

RESISTENCIA A PENOX SULAM EN *CYPERUS DIFFORMIS* EN FINCAS ARROCERAS DE ESPAÑA. PROPUESTA DE ÍNDICES PARA LA IDENTIFICACIÓN PRECOZ DE PROBLEMAS DE RESISTENCIA

Pericas R.^{1*}, Taberner A.², Consola S.², Osuna M.D.³, Urbano J.M.⁴

¹Dow AgroSciences Ibérica.

²Servicio de Sanidad Vegetal, DAR Generalitat de Cataluña.

³Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera,
Junta de Extremadura.

⁴ETSIA, Universidad de Sevilla.

*rpericas@dow.com

Resumen: Penoxsulam es un herbicida del grupo B (ALS) introducido por Dow AgroSciences en España en 2007 para el control de *Echinochloa* en arroz, también eficaz contra *Cyperus difformis*. Recientemente se ha descrito la existencia de *C. difformis* resistentes a penoxsulam. El objetivo de este trabajo es obtener herramientas que permitan la detección precoz del riesgo de aparición de resistencias. Antes de la siembra del cultivo en la campaña 2014 se recogieron muestras de suelo en 67 parcelas de Sevilla, Badajoz, Delta del Ebro y Valencia. A partir de las muestras de suelo se han obtenido 1340 plantas de *C. difformis*, que fueron tratadas con 120 g m.a.ha⁻¹/ha de penoxsulam. Los datos obtenidos en cámara han permitido elaborar 6 índices de utilidad para la detección precoz de resistencias.

Palabras clave: Screening, eficacia, dosis, momento.

Summary: *Penoxsulam resistance of Cyperus difformis in rice farms in Spain. Proposal of indexes for the early identification of resistance problems.* Penoxsulam is a group B herbicide (ALS) introduced by Dow AgroSciences in Spain in 2007 for the control of *Echinochloa* in rice, but also it is effective against *Cyperus difformis*. Recently, resistance to penoxsulam has been reported in biotypes of *C. difformis*. The objective of this study was to obtain tools to facilitate an early detection of resistance risks. In 2014, before rice sowing, soil samples were collected in 67 farms of Sevilla, Badajoz, Delta del Ebro and Valencia. From the soil samples, 1340 *C. difformis* plants were grown and treated with 120 g m.a.ha⁻¹ of penoxsulam. Obtained data led us to develop 6

indexes (I1 to I6) that may be useful for early detection of resistance under controlled conditions.

Keywords: Screening, efficacy, rate, timing.

INTRODUCCIÓN

En España se cultivan unas 121.000 ha de arroz (*Oryza sativa* L.) con rendimientos medios regionales comprendidos entre 5,8 y 9,2 t ha⁻¹ (MAGRAMA, 2014).

Cyperus difformis L es una ciperácea anual que está considerada como una de las principales malas hierbas de arroz, a nivel nacional (Aguilar, 2010) y mundial (Rao et al., 2007).

Penoxsulam es un herbicida del grupo B (inhibidores de la ALS ó AHAS), que fue introducido por Dow AgroSciences en España en 2007, para el control de *Echinochloa* en el cultivo del arroz (Sorribas et al., 2006), pero que también es eficaz contra *C. difformis* (Kogan et al., 2011). Las sustancias activas del grupo B están consideradas particularmente vulnerables a la aparición de resistencias (Yu & Powles, 2014).

Investigaciones conjuntas entre Dow AgroSciences y la Universidad de Sevilla permitieron demostrar la existencia de biotipos de *C. difformis* resistentes a penoxsulam (Pardo et al., 2013) y probablemente también resistentes a otros ALS (Urbano et al., 2013).

El objetivo de este trabajo es obtener herramientas que permitan la detección precoz del riesgo de aparición de resistencias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado dos tipos de ensayos: a) ensayos de cámara y b) ensayos de campo.

