) han hecho aparecer biotipos resistentes, a pesar de que el glifosato es una materia activa con poca tendencia a generar resistencias (Heap, 2016). Así, en el sur de España ya se ha confirmado la resistencia a glifosato para *C. bonariensis* (Urbano *et al.*, 2007), *C. canadensis* (Martínez y Urbano, 2007) y *C. sumatrensis* en 2009 (Heap, 2016) y a nivel mundial hay reconocidos 13, 39 y 6 casos, respectivamente (Heap, 2016).

Material y métodos

El ensayo se realizó con siete poblaciones de *Conyza canadensis* y cuatro de *Conyza sumatrensis*, todas ellas recogidas en Aragón. En ambas especies las poblaciones estudiadas procedieron de plantas que han sobrevivido en campo a

CUADRO I. POBLACIONES DE *CONYZA* spp. UTILIZADAS EN EL ENSAYO.

<i>Conyza canadensis</i>			<i>Conyza sumatrensis</i>		
Población	Localidad	Cultivo	Población	Localidad	Cultivo
14-Dellalrio	Maella (Z)	Nectarina	71-La Hoya	Peñaflor (Z)	Almendro
23-Cataluñas	Maella (Z)	Melocotón	75-Peñaflor	Peñaflor (Z)	Almendro
37-Masatrigo	Maella (Z)	Almendro	183-Ponciano*	Valmadrid (Z)	Sin cultivo
41-Valdelpuente	Maella (Z)	Melocotón	193-Los Cerrados	La Puebla (Z)	Cuneta
62-Invernadero*	Montañana (Z)	Espárrago			
111-La Litera	Fraga (Hu)	Melocotón			
126-Laporchina	Fraga (Hu)	Nectarina			

*procedente de zona sin tratamientos herbicidas para ser utilizados como posibles testigos sensibles. Z: Zaragoza, Hu: Huesca

tratamientos de glifosato (R), salvo una población de cada especie, cuyas semillas se obtuvieron de plantas que crecieron en zonas donde nunca se había tratado con herbicidas y que se usaron como testigo sensible de referencia (S) (**cuadro I**).

Las semillas de todas estas poblaciones se pusieron a germinar para posteriormente trasplantar las plántulas en estado de 2-4 hojas. Para las dos operaciones se utilizó sustrato de hortícolas (90% materia orgánica, 9,7% cenizas y 0,2% nitrógeno y 0,1% fósforo). La aplicación del herbicida se realizó cuando las plantas tuvieron entre 10-12 hojas. Se hicieron ocho tratamientos con las dosis 0, 180, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760 y 11.520 g i.a./ha correspondientes

a 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 y 32 l/ha de producto comercial (Roundup, glifosato 36% p/v) en un experimento en bloques al azar, con seis repeticiones. Estas repeticiones fueron ordenadas en base al tamaño de las plantas antes del tratamiento. Es decir, plantas de la misma repetición tuvieron, además de similar estado fenológico en todas las poblaciones, similar tamaño, con el objetivo de descartar en las poblaciones resistentes cualquier duda debido a un mayor desarrollo de la planta. La parcela elemental fue una maceta de plástico de 7 x 7 x 8 cm en la que había una planta de *Conyza*. Todo el experimento se repitió dos veces a lo largo del tiempo.

Todo el proceso se desarrolló en un invernadero del CITA equipado con un sistema de climatización programado para no superar 30°C ni descender de 15°C, e iluminación artificial para mantener 16/14 h de luz y 8/10 h de noche. Las aplicaciones se realizaron con un equipo de pulverización experimental que permite realizar tratamientos con poco volumen de caldo, en este caso 210 l/ha, a presión, altura de barra y velocidad de avance constantes. Los parámetros evaluados fueron supervivencia y biomasa seca al final del ensayo a los 28 días después del tratamiento (28DDT). Los resultados de estos parámetros se sometieron a un modelo de regresión dosis-respuesta. Como el resultado de las dos repeticiones del experimento siguió la misma tendencia, se decidió agrupar los resultados como si fuera uno único, pero con 12 repeticiones por tratamiento. El modelo elegido fue uno de los 10 propuestos por Ritz y Streibig en 2005, el Log-logístico, con cuatro parámetros, que fue el que mejores ajustes presentó (**expresión 1**).

