



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**RESISTENCIA DE *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. A
HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ACETIL COENZIMA A
CARBOXILASA Y ACETOLACTATO SINTETASA**

JOVANY BOLAÑOS JIMÉNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

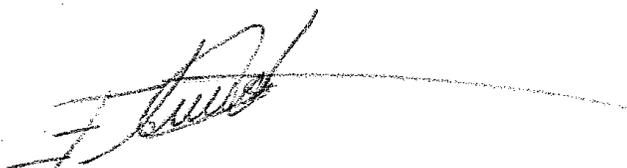
2017

La presente tesis titulada: **RESISTENCIA DE *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. A HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASA Y ACETOLACTATO SINTETASA** realizada por el alumno: **JOVANY BOLAÑOS JIMÉNEZ** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



DR. EBANDRO USCANGA MORTERA

ASESOR (A)



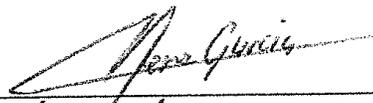
M.C. J. ANTONIO TAFOYA RAZO

ASESOR (A)



DR. JOSUÉ KOHASHI SHIBATA

ASESOR (A)



Dr. JESÚS RUBÉN TORRES GARCÍA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2017

**RESISTENCIA DE *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. A HERBICIDAS
INHIBIDORES DE LA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASA Y
ACETOLACTATO SINTETASA**

Jovany Bolaños Jiménez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

La interferencia de las malezas en los cultivos de cereales de grano pequeño (trigo y cebada), es una de las limitantes que impiden el incremento del rendimiento. En el manejo de las malezas, el empleo de herbicidas destaca dentro de las medidas de control, ya que una vez establecidos los cultivos, difícilmente se pueden realizar otras prácticas. Sin embargo, el uso continuo de herbicidas con el mismo modo de acción, es una de las causas de la evolución de malezas resistentes. Se condujo una investigación con los objetivos de estimar la efectividad biológica de herbicidas de uso común en trigo sobre poblaciones de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. provenientes del estado de Guanajuato y determinar la presencia de resistencia cruzada y/o múltiple. Semillas de *E. crus-galli* de diferentes áreas agrícolas se recolectaron en el estado de Guanajuato, en las que se evaluaron herbicidas inhibidores de la ACCasa (clodinafop propargil y pinoxaden) y ALS (flucarbazone sódico, mesosulfuron metil + iodosulfuron metil). Se determinó la efectividad biológica de los herbicidas, la relación dosis-respuesta (valores de inhibición de crecimiento ED₅₀) y el índice de resistencia (IR). Los mejores controles fueron exhibidos por ambos herbicidas inhibidores de la ACCasa, ya que todos los biotipos evaluados mostraron un alto grado de susceptibilidad (> 94 %). Se confirmó la resistencia cruzada de dos biotipos a los herbicidas inhibidores de ALS. No se encontró resistencia múltiple para los biotipos de *E. crus-galli* en estudio.

Palabras clave: Gramínea, control-químico, efectividad, resistencia, dosis-respuesta.

***Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. RESISTANCE TO
ACETYL COENZYME A CARBOXYLASE AND ACETOLACTATE SYNTHASE
INHIBITORS HERBICIDES**

Jovany Bolaños Jiménez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

Weed interference in small grain cereal crops (wheat and barley) is one of the constraints that prevent yield increases. In weed management, the use of chemicals stands out within the control measures, since once the crops are established, it is difficult to carry out other practices. However, the continuous use of herbicides with the same mode of action is one of the causes of the evolution of resistant weeds. An investigation was conducted with the objective of estimating the biological effectiveness of herbicides commonly used in wheat on *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. from the state of Guanajuato and to determine the presence of cross and/or multiple resistance. *E. crus-galli* seeds from different agricultural areas were collected in the state of Guanajuato, on which ACCase inhibitor herbicides (clodinafop propargil and pinoxaden) and ALS (flucarbazone sodium, mesosulfuron methyl + Iodosulfuron methyl) were evaluated. The biological effectiveness of the herbicides, the dose-response relationship (ED50 growth inhibition values) and the resistance index (IR) were determined. The best controls were exhibited by both inhibitor herbicides of the ACCase, since all the evaluated biotypes exhibited a high degree of susceptibility (> 94%). Cross-resistance in two biotypes to ALS inhibitor herbicides was confirmed. No multiple resistance was found for the *E. crus-galli* biotypes under study.

Key words: Gramineae, chemical-control, effectiveness, resistance, dose-response.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme permitido concluir otro paso importante en mi vida profesional y darme la fortaleza necesaria en los momentos difíciles.

Al Colegio de Postgraduados, por permitirme realizar mis estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para llevar a cabo mis estudios de postgrado.

A la empresa “STOCKTON MÉXICO y STOCKTON GROUP” por haberme concedido las facilidades para realizar mis estudios de postgrado.

Al Dr. Ebandro Uscanga Mortera por su acertada dirección, sus valiosas aportaciones y tiempo brindado para realizar esta investigación; así mismo, por su confianza, amistad y el apoyo incondicional brindado para obtener el grado deseado.

A el M.C. J. Antonio Tafoya Razo, Dr. Josué Kohashi Shibata y el Dr. Jesús Rubén Torres Garcia por sus valiosas aportaciones a mi investigación.

Al Dr. Andrés Bolaños Espinoza por su valiosa asesoría brindada durante toda mi investigación, quien además de ser un excelente padre, es un verdadero amigo y ejemplo de vida a seguir.

Al Dr. Bernal E. Valverde por el apoyo brindado para el análisis de la información de la presente investigación.

A todos y cada uno de las personas que compartieron conmigo sus conocimientos y me brindaron su apoyo para aportar un granito de arena a esta investigación.

DEDICATORIA

A mi esposa Rebeca Yesenia Romero Ruiz, por todo su apoyo incondicional, amistad, y paciencia. Eres mi inspiración y motivación de superación personal.

A mis padres Gemma Jiménez Hernández y Andrés Bolaños Espinoza por su cariño, comprensión y apoyo. Los quiero mucho, gracias por todo.

A mis hermanos Edgar y Nehibe y sus respectivas parejas Verónica y Bulmaro, quienes son un gran ejemplo y verdadera inspiración. Gracias por compartir muchos momentos de alegría en compañía de mis hermosos sobrinos Yaaziel, Nayeli, Ximena y Yuliana.

A todos y cada uno de mis familiares que me han acompañado a lo largo de mi desarrollo profesional. Gracias por formar parte importante en mi vida.

A todos mis amigos. Gracias por su amistad incondicional.

CONTENIDO

RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Importancia del trigo.....	2
2.1.1. Producción de trigo en México	2
2.2. Definición de malezas	2
2.3. Importancia de las malezas.....	3
2.3.1. Las malezas en trigo.....	3
2.4. Descripción de <i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.....	4
2.5. Métodos de control de malezas	4
2.5.1. Labores culturales	5
2.5.2. Físico - mecánico.....	6
2.5.3. Biológico	6
2.5.4. Químico	7
2.6. Control de malezas en trigo	8
2.6.1. Grupos importantes de herbicidas usados en el cultivo de trigo.....	8
2.7. Resistencia de malezas a herbicidas	12
2.7.1. Definiciones	12
2.7.2. Historia de la resistencia a herbicidas	13
2.7.3. Evolución de la resistencia	16
2.7.4. Resistencia a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa y ALS....	19
2.7.5. Mecanismos de resistencia	20
2.7.6. Indicadores de resistencia	22
2.7.7. Métodos para detectar o confirmar resistencia.....	23
2.7.8. Manejo para evitar el desarrollo de resistencia	24
III. OBJETIVOS	25
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	25
4.1. Colecta de semillas	25
4.2. Lugar de establecimiento	26

4.3.	Germinación de semillas y trasplante.....	26
4.4.	Diseño experimental.....	26
4.5.	Bioensayo I. Evaluación de la efectividad biológica	27
4.5.1.	Tratamientos.....	27
4.5.2.	Variables respuesta	28
4.5.3.	Análisis estadístico	28
4.6.	Bioensayo II. Dosis - respuesta.....	29
4.6.1.	Variables respuesta y evaluaciones	30
4.6.2.	Determinación de ED ₅₀ e índice de resistencia (IR)	31
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
5.1.	Ensayo I. Evaluación de la efectividad biológica de herbicidas.....	32
5.2.	Ensayo II. Dosis – respuesta.....	41
5.2.1.	Herbicida mesosulfuron metil + iodosulfuron metil	41
5.2.2.	Herbicida flucarbazone sódico.....	43
VI.	CONCLUSIONES.....	47
VII.	LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Biotipos de malezas resistentes a herbicidas reportadas en México....	17
Cuadro 2. Ubicación geográfica de los sitios y fecha de recolecta en el estado de Guanajuato de los biotipos de <i>Echinochloa crus-galli</i>	25
Cuadro 3. Nombre comercial y común, y dosis de aplicación de los herbicidas usados en el estudio de efectividad biológica.	27
Cuadro 4. Escala de Puntuación propuesta por EWRS (European Weed Research Society) para evaluar control de maleza y fitotoxicidad al cultivo, y su interpretación agronómica porcentual.....	29
Cuadro 5. Nombre comercial y común, y dosis de aplicación de los herbicidas empleados en el ensayo de dosis-respuesta.	30
Cuadro 6. Porcentajes de control a los 10 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de <i>E. crus-galli</i> del estado de Guanajuato.	32
Cuadro 7. Porcentajes de control a los 20 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de <i>E. crus-galli</i> del estado de Guanajuato.	34
Cuadro 8. Porcentajes de control a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de <i>E. crus-galli</i> del estado de Guanajuato.	35
Cuadro 9. ED ₅₀ e índice de resistencia (IR) de los biotipos en estudio, para el herbicida mesosulfuron-metil + iodosulfuron-metil.	42
Cuadro 10. ED ₅₀ e índice de resistencia (IR) de los biotipos en estudio, para el herbicida flucarbazone sódico.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incremento cronológico en el número de malezas resistentes a herbicidas pertenecientes a distintos grupos.....	15
Figura 2. Incremento cronológico en el número de casos de resistencia de biotipos de malezas a herbicidas en el mundo.	15
Figura 3. Principales familias botánicas que involucran a las especies de malezas resistentes a herbicidas a nivel mundial.	16
Figura 4. Curva dosis-respuesta, describiendo el comportamiento general de los biotipos de una especie a la acción de un herbicida.	24
Figura 5. Efectos y síntomas observados a los 10 días después de la aplicación de los a) Inhibidores de la ACCasa (pinoxade); b) Inhibidores de la ALS (flucarbazone sódico).....	33
Figura 6. Efecto visual general de los herbicidas inhibidores de la ACCasa (clodinafop propargil y pinoxaden) mostrado sobre los biotipos de <i>E. crus-galli</i> 30 días después de la aplicación.	36
Figura 7. Efecto visual general de los herbicidas inhibidores de la ALS (mesosulfuron metil + iodosulfuron metil y flucarbazone sódico), sobre los biotipos de <i>E. crus-galli</i> 30 días después de la aplicación.	36
Figura 8. Porcentajes de control de los herbicidas inhibidores de la ALS (flucarbazone sódico y mesosulfuron metil + iodosulfuron metil) en biotipos de <i>E. crus-galli</i>	38
Figura 9. Porcentaje de control de los herbicidas inhibidores de la ACCasa (pinoxaden y clodinafop propargil) sobre los biotipos de <i>E. crus-galli</i>	39
Figura 10. Peso fresco de los biotipos de <i>E. crus-galli</i> por unidad experimental a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa.	40
Figura 11. Peso seco de los biotipos de <i>E. crus-galli</i> por unidad experimental a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa.	41

Figura 12. Curvas de dosis-respuesta obtenidas con el peso fresco de los biotipos de *E. crus-galli* en estudio para el herbicida mesosulfuron metil + iodosulfuron metil. 44

Figura 13. Curvas de dosis-respuesta obtenidas con el peso fresco de los biotipos de *E. crus-galli* en estudio para el herbicida flucarbazone sódico. 45

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo, la producción de cereales representa una actividad agrícola muy importante. En México, después del maíz, el trigo es un producto básico para la alimentación. En el año 2015, la superficie cosechada de trigo grano fue de 819, 928 ha, con una producción de 3, 710, 706 t y un valor de la misma de poco más de 14 mil millones de pesos. Las entidades federativas con mayor superficie cultivada para el mismo año fueron: Sonora, Baja California, Sinaloa, Guanajuato y Chihuahua (SIAP, 2016). En los últimos años la producción de trigo ha sido afectada por diferentes factores, dentro de los cuales la maleza es una de las principales limitantes que impiden incrementar los rendimientos por unidad de superficie al ejercer competencia con el cultivo. Debido al método de siembra de este cultivo, es muy difícil aplicar un método de control alternativo al uso de herbicidas (Tafoya *et al.*, 2009; Tafoya y Carrillo, 2009). El control químico de malezas ha ido en constante aumento, ya que es un método práctico, eficiente y relativamente económico. Sin embargo, el uso intensivo de herbicidas ha contribuido a la evolución de poblaciones de maleza resistentes (Powles and Howat, 1990). La resistencia se desarrolla mediante la presión de selección ejercida por el uso frecuente de uno o más herbicidas con el mismo modo de acción (Christoffers, 1999). La intensidad de la presión de selección depende principalmente de la frecuencia de uso, de la eficiencia del producto, de la dosis y de las características biológicas de la maleza. Por lo general, un control deficiente o no satisfactorio de las malezas después de una aplicación de herbicidas podría ser un indicio de resistencia. Antes de considerar a la resistencia como causante de la falla, deben descartarse otros factores como dosis o época inadecuada de aplicación del herbicida, aplicación deficiente, nivel de humedad, adsorción, condiciones climáticas, germinación posterior a la aplicación y alta infestación (Salas, 2001). En los últimos años, en la región del Bajío Guanajuatense se han reportado problemas para controlar el zacate pinto (*Echinochloa crus-galli*) que infesta los cultivos de trigo y cebada, razón por la cual es necesario realizar estudios que confirmen la causa de la ineficiencia del control de dicha especie.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del trigo

A nivel mundial el trigo es un cultivo que se emplea principalmente para la elaboración de productos alimenticios, así como en la industria para la fabricación de dietas balanceadas para la ganadería; y en menor cantidad también se usa como semilla (Marmolejo, 2005). En México, la mayor demanda de este cereal la tiene la industria harinera, la que a su vez provee de materia prima a los fabricantes de la industria del pan, en donde la calidad del producto es determinada por la cantidad de la proteína del grano.

2.1.1. Producción de trigo en México

En el 2015 en México, las principales entidades federativas productoras de trigo fueron Sonora, Baja California, Sinaloa, Guanajuato y Chihuahua, las cuales concentraron el 83 % de la producción nacional (SIAP, 2016). La superficie cosechada de trigo en México fue de 819,928 ha en el mismo año, con un rendimiento promedio de 4.5 t ha⁻¹. El valor de la producción a nivel nacional fue de más de 14 mil millones de pesos.

2.2. Definición de malezas

Ross y Lembi (2009) definen a las malezas como plantas que crecen donde no son deseadas y cuyas virtudes no han sido descubiertas. Por otra parte, diversos autores han establecido una definición más completa, considerando a las malezas como plantas indeseables que interfieren con el crecimiento de las plantas deseadas, que usualmente son persistentes y que compiten por agua, luz, espacio y otros recursos necesarios para el buen desarrollo de los cultivos, ocasionando impactos negativos en los rendimientos (García y Fernández, 1991; WSSA, 1998; Radosevich *et al.*, 1997).

2.3. Importancia de las malezas

Las malezas representan un serio problema para los cultivos agrícolas, debido a que merman la producción al disminuir los rendimientos, o bien, se obtiene una mala calidad de las cosechas (Gómez, 1993; Dieleman y Mortensen, 1997).

La supervivencia de las malezas en gran medida, se debe a que presentan una serie de atributos resultado de su adaptación a prácticas agrícolas, entre las que se destacan: tolerancia o resistencia a herbicidas, crecimiento rápido, sistema radical profundo, propagación vegetativa, así como la producción abundante de semillas con distintos mecanismos de latencia asegurando su longevidad y germinación escalonada en el tiempo (Ross y Lembi, 1999; FAO, 2004). Por su parte, Pitty (1997) menciona que las malezas no tienen características botánicas, fisiológicas o ecológicas que las hagan diferentes de las plantas cultivadas.