Durante los meses de febrero y marzo de 2014 se recogieron muestras de suelo de 67 parcelas que iban a ser posteriormente sembradas de arroz. En cada parcela se tomaron 7-10 muestras de 100 g, elegidas al azar, de los primeros 5 cm de suelo. Todas las muestras fueron secadas en condiciones de laboratorio y fueron mezcladas para obtener una muestra por parcela. En Andalucía (Sevilla), Extremadura (Badajoz), Valencia y Cataluña (Delta del Ebro) las parcelas (15 por cada zona, y 22 en el Delta del Ebro) fueron seleccionadas por tener referencias de infestaciones problemáticas en campañas pasadas.

Ensayos de cámara

Los ensayos de cámara se han realizado en condiciones controladas, con 26 °C, 59% de humedad relativa y fotoperiodo de 14 horas de luz. En estas condiciones se incubaron muestras de suelo manteniéndolas continuamente en condiciones de saturación de agua. Las plantas de *C. difformis* fueron trasplantadas a macetas individuales (6,5 x 6,5 x 8 cm) conforme alcanzaban el estado de 2 hojas (BBCH = 12). Las macetas habían sido previamente llenadas con sustrato hortícola (Compost Sana Universal). Por lo tanto la unidad experimental fue de 1 maceta con una planta de *C. difformis*, y el diseño experimental fue: 67 parcelas x 20 macetas x 1 repetición. Las macetas estaban ordenadas al azar dentro de la cámara. Además se introdujeron en los ensayos de cámara, 6 poblaciones testigos de respuesta conocida a penoxsulam (4 poblaciones resistentes y 2 poblaciones sensibles) procedentes de un ensayo previo (Pardo et al., 2013).

Todas las plantas fueron pulverizadas con 120 g m.a.ha⁻¹ de penoxsulam. Para ello se usó el producto Viper OD (19,97 g m.a. L⁻¹ de penoxsulam). El tratamiento se realizó con un pulverizador de precisión (PULVEXPER), con una barra de 3 metros equipada con 6 boquillas 11002VP (TEEJET). El equipo fue calibrado para aplicar una dosis de caldo de 200 L.ha⁻¹ a una presión de 350 kPa.

Para cada planta se tomó el dato de altura y BBCH a los 0, 15 y 30 días desde el tratamiento (DDT ó DAT).

Todos los análisis estadísticos y gráficos fueron realizados con el programa R (R Development Core Team, 2011), usando el paquete ggplot2 (Wickham, 2009).

Ensayos de campo

Con los resultados de los ensayos de cámara se seleccionaron 7 parcelas en las que se establecieron ensayos de campo (6 de ellas presentaban varios de los índices estudiados altos y 1 parcela resultaba en cámara ser bastante controlada por el herbicida). Se utilizó un diseño de bloques al azar con 7 localidades x 5 tratamientos x 2 repeticiones. La unidad experimental fue una parcela de 6 x 3 m.

De los 5 tratamientos, sólo se incluyen 2 en este trabajo, que consistieron en dos dosis de penoxsulam (40 y 120 g m.a.ha⁻¹). Los tratamientos fueron realizados con el mismo equipo y calibración que el ensayo de cámara. Las fechas de aplicación, densidad de *C. difformis* y BBCH se pueden ver en la Tabla 1. Para seguir las mismas prácticas del agricultor, las parcelas fueron reinundadas a las 24 horas del tratamiento.

Los datos tomados fueron densidad de malas hierbas el día del tratamiento (0 DAT) y eficacia (en porcentaje a los 30 días (30 DAT)).

Tabla 1. Datos de los ensayos de campo el día del tratamiento.

| Parcela* | Fecha del tratamiento | BBCH | Densidad de <i>C. difformis</i> (Plantas/m ²) |
|----------|-----------------------|-------|---|
| SEAG | 10-Jun-14 | 13-14 | 95 |
| SECA | 23-Jun-14 | 12-14 | 40 |
| BAVA | 30-May-14 | 13-14 | 123 |
| BATO | 3-Jun-14 | 13-14 | 120 |
| BAPE | 10-Jun-14 | 13-15 | 280 |
| BAVP | 30-May-14 | 12-13 | 240 |
| VA13 | 30-May-14 | 11-12 | 20 |

*Las dos primeras letras de la parcela hacen referencia a la zona (Sevilla, Badajoz, Delta y Valencia)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos de cámara: índices de resistencia

