

EL ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA A HERBICIDAS EN EL MUNDO

Bernal E. Valverde^{1,2} y Ian M. Heap³

¹Investigación y Desarrollo en Agricultura Tropical (IDEA Tropical)
P.O. Box 2191, Alajuela 4050, Costa Rica. E-mail: ideatrop@ice.co.cr

²Faculty of Life Sciences, The University of Copenhagen
Hojebakkegaard Allé 13, Taastrup, DK-2630, Denmark. E-mail: bev@life.ku.dk

³Weedsmart, P.O. Box 1365, Corvallis, OR 97339, U.S.A. E-mail:
IanHeap@weedsmart.com

Resumen: Actualmente hay 332 biotipos de malezas resistentes a herbicidas pertenecientes a 189 especies (113 dicotiledóneas y 75 monocotiledóneas) en 60 países. Nueve de ellos (Alemania, Australia, Brasil, Canadá, España, Estados Unidos, Francia, Israel, y el Reino Unido) contribuyen el 60% de los casos de resistencia registrados. Por muchos años las malezas resistentes a triazinas constituyeron el grupo más numeroso de malezas que evolucionaron resistencia a herbicidas pero fueron sobrepasadas por aquellas que evolucionaron resistencia a los herbicidas inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS), con un total de 102 biotipos. Otros modos de acción o grupos de herbicidas relevantes para los cuales un número importante de malezas se han vuelto resistentes son los inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase), las auxinas sintéticas, bipiridilos, úreas y amidas, y el herbicida derivado de glicina, glifosato. Sólo unos pocos herbicidas no han sido afectados por el problema de la resistencia. El modo de acción más reciente se introdujo hace 18 años y las compañías de agroquímicos carecen de modos de acción novedosos que puedan alcanzar el mercado en un futuro cercano. Las regulaciones más estrictas para el registro de plaguicidas limitan la disponibilidad de herbicidas con modos de acción alternativos para combatir la resistencia. Se debe realizar esfuerzos mayores para preservar los herbicidas disponibles y para evitar y contener la diseminación de malezas resistentes a herbicidas.

Palabras claves: malezas resistentes, modo de acción, resistencia cruzada, resistencia múltiple, presión de selección.

Summary: Current Status of Herbicide Resistance in the World. Currently there are 332 herbicide resistant weed biotypes belonging to 189 species (113 dicotyledonous and 75 monocotyledonous) in 60 countries. Nine of them (Australia, Brazil, Canada, France, Germany, Israel, Spain, United Kingdom and United States) contribute 60% of the herbicide resistance cases registered. For several years, triazine-resistant weeds comprised the largest group of weeds evolving herbicide resistance but they were surpassed by weeds resistant to herbicides that inhibit the acetolactate synthase (ALS) enzyme (currently 102 biotypes). Other relevant modes of action or herbicide groups to which an important number of weeds have become resistant are Acetyl Coenzyme-A Carboxylase (ACCase) inhibitors, synthetic auxins, bipyridiliums, ureas and amides, and the glycine herbicide glyphosate. Only a few herbicides have not been affected by

having resistant weeds. The newest herbicide mode of action was introduced 18 years ago and no new modes of action are in the pipeline of agrochemical companies for near future introduction. More stringent registration also limits the availability of herbicides with alternative modes of action to combat resistance. Major efforts should be devoted to preserve available herbicides and to prevent and contain the spread of herbicide resistant weeds.

Keywords: cross resistance, mode of action, multiple resistance, resistant weeds, selection pressure.

Introducción

Los herbicidas constituyen el 45% del mercado de plaguicidas valorado en USD 35.000 millones (UTTLEY, 2009). Sin duda alguna estos agroquímicos, entre cuyos primeros representantes selectivos estuvieron el 2,4-D y MCPA introducidos a mediados de los 1940s, revolucionaron el control de malezas y han contribuido a aumentar el rendimiento de las cosechas y a acrecentar el bienestar general. En la actualidad, unos 260 ingredientes activos, pertenecientes a 70 familias químicas, con unos 13 modos de acción reconocidos, contribuyen a la producción agrícola (QUADRANTI, comunicación personal). Su uso generalizado y gran dependencia para el control de malezas, sin embargo, no ha estado exento de problemas, en particular por la selección de malezas resistentes. En este trabajo se documenta la situación actual de las malezas resistentes a herbicidas en el mundo.

Resistencia a herbicidas

La definición de resistencia ha sido objeto de mucha discusión. Se entiende por *resistencia* la capacidad evolucionada de una población de una maleza anteriormente susceptible a un herbicida de soportarlo y completar su ciclo de vida cuando el herbicida se emplea a su dosis normal en una situación agrícola (HEAP and LEBARON, 2001). Esta definición tiene un carácter general y de uso práctico que sirve de base para la inclusión de casos de resistencia en el Registro Internacional de Malezas Resistentes a Herbicidas (*International Survey of Herbicide-Resistant Weeds*) disponible en www.weedscience.org. La *Weed Science Society of America* 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. En una planta, la resistencia puede ocurrir de forma natural o inducida por técnicas como la ingeniería genética o la selección de variantes producidas por cultivo de tejidos o mutagénesis” (WSSA, 1998).

Con mucha frecuencia se emplean los términos resistencia y tolerancia indistintamente. Sin embargo, es pertinente hacer la distinción. De nuevo, la *Weed Science Society of America* define *tolerancia* como “la capacidad hereditaria de una especie de sobrevivir y reproducirse después del tratamiento con un herbicida. Esto implica que no hubo selección o manipulación genética para hacer la planta tolerante; la planta es

naturalmente tolerante” (WSSA, 1998). La tolerancia tiene una relación directa con la selectividad de los herbicidas. En el desarrollo de estos agroquímicos se procura seleccionar compuestos que no afecten a los cultivos pero que sean letales a las malezas.

Otros términos relevantes son los de resistencia cruzada y resistencia múltiple. La *resistencia cruzada* ocurre cuando un mecanismo de resistencia individual confiere resistencia a varios herbicidas. La *resistencia cruzada de sitio activo* está conferida por una modificación en el sitio de acople común (enzima o proteína específica) a varios herbicidas, como en el caso de los herbicidas pertenecientes a las familias químicas de las sulfonilúreas, imidazolinonas, triazolopirimidinas y piridinil benzoatos que inhiben la enzima acetolactato sintasa (ALS). Dependiendo de la mutación presente en la enzima ALS, así se observarán distintos patrones de resistencia cruzada a estas familias de herbicidas o a herbicidas individuales dentro de cada familia (LAPLANTE *et al.*, 2009). También puede presentarse *resistencia cruzada fuera del sitio activo* en cuyo caso un único mecanismo confiere resistencia a diversos herbicidas con distintos modos de acción. Estos mecanismos de resistencia usualmente no tienen relación con el mecanismo de acción del herbicida y más bien dependen de la capacidad acrecentada de la maleza para metabolizar al herbicida, por ejemplo a través de citocromos P450 o mediante la participación de transferasas de la glutatona (GRAY *et al.*, 1996; SIMINSZKY, 2006). Aunque no se ha documentado todavía, es probable que mecanismos que involucren transportadores tipo ABC (BUSS and CALLAGHAN, 2008; CABRITO *et al.*, 2009; ITO and GRAY, 2006; YAZAKI *et al.*, 2009) puedan conferir resistencia cruzada fuera del sitio activo a diversos herbicidas sistémicos, tal como sucede con la resistencia múltiple a medicamentos (LINTON, 2007; PORCELLI *et al.*, 2009). La *resistencia múltiple* se presenta cuando una planta o población acumula dos o más mecanismos de resistencia. Cuantos más mecanismos estén presentes, mayor diversidad de familias químicas y modos de acción resultarán ineficaces para controlar la maleza. Por ejemplo, un biotipo de *Lolium rigidum* de Australia es resistente a glifosato debido a que al transporte limitado de este herbicida en la planta y a herbicidas inhibidores de la enzima acetil coenzima A carboxilasa (ACCase) y ALS por metabolismo acelerado de los herbicidas que involucra distintas enzimas del grupo de los citocromos P450 (YU *et al.*, 2009). En Oregon, EE.UU., se encontró un biotipo de *Bromus tectorum* resistente a triazinas (por la mutación Ser264Gly del sitio de acción, proteína D1) que también es resistente a herbicidas ALS (primisulfurón, sulfosulfurón, propoxicarbazone-sodio e imazamox) por metabolismo acelerado. Este biotipo, además, fue moderadamente resistente etofumesate, cletodim, fluazifop, diuron, y terbacil (PARK and MALLORY-SMITH, 2005; PARK *et al.*, 2004; PARK and MALLORY-SMITH, 2004). Un caso extremo es el de otro biotipo de *L. rigidum* que evolucionó resistencia a nueve clases de herbicidas después de ser tratado por 21 años con cinco herbicidas pertenecientes a distintas familias químicas. Las plantas de este biotipo son resistentes a úreas sustituidas (diurón y clorotolurón), inhibidores de ALS (incluidos clorsulfurón, triasulfurón, sulfometurón, imazaquin e imazapir), triazinas simétricas (atrazina, simazina y ametrina) y la asimétrica metribuzina, e inhibidores de ACCase (varios ariloxifenoxipropanoatos incluido el diclofop y ciclohexanedionas como tralkoxidim y setoxidim). El biotipo también es resistente a metolaclor y propaclor (cloroacetamidas) y ligeramente resistente a paraquat (bipiridilo) y a tridifano (BURNET *et al.* 1994;

BURNET *et al.*,1994). Necesariamente varios mecanismos confieren resistencia a herbicidas en este biotipo. Una forma resistente de ACCasa provee resistencia a diclofop, fluazifop y haloxifop pero no a tralkoxidim y setoxidim; la planta también metaboliza rápidamente al diclofop y tralkozidim, a los inhibidores del Fotosistema II clorotolurón y simazina y al inhibidote de la ALS clorsulfurón. Aproximadamente el 5% de la población también posee una ALS resistente (PRESTON *et al.* 1996).

Evolución de la resistencia a herbicidas

Varios factores determinan la evolución de resistencia a herbicidas en las malezas. El herbicida, en virtud de su eficacia biológica, ejerce presión de selección sobre las poblaciones de malezas de modo que los individuos que naturalmente poseen un mecanismo que les permite soportar el efecto del producto sobreviven y se reproducen. Conforme pasan las generaciones expuestas al herbicida, el número de individuos resistentes se incrementa hasta que llegan a estar en mayor proporción en la población haciéndose entonces notoria la falta de eficacia del herbicida. La aplicación de dosis altas y el uso frecuente del mismo herbicida o de productos que poseen el mismo mecanismo de acción o de metabolización en la planta o ambos tiende a seleccionar poblaciones resistentes por sitio activo. Los herbicidas persistentes, al permanecer activos en el suelo por largos periodos ejercen mayor presión de selección que los que rápidamente se inactivan al entrar en contacto con los coloides del suelo. Sin embargo, el uso persistente de un herbicida sin efecto residual surte el mismo efecto: rápidamente selecciona individuos resistentes en la población. Por tal razón hay 24 especies de malezas resistentes a paraquat. Algunos herbicidas son más propensos que otros a seleccionar poblaciones resistentes. Se destaca en el grupo de los más propensos los inhibidores de la ALS y la ACCasa. Otros, como los inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa (Protox) y el glufosinato de amonio tienen menor riesgo de seleccionar malezas resistentes. Aunque la aplicación de dosis bajas disminuye la presión de selección de resistencia por sitio activo, selecciona plantas con niveles bajos de resistencia que pueden proliferar paulatinamente y acrecentar su grado de resistencia gracias a la hibridación y recombinación y a la acumulación de varias mutaciones. En estos casos, la resistencia puede ser conferida por varios genes (resistencia poligénica), cada uno con un efecto parcial, por amplificación de genes o por mutaciones secuenciales en alelos de un mismo gene, cada uno adicionando incrementos en la resistencia. Para referirse a este tipo de resistencia se propuso el término *resistencia multifactorial* (GRESSEL, 2002). Individuos susceptibles de *L. rigidum* sometidos a selección recurrente con dosis bajas de glifosato progresivamente aumentaron su nivel de resistencia al herbicida, duplicándolo tan solo después de tres generaciones. La polinización cruzada fue un factor determinante en el incremento del nivel de resistencia mediante la acumulación de posibles genes que confieren apenas un nivel bajo de resistencia al herbicida (BUSI and POWLES, 2009). En biotipos de *Conyza canadensis* y *C. bonariensis* la resistencia a glifosato se asocia con un transporte alterado del herbicida y un incremento en los niveles de transcripción de la EPSPS (DINELLI *et al.*, 2008; DINELLI *et al.*, 2006). Las dosis bajas también podrían propiciar un incremento en las tasas de mutación, incluidas las que confieren resistencia (GRESSEL, 2009).