De acuerdo a Ross y Lembi (2009), en el mundo existen alrededor de 250,000 especies de plantas, de las cuales solo el 3 % (7,500 aproximadamente) son consideradas como maleza en la agricultura. De ese total solamente 200 especies o el 0.08 % son reconocidas como las causantes de los mayores problemas en la agricultura mundial; sin embargo, solo 25 especies (0.01%) ocasionan los problemas más graves en algún cultivo en particular.

2.3.1. Las malezas en trigo

La maleza es uno de los problemas fitosanitarios más importantes en el cultivo de trigo. Dentro del cultivo se presenta una gran variedad de éstas que son distintas según la región del país, pero existen algunas que son muy agresivas y se presentan en la mayoría de zonas productoras de este cereal (Hernández, 2001). En el estado de Guanajuato, las malezas más importantes en el cultivo de trigo según Álvarez (2006) son las siguientes: aceitilla (*Bidens* spp.), saramao (*Rhaphanus raphanistrum* L.), mostaza (*Brassica campestris* L.), lampote (*Helianthus annuus* L.), mostaza o nabo (*Brassica nigra* (L.) W.G.J. Koch), quelite cenizo (*Chenopodium album* L. Bosc ex Moq.), borraja (*Sonchus oleraceus* L.),

malva (*Malva parviflora* L.), avena silvestre (*Avena fatua* L.), alpiste silvestre (*Phalaris minor* Retz. y *P. paradoxa* L.) y el camalote (*Echinochloa* spp.), siendo esta último una de las principales que infesta al cultivo y que puede causar pérdidas totales en el rendimiento, si no se realiza alguna labor de control.

2.4. Descripción de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.

Este zacate fue introducido de Europa y actualmente se distribuye en todas la zonas templadas y cálidas del mundo, en lugares con humedad abundante, afectando áreas de cultivo, orillas de acequias, presas, arroyos y huertos; ocasionalmente jardines y patios caseros. Es común encontrarlo en cultivos establecidos en periodo de lluvias, afectando severamente el crecimiento y desarrollo del cultivo.

Rzedowski y Rzedowski (2001), describen a *Echinochloa crus-galli* como “una planta anual con tallos amacollados y erectos, que pueden llegar a medir hasta un metro de altura, engrosados en la base y generalmente con raíces en los nudos inferiores; hojas con limbos alargados de hasta 40 cm de longitud y 1 a 2 cm de ancho; la inflorescencia es una panícula, cuyo eje principal y ramas presentan pelos firmes, a menudo papilosa en la base, de 6 a 15 cm de largo; espiguillas ovaladas de 3 mm de largo, de color verde púrpura, pubescentes, con pelos rígidos en los bordes y las nervaduras, generalmente con una arista larga y apical; semilla de color claro brillante de 2.5 a 3 mm de largo”. Villareal (1983), menciona que *E. crus-galli* florece durante el verano y el otoño y se propaga por semilla, la cual se produce abundantemente en cada planta.

2.5. Métodos de control de malezas

El control se refiere a los esfuerzos realizados para reducir, o preferiblemente eliminar el daño que causan las malezas al cultivo (Birowo, 1982). Al respecto, Gómez (1995) recomienda tomar en cuenta para un control eficiente de malezas, a los siguientes factores:

- Especies de malezas predominantes.

- Área y la localización de la invasión.
- El estado de desarrollo y su relación con el crecimiento del cultivo.
- El equipo disponible para su control.
- Las condiciones climáticas y el contenido de humedad en el suelo al momento de iniciar el control.

Por su parte, Labrada y Parker (1992), y Ross y Lembi (2009) señalan varios métodos para el manejo de las malezas, que tienden a disminuir sus infestaciones a un determinado nivel que no causen daño económico, entre estos destacan:

2.5.1. Labores culturales

Son labores que benefician al cultivo y hacen que éste sea más competitivo. La mayoría de éstas tienen como objetivo crear un ambiente que favorezca el desarrollo del cultivo y de esta manera le permita competir de mejor forma con las malezas (Wyse, 1994).

Entre algunos ejemplos de las labores culturales que ayudan a disminuir los efectos negativos que causan las malezas, destacan las citadas por Akobundu (1987) y Pitty (1997).

- Uso de cultivares y/o variedades de crecimiento rápido.
- Aumento en la densidad de siembra.
- Distribución de siembra o arreglo topológico.
- Rotación de cultivos.
- Manejo de fechas de siembra.
- Sistemas de riego eficientes.
- Fertilización adecuada y oportuna.
- Calidad y vigor de la semilla.
- Ciclo del cultivo.

2.5.2. Físico - mecánico

Se estima que el control mecánico de malezas, se introdujo en la agricultura alrededor de 1000 años a. c., utilizando equipos de tracción animal. El uso de tracción mecánica se implementó a principios del siglo XX (Akobundu, 1987).

Los métodos físicos se refieren a la manipulación del microambiente e incluyen acolchados, inundación y el uso del fuego (Ross y Lembi, 2009).

Pitty (1997), describe al control mecánico como prácticas que se aplican directamente a la maleza. Estos incluyen operaciones manuales y de labranza con máquinas multicomponentes tales como cultivadoras, escardadoras, aporcadoras, cinceles y acondicionadores de camas. Las más comunes incluyen el control manual y uso de implementos (cultivadoras, aporcadoras, cinceles) de tracción animal o motriz.

2.5.3. Biológico

Consiste en el uso de organismos, incluyendo patógenos e insectos, ya que algunos de estos utilizan a plantas específicas como fuente de alimento. El control biológico clásico se refiere al uso de agentes exóticos que atacan a la maleza en su lugar de origen (Radosevich *et al.*, 1997). Por su parte Pitty (1997) hace referencia al uso de enemigos naturales, con el objetivo de reducir las poblaciones de malezas a un nivel aceptable.

El impacto que tienen los herbicidas en la contaminación de aguas subterránea y superficial, hacen que cada vez más productores se interesen en el uso de otros métodos para la conservación del ambiente; sin embargo, hay muy pocos agentes de control biológico de malezas disponibles (Wyse, 1994).

2.5.4. Químico

La tecnología del uso de herbicidas se inicia a principios de 1900. Sales, desechos industriales, cenizas y otros productos se usaron por siglos en dosis altas para controlar vegetación, pero fue el descubrimiento de las propiedades del “Caldo Bordelés” que condujo a los primeros intentos serios del control; sin embargo, entre 1900 y 1942 pocos productos herbicidas fueron introducidos (productos arsenicales, boratos, clorados). El descubrimiento de las propiedades del 2, 4-D, primer herbicida sintetizado en 1941, fue el inicio de la tecnología del uso de herbicidas (Ross y Lembi, 2009).

La aparición comercial del 2, 4-D y otros compuestos fenoxiacéticos (MCPA, 2, 4, 5-T), fue el inicio para que en los años 50's del siglo pasado se desarrollaran otros herbicidas, tales como amitrol y herbicidas ureas (monurón y diurón). A partir de estas fechas el desarrollo de los herbicidas se incrementó, al grado de contar en la actualidad con más de 220 moléculas, agrupadas en más de 60 familias químicas, con 26 diferentes mecanismos de acción, siendo muchos de ellos altamente selectivos y específicos para el control de especies nocivas en diferentes cultivos (Senseman, 2007).

Tres cuartas partes de los herbicidas son comercializados en Norteamérica, lo que enfatiza su importancia; sin embargo, el control químico debe considerarse como un complemento de las tácticas anteriores para el manejo de malezas; ya que su uso continuo ha permitido el incremento de casos de resistencia (Koch, 1989; Ross y Lembi, 2009).

Ross y Lembi (2009), enlistan las siguientes razones por las cuales se usan intensivamente los herbicidas:

- Controlan a las malezas donde los implementos agrícolas (cultivadoras, aporcadoras, etc.) son difíciles de llegar.
- Reducen el número de operaciones de labranza necesarias para el establecimiento y desarrollo del cultivo.

- Permiten la siembra temprana, ya que algunas operaciones de laboreo se pueden eliminar, esto sucede principalmente en el sistema de agricultura de conservación.
- Reducen el esfuerzo humano necesario para el control manual y mecánico.
- Permiten mayor flexibilidad en la elección de los sistemas de manejo.

Existen algunas limitantes para el uso de los herbicidas, tales como: la baja efectividad de los productos y/o el costo del tratamiento; además, otros problemas asociados con el uso de herbicidas son: daño a la vegetación adyacente, daño a los cultivos por fitotoxicidad, residuos de herbicidas en el suelo y/o agua, toxicidad a otros organismos fuera del sitio de aplicación y problemas de salud y seguridad en los humanos (Radosevich *et al.*, 1997).

2.6. Control de malezas en trigo

El manejo de malezas mediante el control integrado implica la utilización de estrategias dirigidas de manera tal, que el balance competitivo se incline a favor de los cultivos, englobando principios ecológicos y fisiológicos; sin embargo, debido al tipo de siembra de este cultivo, es muy difícil realizar algún método de control alternativo al uso de herbicidas (Tafoya *et al.*, 2009; Tafoya y Carrillo, 2009).

2.6.1. Grupos importantes de herbicidas usados en el cultivo de trigo

2.6.1.1. Herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa

Los lípidos son ácidos grasos esenciales para mantener la integridad de las membranas celulares y el crecimiento de las plantas. Los inhibidores de la síntesis de lípidos incluyen a las familias químicas: ariloxifenoxipropionatos y ciclohexanodionas (Devine *et al.*, 1993) y recientemente se incluyó a la familia fenilpyrazolinas (Senseman, 2007). Estos herbicidas actúan sólo en gramíneas y su modo de acción es la inhibición del crecimiento, principalmente en las hojas del meristemo, que muestran clorosis y luego enrojecimiento de hojas y culmos, para posteriormente presentar necrosis. El daño de estos herbicidas se concentra en el

tejido meristemático, el cual se necrosa y desprende con facilidad en aproximadamente dos semanas después de la aplicación. El daño a tejidos meristemáticos también se presenta en órganos vegetativos de propagación, por lo que los inhibidores de lípidos son efectivos para el control de zacates perennes.

El mecanismo de acción de los herbicidas antes mencionados es la inhibición de la enzima acetil coenzima-A carboxilasa (ACCase) en la síntesis de lípidos (Walker *et al.*, 1989).

Esta clase de herbicidas son usados principalmente para el control post emergente de zacates anuales y perennes en cultivos de hoja ancha; sin embargo, el diclofop, el clodanifop y el fenoxaprop de la familia de los ariloxifenoxipropionatos; el tralkoxidim de las ciclohexanodionas y el pinoxaden de la familia fenilpyrazolinas se utilizan para el control de gramíneas en cereales. Pequeñas diferencias en la estructura molecular en la ACCase del trigo les otorga selectividad a estos herbicidas (Vencill, 2002).

La absorción de estos herbicidas es muy rápida y después de una hora la lluvia no afecta su acción. Requieren de la adición de surfactante o aceite agrícola para incrementar su absorción por las plantas y deben aplicarse en postemergencia temprana en zacates en crecimiento activo. En el caso de zacates perennes la aplicación debe realizarse en etapa de macollamiento. La persistencia en el suelo es limitada y no afectan a cultivos sembrados en rotación. La selectividad de estos herbicidas es fisiológica debido a que la ACCase de las dicotiledóneas es insensible a su acción. En el caso de herbicidas de este grupo que se aplican en cereales, la selectividad se obtiene por el metabolismo del herbicida a compuestos no tóxicos (Devine, 1997; Déyle, 2005).

Clodinafop propargil

Es un herbicida de aplicación post emergente que pertenece al grupo químico de los ariloxifenoxipropionatos y se emplea para el control de la mayoría de pastos anuales y perenes en el cultivo de trigo y cebada. Su mecanismo de acción es

mediante la inhibición de la enzima Acetil Coenzima A Carboxilasa (ACCasa). Las plantas tratadas con este producto presentan hojas con coloraciones amarillentas, rojizas o cafés (necrosadas). Para ampliar la selectividad el clodinafop propargil se mezcla con cloquintocet-mexyl. Ambos productos son absorbidos rápidamente por el follaje y transportados por el floema. Las condiciones de alta humedad relativa favorecen la penetración. El clodinafop es metabolizado por las plantas de trigo y cebada y los metabolitos derivados forman conjugados no tóxicos (Senseman, 2007; Vencill, 2002).

Pinoxaden

Este herbicida pertenece a la familia química de las fenilpyrazolinas, de aplicación postemergente y se emplea para el control de un amplio espectro de pastos de importancia económica en los cultivos de trigo y cebada. Su mecanismo de acción es inhibir a la enzima Acetil Coenzima A Carboxilasa (ACCasa). Los síntomas que manifiestan las plantas tratadas son disminución del crecimiento, resultado de la afectación de las regiones meristemáticas pocos días después de la aplicación. Para ampliar la selectividad, el pinoxaden se mezcla con el cloquintocet-mexyl. Ambos productos son rápidamente absorbidos por hojas y raíces, transportado principalmente por el floema (Senseman, 2007; Vencill, 2002).

2.6.1.2. Herbicidas inhibidores de la enzima ALS

Uno de los grupos más grandes de herbicidas comerciales, inhibe la acetolactato sintasa (ALS), también llamada acetohidroxiácido sintasa (AHS), una enzima que participa en la ruta de síntesis de tres aminoácidos de cadena ramificada: leucina, isoleucina y valina (Vencill, 2002). Las plantas tratadas con estos inhibidores detienen su crecimiento, se marchitan y adquieren un color rojo debido a la acumulación de antocianinas inducidas por el estrés. Estos herbicidas son selectivos. Algunos cultivos y malezas son tolerantes de manera natural debido a la rápida degradación del herbicida (Matthews *et al.*, 1990). Existen inhibidores de la

ALS comerciales de varias familias químicas, incluyendo sulfonilureas, imidazolinonas y pirimidiltiobenzos (Devine *et al.*, 1993). La mayoría de estos herbicidas actúan a dosis bajas, obteniéndose buenos resultados con unos cuantos gramos por hectárea. Los inhibidores de la ALS provocan acumulación de uno de sus precursores, el 2-oxibutirato y del producto de una transaminación de este precursor, el 2-amino butirato (Matthews *et al.*, 1990).

Iodosulfuron metil

Pertenece al grupo químico de las sulfonilureas, es de aplicación postemergente, se emplea en los cultivos de trigo y cebada para el control de malezas de hoja ancha (Senseman, 2007); sin embargo, también tiene efecto sobre gramíneas. Su mecanismo de acción es la inhibición de la producción de aminoácidos de cadena ramificada al afectar la enzima acetolactato sintetasa (ALS). Las plantas tratadas presentan clorosis en los tejidos meristematicos, seguido por una necrosis y muerte. Para ampliar la selectividad, el iodosulfuron metil se mezcla con el protectante mefenpir-dietil. Ambos productos son absorbidos por raíces y follaje, y translocados por el floema (Senseman, 2007; Vencill, 2002).

Mesosulfuron metil

Es un herbicida de aplicación postemergente que pertenece al grupo químico de las sulfonilureas, se emplea para el control de gramíneas y malezas de hoja ancha en aplicación de postemergencia temprana en los cultivos de trigo y cebada. Su mecanismo de acción es la inhibición de la producción de aminoácidos de cadena ramificada por la inhibición de la enzima Acetolactato Sintetasa (ALS). Los síntomas que se observan en las plantas tratadas son clorosis que posteriormente se torna en una severa necrosis causándoles la muerte (Vencill, 2002; Senseman, 2007).

Flucarbazone sódico

Es un herbicida de aplicación postemergente que pertenece al grupo químico sulfonilamino y se emplea para el control de gramíneas y malezas de hoja ancha en el cultivo de trigo. Su mecanismo de acción es la inhibición de la producción de aminoácidos de cadena ramificada por la inhibición de la enzima acetolactato sintetasa (ALS). Las malezas tratadas presentan retraso en el crecimiento, amarillamiento y necrosis. Es absorbido por el follaje y el sistema radical, y transportado acropétala y basipétalmente (Senseman, 2007; Vencill, 2002).

