

# Caracterización de la resistencia herbicida de poblaciones españolas de *Chloris truncata* frente a glifosato

## Characterization of herbicide resistance of Spanish populations of *Chloris truncata* against glyphosate

German Mora<sup>1,\*</sup>, Jordi Recasens<sup>1</sup>, María Dolores Osuna<sup>2</sup>, Miriam Gil Monreal<sup>3</sup> & Joel Torra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia e Ingeniería Forestal y Agrícola. Agrotecnio CERCA Center. Universidad de Lleida. 25198 Lleida, España

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Plasencia, España

<sup>3</sup>Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus de Arrosadía, Pamplona, España

(\*E-mail: german.mora@udl.cat)

<https://doi.org/10.19084/rca.35026>

Recibido/received: 2024.01.15

Aceptado/accepted: 2024.02.28

### RESUMEN

*Chloris truncata* R. Br es una gramínea perenne con vía fotosintética C4. Es originaria de Australia, pero actualmente se distribuye en otras regiones subtropicales del mundo. En España se considera una especie alóctona naturalizada, en márgenes de carretera, principalmente en Extremadura y Cataluña. Actualmente, se han reportado fallos en su control con glifosato. Estudios previos reportan que la resistencia a herbicidas se basa en la amplificación del gen *EPSPS*. En 2022 se recolectaron semillas de plantas de campo supervivientes a tratamientos con glifosato en Talayuela – Extremadura (CTT-R); como material sensible de referencia se usó una población procedente de Australia (CTA-S). Se realizaron pruebas preliminares (invernadero) en plántulas con cuatro hojas (BBCH 14), con dosis de (1.5 y 3 L ha<sup>-1</sup>) 540 y 1080 g i.a. ha<sup>-1</sup> de glifosato, sobreviviendo un 100%. En el mismo año, se llevaron a cabo, ensayos de dosis – respuesta con un rango de dosis entre 270 y 8,640 g i.a. ha<sup>-1</sup>. A los 28 días después del tratamiento (DAT), se evaluó el porcentaje de supervivencia y se determinaron valores de: 1.146,7 y 321,34 g i.a. ha<sup>-1</sup> para la GR<sub>50</sub> con un Factor de Resistencia (RF) de 3,7 veces; para LD<sub>50</sub> 1.882,9 y 712.5 g i.a. ha<sup>-1</sup> con un RF de 2.6 para las poblaciones CTT-R y CTA-S, respectivamente. Actualmente se llevan a cabo experimentos complementarios de dosis-respuesta con nuevas poblaciones recolectadas en Extremadura y Cataluña, para confirmar o no, la presencia de otros biotipos resistentes al glifosato y dilucidar el mecanismo de resistencia involucrado.

**Palabras-clave:** dosis – respuesta, planta exótica invasora, resistencia a herbicidas, glifosato.

### ABSTRACT

*Chloris truncata* is a perennial grass with a C4 photosynthetic pathway. It is native to Australia, but it is currently distributed in other subtropical regions of the world. In Spain, it is considered a naturalized allochthonous species, mainly in Extremadura and Catalonia. Currently, there have been reported failures in its control with glyphosate. Previous studies report that herbicide resistance is based on *EPSPS* gene amplification. In 2022, seeds were collected from field plant survivors of glyphosate treatments in Talayuela – Extremadura (CTT-R); a population from Australia (CTA-S) was used as sensitive reference material. Preliminary tests (greenhouse) were carried out on seedlings with four leaves (BBCH 14), with doses of (1.5 and 3 L ha<sup>-1</sup>) 540 and 1080 g a.i. ha<sup>-1</sup> of glyphosate, with 100% survival. In the same year, dose-response trials were carried out with a dose range between 270 and 8,640 g a.i. ha<sup>-1</sup>. At 28 days after treatment (DAT), the survival percentage was evaluated and values of: 1,146.7 and 321.34 g a.i. ha<sup>-1</sup> were determined with a Resistance Factor (RF) of 3.7 times according to GR<sub>50</sub>; for LD<sub>50</sub> 1,882.9 and 712.5 g a.i. ha<sup>-1</sup> with RF of 2.6 for the CTT-R and CTA-S populations, respectively. Complementary dose-response experiments are currently being carried out with new populations collected in Extremadura and Catalonia, to confirm or not, the presence of other glyphosate-resistant biotypes and to elucidate the resistance mechanism involved.