Las características de la especie de maleza también influyen sobre la evolución de la resistencia. Uno de los atributos de las malezas es su variabilidad genética, la cual comprende la presencia de mutaciones, incluidas las que pueden conferir resistencia a herbicidas. Las mutaciones responsables de la resistencia a herbicidas no son inducidas por el herbicida sino que ocurren de forma espontánea (JASIENIUK *et al.*, 1996). La frecuencia inicial de estas mutaciones determina el número de generaciones requeridas para que la resistencia sea evidente. La frecuencia de las mutaciones que confieren resistencia a herbicidas depende de varios factores incluidos el número de genes (monogénicas versus poligénica y nivel de ploidía), mecanismo de herencia, tipo de gene y naturaleza de la modificación del gene (WARWICK, 1991). Así, esta frecuencia no es la misma para todos los herbicidas o modos de acción ni para todas las especies de plantas. La gran propensión de los inhibidores de ALS a seleccionar poblaciones resistentes se relaciona con la frecuencia con que el gene nuclear que codifica la enzima puede mutar, la cual se estima en alrededor de 10^{-6} , y a la posibilidad de que distintas mutaciones semi-dominantes, pero funcionalmente dominantes en condiciones de campo, puedan alterar el sitio de acople del herbicida en la enzima y confieran resistencia (DELYE *et al.*, 2009; LAPLANTE *et al.*, 2009; TRANEL and WRIGHT, 2002; GRESSEL, 2002). La frecuencia de individuos resistentes a sulfometurón-metilo y a imazapir varió entre 2.2×10^{-5} y 1.2×10^{-4} y entre 1.0×10^{-5} y 5.8×10^{-5} , respectivamente, en tres poblaciones de *L. rigidum* nunca antes expuestas a herbicidas inhibidores de la ALS (PRESTON and POWLES, 2002). La resistencia de sitio activo a las triazinas se hereda de manera recesiva en el ADN del cloroplasto. La mutación que confiere esta resistencia por ser cloroplástica aparece con frecuencias mucho más bajas, posiblemente del orden de 10^{-20} (GRESSEL, 2002). Esto, junto con el hecho de que su transmisión es predominantemente materna, ayuda a explicar por qué la resistencia a inhibidores de ALS apareció mucho más rápido que la resistencia a triazinas. Para algunos herbicidas como los inhibidores de las elongasas de los ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFAE), entre los que se incluyen los tiocarbamatos, cloroacetanilidas y cloroacetamidas, no se conoce la frecuencia de posibles mutaciones que confieran resistencia. Al menos 21 genes codifican VLCFAEs y estos herbicidas inhiben más de una elongasa, las cuales también difieren en su sensibilidad a dichos productos (TRENKAMP *et al.*, 2004). Esta situación explica por qué la tasa de evolución de resistencia a estos herbicidas es baja dado que probablemente se requiera mutaciones en varios genes que codifican elongasas (GRESSEL, 2009). Un caso único de resistencia de sitio activo es el de la resistencia a inhibidores de Protox en *A. tuberculatus* (= *A. rudis*), conferido no por una mutación en el sitio de acción del herbicida sino a la pérdida por completo de un aminoácido (Gly210) que provoca un cambio en la conformación del sitio de acople del herbicida (PATZOLDT *et al.*, 2006; HAO *et al.*, 2009).

La manera en que se hereda de la resistencia también influye en su tasa de evolución y establecimiento. Una mutación dominante es más proclive a establecerse en la población de la maleza después de la aplicación del herbicida que un alelo recesivo (JASIENIUK *et al.*, 1996). De hecho, de las mutaciones que confieren resistencia a los herbicidas son pocas las que tiene carácter recesivo. Uno de estos casos es el de la resistencia a dinitroanilinas en *Eleusine indica*. La resistencia, asociada con la modificación de un

aminoácido en la α -tubulina (ANTHONY *et al.*, 1998), está controlada por único gene nuclear recesivo (ZENG and BAIRD, 1997).

Las plantas que son muy prolíficas, de polinización cruzada y que ocupan grandes extensiones a altas densidades son más propensas a evolucionar resistencia a herbicidas. Un ejemplo de una especie que reúne estas características es *L. rigidum*, la cual ha evolucionado resistencia a herbicidas en cinco continentes y presenta los problemas más serios de manejo por la evolución de resistencias múltiples.

La presencia de un banco de semillas en el suelo es una característica de las malezas que afecta la tasa de evolución de la resistencia y la dinámica de las poblaciones resistentes si se deja de emplear el herbicida selector. Las semillas almacenadas en el suelo cumplen una función amortiguadora por cuanto antes de la aplicación recurrente del herbicida corresponden predominantemente a plantas susceptibles. Plántulas susceptibles que emerjan de este banco de semillas después de aplicado el herbicida y perdido su efecto (ausencia de persistencia) “diluyen” la frecuencia de individuos resistentes en la población. El manejo de los herbicidas en función de la dinámica del banco de semillas es fundamental para la prevención y mitigación de la resistencia. En un estudio de cuatro años realizado en Canadá con la maleza del trigo *Thlaspi arvense*, se comprobó el impacto de la mezcla y rotación de herbicidas en la prevención de la resistencia al inhibidor de ALS etametsulfurón (BECKIE and REBOUD, 2009). Los tratamientos consistieron en la aplicación una vez por año de etametsulfurón o una mezcla formulada de bromoxynil más MCPA en rotación, considerando todas las posibles combinaciones en el tiempo (desde la aplicación del inhibidor de ALS en uno de los cuatro años hasta en tres de ellos complementado según correspondiera en los otros años con el la mezcla de herbicidas alternativos). Además se incluyeron los tratamientos correspondientes a etametsulfurón y bromoxynil más MCPA aplicados anualmente por cuatro años (ausencia de rotación), ambos herbicidas en mezcla de tanque en cada uno de los cuatro años (tratamiento de mezcla) y dos testigos para comparaciones (absoluto y deshierbado manualmente). El banco de semillas de *T. arvense* inicialmente tenía un 5% de individuos resistentes a etametsulfurón. El porcentaje de control de la maleza decreció de un 92% con una aplicación de la sulfonilúrea (independientemente del año en que se aplicó) a un 31% luego de la aplicación consecutiva por cuatro años. Cuando los herbicidas se aplicaron en mezcla o sólo se usó el tratamiento alternativo se obtuvo un control promedio del 96% al 97% por año. La producción total de semilla aumentó conforme se incrementó el número de aplicaciones anuales de etametsulfurón y la proporción de plántulas resistentes proveniente de semilla producida por la maleza expuesta a la sulfonilúrea se incrementó de un 2% cuando no se utilizó el etametsulfurón a 60% después de una sola aplicación y a 92% si se aplicó dos o más veces. Cuando se aplicó el etametsulfurón en mezcla con el tratamiento alternativo la proporción de semilla resistente a la sulfonilúrea fue de un 3%; en ausencia de herbicidas, se mantuvo en el 5% original. De manera similar pero reflejando un grado importante de amortiguamiento por la semilla susceptible, la proporción de individuos resistentes en el banco de semillas del suelo aumentó con el incremento en el uso del etametsulfurón de un 29% a un 85% después de una o cuatro aplicaciones, respectivamente. El nivel de resistencia en el banco de semillas permaneció invariable cuando se aplicó la mezcla de los herbicidas o

solo el tratamiento alternativo por la duración del experimento. Bajo las condiciones de este estudio se demostró cuán rápidamente puede evolucionar la resistencia a inhibidores de ALS y se dedujo que las mezclas son más útiles para mitigarla que las rotaciones.

La adaptabilidad al medio o *fitness* es la capacidad que tiene un genotipo de establecerse, sobrevivir y reproducirse exitosamente en competencia con el biotipo normal o silvestre en un ambiente particular (MENCHARI *et al.*, 2008; GRESSEL, 2002). Esta adaptabilidad está determinada por la distribución de recursos a la supervivencia y reproducción a través del ciclo de vida de la planta. En algunas malezas, la mutación que confiere resistencia acarrea efectos pleiotrópicos que pueden afectar su desempeño en el campo en ausencia del herbicida. Los primeros estudios comparativos sobre *fitness* se realizaron con malezas resistentes y susceptibles a las triazinas. Puesto que la mutación que confiere resistencia a estos herbicidas reduce la tasa de transferencia de electrones en el Fotosistema II, los biotipos resistentes a triazinas poseen tasas fotosintéticas reducidas que los ponen en desventaja competitiva. Aunque la idea de que las mutaciones que confieren resistencia causan pérdida de adaptabilidad en las malezas se generalizó, diversos estudios han demostrado que en muchos otros casos los efectos pleiotrópicos asociados con la resistencia tienen poco significado práctico en el campo y que deben estudiarse por separado en cada caso (HOLT and THILL, 1994). También es importante recalcar que en muchos estudios se mide la productividad de plantas que crecen individualmente (en ausencia de competencia) y se infiere y generaliza sin el sustento apropiado acerca de su adaptabilidad. Genes o mutaciones diferentes pueden asociarse con costos de adaptabilidad diferentes y el nivel de dominancia de la resistencia como atributo no está necesariamente relacionado con el nivel de dominancia de la posible penalización en *fitness* (ROUX *et al.*, 2004). En un trabajo reciente, (MENCHARI *et al.*, 2008) estudiaron los efectos pleiotrópicos asociados con tres alelos mutantes que causan las sustituciones Ile1781Leu, Ile2041Asn y Asp2078Gly en la ACCasa de *A. myosuroides*. Para lograr un fondo genético homogéneo se emplearon poblaciones segregantes de la maleza. La biomasa, altura y producción de semilla de las plantas con ACCasa Leu-1781 y Asn-2041 fue similar a la de las plantas silvestres, mientras que las plantas con ACCasa homocigota para Gly-2078 sufrieron notorias reducciones (42%, 6% y 36%, respectivamente) en dichas características.

En muchos casos de resistencia a inhibidores de la ALS, la penalización en adaptabilidad al medio resultante es mínima (TRANSEL and WRIGHT, 2002). Por tal razón no es sorprendente que los alelos de resistencia persistan en las poblaciones que dejan de exponerse al herbicida. Tal es el caso del *Ixophorus unisetus* que evolucionó resistencia a imazapir a finales de los 1980s en Costa Rica (VALVERDE *et al.*, 1993). Estudios en proceso indican que las poblaciones resistentes conservan dichos alelos después de más de 15 años de que se dejó de emplear el herbicida (VALVERDE, datos no publicados). En contraste, una penalización severa en adaptabilidad al medio puede anular la ventaja conferida por la mutación responsable por la resistencia en la persistencia del alelo resistente (PARIS *et al.*, 2008). El impacto de la resistencia a herbicidas sobre la adaptabilidad de las malezas es tratado en detalle por (VILA-AIUB *et al.*, 2009).

