

## ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE *CONYZA* SPP. AL HERBICIDA GLIFOSATO EN ARAGÓN

Langa R.<sup>1</sup>, Aibar J.<sup>2</sup>, Cirujeda A.<sup>1</sup>, Marí A.I.<sup>1</sup>, León M.<sup>1</sup>, Pardo G.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CITA-ARAGÓN, Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

<sup>2</sup>EPS, Universidad de Zaragoza, Ctra. de Cuarte km 67, 22071 Huesca.

\*gpardos@aragon.es

**Resumen:** El objetivo del trabajo fue confirmar la resistencia a glifosato de poblaciones aragonesas de *Conyza canadensis* y *C. sumatrensis*. Para ello, se contó con 7 poblaciones de *C. canadensis*: 6 de ellas con problemas de control en campo (R) y 1 considerada sensible (S) y 4 de *C. sumatrensis*: 3R y 1S. Con ellas se realizaron ensayos dosis-respuesta utilizando un modelo de regresión (log-logistic con 4 parámetros) y se calcularon los factores de resistencia (FR). Se confirmó la resistencia de 5 de las 6 poblaciones problemáticas *C. canadensis*, con FR para parámetros de supervivencia y biomasa mucho mayores de 10. En el caso de *C. sumatrensis*, en 2 de las 3 poblaciones consideradas R se encontraron resistencia con unos FR que oscilaron entre 9,4 y 3,5 para los mismos parámetros.

**Palabras clave:** Dosis-respuesta, *Erigeron*, coniza, factor de resistencia.

**Summary:** *Study of resistance of Conyza spp. to herbicide glyphosate in Aragón (Spain)*. The aim of this paper was to confirm resistance to glyphosate of *Conyza canadensis* and *C. sumatrensis* populations from Aragón. Hence, we had 7 populations of *C. canadensis*: 6 of them with field control problems (R) and 1 considered susceptible (S) and 4 populations of *C. sumatrensis*: 3R and 1S. Doses-response essays were performed and the resistance factors (RF) were calculated using a log-logistic regression model with 4 parameters. Results confirmed resistance in 5 of 6 *C. canadensis* populations, with RF for survival and biomass parameters much higher than 10. In the case of *C. sumatrensis*, 2 of 3 populations expected to be R had RF with values between 9.4 and 3.5 for the same parameters.

**Keywords:** Doses-response, *Erigeron*, horseweed, fleabane, resistance factor.

## INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Conyza* spp. son cada vez más difíciles de controlar en cultivos en no laboreo, sobre todo en leñosos, donde el control de malas hierbas se basa en la aplicación de herbicidas. Del total de los casi 5 millones de ha de cultivos leñosos que hay en España, se estima que más de la mitad de esta superficie se maneja con técnicas de mínimo laboreo (42%) o no laboreo (8,5%), siendo éstos principalmente olivos, frutales y viñedos (Magrama, 2014). En este sentido, el glifosato suele ser el herbicida que más frecuentemente se usa para controlar las arvenses en estas situaciones. El uso masivo de este herbicida 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 sea una materia activa con poca tendencia a generar resistencias (Heap, 2015). Así, en el sur de España ya se ha confirmado la resistencia a glifosato para *C. bonariensis* (Urbano et al., 2007), *C. canadensis* (Martínez & Urbano, 2007) y *C. sumatrensis* en 2009 (Heap, 2015) y a nivel mundial hay reconocidos 13, 39 y 6 casos, respectivamente (Heap, 2015).

En Aragón, en los dos últimos años se vienen recibiendo quejas de falta de control de *Conyza* con glifosato en zonas frutícolas. En este sentido, el primer objetivo del trabajo fue confirmar que la supervivencia en campo de estas poblaciones de *Conyza* se debió a la aparición un fenómeno de resistencia y no a fallos de control en campo. Una vez confirmada la resistencia, un objetivo adicional fue cuantificar su magnitud.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó con 7 poblaciones aragonesas de *Conyza canadensis* y 4 de *Conyza sumatrensis*. En ambas especies todas las poblaciones proceden de plantas que han sobrevivido en campo a tratamientos de glifosato (R), salvo una, cuya semilla se obtuvo de plantas sin historial de tratamiento herbicida y que se usó como testigo sensible (S), Tabla 1.