**Keywords:** dose-response, invasive alien plant, herbicide resistance, glyphosate.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas alóctonas o invasoras representan una amenaza significativa para la agricultura y los agrosistemas, ya que compiten directamente con los cultivos por recursos como agua, nutrientes y luz solar. Estas plantas indeseadas, pueden reducir la productividad de los cultivos al limitar su crecimiento y rendimiento. En general, cuentan con ventajas biológicas, que permiten su establecimiento en nuevos entornos, como por ejemplo la mayor tolerancia a las condiciones adversas, como la sequía, la salinidad, el frío o el calor, también se adaptan mejor a las condiciones cambiantes del entorno, permitiéndoles sobrevivir a cambios en el clima o la composición del suelo. A esto se suma, una mayor capacidad reproductiva y de dispersión de semillas, facilitando colonizar nuevas áreas rápidamente. Estas ventajas competitivas permiten a las plantas alóctonas desplazar a las plantas locales y alterar los ecosistemas naturales (Arán *et al.*, 2013).

*Chloris truncata* R. Br, es una Poácea perenne, de vida corta, generalmente de dos a tres años, estolonífera, con mecanismo fotosintético C4, altura de 20-50 cm, vainas glabras; lígulas ciliadas cortas; limbo glabro a escabroso con dimensiones de 9 - 19 cm de longitud y 0,2 - 0,3 mm de ancho; de 5 -10 espigas de 5-23 cm de longitud, radiada y de color negro cuando están maduras. Para su tamaño, es una planta altamente eficiente en la producción de semillas, llegando a producir 300 - 500 semillas por planta (Weller *et al.*, 2019), y 60.000 semillas m<sup>-2</sup> (Borger *et al.*, 2011). Es una especie nativa de Australia, encontrándose desde el sur de Queensland hasta el sur de Australia Occidental, diseminándose vía contaminación de la lana, pasturas, ornamental (compra por internet) (Michael *et al.*, 2012), desde donde se ha introducido en otras zonas subtropicales y cálidas del mundo, como Nueva Zelanda, África, centro y Suramérica y Europa.

En los países donde se ha establecido, se encuentra principalmente en bordes de carretera (hábitats poco perturbados), no obstante, debido al aumento de la labranza cero o siembra directa, ha colonizado los campos agrícolas (Osten, 2012). En Australia, *C. truncata* ocupa la posición 8 de 20, en la lista

de las principales especies de malas hierbas de los barbechos estivales, generando disminuciones del rendimiento en los cereales en torno a la 36.781 tn y pérdidas económicas alrededor de 9.1 millones de dólares australianos por año (Llewellyn *et al.*, 2016). Es de resaltar que el género *Chloris* presenta cierta tolerancia natural al glifosato (Barroso *et al.*, 2014), sin embargo, en 2018 se reportó la resistencia al glifosato mediante la amplificación del gen de la EPSPS (32-48 copias más del gen en las plantas resistentes en comparación a las plantas susceptibles) como mecanismo principal (Ngo *et al.*, 2018).