Todos los factores que determinan la resistencia discutidos en esta sección interactúan de manera compleja en el campo dictando la dirección que sigue el proceso evolutivo. Un

modelo reciente predice que el tiempo requerido para que una población evolucione resistencia depende del tipo de reproducción y de la dominancia del alelo de resistencia en presencia del herbicida, así como del costo en adaptabilidad al medio y la dominancia de este costo (ROUX *et al.*, 2008).

Resistencia sin presión de selección impuesta por el herbicida

En la evaluación del riesgo como requisito previo a la introducción de cultivos resistentes a herbicidas o con otros atributos novedosos, uno de los temas que ha acaparado la discusión es la posible diseminación de estos genes novedosos, particularmente los transgenes (los cultivos resistentes a herbicidas producidos por inducción de mutaciones están exentos de este análisis de riesgo en la mayoría de los países) a especies emparentadas compatibles (malezas y silvestres e incluso otras variedades del cultivo). Diversas publicaciones tratan el tema del flujo de genes (WARWICK *et al.*, 2009; CHANDLER and DUNWELL, 2008; CHAPMAN and BURKE, 2006; ELLSTRAND, 2003; POPPY and WILKINSON, 2005), el cual está fuera de alcance de este trabajo. De hecho, el factor principal que ha limitado la liberación de arroz transgénico resistente a herbicidas (nótese que el arroz resistente a imidazolinonas comercializado bajo el nombre de arroz Clearfield® se origina de inducción de mutaciones) es el riesgo de que tales genes se diseminen al arroz maleza que es conespecífico con el arroz cultivado (GRESSEL and VALVERDE, 2009a). Muchas de estas malezas conespecíficas son formas no completamente domesticadas o cultivos que se de-domesticaron a sus formas ferales (GRESSEL, 2005). Los casos de resistencia en malezas emparentadas con cultivos que se originan del flujo de genes desde cultivos resistentes o estas malezas como puente para transferir el gene a otras no directamente expuestas al cultivo resistente no se incluyen en el Recuento. Sin embargo, es pertinente mencionar que hay casos de relevancia comercial, en particular, el flujo de genes del arroz Clearfield al arroz maleza (OLOFSDOTTER *et al.*, 2000; MADSEN *et al.*, 2002; VALVERDE and GRESSEL, 2005; GRESSEL and VALVERDE, 2009a; GRESSEL and VALVERDE, 2009b; SHIVRAIN *et al.*, 2007; BURGOS *et al.*, 2008).

El flujo de genes también puede contribuir a la aparición y diseminación de la resistencia en malezas en ausencia de la presión de selección impuesta por el herbicida y no puede descartarse *a priori* aun en malezas que crecen en cultivos tratados con herbicidas (ASHIGH *et al.*, 2008). Por ejemplo, se determinó que los genes de resistencia de *L. rigidum* se pueden mover hasta 3 km a plantas receptoras de la misma especie (BUSI *et al.*, 2008). Esto podría contribuir a la aparición de plantas con resistencia múltiple o con resistencia a herbicidas nunca antes usados en ese lote o predio en particular. Otro caso muy interesante es el de *A. tuberculatus*. Esta especie que hasta hace pocos años pasaba desapercibida se ha convertido en un serio problema en áreas productoras de soya en EE.UU. Hay poblaciones de *A. tuberculatus* con resistencia múltiple por acúmulo de varios mecanismos de sitio activo, incluida la ya mencionada resistencia a herbicidas Protox (PATZOLDT *et al.*, 2005). Se ha propuesto que *A. tuberculatus* puede obtener genes de resistencia de otras especies de *Amaranthus* con las cuales establece un intercambio de genes unidireccional. Así, *A. hybridus* puede fácilmente transferirle

alelos a *A. tuberculatus* pero el intercambio recíproco es prácticamente nulo aun cuando las dos especies coexistan en el mismo campo (TRUCCO *et al.*, 2009).

L. multiflorum y la especie emparentada, *Festuca rubra* pueden hibridar en forma natural. *F. rubra* es naturalmente tolerante a graminicidas pues su ACCasa es insensible a estos herbicidas (PRICE *et al.*, 2003; HERBERT *et al.*, 1996) en contraste con *F. arundinacea* que es susceptible a setoxidim y haloxifop (STOLTENBERG *et al.*, 1989). La ACCasa de *F. rubra* tiene un codón Leu1781 que se conoce la torna insensible a graminicidas en algunas malezas que han evolucionado resistencia de sitio activo en lugar de Ile1781 presente en la ACCasa susceptible (DELYE and MICHEL, 2005). En un estudio realizado en Argentina, se sembró *L. multiflorum*, proveniente de un pastizal nunca tratado con herbicidas, en monocultivo y en mezcla con *F. rubra* y sometidas a dosis crecientes de diclofop en cada ciclo cuando tenían 2-3 hojas. Dos años después, se encontró una alta incidencia de *Lolium* resistente a diclofop proveniente de parcelas con las dos especies en mezcla y asperjadas con dosis bajas del herbicida, las cuales fueron suficientes para seleccionar las plantas resistentes que posiblemente se originaron por hibridación (MARTINEZ-GHERSA *et al.*, 1997). El experimento se continuó hasta completar cinco años y los materiales expuestos a las distintas condiciones de selección se sembraron en forma individual en pequeñas parcelas durante tres años más. Al finalizar este período, se recolectó semilla y las plántulas obtenidas a partir de ellas se trataron con diclofop para determinar su resistencia al herbicida. Las selecciones presentaron variación en sus niveles de resistencia; sin embargo, éstos no se relacionaron directamente con el nivel de exposición histórica al herbicida ni a la presencia o ausencia de *F. rubra* en las parcelas de *L. rigidum* por lo que los resultados no fueron concluyentes (GUNDEL *et al.*, 2008).

Registro histórico de la resistencia a herbicidas

Heap (HEAP, 1997; HEAP, 1994) presentó relatos detallados de cómo se inició el registro histórico de los casos de resistencia a herbicidas en el mundo. Después de que se documentó el primer caso de resistencia a herbicidas (RYAN, 1970) iniciaron investigaciones para determinar por qué *Senecio vulgaris* era capaz de sobrevivir después de recibir dosis elevadas de simazina. Estudios pioneros de Radosevich 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 (RADOSEVICH and DEVILLIERS, 1976; RADOSEVICH, 1977). En la década de los 1970s se documentaron muchos otros casos de malezas resistentes a triazinas las cuales en 1980 sumaban 26 especies de hoja ancha y 6 gramíneas. A mediados de los 1970s el Dr. Homer LeBaron de Ciba-Geigy, con quien Radosevich había tenido contactos desde el inicio de sus investigaciones, se involucró de lleno en el tema de la resistencia organizando actividades científicas, recopilando información y promoviendo la investigación. En 1982 publicó junto con el Dr. Jonathan Gressel el libro *Herbicide resistance in plants* (LEBARON and GRESSSEL, 1982) que puso en perspectiva el conocimiento acumulado a la fecha y contribuyó al avance de la investigación en esta importante área de la malherbología. Durante dos décadas, el Dr. LeBaron recopiló información acerca de casos reconocidos de resistencia. En 1990 informó que el número

de especies resistentes a triazinas había aumentado a 40 dicotiledóneas y 15 gramíneas. Además, sus registros ya daban cuenta de casos de resistencia a otros herbicidas incluidos 11 especies resistentes a paraquat, cinco a clortolurón, cuatro a diclofop-metilo, y un incipiente problema de resistencia a inhibidores de ALS con seis casos reconocidos, para un total de 99 especies resistentes (HOLT and LEBARON, 1990).

Registro Internacional de Malezas Resistentes a Herbicidas. En 1995 y 1996 se enviaron 430 cuestionarios a investigadores y extensionistas de 53 países para determinar cuáles especies habían evolucionado resistencia a herbicidas. La información requerida incluía especie y herbicida involucrado, fecha y lugares en que se identificó, método de confirmación de resistencia, cultivo o condición en la que se presentó la resistencia, número de localidades, área infestada e importancia económica (HEAP, 1997). Con base en las respuestas obtenidas más la información recopilada previamente por LeBaron, el co-autor de este trabajo elaboró una base de datos que dio inicio al Registro Internacional de Malezas Resistentes a Herbicidas (*International Survey of Herbicide-Resistant Weeds*), disponible en forma electrónica en www.weedscience.org. La información presentada aquí en relación con la situación actual de la resistencia a herbicidas en el mundo, se origina de esta fuente.

Criterios para inclusión en el Registro. Para que un caso de resistencia sea incluido en el Registro, debe de cumplir con varios criterios descritos en detalle y disponibles en su portal (HEAP, 2005):

- Cumplir con la definición de resistencia a herbicidas de la WSSA descrita previamente.
- Confirmación de la resistencia empleando protocolos científicos reconocidos. Para la confirmación inicial de resistencia se prefiere los bioanálisis comparativos (posible resistente versus susceptible conocido) empleando plantas enteras. Las verificaciones posteriores rutinarias pueden hacerse con métodos más rápidos y apropiados para el manejo de un número elevado de muestras. Cada caso se valora cuidadosamente, especialmente aquellos en los que se informan niveles bajos de resistencia siendo importante proveer información que verifique que los biotipos que exhiben este tipo de respuesta ofrecen problemas de control en el campo.
- La resistencia debe ser hereditaria.
- Demostración de impacto práctico en el campo. Si no hay problemas de control con las dosis recomendadas en el campo, el caso no se incluye en el Registro.
- La planta debe de ser una maleza reconocida e identificada a nivel de especie. En el Registro no se incluyen plantas resistentes seleccionadas deliberadamente como las plantas espontáneas de los cultivos resistentes a herbicidas. Por el momento, tampoco se incluyen malezas emparentadas con estos cultivos que se han vuelto resistentes por flujo de genes.

Situación actual de la resistencia a herbicidas en el mundo

A septiembre de 2009, el Registro lo componen 332 biotipos resistentes a herbicidas en 60 países (Cuadro 1). Es importante aclarar que un biotipo resistente se registra la primera vez que una especie de maleza evoluciona resistencia a uno o más herbicidas pertenecientes a un grupo específico. Por ejemplo, *C. bonariensis* resistente a bipiridilos en tres países se registra como un único biotipo resistente; la misma especie resistente a glifosato (grupo denominado como glicinas) en seis países se registra como otro biotipo resistente. Hay 189 especies (113 dicotiledóneas y 76 monocotiledóneas) que han evolucionado resistencia a herbicidas en unos 300.000 predios.

Cuadro 1. Biotipos de malezas resistentes a herbicidas de acuerdo con el grupo a que pertenece el producto químico.

Grupo de herbicida	Código de HRAC ¹	Ejemplo	Biotipos resistentes			No. de países
			Dicot.	Monocot.	Total	
Inhibidores de ALS	B	Clorsulfurón	65	37	102	34
Inhibidores de Fotosistema II	C1	Atrazina	47	21	68	26
Inhibidores ACCasa	A	Diclofop-metilo	0	36	36	30
Auxinas sintéticas	O	2,4-D	21	7	28	15
Bipiridilos	D	Paraquat	16	8	24	13
Úreas y amidas	C2	Clorotolurón	8	13	21	27
Glicinas	G	Glifosato	9	7	16	14
Dinitroanilinas y otras	K1	Trifluralina	2	8	10	6
Tiocarbamatos y otros	N	Trialato	0	8	8	6
Triazoles, úreas, isoxazolidionas	F3	Amitrol	1	3	4	2
Inhibidores de Protox	E	Oxifluorfen	3	0	3	2
Cloroacetamidas y otros	K3	Butaclor	0	3	3	5
Inhibidores de biosíntesis de carotenoides	F1	Flurtamone	1	1	2	2
Ácidos arilaminopropiónicos	Z	Flamprop-metilo	0	2	2	3
Nitrilos y otros	C3	Bromoxinil	1	0	1	1
Inhibidores mitóticos	K2	Profam	0	1	1	1
Inhibidores de síntesis de celulosa	L	Diclobenilo	0	1	1	1
Desconocidos	Z	(cloro) - flurenol	0	1	1	2
Organoarsenicales	Z	MSMA	1	0	1	1
Total			175	157	332	

¹ Clasificación de los herbicidas según el *Herbicide Resistance Action Committee*. Disponible de HRAC: www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideModeofAction/tabid/222/Default.aspx.