Los resultados en cámara se expondrán y analizarán en seis índices, del I1 al I6 según se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Índices generados a partir de parámetros obtenidos de la cámara de cultivo. Los índices I1, I2 y I5 aportan información a nivel de campo, mientras que los índices I3, I4 y I6 aportan información a nivel de planta.

| Índice | Concepto |
|--------|---|
| I1 | % de supervivientes (30 DDT) a la aplicación de 120 g a.i./ha de penoxsulam |
| I2 | % de supervivientes, con altura > 10 cm (30 DDT) |
| I3 | Altura 15 DDT - Altura 0 DDT |
| I4 | Desviación respecto de la regresión (Altura 15DDT = a + b* Altura 0DDT) |
| I5 | Desviación respecto de la regresión, para cada parcela |
| I6 | Desviación estándar de I5 |

1.- *Índice I1*. El primer índice obtenido (I1) es el porcentaje de plantas que sobreviven al tratamiento con 120 g. g m.a.ha⁻¹ de penoxsulam. Los resultados demuestran que se puede conseguir información valiosa a partir del banco de semillas presente en muestras de suelo recolectadas en invierno. De esta forma es posible tener resultados antes de la siembra del cultivo. Este índice presenta el inconveniente de que proporciona datos por parcela y no por individuo. El valor de I1 fue 0 en el 51% de las poblaciones, lo cual confirma la eficacia de este herbicida descrita por otros autores (Sorribas et al., 2006; Kogan et al., 2011). Sin embargo el 49% de los bancos de semillas estudiados tenían al menos un 5% (1 de 20) de individuos que sobrevivían al penoxsulam. Los testigos resistentes

presentaron valores de I1 superiores al 50%, confirmándose el resultado obtenido por Pardo et al. (2013).

Un segundo inconveniente que presenta el índice I1 es que la distinción dicotómica entre planta viva y planta muerta no tiene en cuenta el grado de fitotoxicidad, de modo que una planta puede sobrevivir sin efectos fitotóxicos y ser competitiva en el cultivo, o puede sobrevivir a pesar de estar seriamente dañada.

2.- *Índice I2.* Se propone un segundo índice (I2) que se obtiene calculando el porcentaje de supervivientes con altura superior a los 10 cm a los 30 DAT. De esta forma se diferencia entre tres tipos de respuesta a nivel de planta: a) planta que no sobrevive al tratamiento (S); b) planta que sobrevive pero los 30 DAT la altura no supera los 10cm, debido al efecto fitotóxico (r); y c) planta que sobrevive sin presentar importantes fitotoxicidades (R). El valor I2 de cada parcela o población es por lo tanto el porcentaje de individuos R.

El índice I2 además de ser un parámetro de la población (no de la planta) presenta el inconveniente de que depende de la altura de la planta el día del tratamiento.

3.- *Índice I3.* Se sugiere el índice I3 que es la diferencia de alturas en los primeros 15 días después del tratamiento (15 DAT). Este índice I3 permite identificar tres tipos de respuestas: a) Plantas que continúan creciendo después del tratamiento ($I3 > 0$); b) Plantas que no crecen como consecuencia del tratamiento ($I3 = 0$); c) Plantas que a los 15 DAT presentan una altura menor que a 0 DAT ($I3 < 0$).

Pero el índice I3 presenta el inconveniente de que depende del estado fenológico de la planta el día del tratamiento (González-Blanco et al., 2013).

4.- *Índice I4.* Se plantea utilizar un cuarto índice (I4) que consistiría en las desviaciones respecto de la regresión lineal conjunta (Figura 1): $Altura_{15DAT} - a - b * Altura_{0DAT}$ de modo que plantas con valores de I4 positivos son plantas que a los 15 días presentaban una altura superior a la esperada (posiblemente resistentes), mientras que plantas con valores de I4 negativos corresponden a plantas con altura inferior a la esperada (sensibles). Sin embargo dado que la pendiente de la recta de regresión (b) es 1,02, los resultados de los índices I3 e I4 son prácticamente idénticos, y los inconvenientes también.