Tabla 1. 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			

\*Sin historial de tratamientos herbicidas. Z: Zaragoza, Hu: Huesca.

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, 10% cenizas y 0,2% nitrógeno y 0,1% fósforo). Cuando las plantas tuvieron entre 10-12 hojas se les aplicó el herbicida. Se hicieron 8 tratamientos con las dosis 0, 180, 360, 720, 1440, 2880, 5760 y 11520 g i.a./ha con el formulado comercial Roundup® (glifosato 36% p/v) en un experimento en bloques al azar, de 6 repeticiones. Las repeticiones, antes del tratamiento, fueron ordenadas en base al tamaño de las plantas. 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 1 planta de *Conyza*. Todo el experimento se repitió 2 veces a lo largo del tiempo.

Todo el proceso se desarrolló en un invernadero del CITA equipado con un sistema de refrigeración para no superar temperaturas mayores de 30°C ni bajar de 15°C, e iluminación artificial para mantener 16/14h de luz y 8/10h de noche. Las aplicaciones se realizaron con un equipo de pulverización experimental que permite realizar aplicaciones con poco volumen de caldo, en este caso 210 l/ha, a presión, altura de barra y velocidad de avance constantes. Los parámetros evaluados semanalmente fueron: fitotoxicidad, altura, supervivencia y biomasa seca al final del ensayo, aunque en esta comunicación solo se hace referencia a los dos últimos, evaluados a los 28 días después del tratamiento (DDT). 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, de entre los diez propuestos por Ritz & Streibig (2005) fue el Log-logístico con cuatro parámetros, ya que fue el que mejores ajustes presentó:

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

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 valor total del parámetro estudiado (o también  $LD_{50}$  si se refiere supervivencia o  $GR_{50}$  si se refiere a biomasa)  $b$  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). Se

considera que se trata de un caso de resistencia si la respuesta diferencial es heredable y el FR es superior a 10 (Heap, 2015).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En *C. canadensis*, respecto al parámetro supervivencia, cabe resaltar la magnitud del problema en la mayoría de poblaciones, sobre todo en "Cataluñas", "Dellalrio", y "Valdelpuente" 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 1 A). 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 (Tabla 2). 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 (Tabla 2). Los FR encontrados, salvo para la población La Litera, son mayores que los de otros estudios en el sur de España (Martínez & Urbano, 2007).

El parámetro de biomasa (Figura 1B) presenta el mismo orden de dificultad para controlar las poblaciones, pero con FR mucho mayores (Tabla 2) 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), explicando porqué se obtienen esos FR tan elevados.

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 (Tabla 2), por lo que no se podría hablar propiamente de resistencia. No obstante, hay que tener en cuenta que la  $DL_{50}$  de la población considerada sensible, 307 g m.a./ha, es un 35-45% más elevada que el de otros estudios (Santos et al., 2014).

Lo mismo ocurre en el caso del  $GR_{50}$ , en nuestro caso es de 167 g m.a./ha mientras que en estudios de González-Torralva et al. (2013) fue de 23,8 g m.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 y ello parece posible de acuerdo a esta bibliografía.