² Un mismo país puede ser contado en más de un grupo de herbicidas por lo que esta columna supera los 60 países indicados en el texto en los que ha evolucionado la resistencia a herbicidas.

Nueve países (Alemania, Australia, Brasil, Canadá, España, Estados Unidos, Francia, Israel, y el Reino Unido) contribuyen el 60% de los casos de resistencia registrados. Sólo los Estados Unidos, Australia y Canadá, con la mayor incidencia de casos, contribuyen el 35% de los registros (Cuadro 2). Esta misma proporción existía en 1995, excepto que Brasil, el país latinoamericano que tiene el mayor número de casos de resistencia, no figuraba entre los países con más casos (HEAP, 1997).

El incremento cronológico en el número de casos de resistencia a herbicidas en el mundo se ilustra en la Figura 1. Después del descubrimiento de resistencia a triazinas en *S. vulgaris* y hasta finales de la década de los 1970s se reportaba en promedio 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 ALS y otros grupos también se hicieron más notorios (Figura 2).

Cuadro 2. Distribución de casos de resistencia a herbicidas por país.

País	No	País	No	País	No	País	No
Alemania	21	Dinamarca	3	Hungría	1	Paraguay	2
Arabia Saudita	1	Ecuador	1	India	3	Polonia	10
Argentina	3	Egipto	1	Indonesia	1	Portugal	2
Australia	53	El Salvador	1	Irán	7	Reino Unido	24
Austria	2	Eslovenia	1	Irlanda	1	República Checa	16
Bélgica	18	España	31	Israel	23	Sri Lanka	2
Bolivia	3	Estados Unidos	126	Italia	19	Sudáfrica	14
Brasil	21	Etiopía	1	Japón	16	Suecia	2
Bulgaria	4	Fiji	1	Kenya	1	Suiza	14
Canadá	46	Filipinas	3	Malasia	16	Tailandia	5
Chile	7	Francia	32	México	3	Taiwán	1
China	9	Grecia	6	Nicaragua	1	Túnez	1
Colombia	6	Guatemala	1	Noruega	5	Turquía	3
Corea del Sur	10	Holanda	7	Nueva Zelanda	10	Venezuela	1
Costa Rica	5	Honduras	1	Panamá	1	Yugoslavia	6

La predominancia inicial de casos de resistencia a triazinas es producto de su gran eficacia y amplio uso, principalmente de atrazina en maíz y simazina en cultivos de plantación. A inicios de la década de los 1980s las malezas resistentes a las triazinas contribuían el 67% de los casos documentados de resistencia; entre 1985 y el 2000 este grupo representó sólo el 11% de los nuevos casos ingresados al Registro, mientras los inhibidores de la ALS aportaban el 38% de los casos nuevos. Otros grupos que adquirieron mayor relevancia por su aporte de casos nuevos en este período fueron los inhibidores de ACCasa (13%), fenilúreas/amidas (10%), bipiridilos (8%), y auxínicos (8%).

Grupos de herbicidas más importantes. En la actualidad, los grupos más importantes de herbicidas que se ven afectados por el problema de la resistencia, por número de casos, son los inhibidores de ALS, inhibidores de Fotosistema II, inhibidores ACCasa, auxinas sintéticas, bipiridilos, úreas y amidas, y el glifosato.

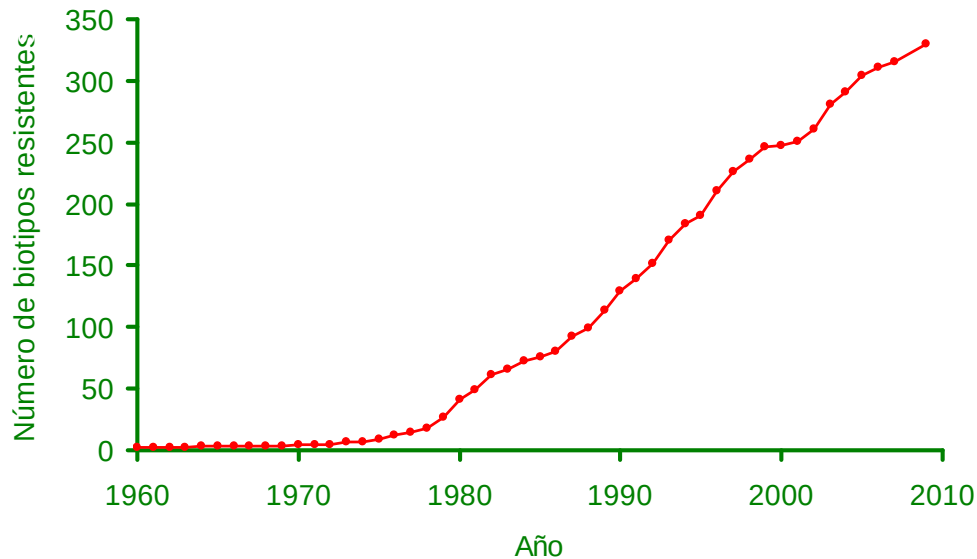


Figura 1. Incremento cronológico en el número de casos de resistencia a herbicidas en el mundo.

Inhibidores de ALS. Las sulfonilúreas, primera familia de herbicidas inhibidores de la ALS, fueron descubiertas por DuPont en 1975 y se empezaron a comercializar en trigo y cebada en 1982. Su gran eficacia a dosis extremadamente bajas, gran selectividad a diversos cultivos y baja toxicidad para mamíferos las convirtió en uno de los grupos más importantes de herbicidas en el mercado. Muchas compañías desarrollaron herbicidas pertenecientes a esta familia; más de 20 de ellas lograron patentar herbicidas de este grupo químico. Su importancia comercial se mantiene. Desde 1995 se han comercializado más de una docena de nuevas sulfonilúreas y otras están en proceso de desarrollo (ORT, 2007). En la misma década, American Cyanamid trabajaba en el desarrollo de las imidazolinonas, un grupo de herbicidas también muy potentes y de amplio espectro, partiendo de una molécula sintetizada en los años 1950s por un químico de su División Médica que trabajaba en productos anticonvulsivos. A través de la exploración y optimización se desarrollaron estos herbicidas que, teniendo una estructura química diferente a las sulfonilúreas, también inhiben la ALS (SHANER *et al.*, 2007). Ingresan en el mercado en 1986. Más recientemente (a mediados de los 1990s) se unen las triazopirimidinas y pirimidinil(oxi/tio)benzoatos a los herbicidas que tienen este mecanismo de acción.

La alta presión de selección impuesta por estos herbicidas tan eficaces y la propensión de su sitio de acción a mutar, hicieron que rápidamente aparecieran malezas resistentes. El

crecimiento exponencial del número de casos de resistencia es muy notorio (Figura 2), superando el centenar y abarcando 34 países, entre los que se destacan los EE.UU. con 126 casos, Australia con 53 y Canadá con 46. La resistencia a inhibidores de ALS ha ocurrido en cereales, rotaciones de maíz/soya, arroz, bordes de carretera y plantaciones forestales. En América Latina es uno de los principales grupos a los que las malezas han evolucionado resistencia, con 16 especies confirmadas.

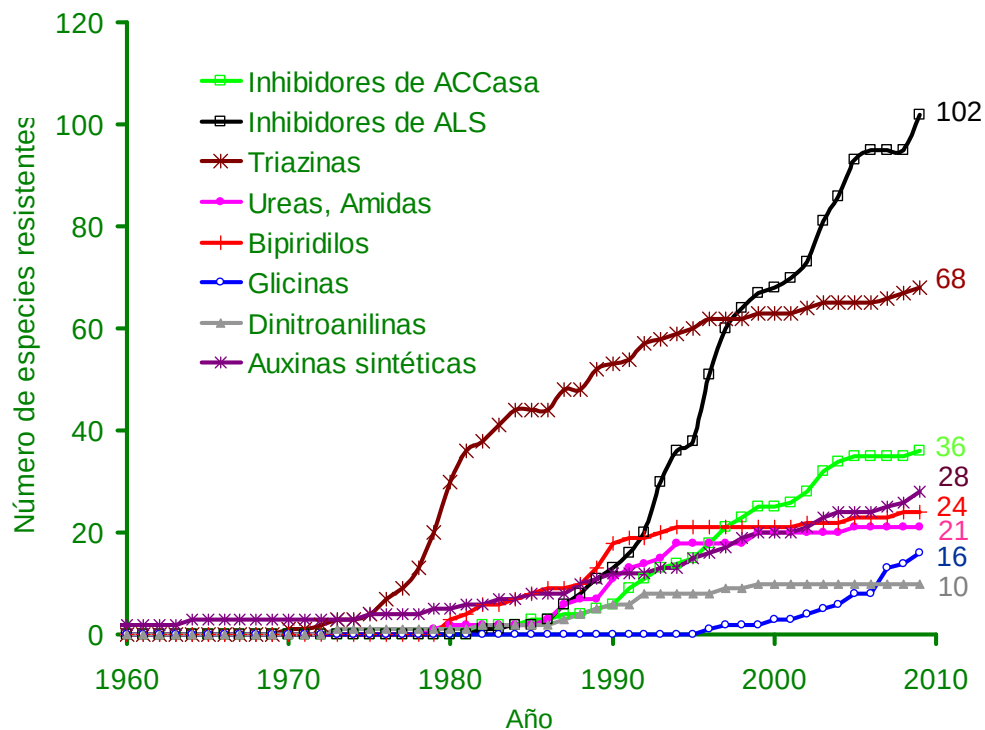


Figura 2. Incremento cronológico en el número de malezas resistentes a herbicidas pertenecientes a distintos grupos.

Inhibidores del Fotosistema II. La principal familia de herbicidas pertenecientes al grupo C1 de herbicidas inhibidores del Fotosistema II (inhibidores del transporte fotosintético de electrones) es la de las triazinas. La mayoría de las malezas resistentes a este grupo de herbicidas (48 especies) son malezas dicotiledóneas que evolucionaron resistencia principalmente en el cultivo de maíz en EE.UU. y Europa y en huertos en Europa. Entre las malezas más importantes se encuentran nueve especies de *Amaranthus*, seis de *Polygonum* y cinco de *Chenopodium*. *Senecio vulgaris*, la primera maleza resistente a triazinas, se registra en 10 países, incluidos cuatro estados de los EE.UU. La especie resistente que se presenta en más países (18) es *C. album* seguida de *A. retroflexus* presente en doce países.

Inhibidores ACCasa. Los herbicidas que poseen este mecanismo de acción pertenecen a las familias químicas denominadas ariloxifenoxipropanoatos (“fops”), ciclohexanodionas (“dims”) y fenilpirazolinolinas (“dens”, representada por el pinoxaden). Los dos primeros

grupos ingresaron al mercado a finales de los 1970s. Estos herbicidas se emplean en el control de malezas gramíneas en cultivos de dicotiledóneas y cereales. En algunos casos, cuando se destinan a cereales, se les agrega antidotos o *safeners* en la formulación para mejorar su selectividad al cultivo. Tal es el caso del pinoxaden, introducido al mercado en 2006, que incluye al cloquintocet-mexilo para mejorar su selectividad en trigo y cebada (HOFFER *et al.*, 2006; MUEHLEBACH *et al.*, 2009).