5.- *Índice I5.* El índice I5 es semejante al I4 en el sentido de que se trata de las desviaciones respecto de la regresión lineal, pero en este caso la regresión se realiza población por población, tal como se puede apreciar en la Figura 1. En la citada figura se puede observar que las rectas de regresión son diferentes entre las distintas poblaciones de C.

difformis. Las regresiones con poca pendiente corresponden a poblaciones en las que la altura de la planta a los 0 DDA influye poco en la respuesta al tratamiento, mientras que las poblaciones con mucha pendiente se refieren a poblaciones en las que la altura de la planta (0 DDA) condiciona la eficacia del tratamiento. Y además de la pendiente, se puede ver que hay poblaciones con mayores desviaciones respecto de la recta de regresión. Mayores desviaciones indican que hay otros factores, distintos de la altura a los 0 DDA que condicionan el resultado, y entre esos factores se encuentra la resistencia genética.

6.- *Índice 16*. Finalmente se propone el índice I6, que consiste en las desviaciones estándar del I5. De esta forma, el índice I5 permite identificar individuos potencialmente resistentes, mientras que el I6 permite identificar poblaciones particularmente problemáticas por la diversidad de respuestas frente al herbicida.

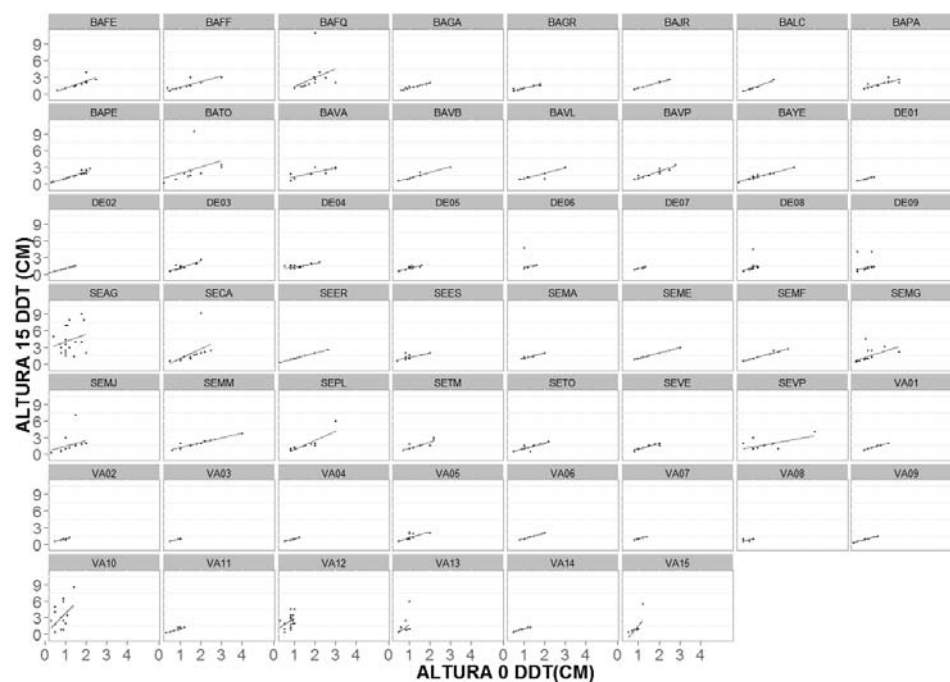


Figura 1. Relación entre altura el día del tratamiento (0 DDA) y 15 días después (15 DDA) por poblaciones. Las primeras 2 letras de la población hacen referencia a la zona (Badajoz, Sevilla, Delta, Valencia). Los puntos indican la respuesta de la planta y las líneas la regresión.

Resultados de los ensayos de campo

En la Tabla 3 se presentan los resultados de eficacia (con dos dosis de penoxsulam), en 7 parcelas, y se puede observar que el aumento de la

dosis de herbicida mejora los resultados de eficacia. También se puede ver que los resultados de campo confirman el valor de los índices obtenidos en cámara, en el sentido de que las poblaciones con mayores valores de I2 presentaron las menores eficacias en campo. Sin embargo, es importante indicar que los ensayos de campo proporcionaron información sobre el nivel de eficacia actual, pero no sobre el riesgo de problemas futuros. Merece la pena señalar el caso de la población VA13, que es aparentemente sensible en campo, lo cual coincide con el valor del índice I2, pero se trata de una población en la cual el elevado valor de I6 está avisando de que aplicaciones continuadas del herbicida presentan un elevado riesgo de resistencias.