En España, se ha reportado su presencia, en Islas Canarias, Tenerife, específicamente en el Parque Nacional del Teide, clasificándose en la categoría IV (alóctonas en las que no se ha comprobado su carácter invasor) (García *et al.*, 2003). En Cataluña, se ha localizado en la provincia de Tarragona, en Cambrils, siendo posiblemente la primera población establecida en el continente europeo (Verloove, 2005), Montbrió del Camp y Mont-roig del Camp (Verloove *et al.*, 2019), y recientemente, en 2023, cerca al puerto de Tarragona; también en la Provincia de Barcelona, Caldes de Montbuí y Terrasa (Gullón & Verloove, 2015). En Extremadura, se encuentra en la Provincia de Cáceres, en el Valle de Jerte desde la localidad de Plasencia a Cabezuela del Valle, a lo largo de la carretera N-110 (Vázquez, 2008); también en la Comunidad Valenciana, en Nules, Burriana, Villareal y Valencia (Verloove, 2023); todas en bordes de caminos o áreas no agrícolas, excepto una población de Nules - Valencia, dentro de campos de frutales.

## MATERIALES Y METODOS

### *Material vegetal*

Se evaluaron 6 poblaciones de *C. truncata* recolectadas en campo en los años 2022 y 2023. De estas, 2 poblaciones eran originarias de Extremadura, Talayuela (CTT-R) y Badajoz (CTB-R), clasificadas como presuntamente resistentes y 3 poblaciones catalanas de Cambrils (CTP-S y CTC-S), Tarragona (CTR-S) y una población originaria de Australia (CTA-S), clasificadas previamente con sensibles a glifosato.

## Herbicidas evaluados

Para evaluar la sensibilidad de *C. truncata* a glifosato (inhibidores de la EPSPS - grupo 9), se evaluó el Roundup Plus®, (Bayer, sal isopropilamina, 36% p/v). La aplicación se realizó con un pulverizador de precisión estático de banco que suministraba 200 L ha<sup>-1</sup> a una presión de 215 kPa, con boquilla (amarilla) de abanico plano ISO 11002.

## Obtención del material vegetal

Las semillas fueron sembradas en bandejas de aluminio, con sustrato de turba (Klasman Tray Substrats, 50% turba negra – 50% turba rubia, pH: 6) humedecida. Las bandejas se colocaron en cámara de crecimiento, a 28/20 °C día/noche y un fotoperiodo de 12/12 horas, bajo una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de 350- $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Después de cinco días, las plántulas se trasplantaron (según diseño experimental) en macetas de plástico de 7 cm x 7 cm x 10 cm, con un sustrato a base de tierra (textura limosa) y turba en una relación 1:1. Se aplicaron tres pulsos (1 minuto por pulso) de riego por día mediante micro aspersores de mesa con un caudal de 80 L ha<sup>-1</sup>. Se dejaron en el invernadero de Malherbología de la Universitat de Lleida (41.629N, 0.598E) hasta que tuvieron 5 hojas (BBCH 15), estado fenológico en el que se aplicaron los diversos tratamientos herbicidas.

## Ensayos de dosis - respuesta

Se implementaron los mismos rangos de dosis de glifosato para todas las poblaciones: 0, 270, 540, 1080 (dosis de campo, 3 L ha<sup>-1</sup>), 1620, 2160, 3240, 4320 y 8640 g i.a. ha<sup>-1</sup>. Por cada población se estudiaron diez repeticiones (dos plantas por maceta = una repetición), en un diseño completamente aleatorio. La determinación de porcentaje de supervivencia y peso fresco se evaluó a los 28 días después de tratamiento.

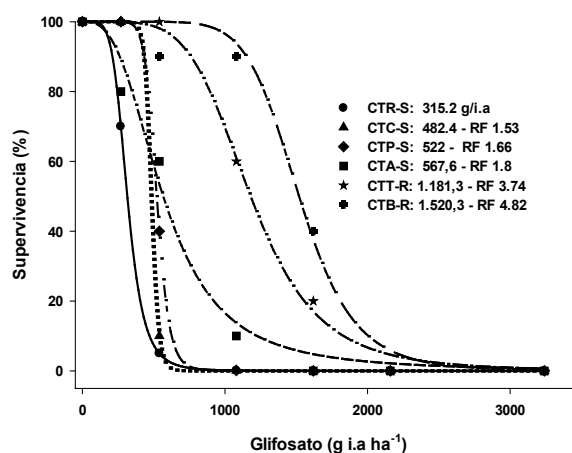
## Análisis estadístico

Los datos de los experimentos de dosis-respuesta se analizaron utilizando un modelo de regresión no lineal, con SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc.,