Treinta y seis gramíneas han evolucionado resistencia a inhibidores de la ACCasa (Cuadro 1); los primeros casos se asociaron con el uso del diclofop-metilo en trigo. La resistencia a estos herbicidas tiene gran importancia económica en virtud de su distribución a través de grandes áreas y por las limitaciones de controlar económicamente las gramíneas resistentes con herbicidas alternativos. *Lolium* spp. han evolucionado resistencia a diclofop-metilo u otros inhibidores de ACCasa en 15 países: Alemania, Arabia Saudita, Australia, Canadá, Chile, EE.UU., España, Francia, Grecia, Irán, Israel, Italia, Reino Unido, Sudáfrica, y Túnez. En varios de estos países, notablemente en Australia, hay biotipos de *Lolium* spp. con resistencia múltiple. En Australia el primer caso de resistencia que se confirmó fue el de *L. rigidum* resistente a diclofop (HEAP and KNIGHT, 1982). Actualmente, la resistencia de *L. rigidum* a estos herbicidas es generalizada. Una evaluación reciente basada en más de 3000 muestras representativas de la zona triguera del sur de Australia que cubre 40 millones de ha determinó que el 77% era resistente a fops y el 22% a dims. Hubo poca correlación de resistencia cruzada entre ambos grupos a pesar de que comparten el mismo mecanismo de acción. Sin embargo, el 95% de los biotipos resistentes a dims también lo fueron a fops. En el grupo de los dims el 78% de los biotipos probados con tralkoxidim (160 análisis) fueron resistentes, mientras que sólo el 50% (de 117 pruebas) y 17% (de 2670 pruebas) de los biotipos probados con setoxidim y cletodim resultaron resistentes (BROSTER and PRATLEY, 2006). De manera similar, *Avena* spp. (principalmente *A. fatua*) ha evolucionado resistencia a inhibidores de ACCasa en trece países (Australia, Bélgica, Canadá, Chile, EE.UU., Francia, Irán, Israel, Italia, México, Reino Unido, Sudáfrica y Turquía), diez de ellos en común con *Lolium* spp. Varios biotipos, principalmente los canadienses, exhiben resistencia múltiple. Un censo de malezas resistentes en 786 campos en las Praderas Canadienses, cuya superficie cultivada es de 39 millones de ha, realizado entre 2001 y 2003 determinó que 565 (72%) tenían *A. fatua* resistente a herbicidas. De ellos, el 15% (83 campos) estaban contaminados con *A. fatua* resistente a herbicidas inhibidores de ACCasa, predominantemente resistentes a herbicidas de las dos familias principales (fops y dims). En 16 campos se encontró poblaciones de esta maleza resistentes tanto a inhibidores de ACCasa como de ALS (BECKIE *et al.*, 2008).

En Latinoamérica, se ha confirmado 16 malezas gramíneas resistentes a inhibidores de ACCasa, la mayoría en cultivos de cereales (Valverde, 2007). En Chile, se estima que un 25% de las 400.000 ha sembradas de trigo tienen malezas resistentes a inhibidores de ACCasa, incluyendo *L. rigidum* y *L. multiflorum* (75.000 ha), *A. fatua* (40.000 ha) y *Cynosurus echinatus* (25.000 ha), seleccionadas principalmente por el empleo recurrente de diclofop. Es interesante que muchos de estos biotipos resistentes pueden ser controlados con herbicidas del grupo de los dims como cletodim y tepraloxidim (N. Espinoza, comunicación personal). Otros casos importantes en la región son los de

Phalaris paradoxa, *P. minor* y *A. fatua* en cereales en México. Completa la lista *Brachiaria plantaginea*, *Digitaria ciliaris* y *Eleusine indica* en Brasil, *Eriochloa punctata*, tres sorgos maleza o maicillos (*Sorghum verticilliflorum*, *S. saccharatum* y *S. sudanense*) y *Rottboellia cochinchinensis* en Bolivia, y malezas asociadas al arroz: *Echinochloa colona* en América Central, Colombia y Venezuela, e *Ischaemum rugosum* en Colombia (VALVERDE, 2007).

Auxinas sintéticas. Los herbicidas auxínicos, introducidos a finales de la década de los 1940s, fueron los primeros herbicidas orgánicos selectivos y como tales revolucionaron el control de malezas, principalmente el de especies de hoja ancha en cereales. Pocas malezas han evolucionado resistencia a estos herbicidas si se toma en consideración que continúan siendo usados ampliamente después de más de 60 años.

En el Registro se incluyen dos casos de resistencia a 2,4-D reportados antes de que se diera a conocer la resistencia a las triazinas. En Canadá (sur de Ontario), se informó acerca de poblaciones de *Daucus carota* resistentes a 2,4-D en bordes de carretera en 1957, las cuales al ser tratadas experimentalmente con 2,4-D a dosis elevadas fueron poco afectadas. El 2,4,5-T solo o en mezcla con 2,4-D provocó la muerte de las plantas. Estudios de invernadero corroboraron los resultados: todas las plantas del biotipo resistente tratadas con 2,4-D sobrevivieron mientras que la mortalidad de plantas testigo alcanzó el 85% (SWITZER, 1957). En un estudio subsiguiente, tanto las plantas susceptibles como las resistentes desarrollaron síntomas de toxicidad severos después de ser tratadas con herbicidas auxínicos, pero el biotipo resistente logró recuperarse posteriormente (WHITEHEAD and SWITZER, 1963). En 1957 también se informó acerca de poblaciones de *Commelina diffusa* en plantaciones de caña de azúcar en Hawaii resistentes a herbicidas auxínicos. Una de estas poblaciones tenía un nivel de resistencia de cinco veces en comparación con la población susceptible (HILTON, 1957).

Además de estos dos casos de importancia histórica, el Recuento incluye otras 26 especies con biotipos resistentes a herbicidas auxínicos. La mayoría de ellas tiene un solo biotipo reportado en un único país. Ningún caso es considerado como crítico desde el punto de vista económico puesto que su distribución es limitada y porque hay herbicidas alternativos que permiten su control.

Un nuevo tipo de herbicida con efecto auxínico y representante de la familia de los ácidos quinolinecarboxílicos se introdujo en 1989 con el nombre de quinclorac. Este producto tiene la particularidad de controlar gramíneas selectivamente en el cultivo del arroz, aunque también es eficaz en un número limitado de especies de hoja ancha (GROSSMANN, 1998). Tres especies de *Echinochloa* (*E. colona*, *E. crus-galli* y *E. crus-pavonis*) asociadas al cultivo del arroz, *Digitaria ischaemum* en céspedes (ABDALLAH *et al.*, 2006) y la rubiácea *Galium spurium* han evolucionado resistencia a este herbicida.

Bipiridilos. A pesar de que los bipiridilos (paraquat y diquat) no son persistentes, el uso persistente de ellos ha provocado la selección de biotipos de malezas resistentes. En 1980 se reportó resistencia a paraquat en tres especies de *Conyza* (*C. canadensis*, *C.*

philadelphicus y *C. sumatrensis*) y en la también asterácea, *Youngia japonica* en huertos en Japón. A la fecha, un total de 24 malezas son resistentes a estos herbicidas, en su mayoría seleccionadas por el paraquat. Biotipos de dos especies resistentes *Arctotheca calendula* y *Monochoria korsakowii* fueron seleccionados por diquat, mientras que siete especies fueron seleccionadas por ambos. En Latinoamérica no se informa ninguna especie resistente a estos herbicidas.

Úreas y amidas. Los herbicidas pertenecientes a estas dos familias, al igual que las triazinas, también son inhibidores del transporte de electrones en el Fotosistema II. Dieciocho especies han evolucionado resistencia a las fenilúreas y tres especies de *Echinochloa* al propanil (amida). La mayoría de los casos de resistencia a fenilúreas se han presentado en Europa, seleccionados principalmente por el clorotolurón e isoproturón. Los documentados en América mayoritariamente han tenido al linurón y diurón como selectores. Entre los casos más importantes sobresalen los de *Alopecurus myosuroides* en varios países europeos y el de *Phalaris minor* en India.

A. myosuroides evolucionó resistencia a clorotolurón en España, Holanda y el Reino Unido y a isoproturón en Bélgica y Suiza. Además, hay poblaciones con resistencia múltiple (principalmente fenilúreas más inhibidores de ACCasa) en varios de estos países. Esta especie es considerada como la maleza resistente más importante en Europa; Inglaterra, Francia y Alemania son los países más afectados. El mecanismo principal de resistencia es la metabolización acelerada del herbicida, lo que le confiere a las plantas que lo poseen la capacidad de evitar el daño de un amplio grupo de herbicidas; la resistencia de sitio activo a herbicidas inhibidores de ACCasa también se presenta ampliamente (MOSS *et al.*, 2007). Esta situación se torna más seria en virtud de que ya se ha encontrado una población de esta especie en Inglaterra que también posee resistencia de sitio activo (mutación Pro197Thr) a inhibidores de ALS, puesto que la mezcla formulada de mesosulfurón más iodosulfurón, en combinación con el antídoto mefenpir-dietil, se emplea ampliamente como tratamiento alternativo desde 2003 (MOSS *et al.*, 2007; MARSHALL and MOSS, 2008).

P. minor, la principal maleza del trigo en India, tradicionalmente se ha controlado con isoproturón. A partir de 1990, sin embargo, los agricultores empezaron a quejarse de la falta de control con este herbicida. Estudios con biotipos selectos confirmaron la resistencia a isoproturón evolucionada principalmente en los sistemas de rotación arroz-trigo del noroeste de la India en los que por 10-15 años se había usado el herbicida a dosis inferiores a las recomendadas, aplicado tardíamente al voleo en mezcla con arena y úrea como fertilizante (MALIK and SINGH, 1995; SINGH *et al.*, 1998a). Para finales de la década de los 1990s, unas 800.000 ha de trigo estaban infestadas con *P. minor* resistente a isoproturón en los estados de Haryana y Punjab (SINGH *et al.*, 1999). Las infestaciones han sido tan severas que los productores se han visto forzados a cosechar sus campos antes de que el trigo alcance su madurez y utilizarlos para alimentación animal (CHHOKAR and SHARMA, 2008). La resistencia a isoproturón en *P. minor* en India no es de sitio activo sino metabólica. Los inhibidores de monooxigenasas citocromo P450, 1-aminobenzotriazol (ABT) y butóxido de piperonilo (PBO) aumentan la fitotoxicidad del isoproturón en biotipos resistentes al disminuir su degradación

metabólica acelerada, que es el mecanismo que confiere resistencia al herbicida (SINGH, 1998a; SINGH *et al.*, 1998b). A finales de los 1990s, los productores comenzaron a depender del inhibidor de ALS sulfosulfurón y de los inhibidores de ACCasa, principalmente clodinafop, así como de fenoxaprop, y tralkoxidim, para el control de *P. minor* resistente a isoproturón. La presión de selección ejercida por estos dos grupos de herbicidas en la mayoría de los campos por 6 a 8 ciclos de cultivo resultó en la selección de biotipos de la maleza con resistencia múltiple. Se han encontrado biotipos con niveles bajos de resistencia a sulfosulfurón y muy altos a clodinafop y fenoxaprop. Biotipos altamente resistentes a clodinafop también son altamente resistentes a fenoxaprop pero solo tienen resistencia marginal al pinoxaden (CHHOKAR and SHARMA, 2008). La resistencia múltiple en *P. minor* limita sustancialmente las opciones de manejo químico de esta especie en trigo. Las poblaciones que son resistentes a las cuatro familias químicas (fenilúreas, sulfonilúreas, fops y dens todavía mantienen su susceptibilidad a triazinas y dinitroanilinas de uso en el cultivo.

El propanil es el herbicida selectivo que por más tiempo ha permanecido asociado al cultivo del arroz en todo el mundo. *E. colona* evolucionó resistencia a propanil en las Américas y *E. crus-galli* en tres continentes (VALVERDE *et al.*, 2000; VALVERDE and ITOH, 2001). *Echinochloa* es la maleza más problemática por ser muy competitiva con el arroz y por lo difícil y oneroso que resulta su control, especialmente en los casos en que ha evolucionado resistencia múltiple a herbicidas (GRESSEL and VALVERDE, 2009b).