Expresión 1:

$$f(x, (b, c, d, e)) = c + \frac{d - c}{1 + \exp \{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

donde c es el límite inferior de la curva, d es el límite superior, e es la EC_{50} o lo que es lo mismo, la concentración efectiva que produce una respuesta a la mitad del valor del parámetro estudiado. En los estudios de resistencia esta EC_{50} se suele llamar LD_{50} para los datos de supervivencia o GR_{50} para los de biomasa y sería la dosis de herbicida que reduce un 50% la supervivencia o la biomasa de cada población. El parámetro b es la pendiente de la curva en su punto de inflexión. El ajuste ha sido realizado con el programa de software libre R, Versión 2.14.2 (R Development Core Team, 2014). Finalmente se calculó el factor de resistencia (FR) para cada



Conyza sumatrensis puede alcanzar una altura importante en buenas condiciones de humedad y fertilidad, como suele ser en la cercanía de los goteros de riego.

parámetro que es el cociente entre el LD_{50} (o GR_{50}) de la población que se presupone resistente (R) y la que se

presupone sensible (S). Se considera que se trata de un caso de resistencia si hay respuesta diferencial entre poblaciones que se presuponen R y S, es heredable y el FR es superior a 10 (Heap, 2016).

Resultados y discusión

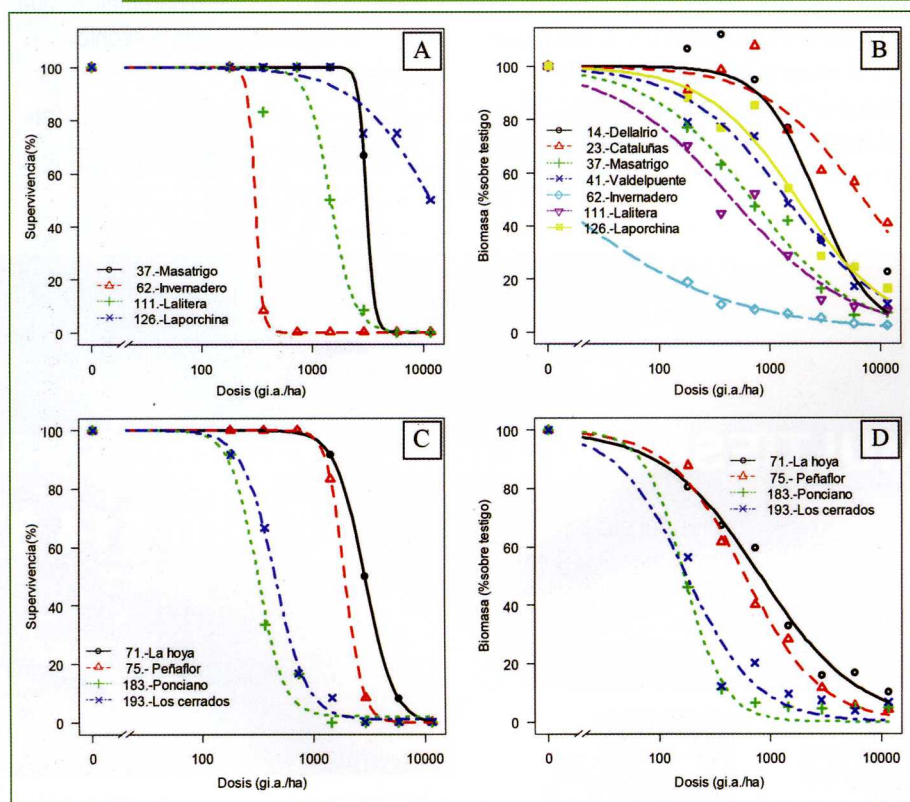
Resistencia de *Conyza canadensis*

En *C. canadensis*, respecto al parámetro supervivencia, cabe resaltar la magnitud del problema de falta de eficacia a glifosato en la mayoría de poblaciones, sobre todo en Cataluñas, Dellalrio, y Valdepuente que presentaron una supervivencia del 100%, 83%, y 67%, respectivamente, cuando se les aplicó la dosis máxima (32 l/ha de producto comercial). Como todas estas cifras superan el 50% de supervivencia, no se ha podido realizar el ajuste en esas poblaciones (**figura 1a**). A pesar de esto se puede deducir que la LD_{50} es mayor de 11.520 g m.a./ha por lo que, como mínimo, el factor de resistencia sería de 38 (**cuadro II**). Siguiendo por orden de dificultad de control, y ya representadas en la **figura 1a**, quedarían Laporchina, Masatrigo y La Litera, con FR mayores de 10 en todos los casos, a excepción de esta última (**cuadro II**).