San José, CA, EE.UU.). La tasa de herbicida necesaria para una reducción del 50% del crecimiento de las plantas (GR<sub>50</sub>) o del 50% de la mortalidad de las plantas (LD<sub>50</sub>) se calculó con el uso de una curva logística de cuatro parámetros:  $y = c + (d - c) 1 + \text{EXP}[b(\log(x) - \log(\text{GR}_{50} \text{ or } \text{LD}_{50}))]$  donde  $c$  = el límite inferior ajustado a 0,  $d$  = el límite superior ajustado a 100 y  $b$  = la pendiente a la DL<sub>50</sub> o GR<sub>50</sub>. En esta ecuación de regresión, la tasa de herbicida (g i.a. ha<sup>-1</sup>) fue la variable independiente (x) y el peso seco de las plantas expresado como porcentaje del control no tratado o la mortalidad fueron las variables dependientes (y). El Factor de resistencia (FR) se calculó como LD<sub>50</sub>(R)/LD<sub>50</sub>(S).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el porcentaje de supervivencia basados en LD<sub>50</sub> (Figura 1), el 50% de las poblaciones sensibles (CTR – CTC – CTP - CTA) sobrevivió a tasas de glifosato comprendidas entre de 315.2 y 567.6 g i.a. ha<sup>-1</sup> y FR entre 1.53 y 1.88, respectivamente. Estos valores son cercanos a la dosis mínima de registro (540 g i.a. ha<sup>-1</sup> o 1.5 L ha<sup>-1</sup>), lo que demuestra cierto



**Figura 1** - Gráficos de dosis – respuesta para valores de LD<sub>50</sub>, que muestran los ajustes sigmoidales para el porcentaje (%) de supervivencia respecto a controles no tratados en seis poblaciones (cuatro sensibles: CTR-S, CTC-S, CTP-S, CTA-S y dos presuntamente resistentes: CTT-R, CTB-R) de *Chloris truncata* tratadas con glifosato. LD<sub>50</sub>: dosis letal media para el 50% de la población. RF: Factor de Resistencia, representan el cociente entre los parámetros LD<sub>50</sub> de la población R y la población S.

grado de tolerancia natural a este herbicida. Sin embargo, estas poblaciones, con las dosis de campo de 1.5 – 3 L ha<sup>-1</sup>, aun son controladas eficientemente. Por otra parte, las poblaciones presuntamente resistentes (CTT y CTB) presentaron valores de LD<sub>50</sub> de 1.181,3 y 1.520,3 g i.a. ha<sup>-1</sup> lo que equivale a FR de 3.74 y 4.82, respectivamente. Estas poblaciones se comportaron como resistentes puesto que para controlar el 50% de su población, se necesitan dosis mayores a las recomendadas (1.080 g i.a. ha<sup>-1</sup> – 3 L/ha). En campo, para controles > 90%, las poblaciones resistentes, requerirán volúmenes de glifosato de 5.1 - 5.6 L ha<sup>-1</sup>.

## CONCLUSIONES

Basados en los ensayos de dosis – respuesta, las poblaciones extremeñas, procedentes de Badajoz

(CTB-R) y Talayuela (CTT-R), presentan mayor nivel de resistencia a glifosato que las poblaciones catalanas (CTC-S – CTP-S y CTR-S) y australiana (CTA-S), con factores de resistencia de 3.74 y 4.82, respectivamente. El control efectivo de malas hierbas invasoras y con resistencia a herbicidas, como el caso de *Chloris truncata*, es esencial para preservar la productividad agrícola, reducir costos, minimizar el impacto ambiental y fomentar prácticas agrícolas sostenibles. La gestión integrada de malas hierbas es crucial para abordar este desafío de manera efectiva.