Glifosato. La resistencia a glifosato se documentó por primera vez en 1996 en *L. rigidum* en Australia en una población expuesta al herbicida por 15 años (Pratley *et al.*, 1999; Pratley *et al.*, 1996), irónicamente al mismo momento en que se sugería que la naturaleza difícilmente sería capaz de lograr lo que con tanta dificultad había realizado el hombre con el desarrollo de los cultivos resistentes a glifosato (BRADSHAW *et al.*, 1997). Pronto se descubrió *E. indica* resistente a glifosato en Malasia (LEE and NGIM, 2000) y en adelante otras gramíneas y malezas de hoja ancha para alcanzar las 16 especies (7 poáceas y 9 dicotiledóneas) incluidas en el Recuento hasta la fecha (Cuadro 3). *L. multiflorum* resistente se ha reportado en Argentina, Brazil, Chile, EE.UU. y España. Otra gramínea resistente que debe destacarse es *S. halepense* en Argentina, la cual infesta muchas localidades en el área productora de soya en Argentina. Detalles acerca de cómo evolucionó la resistencia y su diagnóstico inicial pueden obtenerse de (VALVERDE and GRESSEL, 2006). En 2006, cuando el *S. halepense* resistente a glifosato se había confirmado sólo en las provincias de Salta y Tucumán en el Norte de Argentina, su área de dispersión se estimó en 91.700 ha, con un área de infestación propiamente dicha de 17.000 ha. En la actualidad los biotipos resistentes se encuentran en ocho provincias (Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero, Tucumán) productoras de soya transgénica “Roundup Ready.” La situación actual de la resistencia a glifosato en el mundo ha sido revisada recientemente (POWLES and PRESTON 2006; POWLES, 2008); en el caso de América Latina de discute en detalle en (VALVERDE, 2010). Otros casos importantes son los de *Amaranthus* spp. en EE.UU. y de *Conyza* spp. principalmente en América. En el Cuadro 3 se citan tres casos más de

resistencia que aun no se incluyen en el Recuento: *E. indica* en Bolivia y Costa Rica y *Paspalum paniculatum* en Costa Rica.

Cuadro 3. Malezas que han evolucionado resistencia a glifosato

Especie	País	Año ¹	Cultivo o condición	Especie	País	Año	Cultivo o condición
Poáceas				Dicotiledóneas			
<i>Digitaria insularis</i>	Paraguay Brasil	2006 2008	soya soya	<i>Amaranthus palmeri</i>	EE.UU.	2005	Algodón, soya, maíz, huertos
<i>Echinochloa colona</i>	Australia	2007	Barbechos químicos	<i>A. tuberculatus</i> (= <i>A. rudis</i>)	EE.UU.	2005	Maíz, soya
<i>Eleusine indica</i>	Malasia Colombia Bolivia ² Costa Rica ²	1997 2006 2007 2007	Palma de aceite) Café Soya Pejibaye para palmito	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	EE.UU.	2004	Soya
<i>Lolium multiflorum</i>	Chile Brazil EE.UU. España Argentina	2001 2003 2004 2006 2007	Viñedos, barbecho químico (trigo) Huertos, soya Huertos, soya, algodón Huertos Barbecho químico	<i>A. trifida</i>	EE.UU.	2004	Soya, algodón
				<i>Conyza bonariensis</i>	Sudáfrica España Brasil	2003 2004 2005	Huertos y viñedos Huertos Maíz, frutales, soya, trigo, huertos
					Colombia EE.UU.	2006 2007	Café Bordes de carretera, viñedos
<i>L. rigidum</i>	Australia EE.UU. Sudáfrica Francia España Italia	1996 1998 2001 2005 2006 2007	Sorgo, trigo, huertos, viñedos, vías férreas Huerto almendras Viñedos Espárragos, huertos, viñedos Huertos Huertos, viñedos	<i>C. canadensis</i>	EE.UU.	2000	Soya, algodón, maíz, arroz, borde de carretera, viveros
					Brasil	2005	Frutales, huertos, soya
					China España	2006 2006	Huertos Huertos
					Rep. Checa	2007	Vías férreas
<i>Paspalum paniculatum</i>	Costa Rica ²	2007	Pejibaye para palmito	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Brasil	2006	Soya
<i>Sorghum halepense</i>	Argentina EE.UU.	2005 2007	Soya Soya	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Colombia	2004	Frutales
				<i>Plantago lanceolata</i>	Sudáfrica	2003	Huertos y viñedos

¹ Año de confirmación del primer caso en el país.

² Com. pers. de P. Franco (*E. indica*, Bolivia) y datos no publicados (*E. indica*, Bolivia y Costa Rica y *P. paniculatum*, Costa Rica).

En la gran mayoría de casos de resistencia a glifosato, los niveles de resistencia observados son relativamente bajos, con índices de resistencia usualmente menores de cinco. En algunos biotipos resistentes, la resistencia a este herbicida se debe a la contribución de varios mecanismos. Por ejemplo, la resistencia a glifosato en un biotipo de *L. rigidum* de Sudáfrica la confiere una mutación (Pro106Ala) en la EPSPS y el transporte limitado del herbicida dentro de la planta. Para agravar el problema, este biotipo es también resistente a paraquat y a inhibidores de ACCasa (YU *et al.*, 2007).

Cultivos que contribuyen más a la resistencia a herbicidas. Los casos de resistencia más importantes se presentan en los cultivos de trigo, maíz, arroz y soya (Cuadro 4). El trigo y el maíz contribuyen 96 y 76 biotipos resistentes, respectivamente, en ambos pertenecientes a 53 especies. En el arroz, el 60% de los biotipos resistentes son plantas acuáticas. Los factores más relevantes en relación con la resistencia de malezas en estos cultivos en particular son tratados en detalle en sendos capítulos del libro *Herbicide Resistance and World Grains* editado por (POWLES and SHANER, 2001).

Cuadro 4. Casos de resistencia a herbicidas en los cultivos más importantes¹.

Cultivo	No. de biotipos	No. de especies
Trigo	96	53
Maíz	76	53
Soya	60	41
Arroz	51	35
Huertos	50	35
Pasturas	33	24
Hortalizas	30	21
No agrícola	45	32

¹ Compilado de (HEAP, 2009).

La resistencia a herbicidas también se presenta en áreas no agrícolas, las cuales aportan 45 biotipos resistentes pertenecientes a 32 especies.

Malezas resistentes más perniciosas

Como se ha mencionado, algunas malezas tienen una mayor propensión a evolucionar resistencia que otras. En el Cuadro 5 se listan las 10 peores malezas resistentes del mundo. La lista se deriva de analizar y sopesar varios factores, incluidos el número de países afectados, modos de acción a los que la especie ha evolucionado resistencia, área que infesta y sistemas de cultivo en que se la encuentra. Las malezas *L. rigidum* y *A. fatua* continúan a la cabeza de la lista comparada con hace ocho años. Estas malezas son

particularmente problemáticas en cultivos de cereales puesto que han evolucionado resistencia generalizada a herbicidas inhibidores de las ACCasa y ALS en una docena de países. *Amaranthus palmeri* y *Conyza canadensis* han crecido en importancia en años recientes debido a las amplias áreas infestadas con biotipos resistentes a glifosato. *Chenopodium album* ha disminuido en importancia aunque existe mucha preocupación de que poblaciones de esta especie pronto evolucionen también resistencia a glifosato, lo que puede volver a ubicarla en un sitio preponderante.

Cuadro 5. Relación de las diez peores malezas resistentes a herbicidas en el mundo.

Posición	Especie	Familia
1	<i>Lolium rigidum</i>	Poaceae
2	<i>Avena fatua</i>	Poaceae
3	<i>Echinochloa crus-galli</i>	Poaceae
4	<i>Amaranthus palmeri</i>	Amarantaceae
5	<i>Conyza canadensis</i>	Asteraceae
6	<i>Amaranthus rudis</i>	Amarantaceae
7	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Amarantaceae
8	<i>Eleusine indica</i>	Poaceae
9	<i>Chenopodium album</i>	Chenopodiaceae
10	<i>Kochia scoparia</i>	Chenopodiaceae

Perspectivas

Está demostrado que las malezas tienen la capacidad de evolucionar resistencia a herbicidas, sin importar su modo de acción, cuando se someten a suficiente presión de selección bajo condiciones apropiadas. Sin embargo, también es claro considerando la prevalencia de algunos modos de acción sobre otros en la evolución de resistencia que hay algunos que tienen un menor riesgo. Por ejemplo, dos de los grupos más antiguos de herbicidas, las triazinas y los auxínicos, se han empleado comercialmente en millones de ha de maíz y cereales por más de medio siglo, muchas veces en ausencia de rotación. Sin embargo, 68 especies evolucionaron resistencia a triazinas y solo 23 lo ha hecho a las auxinas sintéticas (excluido el quinclorac). Pocas especies han evolucionado resistencia a cloroacetamidas y inhibidores de Prototox. Sin embargo, una especie que evolucionó resistencia al segundo grupo, lo hizo por un mecanismo que no se conoce en organismo alguno resistente a un xenobiótico: pérdida por completo de un codón (PATZOLDT *et al.*, 2006; GRESSEL and LEVY, 2006). La resistencia a glifosato que se consideraba improbable ahora ocupa la atención de decenas de científicos y nos enseña formas novedosas de evitar el daño por un herbicida. Hasta ahora, ninguna maleza ha evolucionado resistencia al glufosinato de amonio.

Los agricultores han sido muy afortunados hasta ahora por contar con herbicidas alternativos que les permite controlar las malezas resistentes. Sin embargo, las perspectivas de que en los próximos años se comercialicen herbicidas con modos de acción totalmente novedosos son ínfimas. De hecho, el último modo de acción descubierto que permitió la comercialización de herbicidas novedosos se introdujo en 1991 con los inhibidores de la hydroxifenil piruvato dioxigenasa (HPPD) entre los que se encuentran la sulcotriona y mesotriona (RUEGG *et al.*, 2007). La tendencia de la agroindustria en años recientes ha sido la de desarrollar productos similares a los ya existentes (los llamados “*me too*”) que imponen presión de selección adicional sobre sitios de acción sujetos a ella por años. El aumento en la regulación de los plaguicidas, principalmente en Europa, hace disminuir la disponibilidad de herbicidas y con ello limita las posibilidades de rotación y mezcla de herbicidas con modos de acción diferentes.

Las áreas dedicadas a la producción de cultivos transgénicos resistentes a glifosato continúan en aumento (James, 2008) y no se vislumbra la introducción de cultivos resistentes a herbicidas novedosos. Como se ha discutido, las áreas dedicadas a la siembra de cultivos transgénicos resistentes a glifosato, en especial aquellas donde la producción además se realiza en regímenes de labranza de conservación, han brindado las condiciones adecuadas para que evolucione la resistencia a glifosato. La resistencia a glifosato, sin embargo, ha estimulado a las compañías de agroquímicos a posicionar productos con antiguos modos de acción alternativos como opciones para el combate de la resistencia en mezcla con otros herbicidas y hasta con el mismo glifosato o en nuevas formulaciones o presentaciones. En un afán por descubrir nuevos productos, las compañías de agroquímicos hacen ahora un mayor uso de las herramientas que provee la biotecnología y de sistemas de escrutinio de alta capacidad. De su éxito va a depender la posibilidad de que se ponga a disposición de los agricultores herbicidas con nuevos modos de acción; pero es en los agricultores en quienes recae la responsabilidad de hacer un uso racional de los productos existentes y de los nuevos que logren ingresar al mercado para no agravar aun más los problemas causados por las malezas resistentes.