2.7. Resistencia de malezas a herbicidas

2.7.1. Definiciones

2.7.1.1. Resistencia

La Weed Science Society of America (WSSA) define resistencia como la capacidad hereditaria de una planta de sobrevivir y reproducirse después de ser expuesta a una dosis de herbicida que normalmente es letal para el tipo silvestre (WSSA, 1998). Por su parte, Valverde *et al.* (2000), coinciden con la definición de la WSSA y agregaron que la aparición de la resistencia en una especie se da por pequeñas proporciones de la población llamadas biotipos. Al respecto, Ross y Lembi (2009) indican que se entiende por biotipos a la porción de plantas resistentes del total de la población que son susceptibles a los herbicidas. A su vez Taberner *et al.* (2007), mencionan que la resistencia de malezas es un efecto secundario no deseado después de un uso reiterado de un determinado herbicida, por lo cual una población de maleza deja de ser controlada con la misma eficacia.

Es importante no confundir el término de resistencia con tolerancia, puesto que son términos totalmente diferentes. De acuerdo a la WSSA (1998), tolerancia es la capacidad hereditaria de una especie de sobrevivir y reproducirse después del tratamiento de un herbicida; es decir, la planta es naturalmente tolerante y no hubo selección o manipulación genética. Por lo tanto, la tolerancia tiene una relación directa con la selectividad de los herbicidas.

2.7.1.2. Resistencia cruzada

La resistencia cruzada es un término usado para describir a la población de malezas que es resistente a dos o más herbicidas con el mismo mecanismo de acción. Estos herbicidas pueden ser de la misma familia química o bien, pueden pertenecer a diferentes familias; pero, comparten el mismo mecanismo de acción. La resistencia cruzada a dos herbicidas inicialmente ocurre cuando una población de plantas muestra resistencia a un primer herbicida y, debido a que los mecanismos de acción son los mismos, las plantas también manifiestan resistencia al segundo herbicida, a pesar de que la población nunca se haya expuesto a ese herbicida (Ross y Lembi, 2009). Por su parte Salas (2001), menciona que la resistencia cruzada ocurre en aquellos biotipos resistentes a uno o más herbicidas, debido a la presencia de un solo mecanismo de resistencia.

2.7.1.3. Resistencia múltiple

La resistencia múltiple es usada para describir a la población de malezas que es resistente a dos o más herbicidas de diferente familia química y con diferentes mecanismos de acción. La resistencia múltiple ocurre cuando las malezas son expuestas y desarrollan simultáneamente resistencia a diferentes químicos; ésta es mucho menos frecuente que la resistencia cruzada (Ross y Lembi, 2009).

2.7.2. Historia de la resistencia a herbicidas

Heap (1994), presentó detallados relatos de cómo se inició el registro histórico de los casos de resistencia a herbicidas en el mundo. El primer registro de resistencia a herbicidas se informó en 1957 en una población de *Daucus carota* que sobrevivió a la aplicación de 2,4-D; sin embargo, fue a partir de 1970 cuando se documentó resistencia a triazinas, particularmente a la simazina, en una población de *Senecio vulgaris* (Valverde y Heap, 2010). Estudios pioneros de Radosevich (1977) determinaron que una alteración en el sitio de acción era el mecanismo de la

resistencia a triazinas en *S. vulgaris* y otras especies resistentes que aparecieron poco después.

Es importante aclarar que un biotipo resistente se registra la primera vez que una especie de maleza desarrolla resistencia a uno o más herbicidas pertenecientes a un grupo específico. Por ejemplo, *Conyza bonariensis* resistente a bipiridilos en tres países se registra como un único biotipo resistente; la misma especie resistente a glifosato en seis países se registra como otro biotipo resistente (Valverde y Heap, 2010). Después del descubrimiento de resistencia a triazinas en *S. vulgaris* y hasta finales de la década de los 70's, en promedio se reportaba un caso por año. Desde entonces el incremento promedio ha sido de 10 casos anuales; pero, su composición ha variado puesto que a partir de 1998 la supremacía de la resistencia a las triazinas fue cedida a los inhibidores de la enzima ALS (acetolactato sintasa) y a los herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa (acetil coenzima A carboxilasa) (Figura 1).

A nivel mundial, la tasa de aparición de biotipos resistentes se ha incrementado notablemente. En la actualidad, se han registrado 477 casos únicos (especie por sitio de acción) de malezas resistentes a herbicidas (Figura 2), que corresponden a 251 especies, de las cuales 146 son dicotiledóneas y 105 son monocotiledóneas (Heap, 2016). El mismo autor señala que estas especies de malezas resistentes se han encontrado en 90 cultivos y en 66 países.

Del total de biotipos de malezas resistentes, se tienen reportados para *Echinochloa colona* y *E. crus-galli* un total de 69 biotipos que han presentado resistencia a herbicidas con diferentes mecanismos de acción y en particular, 19 de estos han desarrollado resistencia a herbicidas inhibidores de la ALS y 17 a herbicidas inhibidores de la ACCasa.

En general, el 70% de los casos de resistencia a herbicidas está integrado por tres familias: Poaceae, Asteraceae y Brassicaceae (Figura 3). En particular, las gramíneas (Poaceae), las crucíferas (Brassicaceae), y los bledos (Amaranthaceae) son las malezas que más prevalecen en el mundo y son muy propensas al desarrollo de resistencia a los herbicidas en comparación con otras familias.

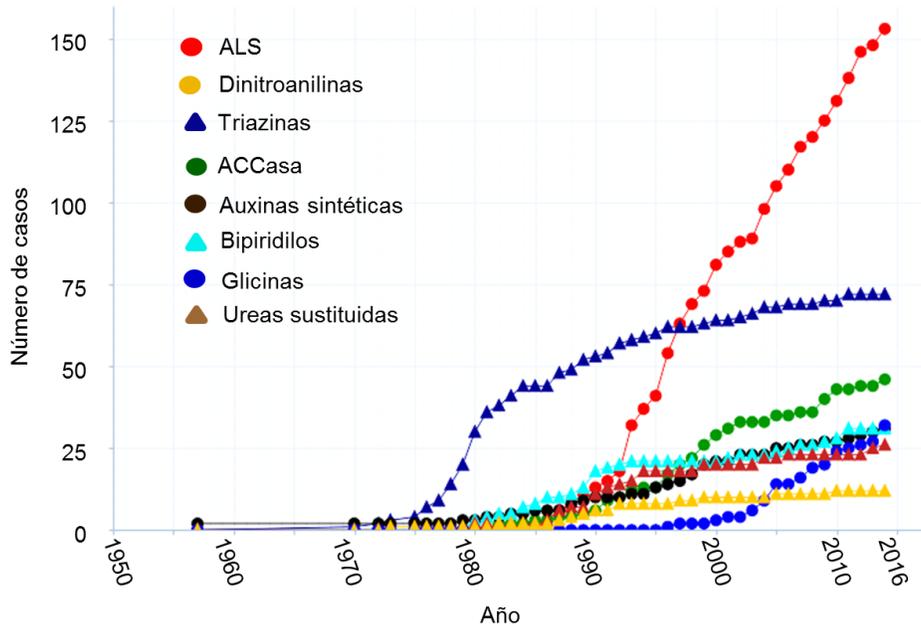


Figura 1. Incremento cronológico en el número de malezas resistentes a herbicidas pertenecientes a distintos grupos.

Fuente: International Survey of Herbicide Resistant Weeds (Heap, 2016).

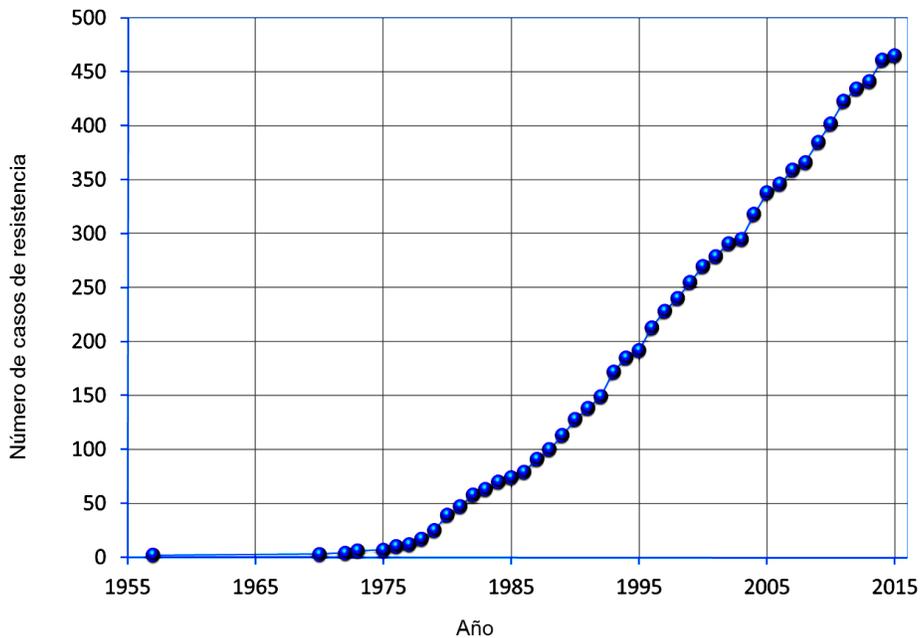


Figura 2. Incremento cronológico en el número de casos de resistencia de biotipos de malezas a herbicidas en el mundo.

Fuente: International Survey of Herbicide Resistant Weeds (Heap, 2016).

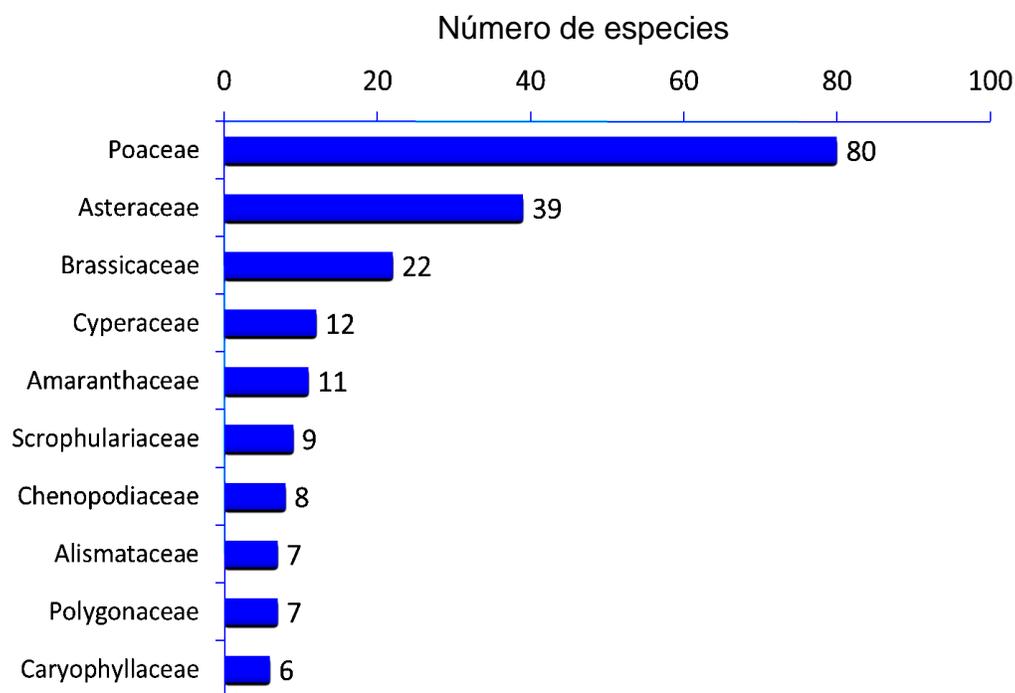


Figura 3. Principales familias botánicas que involucran a las especies de malezas resistentes a herbicidas a nivel mundial.

Fuente: International Survey of Herbicide Resistant Weeds (Heap, 2016).

En México, hasta el momento hay siete casos oficiales reportados de biotipos de malezas resistentes, reportándose el más reciente en el 2014 (Cuadro 1).

2.7.3. Evolución de la resistencia

Hay dos maneras en que la resistencia se puede manifestar dentro de una población de malezas. En primer lugar, puede estar presente un gen o un grupo de genes otorgando resistencia debido a mutaciones aleatorias, que pueden haber ocurrido antes de la introducción del herbicida. En cualquier caso, el herbicida mata a la mayoría de las plantas susceptibles, pero los individuos resistentes sobreviven y se reproducen. La proporción de individuos resistentes en la población se incrementa gradualmente, hasta el punto en el que se produce una disminución de la efectividad

del herbicida: se considera tal, cuando hay entre un 10 y 20% de plantas que no mueren por la aplicación.

Cuadro 1. Biotipos de malezas resistentes a herbicidas reportadas en México.

<u>Especies</u>	Año	Mecanismo de acción
<i><u>Phalaris minor</u></i>	1996	Inhibidores de la ACCasa
<i><u>Phalaris paradoxa</u></i>	1996	Inhibidores de la ACCasa
<i><u>Avena fatua</u></i>	1998	Inhibidores de la ACCasa
<i><u>Sorghum halepense</u></i>	2009	Inhibidores de la ALS
<i><u>Leptochloa virgata</u></i>	2010	Inhibidores EPSP
<i><u>Bidens pilosa</u></i>	2014	Inhibidores EPSP
<i><u>Ixophorus unisetus</u></i>	2014	Inhibidores de la ALS

Fuente: Heap, 2016.

El grado de resistencia en la población depende de la proporción entre individuos resistentes y susceptibles (Moss, 2003). En segundo lugar la selección puede, mediante un proceso poco conocido, actuar sobre la variación continua o cuantitativa, adquiriendo un incremento gradual y progresivo en la resistencia a lo largo de varias generaciones. Estas variaciones cuantitativas pueden ser causadas por un cierto número de poligenes, cada uno de los cuales, aunque producen un efecto mínimo, tienen la posibilidad de generar un nuevo rasgo en el fenotipo. De acuerdo a este segundo proceso, la selección puede estar actuando en los genes que producen resistencia, aunque sea muy leve la ventaja que aportan a la planta.

El término de variación cuantitativa implica que existe un continuo de respuestas al herbicida dentro de la población, las cuales van desde susceptible, parcialmente resistente hasta altamente resistente. Esto ocurre debido a un incremento progresivo en el nivel de resistencia en toda la población, y no a un incremento en la proporción de individuos resistentes (Valverde y Heap, 2010).

La aplicación del herbicida selecciona cualquier rasgo que favorezca la supervivencia del individuo. Muchos de estos rasgos aportan una ventaja relativamente baja, lo que a corto plazo no supone un beneficio importante para la maleza. Otros rasgos pueden dotar al individuo de un alto grado de resistencia, y son éstos los que suponen una mayor probabilidad de afectar la actividad del herbicida en campo y de ser investigados; sin embargo, es necesario reconocer que muchas plantas sobrevivirán debido a un amplio rango de mecanismos de resistencia, y éstos pueden diferir entre poblaciones de la misma especie y especies diferentes (Moss, 2003).

Las plantas en general, y las malezas en particular, son variables. Las poblaciones de malezas adquieren resistencia por la interacción de algunos elementos clave. Los genes que confieren resistencia están presentes naturalmente en las poblaciones silvestres; y no son mutaciones inducidas por los herbicidas (Jasienuk *et al.*, 1996). Esos genes ocurren en las poblaciones silvestres con una baja frecuencia ya que, en ausencia de los herbicidas, no confieren ninguna ventaja adaptativa a esas plantas. La frecuencia de los genes para resistencia es un elemento importante para determinar cuánto tiempo será necesario para detectar la resistencia una vez que se comienza a usar un determinado herbicida. Por ejemplo, el rápido incremento de la resistencia a los herbicidas ALS es atribuida en parte a la alta frecuencia de mutación sobre el centro de acción de la enzima y a la existencia de varias mutaciones que le confieren resistencia (Devine y Preston, 2000). Lamentablemente, la frecuencia de los individuos resistentes en una población de malezas no es conocida antes de la introducción de un nuevo herbicida con un nuevo modo de acción ya que estos datos no son necesarios para registrar los productos y raramente son generados con el propósito de hacer una futura supervisión (Moss, 2002).