Tabla 3. Tabla resumen de eficacias conseguidas en campo e índices de screening para 7 parcelas.

| Parcela | EF40 | EF120 | I1 | I2 | I3 | I4 | I6 |
|---------|------|-------|-------|----|------|-------|------|
| SEAG | 10 | 60 | 61,11 | 50 | 3,08 | 3,21 | 2,40 |
| BATO | 55 | 71 | 40,00 | 30 | 1,00 | 0,85 | 2,41 |
| BAVP | 5 | 78 | 21,43 | 21 | 0,19 | -0,06 | 0,26 |
| BAVA | 20 | 60 | 40,00 | 20 | 0,10 | -0,16 | 0,48 |
| SECA | 75 | 85 | 23,53 | 18 | 0,36 | 0,13 | 1,72 |
| VA13 | 93 | 98 | 11,76 | 6 | 0,41 | 0,00 | 1,22 |
| BAPE | 43 | 90 | 16,67 | 0 | 0,10 | -0,15 | 0,21 |

EF40: Eficacia del penoxsulam observada en campo a 40 g. m.a.ha⁻¹.

EF120: Eficacia del penoxsulam observada en campo a 120 g. m.a.ha⁻¹.

I1: % Supervivencia.

I2: % Supervivientes con una altura superior a 10 cm.

I3: Crecimiento a los 15 días. Altura 15DDT Altura ODDT.

I4: Desviación respecto a la regresión en conjunto.

I6: Desviación estándar de I5.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en cámara han permitido elaborar 6 índices (I1 a I6) que pueden ser de utilidad para la detección precoz de resistencias. Particularmente interesantes son los índices I2 para identificar las parcelas con mayores probabilidades de fallos de control, el I5 para identificar los individuos con mayor probabilidad de ser resistentes, y el I6 para identificar las parcelas con mayor riesgo futuro de aparición de resistencias. Adicionalmente se realizaron ensayos de campo en 7 parcelas, los cuales confirmaron la utilidad del índice I2, pero no llegaron a suministrar datos equivalentes a los proporcionados por I5 e I6.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de los 67 agricultores que han puesto sus fincas a nuestra disposición para que podamos estudiar el problema de *C. difformis*.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR M (2010) Producción integrada del arroz en el sur de España. Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación.
- GONZÁLEZ-BLANCO J, SENERO E, ROMANO Y, OSUNA MD & PALMERÍN JA (2013) Control químico de *Cyperus difformis* en diferentes estadios de desarrollo. *Phytoma España* 250, 95-99.
- KOGAN M, GOMEZ P, FISCHER & ALISTER C (2011) Using penoxsulam ALS inhibitor as a broad-spectrum herbicide in Chilean rice. *Ciencia e Investigación Agraria* 38(1), 83-93.
- MAGRAMA (2014) Encuesta de superficies y producciones cultivos herbáceos y extensivos. www.magrama.gob.es. Visitada el 10 octubre de 2014.
- PARDO G, HENS R, ESPEJO R, PANIAGUA L & URBANO J (2013) *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Dosis respuesta. In: Osca et al. (eds) XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Valencia, España.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing R. D. C. Team, ed. R Foundation for Statistical Computing 1(2.11.1), 409. Disponible: www.r-project.org.
- RAO AN, JOHNSON DE, SILVAPRASAD B, LADHA J & MORTIMER M (2007) Weed management in direct-seeded rice. *Advances in Agronomy* 93(Suppl.), 153-255.
- SORRIBAS AM, ROMERO M, BERNES R & LARELLE D (2006) Penoxsulam, el nuevo herbicida para el cultivo del arroz. *Phytoma España* 182, 106-109.
- URBANO J, ESPEJO R, HENS R & PANIAGUA L (2013) *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Materias alternativas. En XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Valencia, Spain.
- WICKHAM H (2009) ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer, New York.
- YU Q & POWLES SB (2014) Resistance to AHAS inhibitor herbicides: Current understanding. *Pest Management Science* 70, 1340-1350.