Bibliografía

ABDALLAH, I.; FISCHER, A.J.; ELMORE, C.L.; SALTVEIT, M.E.; ZAKI, M (2006) Mechanism of Resistance to Quinclorac in Smooth Crabgrass (*Digitaria Ischaemum*). Pesticide Biochemistry and Physiology 84, 38-48.

ANTHONY, R.G.; WALDIN, TR.; RAY, JA.; BRIGHT, S.W,J.; HUSSEY, PJ. (1998) Herbicide Resistance Caused by Spontaneous Mutation of the Cytoskeletal Protein Tubulin. Nature 393, 260-263.

ASHIGH, J.; RAJCAN, I.; TARDIF, F.J. (2008) Genetics of Resistance to Acetohydroxyacid Synthase Inhibitors in Populations of Eastern Black Nightshade (*Solanum ptychanthum*) from Ontario. Weed Science 56, 210-215.

- BECKIE, H.J.; LEESON, J.Y.; THOMAS, A.G *et al.* (2008). Weed Resistance Monitoring in the Canadian Prairies. *Weed Technology* 22, 530-543.
- BECKIE, H.J.; REBOUD, X. (2009). Selecting for Weed Resistance: Herbicide Rotation and Mixture. *Weed Technology* 23, 363-370.
- BRADSHAW, LD.; PADGETTE, S.R.; KIMBALL, SL.; WELLS, B.H. (1997). Perspectives on Glyphosate Resistance. *Weed Technology* 11, 189-198.
- BROSTER, JC.; PRATLEY, J.E. (2006). A Decade of Monitoring Herbicide Resistance in *Lolium Rigidum* in Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, 1151-1160.
- BURGOS, N.; NORSWORTHY, J.K.; SCOTT, R.C.; SMITH, KL. (2008). Red Rice (*Oryza Sativa*) Status after 5 Years of Imidazolinone-Resistant Rice Technology in Arkansas. *Weed Technology* 22, 200-208.
- BURNET, M.W.M.; BARR, A.R.; POWLES, S.B. (1994). Chloroacetamide Resistance in Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* 42, 153-157.
- BURNET, M.W.M.; HART, Q.; HOLTUM, JAM.; POWLES, S.B. (1994). Resistance to 9 Herbicide Classes in A Population of Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* 42, 369-377.
- BUSI, R.; POWLES, S.B. (2009). Evolution of Glyphosate Resistance in a *Lolium rigidum* Population by Glyphosate Selection at Sublethal Doses. *Heredity* 103, 318-325.
- BUSI, R.; YU, Q.; BARRETT-LENNARD, R.; POWLES, S. (2008). Long Distance Pollen-Mediated Flow of Herbicide Resistance Genes in *Lolium rigidum*. *Theoretical and Applied Genetics* 117, 1281-1290.
- BUSS, D.S.; CALLAGHAN, A. (2008). Interaction of Pesticides With P-Glycoprotein and Other ABC Proteins: A Survey of the Possible Importance to Insecticide, Herbicide and Fungicide Resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 90, 141-153.
- CABRITO, TR.; TEIXEIRA, MC.; DUARTE, A.A.; DUQUE, P.; SA-CORREIA, I. (2009). Heterologous Expression of a Tpo1 Homolog From *Arabidopsis thaliana* Confers Resistance to the Herbicide 2,4-D and Other Chemical Stresses in Yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84, 927-936.
- CHANDLER, S.; DUNWELL, J.M. (2008). Gene Flow, Risk Assessment and the Environmental Release of Transgenic Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27, 25-49.
- CHAPMAN, M.A.; BURKE, J.M. (2006). Letting the Gene out of the Bottle: the Population Genetics of Genetically Modified Crops. *New Phytologist* 170, 429-443.

- CHHOKAR, R.S.; SHARMA, R.K. (2008). Multiple Herbicide Resistance in Littleseed Canarygrass (*Phalaris minor*): A Threat to Wheat Production in India. *Weed Biology and Management* 8, 112-123.
- DELYE, C.; BOUCANSAUD, K.; PERNIN, F.; LE, CORRE. (2009). Variation in the Gene Encoding Acetolactate-Synthase in *Lolium* Species and Proactive Detection of Mutant, Herbicide-Resistant Alleles. *Weed Research* 49, 326-336.
- DELYE, C.; MICHEL, S. (2005). 'Universal' Primers for PCR-Sequencing of Grass Chloroplastic Acetyl-CoA Carboxylase Domains Involved in Resistance to Herbicides. *Weed Research* 45, 323-330.
- DINELLI, G.; MAROTTI, I.; BONETTI. (2008). Physiological and Molecular Bases of Glyphosate Resistance in *Conyza bonariensis* Biotypes from Spain. *Weed Research* 48, 257-265.
- DINELLI, G.; MAROTTI, I.; BONETTI, A. (2006). Physiological and Molecular Insight on the Mechanisms of Resistance to Glyphosate in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. Biotypes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86, 30-41.
- ELLSTRAND, NC. (2003). *Dangerous Liaisons - When Cultivated Plants Mate with their Wild Relatives* Johns Hopkins University Press, Maltimore, MD.
- GRAY, J.A, BALKE, N.E.; STOLTENBERG, D.E. (1996). Increased Glutathione Conjugation of Atrazine Confers Resistance in a Wisconsin Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) Biotype. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 55, 157-171.
- GRESSEL, J. (2009). Evolving Understanding of the Evolution of Herbicide Resistance. *Pest Management Science* 65, 1164-1173.
- GRESSEL, J. (2002). *Molecular Biology of Weed Control* Taylor and Francis, London.
- GRESSEL, J. (2005). *Crop Fertility and Volunteerism: A Threat to Food Security in the Transgenic Era?* (ed. J Gressel). CRC Press, Boca Raton.
- GRESSEL, J.; LEVY, A.A. (2006). Agriculture: The Selector of Improbable Mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 12215-12216.
- GRESSEL, J.; VALVERDE, B.E. (2009a). A Strategy to Provide Long-Term Control of Weedy Rice While Mitigating Herbicide Resistance Transgene Flow, and Its Potential Use for Other Crops With Related Weeds. *Pest Management Science* 65, 723-731.
- GRESSEL, J.; VALVERDE, B.E (2009b). The Other, Ignored HIV-Highly Invasive Vegetation. *Food Security*, *In press*.
- GROSSMANN, K. (1998). Quinclorac Belongs to a New Class of Highly Selective Auxin Herbicides. *Weed Science* 46, 707-716.

GUNDEL, P.E.; MARTINEZ-GHERSA, M.A.; GHERSA, C.M. (2008). Dormancy, Germination and Ageing of *Lolium multiflorum* Seeds Following Contrasting Herbicide Selection Regimes. *European Journal of Agronomy* 28, 606-613.

HAO, G.F.; ZHU, X.L.; JI, F.Q. (2009). Understanding the Mechanism of Drug Resistance Due to a Codon Deletion in Protoporphyrinogen Oxidase Through Computational Modeling. *Journal of Physical Chemistry B* 113, 4865-4875.

HEAP, I.M. (1994). Identification and Documentation of Herbicide Resistance. *Phytoprotection* 75, 85-90.

HEAP, I.M. (1997). The Occurrence of Herbicide-Resistant Weeds Worldwide. *Pesticide Science* 51, 235-243.

HEAP, I.M. (2005). Criteria for Confirmation of Herbicide-Resistant Weeds - With Specific Emphasis on Confirming Low Level Resistance, 4p. Available: www.weedscience.org.

HEAP, I.M. (2009). International Survey of Herbicide-Resistant Weeds. Available: <http://www.weedscience.org>.

HEAP, I.M.; LEBARON, H. (2001). Introduction and Overview of Resistance. In: *Herbicide resistance and world grains* (eds. SB Powles & DL Shaner), 1-22. CRC Press, Boca Raton.

HEAP, J.; KNIGHT, R. (1982). A Population of Ryegrass Tolerant to the Herbicide Diclofop-Methyl. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* 48, 156-157.

HERBERT, D.; COLE, D.J.; PALLETT, K.E.; HARWOOD, J.L. (1996). Susceptibilities of Different Test Systems from Maize (*Zea mays*), *Poa annua*, and *Festuca rubra* to Herbicides that Inhibit the Enzyme Acetyl-Coenzyme A Carboxylase. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 55, 129-139.

HILTON, H.W. (1957). Herbicide Tolerant Strains of Weeds. -69. 1957. Hawaiian Sugar Plant. Assoc. Ann. Rep., p.69.

HOFER, U.; MUEHLEBACH, M.; HOLE, S.; ZOSCHKE, A. (2006). Pinoxaden - for Broad Spectrum Grass Weed Management in Cereal Crops. *Journal of Plant Diseases and Protection* 989-995.

HOLT, J.S.; LEBARON, H.M. (1990). Significance and Distribution of Herbicide Resistance. *Weed Technology* 4, 141-149.

HOLT, J.S.; THILL, D.C. (1994). Growth and Productivity of Resistant Plants. In: *Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry* (eds. SB Powles & JA Holtum), 299-316. Lewis Publishers, Boca Raton.

- ITO, H.; GRAY, W.M. (2006) A Gain-of-Function Mutation in the Arabidopsis Pleiotropic Drug Resistance Transporter PDR9 Confers Resistance to Auxinic Herbicides. *Plant Physiology* 142, 63-74.
- JAMES, C. (2008). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2008. ISAAA Brief No.39. Ithaca, NY, ISAAA.
- JASIENIUK, M.; BRULEBABEL, AL.; MORRISON, IN. (1996). The Evolution and Genetics of Herbicide Resistance in Weeds. *Weed Science* 44, 176-193.
- LAPLANTE, J.; RAJCAN, I.; TARDIF, F.J. (2009). Multiple Allelic Forms of Acetohydroxyacid Synthase are Responsible for Herbicide Resistance in *Setaria viridis*. *Theoretical and Applied Genetics* 119, 577-585.
- LEBARON, H.; GRESSEL, J. (1982). *Herbicide Resistance in Plants* (eds. H LeBaron & J Gressel). John Wiley & Sons Inc, New York.
- LEE, L.J.; NGIM, J. (2000). A First Report of Glyphosate-Resistant Goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science* 56, 336-339.
- LINTON, K.J. (2007). Structure and Function of ABC Transporters. *Physiology* 22, 122-130.
- MADSEN, K.H.; VALVERDE, B.E.; JENSEN, J.E. (2002). Risk Assessment of Herbicide-Resistant Crops: A Latin American Perspective Using Rice (*Oryza sativa*) as a Model. *Weed Technology* 16, 215-223.
- MALIK, R.K.; SINGH, S. (1995). Littleseed Canarygrass (*Phalaris minor*) Resistance to Isoproturon in India. *Weed Technology* 9, 419-425.
- MARSHALL, R.; MOSS, S.R. (2008). Characterisation and Molecular Basis of ALS Inhibitor Resistance in the Grass Weed *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research* 48, 439-447.
- MARTINEZ-GHERSA, MA.; GHERSA, C.M.; VILA-AIUB, M.M.; SATORRE, EH.; RADOSEVICH, R. (1997). Evolution of Resistance to Diclofop-Methyl in Ryegrass (*Lolium multiflorum*): Investigation of the Role of Introgression with Related Species. *Pesticide Science* 51, 305-308.
- MENCHARI, Y.; CHAUVEL, B.; DARMENCY, H.; DELYE, C. (2008). Fitness Costs Associated with Three Mutant Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Alleles Endowing Herbicide Resistance in Black-Grass *Alopecurus myosuroides*. *Journal of Applied Ecology* 45, 939-947.
- MOSS, S.R, PERRYMAN, SAM.; TATNELL, L.V. (2007). Managing Herbicide-Resistant Blackgrass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and Practice. *Weed Technology* 21, 300-309.