Otras dos características importantes de una maleza, en lo que se refiere a la evolución de la resistencia a los herbicidas, son la magnitud del reservorio de semillas en el suelo y la viabilidad de las mismas y la adecuación de las malezas (Valverde, 2004). El mismo autor señala que el reservorio de semillas puede actuar

como un amortiguador demorando la evolución de la resistencia, debido al aporte de semillas de los individuos predominantes susceptibles.

En algunos casos los individuos que presentan una mutación, tales como aquellas que confieren resistencia a los herbicidas, son penalizados en razón de estar menos adaptados al ambiente en ausencia de los herbicidas. Es difícil medir la falta de adaptación, pero puede ser relacionada a una menor eficiencia de los procesos fisiológicos clave tales como la fotosíntesis o características generales de la planta como una menor producción de semillas o una menor capacidad competitiva. Sin embargo, a menudo los biotipos resistentes y susceptibles tienen el mismo grado de adaptación.

2.7.4. Resistencia a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa y ALS

Mallory *et al.* (1990) y Devine (1997) mencionan que algunos herbicidas, como los inhibidores de la acetil coenzima-A carboxilasa (ACCasa) son capaces de seleccionar biotipos resistentes en una a cinco generaciones de maleza. Al respecto, algunos autores mencionan que esto se debe, principalmente, a la elevada especificidad del sitio activo, a la alta frecuencia de mutación del gen nuclear que codifica la enzima (10^{-6} para los herbicidas ALS) y a la posibilidad de que distintas mutaciones semi-dominantes alteren el sitio de acoplamiento del herbicida en la enzima y le confieran resistencia a la maleza (Délye, 2005; Tranel y Wright, 2002; Gressel, 2002). De acuerdo a los últimos reportes por Heap (2016), para el año 2015 en el mundo se reportaron 47 especies de malezas resistentes a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa y 159 resistentes a la enzima ALS. En ambos casos se encontraron especies del género *Echinochloa*; sin embargo, en México aún no hay reportes oficiales de resistencia de este género a algún herbicida.

2.7.5. Mecanismos de resistencia

El desarrollo de poblaciones resistentes se establece mediante de la presión de selección impuesta por el uso frecuente de uno o más herbicidas con el mismo modo de acción o ruta de degradación metabólica (Christoffers, 1999; Fischer, 2011). La intensidad de la presión de selección depende de varios factores, principalmente de las características biológicas de la maleza, especificidad del herbicida, la diversidad de los genes de resistencia involucrados, la frecuencia de uso, eficiencia del producto y de la dosis (Valverde *et al.*, 2000; Cerdeira y Duke, 2006). La resistencia a herbicidas puede deberse a una absorción o transporte diferencial del compuesto químico, a la transformación metabólica del herbicida en compuestos no tóxicos, al secuestro de las moléculas herbicidas en el apoplasto o a una alteración en el sitio de acción (Hatzios, 2001).

Existen al menos cinco mecanismos generales no necesariamente excluyentes, que podrían explicar la resistencia a herbicidas (Sherman *et al.*, 1996).

2.7.5.1. Reducción de la concentración de herbicida en el sitio de acción

Una condición necesaria para lograr la efectividad de un herbicida, es que alcance su sitio de acción en una concentración suficiente para que su efecto sea letal. La falta de movimiento de un herbicida reduce la concentración de éste en el sitio de acción, lo que permite al último mantenerse funcional. Las bajas concentraciones pueden deberse a la reducción en la penetración, absorción o transporte, o a la existencia de fenómenos de secuestro en organelos celulares más o menos transportables (De Prado *et al.*, 2005; Fischer, 2011).

2.7.5.2. Resistencia asociada a procesos de secuestro o compartimentación

Son mecanismos de resistencia poco conocidos, debido a que las evidencias que los apoyan son circunstanciales en muchos casos (Cruz *et al.*, 2011). Los pocos casos encontrados en la literatura, relacionan este tipo de mecanismos de

resistencia con herbicidas de acción hormonal e inhibidores del fotosistema I, justificando la resistencia tanto en líneas de cultivos celulares como en plantas enteras, como un incremento en la capacidad de secuestrar al herbicida o a los metabolitos potencialmente fitotóxicos dentro de la vacuola celular. Los procesos subyacentes a estos mecanismos de secuestro son todavía desconocidos.

2.7.5.3. Reparación de efectos fitotóxicos

La capacidad despolarizadora del diclofop-metil se atribuye al flujo específico de protones que este compuesto produce hacia el interior de la célula. Se han identificado biotipos de maleza cuyo mecanismo de resistencia al diclofop-metil parece deberse a la capacidad de recobrar la estabilidad de la membrana celular una vez que se ha retirado el herbicida causante de la despolarización (De Prado *et al.*, 1999).

2.7.5.4. Pérdida de afinidad por el sitio de acción

Los herbicidas resultan letales para las plantas debido a su actividad sobre un sitio de acción primario, generalmente una proteína, de especial relevancia biológica. Este sitio primario suele ser específico, y la acción del herbicida en éste suele conducir al desarrollo de efectos secundarios de naturaleza mucho más general, que normalmente producen la muerte de la planta. Una o varias mutaciones en la secuencia aminoacídica del sitio primario de acción, pueden resultar en una pérdida de afinidad del herbicida por éste, imposibilitando la unión efectiva de ambos e impidiendo así la continuidad del proceso vital mediado por dicho sitio (Cruz *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2011). Este tipo de mecanismo es el exhibido en la mayoría de los biotipos resistentes descritos hasta el momento. Se caracteriza por conferir un alto grado de resistencia al herbicida empleado e incluso a otras moléculas pertenecientes a la misma familia química.

2.7.5.5. Metabolización a compuestos no tóxicos (detoxificación)

Los procesos de detoxificación metabólica se caracterizan por ser procesos biológicos en los que, las moléculas tóxicas son metabolizadas a compuestos inocuos o menos tóxicos. En los procesos de detoxificación metabólica, los biotipos resistentes son capaces de degradar al herbicida antes de que éste cause daños irreversibles (Cruz *et. al.*, 2011). Estos procesos pueden dividirse en tres fases: en la fase I (conversión), las propiedades iniciales del herbicida de partida son transformadas mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis, para producir un compuesto más soluble en agua y menos tóxico. La fase II implica la conjugación del herbicida o sus metabolitos con un azúcar, aminoácido o glutatión, incrementando su solubilidad en agua y reduciendo la toxicidad del compuesto. La fase III implica la transformación de los metabolitos de la fase anterior a conjugados secundarios con nula toxicidad. Aunque se ha demostrado que los mecanismos de resistencia antes señalados tienen un gran impacto en la actividad del herbicida, aún están por ser descritos varios mecanismos que pueden incidir en mayor o menor grado. Algunos de ellos pueden manifestarse lentamente, lo que puede llevar a una grave consecuencia final. Otros más, se mantienen como una amenaza menor (Valverde y Heap, 2010).

2.7.6. Indicadores de resistencia

Por lo general, el indicio de la evolución de la resistencia está relacionado con un control deficiente o no satisfactorio de las malezas después de una aplicación de herbicidas. Antes de considerar a la resistencia como causante de la falla, deben descartarse otros factores como dosis o época de aplicación inadecuada del herbicida, o bien una aplicación deficiente al haber condiciones climáticas no favorables, otros factores como el tamaño de las malezas, germinación posterior a la aplicación y alta infestación (FAO, 2007; Esqueda *et al.*, 2011).

2.7.7. Métodos para detectar o confirmar resistencia

Existen diversas técnicas para detectar las poblaciones de malezas resistentes a herbicidas; sin embargo, estas deben ser rápidas, precisas, baratas y fáciles de aplicar; además, de ser confiables de la información que generen (Esqueda, 2005). Uno de los métodos de detección más empleados se basa en medir las diferencias de desarrollo en plantas que fueron expuestas a diferentes dosis de uno o varios herbicidas (ensayos de dosis-respuesta). La finalidad de estos ensayos es la determinación de los índices de resistencia, o lo que es lo mismo, cuántas veces es más resistente un determinado biotipo comparado con uno sensible. Dependiendo de los mecanismos involucrados en la resistencia, su valor puede oscilar desde algo más que la unidad a varios cientos o miles de veces (Cruz, 2010).

Los ensayos *in vivo* (bioanálisis o bioensayos) de respuesta de una especie a dosis crecientes de un herbicida, permiten conocer de forma cuantitativa y cualitativa el nivel de resistencia de una maleza a uno o varios herbicidas. Consisten en la conducción de experimentos bajo condiciones controladas (invernadero o cámara de crecimiento), en los que se utiliza una población susceptible como referencia, proveniente de un lugar cuyo uso de herbicidas sea nulo o limitado (Espinoza *et al.*, 2010) y plantas provenientes de semillas directamente colectadas del campo donde se sospecha la existencia de resistencia (Valverde *et al.*, 2000; Valverde, 2007).

Cuando se analiza y se compara la respuesta diferencial de poblaciones de plantas a herbicidas, el modelo logístico es el más apropiado para describir las curvas de respuesta a dosis crecientes del herbicida (Valverde *et al.*, 2000).

Cuando el peso seco o fresco es graficado contra el logaritmo de la dosis del herbicida, se encuentra normalmente una relación sigmoide simétrica donde el límite superior de la curva representa el control; el límite inferior se refiere a la dosis más baja que podría ser cero aunque la mayoría de los casos no lo es. Ocasionalmente las plantas tratadas con subdosis de un herbicida exceden el crecimiento del control sin tratar. Este fenómeno es encontrado con diferentes herbicidas o grupos de herbicidas independientemente de su mecanismo de acción (Streibig, 1988).

En la Figura 4 se observa un ejemplo de biomasa y dosis, en la cual se aprecia el límite superior de crecimiento a dosis 0, límite inferior de crecimiento a la dosis mayor infinita del herbicida. La ED_{50} hace referencia a la dosis requerida del herbicida para reducir su crecimiento al 50% (Streibig, 2003).

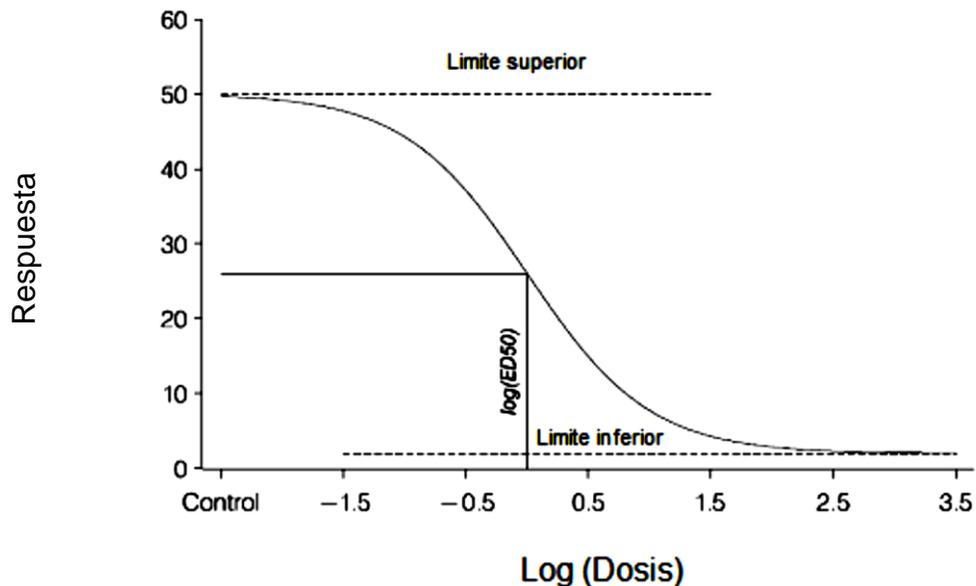


Figura 4. Curva dosis-respuesta, describiendo el comportamiento general de los biotipos de una especie a la acción de un herbicida.

Fuente: Streibig, 2003.

2.7.8. Manejo para evitar el desarrollo de resistencia

La resistencia aparece en los sistemas donde el uso del herbicida para el control de malezas es la práctica predominante. El éxito del manejo de la resistencia depende del desarrollo de un programa de actividades diversificado, que reduzca la presión de selección de malezas, causada por el uso de un solo herbicida (Pitty, 1997). El mismo autor señala que las maneras para reducir la presión de selección son: la rotación de herbicidas, el uso de combinaciones de herbicidas con múltiples mecanismos de acción, la rotación de cultivos y el uso de otros métodos de control no químicos.

III. OBJETIVOS

- Evaluar la efectividad biológica de herbicidas de uso común en trigo en biotipos de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. del Bajío Guanajuatense.
- Determinar la presencia de resistencia cruzada y/o múltiple en biotipos de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. del Bajío Guanajuatense.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Colecta de semillas

Durante los meses de abril y mayo de 2015 se realizó la colecta de semilla de biotipos de *Echinochloa crus-galli* ubicados en parcelas comerciales de trigo, en diferentes localidades del estado de Guanajuato. La colecta constó de cinco biotipos, en los cuales se sospechó resistencia debido a que en las parcelas donde fueron colectados, los efectos de los herbicidas fueron deficientes; además, un biotipo de la misma especie fue colectado en un canal de riego, considerando este biotipo como susceptible (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ubicación geográfica de los sitios y fecha de recolecta en el estado de Guanajuato de los biotipos de *Echinochloa crus-galli*.

Biotipo	Fecha	Latitud N	Longitud W	Altitud (msnm)	Localidad
I	12/04/2015	20° 33' 05"	101° 26' 53"	1715	Munguia
II	01/05/2015	20° 23' 10"	101° 39' 53"	1697	La Granjera
III	01/05/2015	20° 21' 37"	101° 34' 50"	1704	Huanímaro
IV	02/05/2015	20° 39' 37"	101° 08' 19"	1737	La Ordeña
V	02/05/2015	20° 25' 32"	101° 24' 05"	1704	Piedras Negras
Sus.*	19/04/2015	20° 29' 59"	101° 28' 55"	1700	Los Juanes

* Biotipo susceptible.

4.2. Lugar de establecimiento

Se realizaron dos bioensayos: uno para evaluar la efectividad biológica de los principales herbicidas usados comercialmente en la región de estudio y para determinar el índice de resistencia de los biotipos (ensayo dosis-respuesta). Dichos estudios se llevaron a cabo en el invernadero del Área de Malezas del Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, el cual se encuentra ubicado en las coordenadas 19° 29' 38" N; 98° 53' 03" W.

4.3. Germinación de semillas y trasplante

La germinación de las semillas *E. crus-galli* se estimuló mediante el tratamiento con calor y nitrato de potasio (KNO₃) al 0.3 %. Para el tratamiento con calor, se colocaron las semillas en bolsas de papel estraza y se introdujeron en la estufa de secado durante 24 horas a 38 °C. Posteriormente se retiraron de la estufa y se colocaron en cajas Petri de 10 cm de diámetro sobre papel filtro (Whatman No. 1) y se les aplicó a cada caja Petri 20 ml de solución de nitrato de potasio (KNO₃) al 0.3 % p/v. Se mantuvieron en la cámara de germinación durante 24 horas a 30 °C con luz constante y 80% de humedad relativa. Finalmente las semillas fueron lavadas con agua destilada, para retirar los restos de la solución de KNO₃ y se mantuvieron en la cámara de germinación con luz constante durante seis días a 28 °C.

En macetas de plástico con capacidad de 500 mL, previamente llenadas con una mezcla de tierra de campo y sustrato "peat moss" (Promix flex®) a una proporción de 70:30 respectivamente, se realizó el trasplante de plántulas de *E. crus-galli* de una altura aproximada de 2 cm. En cada maceta se colocaron tres plántulas.

4.4. Diseño experimental

En ambos bioensayos, el diseño experimental empleado fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental quedó conformada por una maceta con tres plantas de *E. crus-galli*.

4.5. Bioensayo I. Evaluación de la efectividad biológica

El primer bioensayo, tuvo por objetivo evaluar la efectividad biológica de cuatro herbicidas de uso común en la región y determinar los biotipos que exhibieron bajo control y por ende mayor sospecha de ser resistentes.