Los FR encontrados, salvo para la población La Litera, son mayores que los de otros estudios en el sur de España (Martínez y Urbano, 2007).

El parámetro de biomasa (**figura 1b**) presenta el mismo orden de dificultad para controlar las poblaciones, pero con FR mucho mayores (**cuadro II**) debido, por un lado, a que las poblaciones muestran GR_{50} mucho mayores que los hallados por otros autores (Koger *et al.*, 2004). A esto se añade la elevada sensibilidad del testigo sensible que presenta un valor de GR_{50} de 11 g i.a./ha, valor muy inferior al de las poblaciones sensibles utilizadas en otros estudios (Koger *et al.*, 2004). La razón de esos

FIG 1. Curvas dosis-respuesta para los parámetros supervivencia (%) y biomasa seca (%) en *C. canadensis* (A y B) y en *C. sumatrensis* (C y D) a los 28 días después del tratamiento. La supervivencia en poblaciones de *C. canadensis* de Dellalrio, Cataluñas y Valdepuente fue mayor del 50% a la máxima dosis aplicada, impidiendo el ajuste del modelo log-logístico (A).



CUADRO II. DOSIS DE GLIFOSATO, EN G I.A./HA, QUE REDUCE UN 50% LA SUPERVIVENCIA (LD₅₀) Y QUE REDUCE UN 50% LA BIOMASA (GR₅₀) DE CADA POBLACIÓN DE CONYZA. FACTOR DE RESISTENCIA (FR) PARA LOS DOS PARÁMETROS A LOS 28 DDT EN BASE A LA POBLACIÓN SENSIBLE.

<i>Conyza canadensis</i>				<i>Conyza sumatrensis</i>					
Parámetro	Supervivencia		Biomasa		Parámetro	Supervivencia		Biomasa	
Población	LD ₅₀	FR	GR ₅₀	FR	Población	LD ₅₀	FR	GR ₅₀	FR
14-Dellalrío	>11.520*	>38*	2.652	241	71-La Hoya	2.895	9,4	809	4,8
23-Cataluñas	>11.520*	>38*	6.847	622	75-Peñaflor	1.904	6,2	587	3,5
37-Masatrigo	3.051	10,1	680	62	183-Ponciano	307	1	167	1
41-Valdelpuente	>11.520*	>38*	1.405	128	193-Los Cerrados	440	1,43	175	1,1
62-Invernadero	302	1	11	1					
111-La Litera	1459	4,8	450	41					
126-Laporchina	11.677	38,6	1751	159					

*Más de la mitad de los individuos sobreviven a la máxima dosis aplicada (11.520 g.i.a./ha)

valores tan elevados no es otra que tratamos con un cociente (FR) y cuanto mayor es el numerador y/o menor es el denominador mayor será el resultado, y en este caso ocurren ambas cosas.