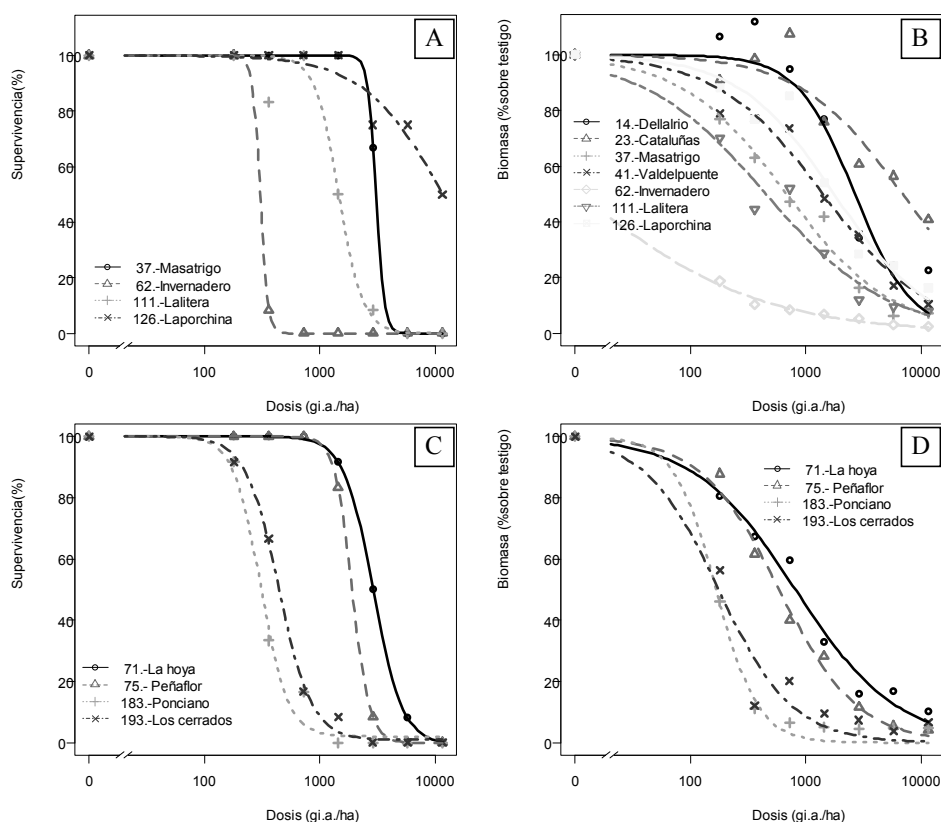


Figura 1. Curvas dosis-respuesta para los parámetros supervivencia (%) y biomasa seca (%) en *C. canadensis* (A y B) y en *C. sumatrensis* (C y D) a los 28 días después del tratamiento. La supervivencia en poblaciones de *C. canadensis* de Dellalrio, Cataluñañas y Valdelpuente fue mayor del 50% a la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

Tabla 2. Dosis de glifosato, en gi.a./ha, que reduce un 50% la supervivencia ( $LD_{50}$ ) y que reduce un 50% la biomasa ( $GR_{50}$ ) de cada población de *Conyza*. Factor de resistencia (FR) para los dos parámetros 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-Dellalrio	>11520*	>38*	2652	241	71-La Hoya	2895	9,4	809	4,8
23-Cataluñañas	>11520*	>38*	6847	622	75-Peñaflor	1904	6,2	587	3,5
37-Masatrigo	3051	10,1	680	62	183-Ponciano	307	1	167	1
41-Valdelpuente	>11520*	>38*	1405	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	11677	38,6	1751	159					

\*Más de la mitad de los individuos sobreviven a la máxima dosis aplicada (11520 gi.a./ha).

Para hablar con propiedad de resistencia, hay que comprobar que la respuesta diferencial entre poblaciones R y S se mantiene en la descendencia. En nuestro caso no se ha comprobado pero consideramos que 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 un problema incipiente.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Carlos Lozano, Carles Agustí y Pilar Vicente por ponernos en contacto con los agricultores José Antonio Espiau, Manuel Rausa y José María Vilar, que facilitaron la semilla.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- GONZÁLEZ-TORRALVA F, GIL-HUMANES J., BARRO 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* 34, 553-560.
- HEAP I (2015) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponible [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com). Visitada el 4 marzo de 2015.
- KOGER CH, POSTON DH, HAYES RM, et al. (2004) Glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. *Weed Technology* 18, 820-825.
- MAGRAMA (2014) *Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Análisis de las técnicas de mantenimiento de los suelos y de los métodos de siembra en España*. Secretaría General Técnica. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, pp. 46.
- 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 et al. (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 et al. (2007) Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology* 21, 396-401.