4.5.1. Tratamientos

Se evaluaron dos herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa (clodinafop propargil y pinoxaden) y dos herbicidas inhibidores de la enzima ALS (mesosulfuron + iodosulfuron y flucarbazone sódico). Todos los herbicidas fueron evaluados en su dosis comercial (Cuadro 3). La aplicación de los tratamientos se realizó cuando las plantas de *E. crus-galli* tenían de 3 a 5 hojas liguladas (aproximadamente 12 cm de altura). Para tal fin se empleó un equipo de aspersion presurizado a base de CO₂, equipado con una punta de abanico plano de la serie TeeJet 8002VS. Previo a la aplicación, se calibró el equipo de aspersion para determinar el volumen de agua, siendo este de 200 L ha⁻¹.

Cuadro 3. Nombre comercial y común, y dosis de aplicación de los herbicidas usados en el estudio de efectividad biológica.

Nombre comercial	Nombre común	Dosis (g de i.a* ha ⁻¹)
Everest Ultra [®]	Flucarbazone sódico	28.0
Topik Gold [®]	Clodinafop propargil	64.8
Axial [®]	Pinoxaden	55.0
Sigma forte [®]	Mesosulfuron metil + iodosulfuron metil	15.0
Testigo absoluto		---

* i.a. = gramos de ingrediente activo.

4.5.2. Variables respuesta

4.5.2.1. Porcentaje visual de daño

Los efectos de los herbicidas sobre los biotipos en estudio de *Echinochloa crus-galli* fueron evaluados visualmente mediante la escala de puntuación (Cuadro 4) propuesta por la EWRS (European Weed Research Society) (Burril, *et al.*, 1977) a los 10, 20 y 30 días después de la aplicación (DDA).

4.5.2.2. Peso fresco

A los 30 DDA, se procedió a cortar las plantas de *E. crus-galli* a ras del suelo; posteriormente el follaje de cada unidad experimental se pesó en una balanza digital, Modelo "Dhaus".

4.5.2.3. Peso seco

Posterior a la medición del peso fresco, las plantas se colocaron en bolsas de papel previamente identificadas y se ingresaron a la estufa de secado a 70 °C por 72 horas. Se procedió a tarar el peso de la bolsa de papel en la báscula digital y obtener el peso seco de la planta.

4.5.3. Análisis estadístico

A los datos se les practicó un análisis de varianza bajo un diseño experimental en bloques completos al azar con el programa estadístico SAS® (Statistical Analysis System) versión 9.0. Los datos de los valores de la escala, fueron transformados a la media de clase para su análisis correspondiente. En los casos donde se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, los valores medios de los porcentajes de control se agruparon de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Cuadro 4. Escala de Puntuación propuesta por EWRS (European Weed Research Society) para evaluar control de maleza y fitotoxicidad al cultivo, y su interpretación agronómica porcentual

Valor	Efectos sobre la maleza	Efectos sobre el cultivo
1	Muerte completa	Sin efecto
2	Muy buen control	Síntomas muy ligeros
3	Buen control	Síntomas ligeros
4	Suficiente en la práctica	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento
LIMITE DE ACEPTABILIDAD		
5	Control medio	Daño medio
6	Regular	Daños elevados
7	Control pobre	Daños severos
8	Control muy pobre	Daños muy severos
9	Sin control	Muerte completa
Transformación de la escala puntual logarítmica de la EWRS a escala porcentual		
Valor	% de control de la maleza	% de fitotoxicidad
1	99.0 a 100	0.0 a 1.0
2	96.5 a 99.0	1.0 a 3.5
3	93.0 a 96.5	3.7 a 7.0
4	87.5 a 93.0	7.0 a 12.5
5	80.0 a 87.5	12.5 a 20.0
6	70.0 a 80.0	20.0 a 30.0
7	50.0 a 70.0	30.0 a 50.0
8	1.0 a 50.0	50.0 a 99.0
9	0.0 a 1.0	99.0 a 100

Fuente: Burril, *et al.*, (1976).

4.6. Bioensayo II. Dosis - respuesta

Para el ensayo dosis-respuesta, se seleccionaron aquellos herbicidas que mostraron un control deficiente de los biotipos en el primer ensayo, tal fue el caso de los herbicidas inhibidores de la ALS.

Los tratamientos involucrados se muestran en el Cuadro 5, presentando las dosis por hectárea de producto comercial e ingrediente activo de los herbicidas evaluados. La aplicación de los tratamientos se realizó cuando las plantas de *E. crus-galli* tenían

de 3 a 5 hojas liguladas (aproximadamente 12 cm de altura). Para tal fin se empleó un equipo de aspersión presurizado a base de CO₂, equipado con una punta de abanico plano de la serie TeeJet 8002VS. Previo a la aplicación, se calibró el equipo de aspersión para determinar el volumen de agua, siendo este de 200 L ha⁻¹.

Cuadro 5. Nombre comercial y común, y dosis de aplicación de los herbicidas empleados en el ensayo de dosis-respuesta.

Trat.	Everest Ultra® (kg de p.f.* ha ⁻¹)	Flucarbazone sódico (g de i. a.** ha ⁻¹)	Sigma Forte® (L de p. f. ha ⁻¹)	Mesosulfuron metil + iodosulfuron metil (g de i. a. ha ⁻¹)
1	0.00	0	0.00	0
2	0.01	7	0.31	3.12 + 0.62
3	0.02	14	0.62	6.25 + 1.25
4	0.04	28	1.25	12.5 + 2.5
5	0.08	56	2.50	25 + 5
6	0.16	112	5.00	50 + 10
7	0.32	224	10.00	100 + 20
8	0.64	448	20.00	200 + 40

* Producto formulado; ** ingrediente activo.

4.6.1. Variables respuesta y evaluaciones

4.6.1.1. Peso fresco

Después de realizar la última evaluación visual del control a los 30 días después de la aplicación, se obtuvo el peso fresco. Las plantas fueron cortadas al ras del suelo, posteriormente el follaje se pesó en una balanza digital Modelo “Dhaus”.

4.6.1.2. Peso seco

Posterior a la medición del peso fresco, las plantas fueron colocadas en bolsas de papel previamente identificadas y se ingresaron a la estufa de secado a 70 °C por

72 horas. Se procedió a tarar el peso de la bolsa de papel en la báscula digital y obtener el peso seco.

4.6.2. Determinación de ED₅₀ e índice de resistencia (IR)

La ED₅₀ es la inhibición del crecimiento provocada por el herbicida. Este valor representa la dosis de herbicida que inhibe el 50 % del crecimiento (medido en peso fresco y/o seco) de las plantas tratadas en relación con las plantas testigo. Para el cálculo de dicho parámetro (con el peso fresco y seco de cada biotipo) se utilizó el modelo no lineal de la relación dosis-respuesta utilizado y propuesto por Streibig (1988, 2003), Seefeldt (1995) y Valverde *et al.* (2000).

$$Y = c + \frac{(d - c)}{1 + (x/g)^b}$$

Donde:

Y = peso fresco expresado como el porcentaje del control no tratado,

c = coeficiente correspondiente a la asíntota superior (máximo crecimiento)

d = coeficiente correspondiente a la asíntota inferior (mínimo crecimiento)

b = pendiente de Hill

g = ED₅₀ dosis de herbicida en el punto de inflexión entre la asíntota superior y la inferior

x = dosis del herbicida (variable independiente)

Para obtener el índice de resistencia (IR) se utilizó el criterio propuesto por Valverde *et al.*, (2000). Este índice se calcula como el cociente del ED₅₀ obtenido para la población sospechosa y el ED₅₀ de la población susceptible. Si el valor del IR calculado es mayor a 2, la población en cuestión es considerada como resistente.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Ensayo I. Evaluación de la efectividad biológica de herbicidas

La actividad de los herbicidas durante el estudio de efectividad biológica fue gradual; es decir, fue mejorando conforme pasó el tiempo hasta llegar a los 30 días después de la aplicación (30 DDA).

Los análisis de varianza indicaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 10 DDA. En esta evaluación se observó que los herbicidas flucarbazone sódico y la mezcla de mesosulfuron metil + iodosulfuron metil exhibieron porcentajes de control bajos en los biotipos en estudio, incluso sobre el biotipo susceptible (Cuadro 6). Esto debido a que estos herbicidas pertenecen al grupo de los inhibidores de la ALS y se caracterizan por ser de lenta acción, comparados con los herbicidas inhibidores de la ACCasa u otros grupos químicos.

Cuadro 6. Porcentajes de control a los 10 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de *E. crus-galli* del estado de Guanajuato.

Tratamiento	Biotipo					
	Sus ¹	I	II	III	IV	V
Flucarbazone sódico	25.50 c	60.00 c	34.12 b	6.75 b	19.25 b	60.00 c*
Clodinafop propargil	81.56 b	93.25 a	85.37 a	83.75 a	87.00 a	91.37 a
Pinoxaden	90.25 a	94.75 a	93.25 a	83.75 a	90.25 a	95.50 a
Mesosulf. + Iodosulf	79.37 b	75.00 b	81.56 a	73.43 a	77.18 a	85.37 b
Testigo absoluto	0.50 d	0.50 d	0.50 c	0.50 b	0.50 c	0.50 d

*Las medias agrupadas con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes.

¹ Biotipo susceptible.

Mesosulf. + Iodosulf. = mesosulfuron metil + iodosulfuron metil.

Los activos clodinafop propargil y pinoxaden presentaron controles aceptables para esta evaluación (10 DDA), marcando diferencias estadísticas en cada uno de ellos al compararse con el resto de los tratamientos, por lo que la prueba de comparación

de medias Tukey ($\alpha=0.05$) los agrupó como los mejores tratamientos para el control de esta especie. Sus efectos fueron contundentes, ya que las plantas de los biotipos de *E. crus-galli* prácticamente quedaron muertas; por el contrario, el efecto de los herbicidas inhibidores de la ALS sólo se hizo notar en la disminución del tamaño de las plantas y una ligera clorosis (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.).

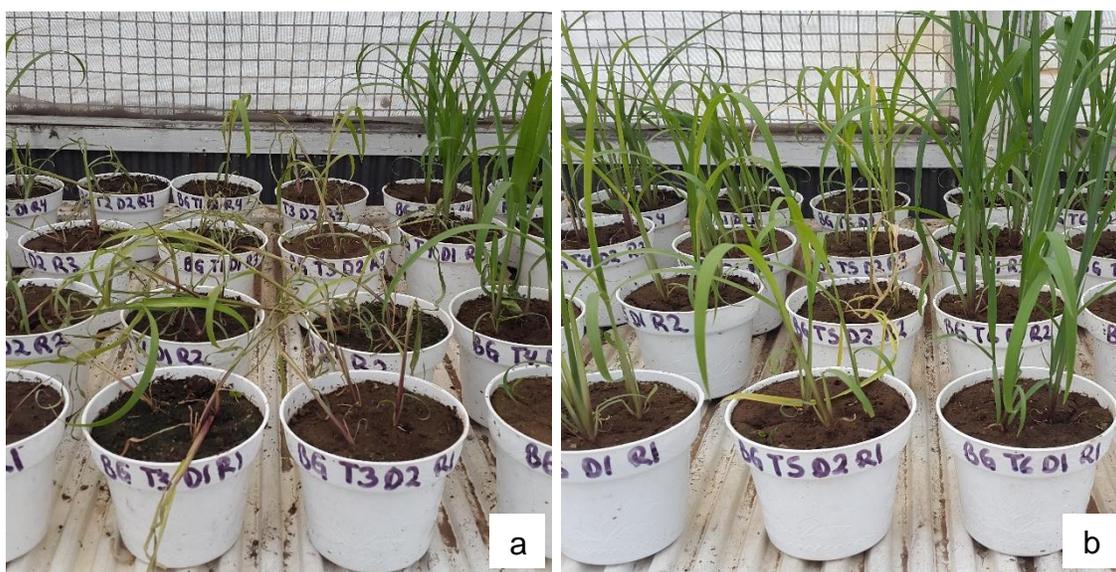


Figura 5. Efectos y síntomas observados a los 10 días después de la aplicación de los a) Inhibidores de la ACCasa (pinoxade); b) Inhibidores de la ALS (flucarbazone sódico).

Para la segunda evaluación (20 DDA), los herbicidas clodinafop propargil y pinoxaden mostraron un excelente control de todos los biotipos en estudio, superando el límite de aceptabilidad de la escala EWRS y siendo los tratamientos con mayor control; además, no presentaron diferencias estadísticas significativas entre ellos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentajes de control a los 20 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de *E. crus-galli* del estado de Guanajuato.

Tratamiento	Sus ¹	Biotipo				
		I	II	III	IV	V
Flucarbazone sódico	60.00 c	75.00 b	42.75 c	25.50 c	42.75 b	67.50 b*
Clodinafop propargil	97.75 a	96.31 a	97.12 a	89.75 a	96.25 a	99.50 a
Pinoxaden	99.50 a	99.50 a	99.50 a	93.25 a	98.62 a	99.50 a
Mesosulf. + Iodosulf	70.00 b	77.18 b	67.50 b	63.75 b	60.00 b	51.37 b
Testigo absoluto	0.50 d	0.50 c	0.50 d	0.50 d	0.50 c	0.50 c

*Las medias agrupadas con la misma letra dentro de columnas, no son significativamente diferentes.

¹ Biotipo susceptible.

Mesosulf. + Iodosulf. = mesosulfuron metil + iodosulfuron metil.

A partir de esta evaluación se observó que los biotipos sospechosos no presentaron indicios de resistencia a los herbicidas inhibidores de la ACCasa. Por el contrario, los efectos mostrados por el flucarbazone sódico y por el mesosulfuron metil + iodosulfuron metil, no alcanzaron el límite de aceptabilidad de la escala EWRS, con porcentajes de control inferiores al 80 % en todos los casos. De igual manera, se hizo notar que algunos biotipos mostraron mayor tolerancia a estos herbicidas, tal fue el caso de los biotipos II, III y IV con porcentajes de control inferiores a los obtenidos en el biotipo susceptible.

Los análisis de varianza indicaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 30 DDA. Los herbicidas del grupo de los ACCasa, fueron consistentes en esta evaluación, ya que mostraron los mejores efectos sobre todos los biotipos de *E. crus-galli* evaluados con porcentajes de control de 99.5 % a excepción del biotipo III, el cual obtuvo porcentajes de control mayores a 94 y 95 % para los activos clodinafop propargil y pinoxaden, respectivamente (Cuadro 8). Visualmente, las plantas tratadas con ambos herbicidas prácticamente quedaron muertas, notándose drásticamente la diferencia al comparar con el testigo absoluto (Figura 6).

Los herbicidas flucarbazone sódico y mesosulfuron metil + iodosulfuron metil manifestaron porcentajes de control de 75 y 79 %, respectivamente en el biotipo

susceptible, considerando estos últimos como regulares, según la escala Europea en uso; sin embargo, a excepción del biotipo I, en el resto de los biotipos los controles vistos fueron muy pobres, por lo que se confirmó la sospecha de resistencia de estos biotipos a los herbicidas inhibidores de la ALS (Flucarbazone sódico y Mesosulfuron + Iodosulfuron). Visualmente, las plantas tratadas con estos herbicidas de los biotipos sospechosos, no mostraron mucha diferencia en relación con el testigo absoluto, confirmando la sospecha de resistencia (Figura 7).

Cuadro 8. Porcentajes de control a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas de uso común, en biotipos de *E. crus-galli* del estado de Guanajuato.

Tratamiento	Biotipo						
	Sus ¹	I	II	III	IV	V	
Flucarbazone sódico	75.00 b	60.00 c	42.75 b	25.50 b	34.12 b	55.12 b*	
Clodinafop propargil	99.50 a	99.50 a	99.50 a	94.43 a	95.50 a	99.50 a	
Pinoxaden	99.50 a	99.50 a	99.50 a	95.83 a	99.50 a	99.50 a	
Mesosulf. + Iodosulf.	79.37 b	79.37 b	42.75 b	25.50 b	34.12 b	25.50 c	
Testigo absoluto	0.50 c	0.50 d	0.50 c	0.50 c	0.50 c	0.50 d	

*Las medias agrupadas con la misma letra dentro de columnas, no son significativamente diferentes.

¹ Biotipo susceptible.

Mesosulf. + Iodosulf. = mesosulfuron metil + iodosulfuron metil.