- MUEHLEBACH, M.; BOEGER, M.; CEDERBAUM, F. (2009). Aryldiones Incorporating a [1,4,5]Oxadiazepane Ring. Part I: Discovery of the Novel Cereal Herbicide Pinoxaden. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17, 4241-4256.
- OLOFSDOTTER, M.; VALVERDE, B.E.; MADSEN, K.H. (2000). Herbicide Resistant Rice (*Oryza sativa* L.): Global Implications for Weedy Rice and Weed Management. *Annals of Applied Biology* 137, 279-295.
- ORT, O. (2007). Newer Sulfonylureas. In: *Modern Crop Protection Compounds* (eds. W Krämer & U Schirmer), 45-81. Wiley-VCH, Weinheim.
- PARIS, M.; ROUX, F.; BERARD, A.; REBOUD, X. (2008). The Effects of the Genetic Background on Herbicide Resistance Fitness Cost and its Associated Dominance in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity* 101, 499-506.
- PARK, K.W.; FANDRICH, L.; MALLORY-SMITH, C.A. (2004). Absorption, Translocation, and Metabolism of Propoxycarbazone-Sodium in ALS-Inhibitor Resistant *Bromus tectorum* Biotypes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 79, 18-24.
- PARK, K.W.; MALLORY-SMITH, C.A. (2004). Physiological and Molecular Basis for ALS Inhibitor Resistance in *Bromus tectorum* Biotypes. *Weed Research* 44, 71-77.
- PARK, K.W.; MALLORY-SMITH, C.A. (2005). Multiple Herbicide Resistance in Downy Brome (*Bromus tectorum*) and its Impact on Fitness. *Weed Science* 53, 780-786.
- PATZOLDT, W.L.; HAGER, A.G.; MCCORMICK, J.S.; TRANEL, P.J. (2006). A Codon Deletion Confers Resistance to Herbicides Inhibiting Protoporphyrinogen Oxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 12329-12334.
- PATZOLDT, W.L.; TRANEL, P.J.; HAGER, A.G. (2005). A Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) Biotype with Multiple Resistance across Three Herbicide Sites of Action. *Weed Science* 53, 30-36.
- POPPY, G.M.; WILKINSON, M.J. (2005). *Gene Flow from GM Plants* Blackwell Publishing Ltd., Oxford.
- PORCELLI, L.; LEMOS, C.; PETERS, G.J.; PARADISO, A.; AZZARITI, A. (2009). Intracellular Trafficking of MDR Transporters and Relevance of SNPs. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 9, 197-208.
- POWLES, S.B.; SHANER, D.L. (2001). *Herbicide Resistance and World Grains* (eds. S.B Powles & D.L Shaner). CRC Press, Boca Raton.
- POWLES, S.B. (2008). Evolved Glyphosate-Resistant Weeds around the World: Lessons to be Learnt. *Pest Management Science* 64, 360-365.

POWLES, S.B.; PRESTON, C. (2006). Evolved Glyphosate Resistance in Plants: Biochemical and Genetic Basis of Resistance. *Weed Technology* 20, 282-289.

PRATLEY, J.; BAINES, P.; EBERBACH, P.; INCERTI, M.; BROSTER, J. (1996). Glyphosate resistance in annual ryegrass. *Proceedings of the 11th Annual Conference of the Grasslands Society of New South Wales*. Wagga Wagga, p126.

PRATLEY, J.; URWIN, N.; STANTON, R (1999). Resistance to Glyphosate in *Lolium rigidum*. I. Bioevaluation. *Weed Science* 47, 405-411.

PRESTON, C.; POWLES, S.B. (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.

PRESTON, C.; TARDIF, F.J.; CHRISTOPHER, J.T.; POWLES, S.B. (1996). Multiple Resistance to Dissimilar Herbicide Chemistries in a Biotype of *Lolium rigidum* Due to Enhanced Activity of Several Herbicide Degrading Enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 54, 123-134.

PRESTON, C.; TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. (1996). Multiple Mechanisms and Multiple Herbicide Resistance in *Lolium rigidum*. *Molecular Genetics and Evolution of Pesticide Resistance* 645, 117-129.

PRICE, L.J.; HERBERT, D.; MOSS, S.R.; COLE, D.J.; HARWOOD, J.L. (2003). Graminicide Insensitivity Correlates with Herbicide-Binding Co-Operativity on Acetyl-CoA Carboxylase Isoforms. *Biochemical Journal* 375, 415-423.

RADOSEVICH, S.R. (1977). Mechanism of Atrazine Resistance in Lambsquarters and Pigweed. *Weed Science* 25, 316-318.

RADOSEVICH, S.R.; DEVILLIERS, O.T. (1976). Studies on Mechanism of S-Triazine Resistance in Common Groundsel. *Weed Science* 24, 229-232.

ROUX, F.; GASQUEZ, J.; REBOUD, X. (2004). The Dominance of the Herbicide Resistance Cost in Several *Arabidopsis thaliana* Mutant Lines. *Genetics* 166, 449-460.

ROUX, F.; PARIS, M.; REBOUD, X. (2008). Delaying Weed Adaptation to Herbicide by Environmental Heterogeneity: a Simulation Approach. *Pest Management Science* 64, 16-29.

RUEGG, W.T.; QUADRANTI, M.; ZOSCHKE, A. (2007). Herbicide Research and Development: Challenges and Opportunities. *Weed Research* 47, 271-275.

RYAN, G.F. (1970). Resistance of Common Groundsel to Simazine and Atrazine. *Weed Science* 18, 614-&.

- SHANER, D.L.; STIDHAM, M.; SINGH, B. (2007). Imidazolinone Herbicides. In: *Modern Crop Protection Compounds* (eds. W Krämer & U Schirmer), 82-92. Wiley-VCH, Weinheim.
- SHIVRAIN, VK.; BURGOS, N.R.; ANDERS, M.M. (2007). Gene Flow between Clearfield (TM) Rice and Red Rice. *Crop Protection* 26, 349-356.
- SIMINSZKY, B. (2006). Plant Cytochrome P450-Mediated Herbicide Metabolism. *Phytochemistry Reviews* 5, 445-458.
- SINGH, S.; KIRKWOOD, R.; MARSHALL, G. (1999). Biology and Control of *Phalaris minor* Retz. (Littleseed Canarygrass) in Wheat. *Crop Protection* 18, 1-16.
- SINGH, S.; KIRKWOOD, R.C.; MARSHALL, G. (1998a). Effect of ABT on the Activity and Rate of Degradation of Isoproturon in Susceptible and Resistant Biotypes of *Phalaris minor* and in Wheat. *Pesticide Science* 53, 123-132.
- SINGH, S.; KIRKWOOD, RC.; MARSHALL, G. (1998b). Effect of the Monooxygenase Inhibitor Piperonyl Butoxide on the Herbicidal Activity and Metabolism of Isoproturon in Herbicide Resistant and Susceptible Biotypes of *Phalaris minor* and Wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 59, 143-153.
- STOLTENBERG, D.E.; GRONWALD, J.W.; WYSE, D.L. (1989). Effect of Sethoxydim and Haloxyfop on Acetyl-Coenzyme-A Carboxylase Activity in Festuca Species. *Weed Science* 37, 512-516.
- SWITZER, C.M. (1957). The existence of 2,4-D resistant strains of wild carrot. *Proc. North Eastern Weed Control Conf.* 11, 315-318.
- TRANDEL, P.J.; WRIGHT, T.R. (2002). Resistance of Weeds to ALS-Inhibiting Herbicides: What Have We Learned? *Weed Science* 50, 700-712.
- TRENKAMP, S.; MARTIN, W.; TIETJEN, K. (2004). Specific and Differential Inhibition of Very-Long-Chain Fatty Acid Elongases From *Arabidopsis thaliana* by Different Herbicides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 11903-11908.
- TRUCCO, F.; TATUM, T.; RAYBURN, AL.; TRANDEL, P.J. (2009). Out of the Swamp: Unidirectional Hybridization with Weedy Species may Explain the Prevalence of *Amaranthus tuberculatus* as a Weed. *New Phytologist*. In press.
- UTTLEY, N.L. (2009). Agrochemical Proprietary Off-Patent Products – What Are They? *Outlooks on Pest Management* 20, 85-88.
- VALVERDE, B.E. (2007). Status and Management of Grass-Weed Herbicide Resistance in Latin America. *Weed Technology* 21, 310-323.

VALVERDE, B.E (2010). Glyphosate Resistance in Latin America. In: *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and Management* (ed. VK Nandula). John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. *In review*.

VALVERDE, B.E.; CHAVES, L.; GONZALEZ, J.; GARITA, I. (1993). Field-Evolved Imazapyr Resistance in *Ixophorus unisetus* and *Eleusine indica* in Costa-Rica. *Brighton Crop Protection Conference: Weeds - 1993, Vols 1-3* 1189-1194.

VALVERDE, B.E.; GRESSEL, J. (2005). Implications and containment of gene flow from herbicide-resistant rice. *Proceedings. The 20th Asian-Pacific Weed Science Society Conference*, Ho Chi Minh City, p. 63-84.

VALVERDE, B.E.; GRESSEL, J. (2006). Dealing with the Evolution and Spread of *Sorghum halepense* Glyphosate Resistance in Argentina, A Consultancy Report to SENASA. Argentina, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 86p. Available: <http://www.sinavimo.gov.ar/files/senasareport2006.pdf> and <http://www.weedscience.org/paper/Johnsongrass%20Glyphosate%20Report.pdf>. Also available in Spanish at <http://www.sinavimo.gov.ar/files/informesensa.pdf>. All sites accessed October 10, 2009.

VALVERDE, B.E.; ITOH, K. (2001). Herbicide Resistance and its Management in World Rice Ecosystems. In: *Herbicide Resistance and World Grains* (eds. SB Powles & DL Shaner), 195-249. CRC Press, Boca Raton.

VALVERDE, B.E.; RICHES, CR.; CASELEY, J.C. (2000). *Prevención y Manejo de Malezas Resistentes a Herbicidas in Arroz: Experiencias en América Central con Echinochloa colona* Cámara de Insumos Agropecuarios, San José.

VILA-AIUB, M.M.; NEVE, P.; POWLES, S.B. (2009). Fitness Costs Associated with Evolved Herbicide Resistance Alleles in Plants. *New Phytologist*. In press.

WARWICK, S.I. (1991). Herbicide Resistance in Weedy Plants - Physiology and Population Biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22, 95-114.

WARWICK, S.I.; BECKIE, H.J.; HALL, L.M. (2009). Gene Flow, Invasiveness, and Ecological Impact of Genetically Modified Crops. *Year in Evolutionary Biology 2009* 1168, 72-99.

WHITEHEAD, C.W.; SWITZER, C.M. (1963). The Differential Response of Strains of Wild Carrot to 2,4-D and Related Herbicides. *Canadian Journal of Plant Science* 43, 255-262.

WSSA (1998) "Herbicide Resistance" and "Herbicide Tolerance" Defined. *Weed Technology* 12, -789.

YAZAKI, K.; SHITAN, N.; SUGIYAMA, A.; TAKANASHI, K. (2009). *Cell and Molecular Biology of ATPp-Binding Cassette Proteins in Plants*. Elsevier Academic Press Inc, San Diego.

YU, Q.; ABDALLAH, I.; HAN, HP.; OWEN, M.; POWLES, S. (2009). Distinct Non-Target Site Mechanisms Endow Resistance to Glyphosate, ACCase and ALS-Inhibiting Herbicides in Multiple Herbicide-Resistant *Lolium rigidum*. *Planta* 230, 713-723.

YU, Q.; CAIRNS, A.; POWLES, S. (2007). Glyphosate, Paraquat and ACCase Multiple Herbicide Resistance Evolved in a *Lolium rigidum* Biotype. *Planta* 225, 499-513.

ZENG, L.; BAIRD, W.V. (1997). Genetic Basis of Dinitroaniline Herbicide Resistance in a Highly Resistant Biotype of Goosegrass (*Eleusine indica*). *Journal of Heredity* 88, 427-432.