## NOTA

Este trabajo es un avance de la tesis doctoral de German Mora, desarrollada en la Universitat de Lleida, aun en curso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arán, D.; García-Duro, J.; Reyes, O. & Casal, M. (2013) - Fire and invasive species: Modifications in the germination potential of *Acacia melanoxylon*, *Conyza canadensis* and *Eucalyptus globulus*. *Forest Ecology and Management*, vol. 302, p. 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.02.030>
- Barroso, A.A.M.; Albrecht, A.J.P.; Reis, F.C.; Placido, H.F.; Toledo, R.E.; Albrecht, L.P. & Filho, R.V. (2014) - Different glyphosate susceptibility in *Chloris polydactyla* accessions. *Weed Technology*, vol. 28, n. 4, p. 587–591. <https://doi.org/10.1614/WT-D-14-00039.1>
- Borger, C.; Riethmuller, G. & Hashem, A. (2011) - Emergence, survival, biomass production, and seed production of *Chloris truncata* (windmill grass) in the Western Australian wheatbelt. *Crop Pasture Science*, vol. 62, n. 8, p. 678-685. <https://doi.org/10.1071/CP11018>
- García, R.; Quintanar, A. & Castroviejo, S. (2003) - *Estudio preliminar de las plantas vasculares alóctonas de los parques nacionales españoles*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid, España. 28 pp.
- Gullón, E. & Verloove, F. (2015) - New records of interesting xenophytes in the Iberian Peninsula. *V. Lazaroa*, vol. 36, p. 43-50.
- Llewellyn, R.; Ronning, D.; Clarke, M.; Mayfield, A.; Walker, S. & Ouzman, J. (2016) - *Impact of Weeds in Australian Grain Production*. Grains Research and Development Corporation, Canberra, ACT, Australia, p. 24-108.
- Michael, P.J.; Yeoh, P.B. & Scott, J.K. (2012) - Potential Distribution of the Australian Native *Chloris truncata* Based on Modelling Both the Successful and Failed Global Introductions. *PLoS ONE*, vol. 7, art. e42140. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042140>
- Ngo, T.D.; Malone, J.M.; Boutsalis, P.; Gill, G. & Preston C. (2018) - EPSPS gene amplification conferring resistance to glyphosate in windmill grass (*Chloris truncata*) in Australia. *Pest Management Science*, vol. 74, n. 5, p. 1101-1108. <https://doi.org/10.1002/ps.4573>
- Osten, V. (2012) - *Feathertop Rhodes Grass: A Best Weed Management Guide*. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Queensland, Brisbane, Australia.
- Vázquez, F.M. (2008) - Anotaciones Corológicas a la Flora en Extremadura: 011, *Chloris truncata* R.Br. *Folia Botanica Extremadurensis*, vol. 2, p. 59-62.
- Verloove, F. (2005) - New records of interesting xenophytes in Spain. *Lazaroa*, vol. 26, p. 141-148.
- Verloove, F.; Aymerich, P.; Gómez Bellver, C. & López-Pujol, J. (2019) - Chorological notes on the non-native flora of the province of Tarragona (Catalonia, Spain). *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural*, vol. 83, p. 133-146. <https://doi.org/10.2436/20.1502.01.18>
- Verloove, F. (2023) - *Chloris truncata*. *Observation.org*. [cit. 2023.12.28]. <https://observation.org/observation/287672962/>
- Weller, S.; Florentine, S.; Mutti, N.; Jha, P. & Chauhan, B.S. (2019) - Response of *Chloris truncata* to moisture stress, elevated carbon dioxide and herbicide application. *Scientific Reports*, vol. 9, art. 10721. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47237-x>