Los resultados obtenidos por los herbicidas ALS coinciden con lo citado por Devine y Preston (2000), quienes mencionan que la resistencia hacia estos herbicidas se puede deber a la alta frecuencia de mutaciones en las plantas. De igual manera los malos controles de *E. crus-galli* a este grupo de herbicidas se atribuyen a la escasa absorción, transporte o degradación metabólica de los herbicidas, tal y como lo indica Hatzios (2001), al uso frecuente de uno o más herbicidas con el mismo modo de acción (Christoffers, 1999; Fischer, 2011) y a la especificidad del herbicida, la diversidad de los genes de resistencia involucrados y de la eficiencia del producto tal y como lo indican Valverde *et al.* (2000) y Cerdeira y Duke (2006).

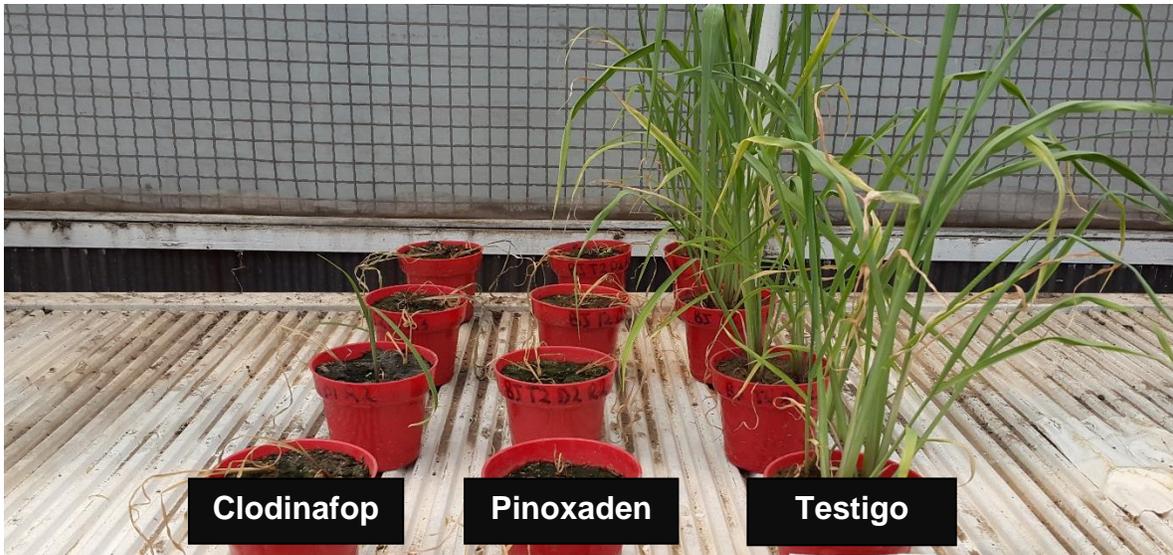


Figura 6. Efecto visual general de los herbicidas inhibidores de la ACCasa (clodinafop propargil y pinoxaden) mostrado sobre los biotipos de *E. crus-galli* 30 días después de la aplicación.

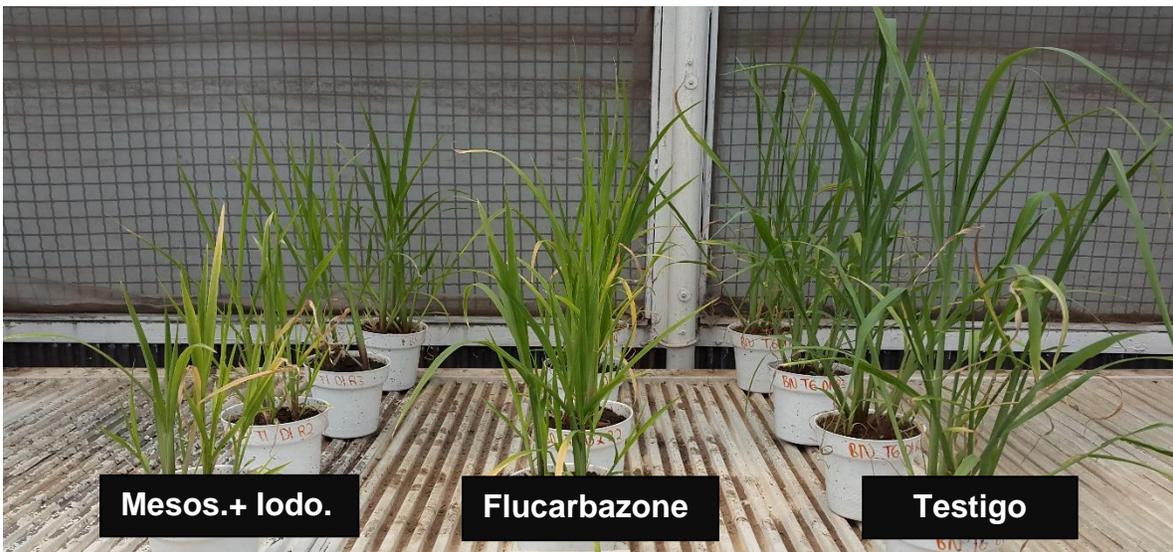


Figura 7. Efecto visual general de los herbicidas inhibidores de la ALS (mesosulfuron metil + iodosulfuron metil y flucarbazone sódico), sobre los biotipos de *E. crus-galli* 30 días después de la aplicación.

Con relación al comportamiento del herbicida flucarbazone sódico, se observó que el máximo efecto fue logrado en la segunda evaluación (20 DDA) para todos los biotipos; sin embargo, no fue creciente hacia los 30 DDA, excepto en el biotipo susceptible, mismo que presentó el mayor control por parte de este ingrediente activo. Para la mezcla de mesosulfuron metil + iodosulfuron metil, se observó que a los 10 DDA, exhibieron los mejores efectos, mismos que disminuyeron conforme pasó el tiempo, excepto el biotipo susceptible y el biotipo I, cuya actividad se mantuvo con los más altos porcentajes de control hasta la tercera evaluación (Figura 8).

El herbicida pinoxaden mostró el menor efecto sobre el biotipo III; sin embargo, superó el 95 % para la tercera evaluación. En el resto de los biotipos los porcentajes de control fueron totales; además, estos mismos se observaron desde los 10 DDA (Figura 9). Los mismos resultados fueron obtenidos con el herbicida clodinafop propargil. Con estos resultados se descartó la sospecha de resistencia a estos herbicidas (ambos inhibidores de la ACCasa), por lo que en el siguiente ensayo no fueron considerados. Los resultados obtenidos en este estudio difieren de lo citado por Mallory *et al.* (1990) y Devine (1997), quienes indican que la resistencia de las malezas a herbicidas ACCasa se pueden generar en un periodo de una a cinco generaciones después de haberse usado, situación no ocurrida para este caso, ya que en la región donde fueron recolectadas las semillas estos herbicidas tienen más de 15 años, excepto el pinoxaden que lleva en el mercado alrededor de 10 años. Sin embargo, los excelentes resultados obtenidos por estos herbicidas se atribuyen a un abundante y alta viabilidad del banco de semillas en el suelo, tal y como lo señala Valverde (2004). También es importante señalar que los malos controles obtenidos por los productores de la región se podrían atribuir a malas aplicaciones al no usar el equipo adecuado, en particular las puntas de abanico plano recomendadas para la aplicación de herbicidas y por otro lado a que no realizan la calibración de los equipos, lo que puede originar la aplicación de dosis no adecuadas (Salas, 2001).

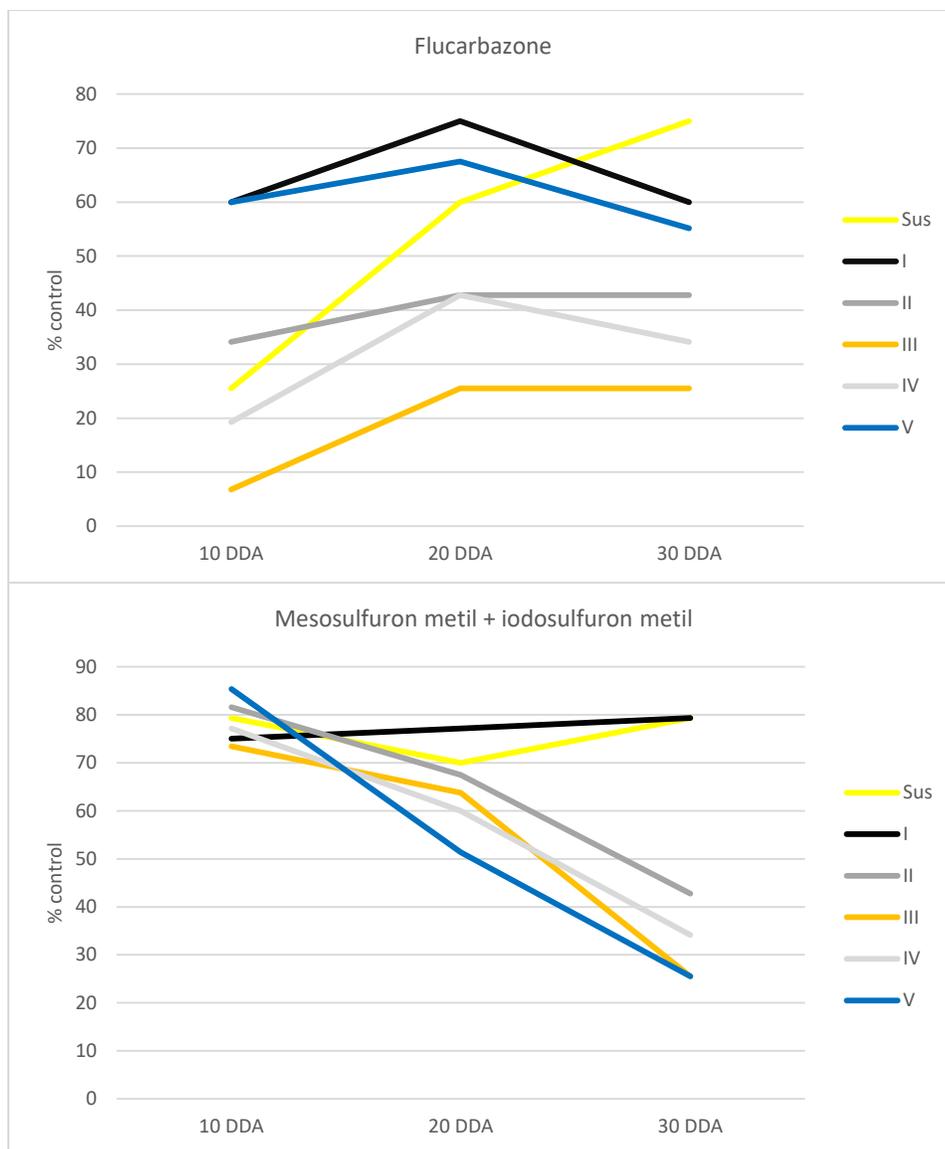


Figura 8. Porcentajes de control de los herbicidas inhibidores de la ALS (flucarbazone sódico y mesosulfuron metil + iodosulfuron metil) en biotipos de *E. crus-galli*.

Las mediciones del peso fresco de las plantas de los biotipos de *E. crus-galli* en estudio, confirmaron los resultados obtenidos de la evaluación final. En todos los biotipos, los herbicidas pinoxaden y clodinafop propargil presentaron el menor peso fresco (Figura 10); es decir, fueron los tratamientos con mayores controles; por el contrario, el peso fresco registrado para los herbicidas flucarbazone sódico y la

combinación de mesosulfuron metil + iodosulfuron metil fueron altos y similares al del testigo absoluto, con lo que se confirmó la sospecha de resistencia de estos herbicidas.

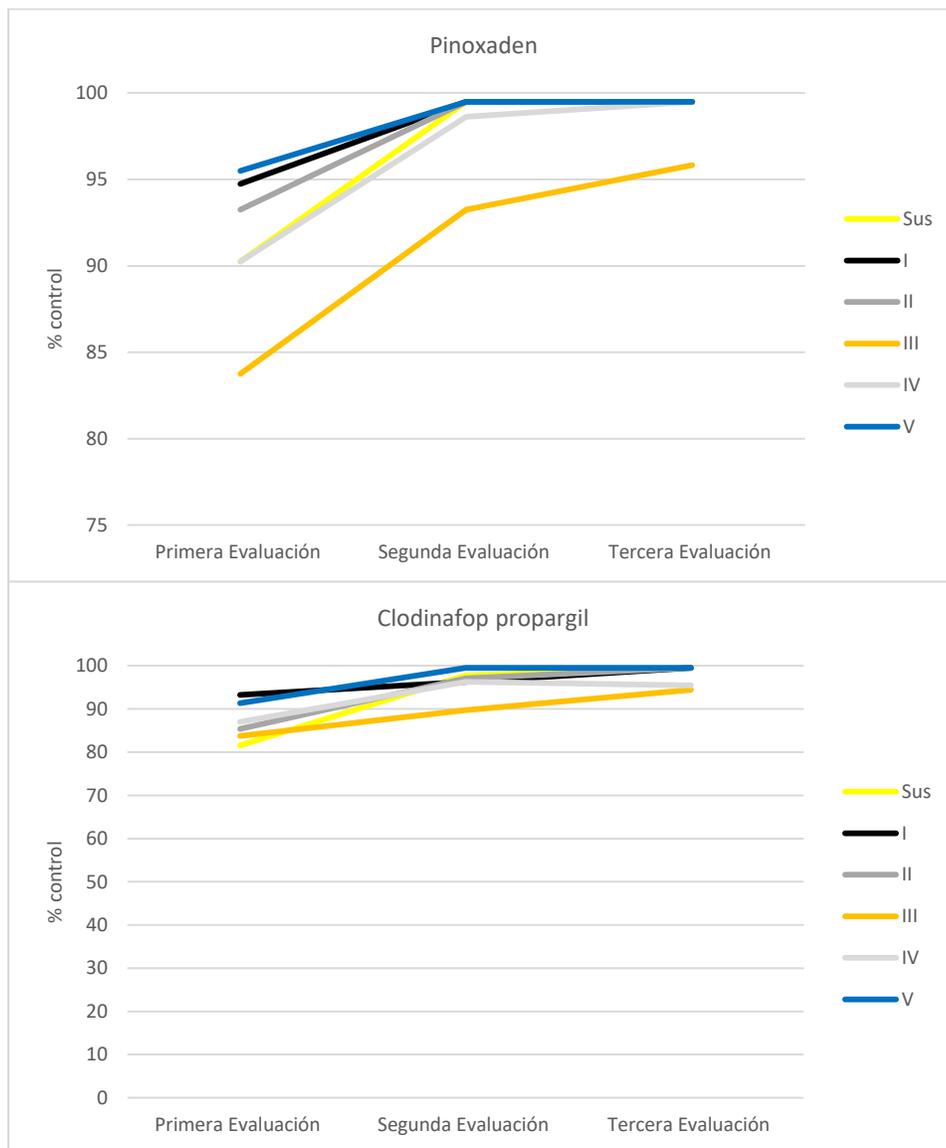


Figura 9. Porcentaje de control de los herbicidas inhibidores de la ACCasa (pinoxaden y clodinafop propargil) sobre los biotipos de *E. crus-galli*.

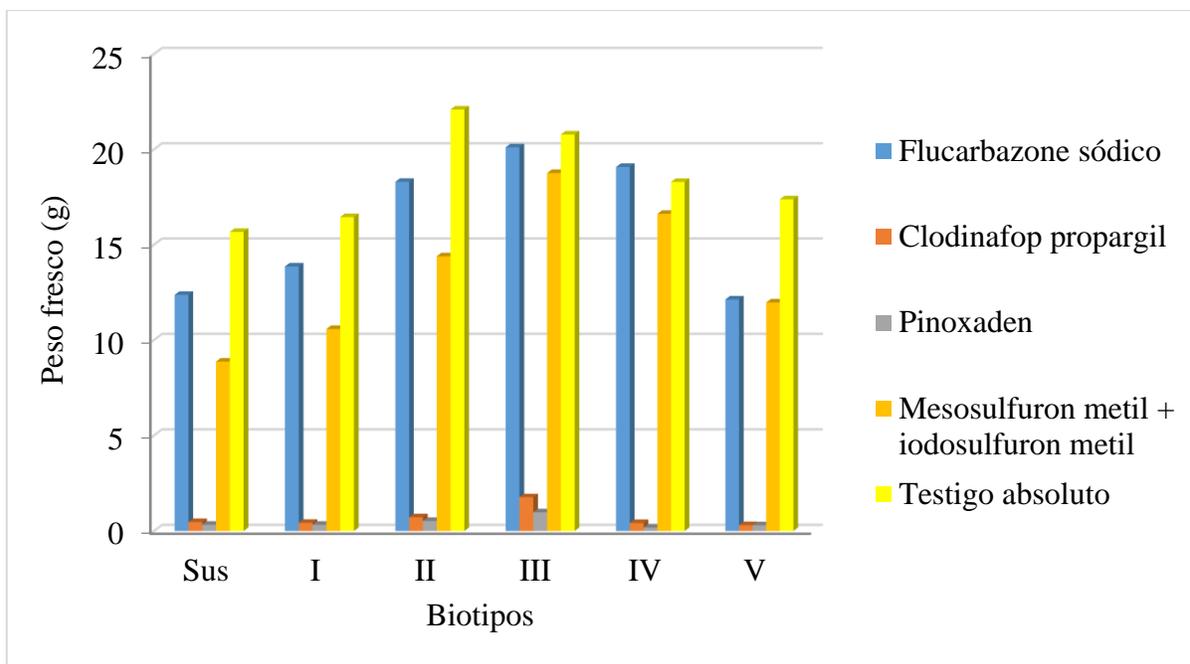


Figura 10. Peso fresco de los biotipos de *E. crus-galli* por unidad experimental a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa.