Resistencia en *Conyza sumatrensis*

En *C. sumatrensis*, dos de las tres poblaciones potencialmente problemáticas, La Hoya y Peñaflor, tuvieron un comportamiento diferencial respecto al testigo Ponciano en los parámetros supervivencia (figura 1c) y biomasa (figura 1d). La población Los Cerrados se comportó como el testigo sensible. En este caso los FR fueron más pequeños que en *C. canadensis*, siempre

inferiores a 10 (cuadro II), por lo que no se podría hablar propiamente de resistencia. No obstante, hablando de supervivencia, hay que tener en cuenta que la DL₅₀ de la población considerada sensible, 307 g m.a./ha, es un 35-45% más elevada que el de la otros estudios (Santos *et al.*, 2014).

Teniendo en cuenta el parámetro biomasa, la GR₅₀, en nuestro caso, es de 167 g i.a./ha mientras que en estudios de González-Torrvalva *et al.* (2013) fue de 23,8 g i.a./ha. Estos datos sugieren que los FR podrían ser algo más elevados en el caso de haber dispuesto de una población testigo más susceptible (con menor DL₅₀ o GR₅₀) y ello parece posible

de acuerdo a esta bibliografía.

Para poder afirmar que se trata de poblaciones de *Conyza* resistentes a glifosato falta comprobar si la respuesta diferencial entre poblaciones R y S se mantiene en la



Aspecto general del ensayo 15 días después del tratamiento. Se observan plantas con síntomas de fitotoxicidad por glifosato en plantas sensibles.

descendencia. En nuestro caso no se ha comprobado todavía pero consideramos que muy probablemente será así, teniendo en cuenta que las plantas empleadas en el ensayo ya son la descendencia de supervivientes en campo a tratamientos con glifosato y teniendo en cuenta los antecedentes de la bibliografía consultada. Por tanto, se puede concluir que en el caso de *C. canadensis* se confirma que existen poblaciones con un patrón claramente resistente, con FR mucho mayores de 10. En *C. sumatrensis*, aunque los FR sean menores de 10, parece claro que hay también un problema incipiente. ■

AGRADECIMIENTOS

A Carlos Lozano, Carles Agustí y Pilar Vicente por ponernos en contacto con varios agricultores, a José Antonio Espiau, Manuel Rausa y José María Vilar, que facilitaron las semillas. A F. Arrieta, J.A. Alins y M. León por su colaboración en la realización de los ensayos.

BIBLIOGRAFÍA

- GONZÁLEZ-TORRALVA F, GIL-HUMANES J, BARRÓ F, DOMÍNGUEZ-VALENZUELA JA, DE PRADO, R (2013) First evidence for a target site mutation in the EPSPS2 gene in glyphosate-resistant Sumatran fleabane from citrus orchards. *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 34, n° 2, 553 - 560.
- HEAP I (2016) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponible www.weedscience.com. Visitada el 4 marzo de 2016.
- KOGER CH, POSTON DH, HAYES RM, MONTGOMERY RF (2004). Glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. *Weed Technology* 18, 820-825.
- MARTÍNEZ JM, URBANO JM (2007) Nivel de resistencia a glifosato en poblaciones de *Conyza canadensis* de Andalucía. XI Congreso SEMh. Albacete, 349-353.
- R CORE TEAM (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible: <http://www.R-project.org/>. Visitada el 20 agosto de 2014.
- RITZ C, STREIBIG, JC (2005). Bioassay Analysis using R. *Journal of Statistical Software*. 12(5). Disponible en internet: <http://bioassay.dk/>. visitada el 20 diciembre 2014.
- SANTOS G, OLIVEIRA JR, CONSTANTIN J, CONSTANTIN A, MACHADO MFPS., MANGOLIN CA, NAKAJIMA JN (2014) *Conyza sumatrensis*: A new weed species resistant to glyphosate in the Americas. *Weed Biology and Management* 14, 106-114.
- TORRES V, CALDERON S, BARNES J, URBANO JM (2005) Determinación de la GR50 en cinco poblaciones de *Conyza bonariensis* L. recolectadas en Andalucía occidental. *Actas del X Congreso de la SEMh, Huelva*, 399-405.
- URBANO JM, BORREGO A, TORRES V, LEON JM, JIMENEZ C, DINELLI G, BARNES J (2007) Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology* 21, 396-401.