De igual manera y con la finalidad de descartar alguna variación por estrés hídrico, se realizó la medición del peso seco. Estos resultados tuvieron un comportamiento similar a la medición del peso fresco, indicando que los herbicidas inhibidores de la ACCasa fueron los mejores tratamientos para todos los biotipos; además, de señalar que los herbicidas inhibidores de la ALS obtuvieron un mayor peso seco, muy cercano al del testigo absoluto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Un vez obtenidos los resultados del primer ensayo se procedió a calcular el índice de resistencia únicamente para los herbicidas flucarbazono y mesosulfuron metil + iodosulfuron metil, de los biotipos sospechosos.

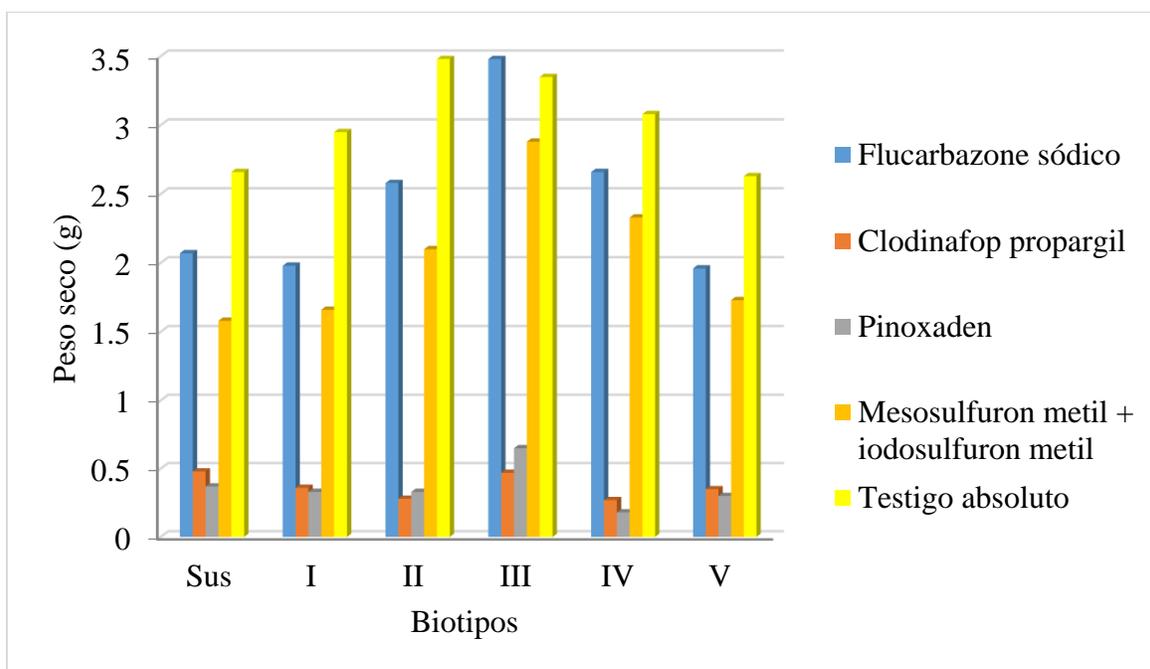


Figura 11. Peso seco de los biotipos de *E. crus-galli* por unidad experimental a los 30 días después de la aplicación de los herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa.

5.2. Ensayo II. Dosis – respuesta

5.2.1. Herbicida mesosulfuron metil + iodosulfuron metil

La determinación de la ED_{50} permitió obtener los índices de resistencia de los biotipos en estudio. Cabe resaltar que la ED_{50} en el biotipo susceptible fue de 9.34; es decir, que con 9.34 g de i.a. de mesosulfuron metil + iodosulfuron metil se esperaba el 50 % de inhibición del crecimiento, siendo que la dosis comercial es de 28 g i.a. ha^{-1} . Como se puede observar en el Cuadro 9, el biotipo V mostró una ED_{50} similar a la del testigo susceptible, lo que confirmó que este biotipo fue totalmente susceptible. Para el resto de los biotipos, los índices de resistencia calculados en base a las ED_{50} obtenidas a partir de peso fresco, fueron superiores a 1; es decir, que se necesita de mayor cantidad de ingrediente activo para inhibir el 50 % del crecimiento de estas poblaciones. De acuerdo con Valverde *et al.* (2000), que

indican que poblaciones con índices de resistencia mayores a 2 son consideradas como resistentes, en el estudio se demostró que los biotipos III y IV fueron resistentes a mesosulfuron metil + iodosulfuron metil, con índices de resistencia de 2.07 y 3.33, respectivamente. Para los biotipos I y II, de acuerdo a los índices resultantes no se consideran como poblaciones resistentes; sin embargo, el aumento en la ED₅₀ es un indicativo de estar en tiempo para poner en práctica programas de manejo de malezas resistentes, ya que se necesita de mayor cantidad de ingrediente activo para inhibir el 50 % del crecimiento de estas poblaciones, y como una de las causas de la resistencia es la sobredosificación y el uso continuo de herbicidas con el mismo modo de acción, no se recomienda seguir aplicando esta mezcla de herbicidas u otros inhibidores de la ALS, para el control del *E. crus-galli*; se sugiere en esta situación aplicar los herbicidas inhibidores de la ACCasa.

Cuadro 9. ED₅₀ e índice de resistencia (IR) de los biotipos en estudio, para el herbicida mesosulfuron-metil + iodosulfuron-metil.

Biotipo	ED ₅₀ Peso fresco	IR	ED ₅₀ Peso seco	IR
Sus ¹	9.34	1.0	7.02	1.0
I	11.27	1.20	8.74	1.24
II	17.52	1.87	12.63	1.79
III	19.36	2.07	21.78	3.10
IV	31.10	3.33	15.59	2.21
V	9.33	0.99	8.36	1.19

¹ Biotipo susceptible.

Gráficamente podemos comparar las curvas dosis-respuesta resultantes de la variable peso fresco (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Cabe señalar que al usar la variable peso seco para calcular la ED₅₀ los resultados obtenidos son similares, confirmando así que no hubo alguna variación causada por el estado hídrico de las plantas. Las poblaciones resultantes como resistentes,

siguieron siendo los biotipos III y IV con índices de resistencia de 3.10 y 2.21, respectivamente. Para el resto de los biotipos, se recomienda considerar los resultados como indicios de resistencia.

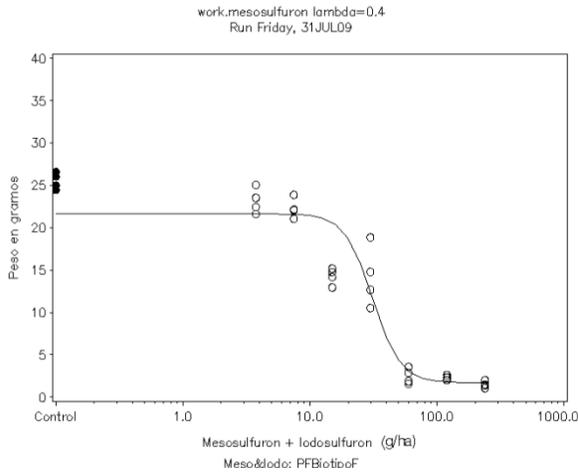
5.2.2. Herbicida flucarbazone sódico

Los resultados obtenidos del ensayo dosis-respuesta con el herbicida flucarbazone sódico, permitieron determinar que ninguno de los biotipos fue resistente a flucarbazone. El biotipo II mostró un índice de resistencia de 1.75 cuando se utilizó la variable peso fresco y de 1.35 con el peso seco. Este fue el biotipo con mayor índice de resistencia; sin embargo, no es significativo para considerarse como tal. El resto de los biotipos se comportaron como susceptibles al compararlos con el biotipo que sirvió como testigo (Cuadro 10). Entre las variables peso fresco y seco, no se observó variación en los resultados. Tomando en cuenta el concepto de resistencia cruzada, basta con considerar los resultados obtenidos con el mesosulfuron metil + iodosulfuron metil para inferir que las poblaciones que mostraron resistencia para estos activos, lo serán para algún ingrediente activo del grupo de herbicidas inhibidores de la ALS. Gráficamente, y como fue de esperarse, las curvas dosis-respuesta no mostraron diferencias marcadas entre los biotipos en estudio (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Cuadro 10. ED₅₀ e índice de resistencia (IR) de los biotipos en estudio, para el herbicida flucarbazone sódico.

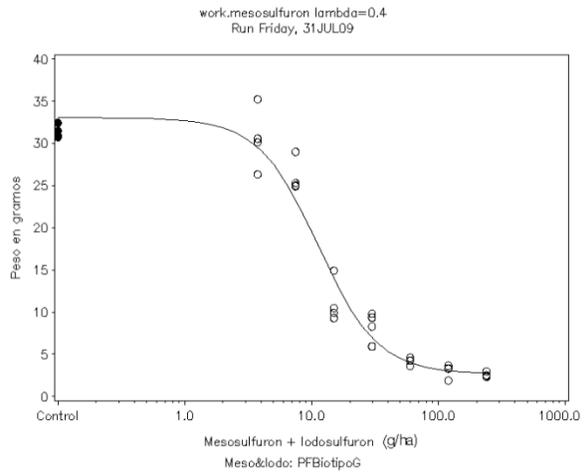
Biotipo	ED ₅₀ Peso fresco	IR	ED ₅₀ Peso seco	IR
Sus ¹	127.6	1	202.8	1
I	36.47	0.28	69.80	0.34
II	223.7	1.75	275.4	1.35
III	59.11	0.46	75.43	0.37
IV	135.1	1.05	146.6	0.72
V	40.65	0.31	31.50	0.15

1 Biotipo susceptible.



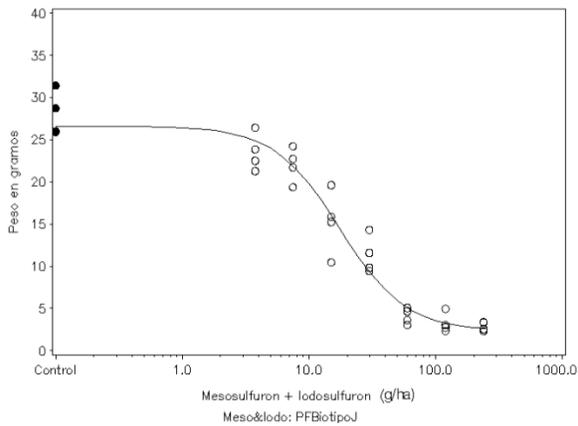
Biotipo IV

work.mesosulfuron lambda=0.4
Run Friday, 31JUL09



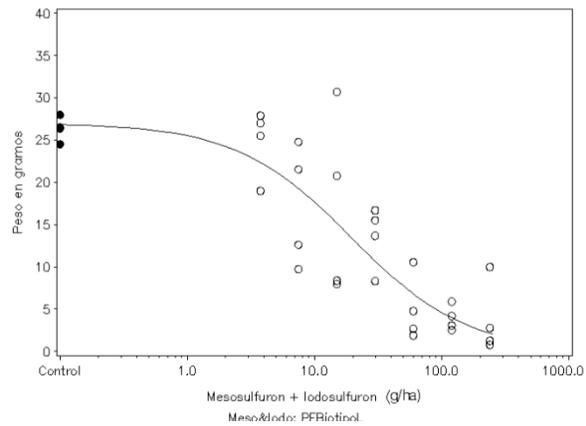
Biotipo I

work.mesosulfuron lambda=0.5
Run Friday, 31JUL09



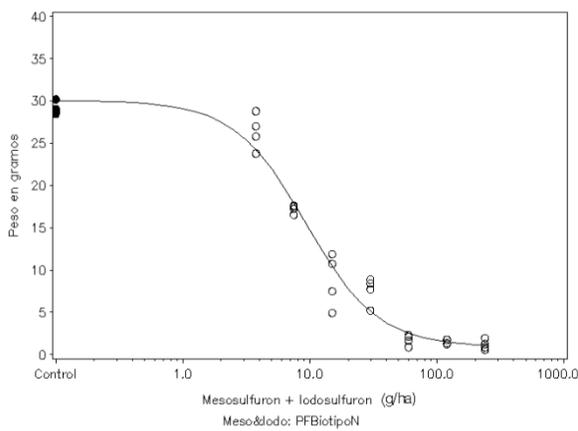
Biotipo II

work.mesosulfuron lambda=0.6
Run Friday, 31JUL09

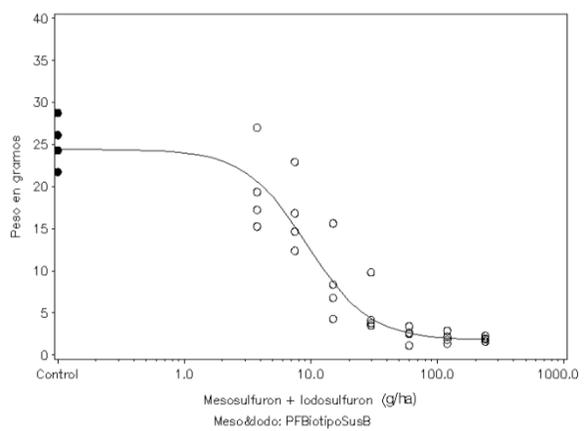


Biotipo III

work.mesosulfuron lambda=0.1
Run Friday, 31JUL09



Biotipo V



Biotipo Sus

Figura 12. Curvas de dosis-respuesta obtenidas con el peso fresco de los biotipos de *E. crus-galli* en estudio para el herbicida mesosulfuron metil + iodosulfuron metil.

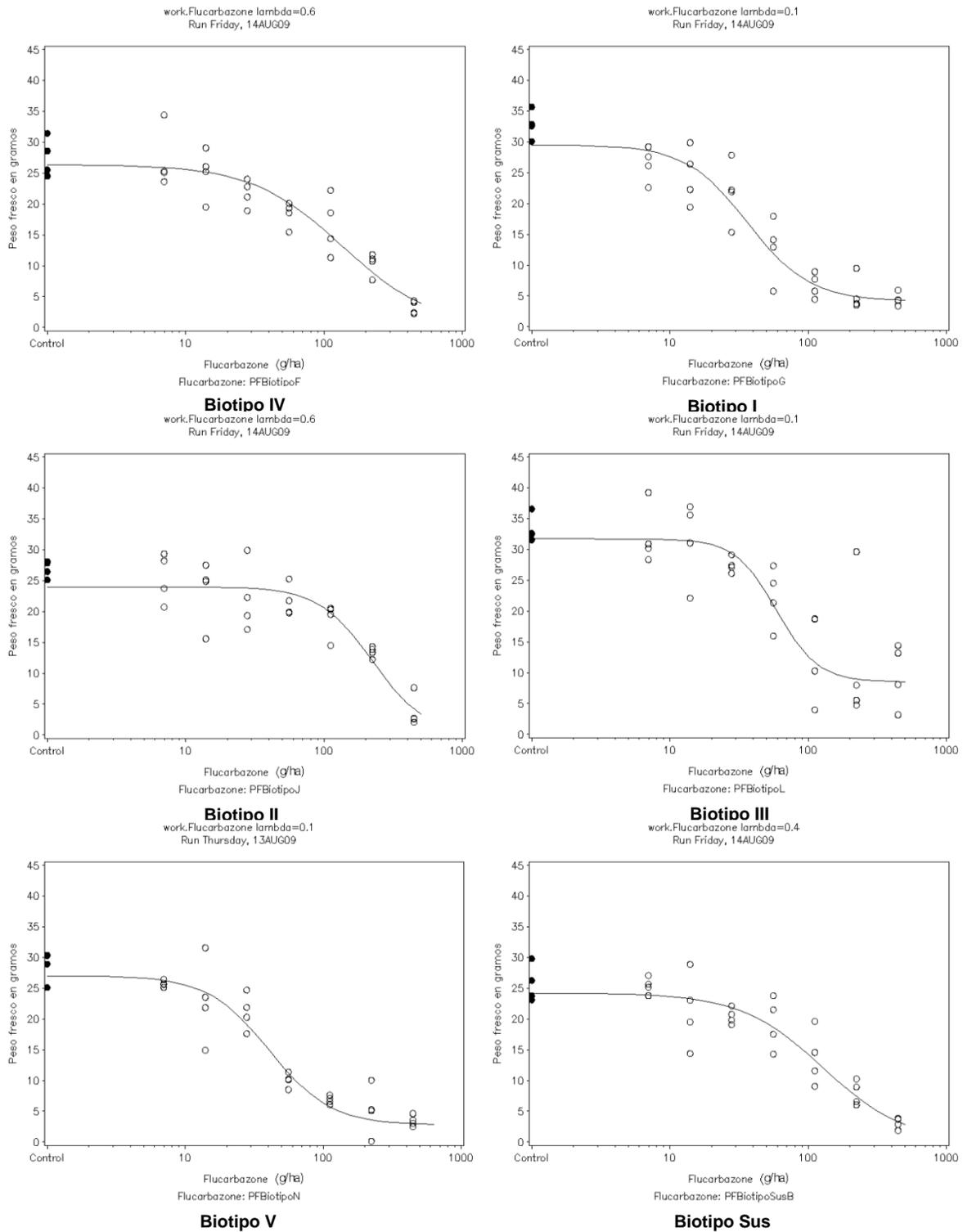


Figura 13. Curvas de dosis-respuesta obtenidas con el peso fresco de los biotipos de *E. crus-galli* en estudio para el herbicida flucarbazone sódico.

Como se muestra en los resultados de los ensayos de dosis respuesta, se confirma la resistencia de los biotipos sospechosos III y IV de *E. crus-galli* a herbicidas inhibidores de la ALS de acuerdo a los índices de resistencia (IR) presentados, tal y como se menciona en la literatura; si el IR es mayor de 2.0 se confirma la existencia de resistencia (Valverde y Heap, 2010).

Los factores involucrados en el desarrollo y aparición de la resistencia están relacionados con la biología de la especie de la maleza en cuestión, el cultivo de interés, prácticas de manejo del cultivo, la residualidad del herbicida, la susceptibilidad del biotipo, la densidad de población, la aptitud de la maleza para producir semillas cuando ésta no es afectada severamente después de una aplicación, el reservorio y letargo de semillas susceptibles en el suelo, la dosis de aplicación, el número de aplicaciones por ciclo, el tipo de suelo, las condiciones ambientales y los mecanismos de acción del herbicida; el descuido de cualquiera de estos factores en la práctica, será motivo de riesgo en la evolución de los biotipos resistentes de las especies nocivas en general (Radosevich *et al.*, 1997 y Preston y Powles, 2002). En este caso particular la causa de la resistencia se atribuye al uso continuo e intensivo del mismo grupo de herbicidas.

VI. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, y en las condiciones en las que se desarrollaron los bioensayos se concluye:

- Los herbicidas clodinafop propargil y pinoxaden mostraron el mayor porcentaje de efectividad biológica (>94%) en biotipos de *Echinochloa crus-galli*, provenientes del estado de Guanajuato.
- Los herbicidas flucarbazone sódico y mesosulfuron metil + iodosulfuron metil mostraron una efectividad biológica superior al 75% en el biotipo susceptible, mientras que en los biotipos sospechosos la efectividad biológica fue menor a 60%.
- Los biotipos sospechosos III y IV de *Echinochloa crus-galli*, manifestaron resistencia cruzada a herbicidas inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS), ya que los valores del IR fueron mayores a 2.
- Los biotipos sospechosos de *Echinochloa crus-galli*, no exhibieron resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima a carboxilasa (ACCase) y la acetolactato sintetasa (ALS).

VII. LITERATURA CITADA

- Akobundu, I. O. 1987. Weed science in the tropics principles and practices Ed. John Wiley & Sons. Chichester, England. pp. 267-273.
- Álvarez, M. A. 2006. Levantamiento ecológico de malezas en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) del bajío guanajuatense en el ciclo agrícola otoño - invierno de 2005-2006. Tesis de Licenciatura. Depto. Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 64 p.
- Birowo, A. T. 1982. Economic aspects in the improvement of weed control methods. Proceedings of the workshop on weed control in small farms 15: 17-1.
- Burril, L. C., J., Cárdenas y E. Locatelli. 1977. Manual de Campo para Investigación en Control de Malezas. Ed. Plant Protection Center. Turrialba, Costa Rica. 64 p.
- Cerdeira, A.L. and S.O. Duke. 2006. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. J. Environ. Qual. 35(5):1633-1658.
- Christoffers, M.J. 1999. Genetic aspects of herbicide-resistant weed management. Weed Technol. 13:647-652.
- Cruz H., H. E. 2010. Gramíneas resistentes a herbicidas en Latinoamérica: aspectos agronómicos y bioquímicos. Tesis doctoral. Córdoba, España. 266 p.
- Cruz H., H. E., J. A. Domínguez V. y A. De Prado R., 2010. Mecanismos de resistencia de malezas a herbicidas. *In*: Resistencia de plantas a herbicidas. (eds) Valenzuela J. A. D y J. Medina P. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México. pp. 25-30.
- Cruz H., H. E., D. Osuna M., J. A. Domínguez V., Espinoza N. and A. De Prado R. 2011. Mechanism of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in wild oat (*Avena fatua*) from Latin America. J. Agric. Food Chem. 59:7261- 7267.

- De Prado, J. L., R. De Prado, & R. H. Shimabukuro. 1999. The effect of diclofop on membrane potential, ethylene induction and herbicide phytotoxicity in resistant and susceptible biotypes of grasses. *Pest. Biochem. Physiol.* 63:1-14.
- De Prado J., L., D. Osuna M., A. Heredia, and A. De Prado R. 2005. *Lolium rigidum*, a pool of resistance mechanisms to ACCase inhibitor herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 53:2185-2191.
- Délye, C. 2005. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. *Weed Sci.* 53:728-746.
- Devine, M. D., Duke, S. O. and Fedtke, C. 1993. *Physiology of herbicide action.* Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. 441 p.
- Devine, M. D. 1997. Mechanisms of resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors: A review. *Pestic. Sci.* 51:259-264.
- Devine, M. D. y C. Preston. 2000. The molecular basis of herbicide resistance. *In: Herbicides and their mechanisms of action.* Cobb, A.H. and Kirkwood, R.C. (eds.) Inglaterra. Sheffield Academic Press Ltd. pp. 72-104.
- Dieleman, J. A. and D. A. Mortensen. 1997. Influence of weed biology and ecology on development of reduced dose strategies for integrated weed management systems. *In: Integrated Weed and Soil Management.* Hatfield, J. L., D. D. Buhler, and B. A. Stewart (eds.). Ann Arbor Press Inc. Chelsea, MI. pp. 333-336.
- Espinosa N., Rodríguez, C., Díaz J. y Galdames, R. 2010. Técnicas sencillas para detectar y evaluar resistencia a herbicidas. INIA-Carillanca, Temuco, Chile. 10 p.
- Esqueda E., V. A. 2005. Metodologías para identificar la resistencia a herbicidas. p. 172-189. *In: Curso pre congreso de la Asociación Mexicana de la Ciencia de la Maleza.* Cd. Victoria, Tamaulipas. México.
- Esqueda E., V. A., Zita-Padilla, G. y Rosales R., E. 2011. Resistencia a herbicidas. *In: Manejo de malezas en México.* Bojórquez B., G., Vargas T., V., Zita P., G.,

- Rosales R., E. y Esqueda E., V. A. (eds.). Vol. 1. Maleza terrestre. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sin., México. pp. 219-243.
- FAO. 2004. Evaluación de riesgos ecológicos de los cultivos resistentes a herbicidas e insecticidas. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Taller regional 17-20/2/2004.
- FAO. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas: 100 preguntas sobre resistencias. 78 p.
- Fischer, A. J. 2011. Resistencia a herbicidas: mecanismos y mitigación. Revista Técnica Especial Malezas problema. AAPRESID. pp. 13-19.
- García, T. L.; C. Fernández Q. 1991. Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Ed. Mundi- Prensa. Madrid España. 348 p.
- Gómez, B. J. G. 1993. Control químico de la maleza. Ed. Trillas. México, D.F. 250 p.
- Gómez, J. F. 1995. Control de malezas. El cultivo de caña en la zona azucarera de Colombia, Cali. CENICAÑA. pp. 143 – 152.
- Gressel, J. 2002. Molecular biology of weed control. Ed. Taylor and Francis. New York, United States. 504 p.
- Hatzios, K. K. 2001. Mechanism of resistance to herbicides. *In*: Uso de herbicidas en la agricultura del siglo XXI. De Prado, R. and Jorrin, J. V. (eds). Córdoba, España: Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. pp. 275-278.
- Heap, I. 1994. Identification and Documentation of Herbicide Resistance. *Phytoprotection* 75: 85-90.
- Heap, I. 2016. International survey of herbicide resistant weeds. Disponible [en línea] en: <http://www.weedscience.com/summary/home.aspx>. (Consultado el 1 de octubre de 2016).
- Hernández, F. M. 2001. Control de la maleza en trigo (*T. aestivum* (L.) Tell) y cebada (*H. vulgare* L.) en la República Mexicana. Tesis de licenciatura. Depto. De Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo. México. pp. 15-21.

- Jasieniuk, M., A. L. Brûlé-Babel, y I. N. Morrison. 1996. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Sci.* 44: 176-193.
- Koch, W. 1989. Principles of weed management (manuscript of a course). Plits 7, 85 p.
- Labrada R. y C. Parker. 1992. Manejo de malezas para países en desarrollo. [En Línea]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/>. Consultado en junio de 2016.
- Mallory, S. C., P. Hendrickson, G. W. Mueller-Warrant. 1990. Identification of herbicide resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technol.* 4:163-168.
- Marmolejo V., M. 2005. Levantamiento ecológico de malezas y banco de semillas en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) en cuatro municipios del Estado de Guanajuato. Tesis profesional. Dpto. de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 64 p.
- Matthews, J. M., J. A. Holtum, D. R. Liljegren, B. Furness, & S. B. Powles. 1990. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). I. Properties of the herbicide target enzymes acetyl-coenzyme-A carboxylase and acetolactate synthase. *Plant Physiol.* 94:1180-1186.
- Moss S. E. M. 2002. Herbicide-Resistant Weeds. *Weed Management Handbook*. Ed. Naylor. R.E.L.. British Crop Protection Council. UK. pp 226-230.
- Moss S., R., M. Cocker, K, C. Brown A., L. Hall, and M. Field, L. 2003. Characterization of target-site resistance to ACCase-inhibiting herbicides in the weed *Alopecurus myosuroides* (blackgrass). *Pest Manag. Sci.* 59:190-201.
- Pitty A. 1997. Introducción a la Biología, Ecología y Manejo de Malezas. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 300 p.
- Powles S. and P. Howat. 1990. Herbicide-resistant weed in Australia. *Weed Technol.* 4:178-185.

- Preston, C. y S. B., Powles. 2002. Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. *Heredity* 88: 8-13.
- Radosevich S., R. 1977. Mechanism of Atrazine Resistance in Lambs-Quarters and Pigweed. *Weed Science* 25. pp. 316-318.
- Radosevich S., J. Holt and C. Ghersa. 1997. *Weed Ecology: Implications for Management*. 2a. ed. John Wiley and Sons, Inc. 589 p.
- Ross, M.A. and C.A. Lembi. 1999. *Applied Weed Science*. Second Edition. Burgess. Minneapolis, USA. 452 p.
- Ross M. A. and C. A. Lembi. 2009. *Applied Weed Science*. Third Edition. Prentice Hall. New Jersey, U.S.A. 561 p.
- Rzedowski, G. C. y J. Rzedowski, 2001. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. 979 p.
- Salas M. 2001. Resistencia a herbicidas, detección en campo y laboratorio *In: Uso de herbicidas en el siglo XXI*. De Prado, R. y Jorrián, J. V. (eds). Córdoba, España. II Simposium Internacional. Servicio de Publicaciones de la Universidad de España. pp. 251-260.
- Seefeldt, S.S.; S. E. Jensen, E. P. Fuerst. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. *Weed Technology*, v.9, pp. 218-227.
- Senseman, S. A. 2007. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of América. Ninth Edition. Lawrence, U.S.A. 458 p.
- Sherman, T. D., K. C. Vaughn, & S. Duke. 1996. Mechanism of action and resistance to herbicides. *In: Herbicide resistant crops*. CRC Press. Duke, S. O. (ed.). Boca Raton, FL, USA. pp. 14-28.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2016. *Producción Agrícola*. Cíclicos 2014. Trigo grano. Disponible [en línea] en:

<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>.

Consultado el 08 de marzo de 2016.

- Streibig J. C. 1988. Herbicide bioassay. *Weed Research* 28:479-484.
- Streibig J. C. 2003. Assessment of herbicides effects. Dept. Agricultural Sciences (Crop Science), Faculty of Life Sciences. The University of Copenhagen. Taastrup Denmark. 40 p.
- Taberner P., A., A. Cirujeda R. y C. Zaragoza L. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Zaragoza, España. 78 p.
- Tafoya, R. J. A. y M. R. Carrillo, M. 2009. Control de la maleza en el cultivo de cebada en el altiplano. *Memorias XXX Congreso Mexicano de la Ciencia de la Maleza*. Culiacán, Sin., México. pp. 89-92.
- Tafoya, R. J. A., R. Ocampo A., y M. R. Carrillo, M. 2009. Control de la maleza en el cultivo de trigo en el altiplano. *Memorias XXX Congreso Mexicano de la Ciencia de la Maleza*. Culiacán, Sinaloa, México. pp. 13.
- Tranel, P.J., T. R. Wright. 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What have we learned? *Weed Sci.* 50 (6): 700-712.
- Valverde B., E. C. R. Riches y J. C. Caseley. 2000. Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz: experiencias en Centro América con *Echinochloa colona*. -1ª ed- San José, Costa Rica: Cámara de insumos Agropecuarios. 136 p.
- Valverde B., E. 2004. Manejo de malezas para países en desarrollo Apéndice I. In Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Editor Labrada, R. ISBN 92-5-105019-8.
- Valverde, B. E. 2007. Status and management of grass-weed resistance in Latin America. *Weed Technol.* 21(2):310-323.

- Valverde B., E y I. M. Heap., 2010. Situación actual de la resistencia a herbicidas en el mundo. *In: Resistencia de plantas a herbicidas*. Valenzuela J. A. D y J. Medina P., (eds.). Universidad Autónoma Chapingo. Edo. De México. pp. 15-21.
- Vencill, W. K. 2002. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of América. Eighth Edition. Lawrence, U.S.A. 493 p.
- Villareal, Q. J. 1983. *Malezas de Buenavista, Coahuila*. Universidad Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. 271 p.
- Walker, K. A., S. M. Ridley, T. Lewis and J. L. Hardwood. 1989. Action of aryloxyphenoxy carboxylic acids on lipid metabolism. *Reviews of Weed Science* 4:71-84.
- WSSA (Weed Science Society of America). 1998. Herbicide Resistance and Herbicide Tolerance Defined. *Weed Technology*. Volume 12, Issue 4. pp. 12.
- Wyse, D. L. 1994. New technologies and approaches for weed management in sustainable agriculture systems. *Weed Technology* 8:403-407.