

MECANISMOS Y MITIGACIÓN DE LA RESISTENCIA A HERBICIDAS

A.J. Fischer

Department of Plant Sciences, University of California-Davis, Davis, California 95616, USA,
ajfischer@ucdavis.edu

Resumen: La evolución de biotipos con resistencia a múltiples herbicidas complicará la mitigación de resistencia basada únicamente en cambiar o mezclar herbicidas. Niveles bajos de resistencia en una maleza no deben ignorarse pues pueden incrementarse gradualmente cuando la selección con herbicidas a dosis bajas permite la ocurrencia de mutaciones secuenciales de alelos para un mismo gen y/o la amplificación o acumulación por recombinación de genes de resistencia parcial en plantas individuales. El manejo integrando de malezas debe ser la base para reducir la presión evolutiva de selección que favorece a los biotipos de maleza resistentes a herbicidas. En el caso del uso actual masivo de glifosato en sistemas CRG, los productores deberán diversificar un sistema actualmente muy conveniente y simplificado por el empleo flexible de un único herbicida eficiente y seguro. Pero el desafío vale la pena a fin de preservar al glifosato como herramienta de control de malezas eficaz, segura y ambientalmente compatible.

Palabras clave: glifosato, metabolismo, selección recurrente, sitio activo, translocación.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los mecanismos que confieren la resistencia es clave para diseñar estrategias que mitiguen su evolución en poblaciones de malezas. Una táctica válida en muchos casos de resistencia en malezas es cambiar de herbicida y emplear otro que actúe sobre un sitio de acción diferente. El uso de glifosato se ha incentivado con el advenimiento de los cultivos transgénicos resistentes a glifosato (CRG) y es en éstos cultivos donde los casos de resistencia se han incrementado dramáticamente en los últimos años. Actualmente biotipos resistentes a este herbicida han evolucionado en unas 21 especies (HEAP, 2011). Las aplicaciones en presiembra en sistemas de labranza cero (NEVE *et al.* 2003) y las postemergentes cuando se usan CRGs sobre grandes extensiones en sistemas de

control de malezas poco diversificados ejercen una selección muy intensa en favor de biotipos de malezas con genes de resistencia al glifosato (DUKE Y POWLES 2008). Existen herbicidas que podrían usarse como alternativas al glifosato, o en conjunción con éste, para retardar la evolución de su resistencia. Pero estos herbicidas son a su vez pasibles de verse ellos mismos afectados por problemas de resistencia, particularmente cuando se trata de herbicidas que pertenecen a grupos de alto riesgo como los inhibidores de la ALS (acetolactato sintasa) o la ACCasa (acetil-coenzima A carboxilasa). Por lo tanto en esta revisión nos enfocaremos en repasar los principales mecanismos que confieren a las malezas resistencia a los herbicidas, con mención especial también de la resistencia a glifosato, para luego discutir las implicaciones que estos mecanismos tengan en la definición de métodos para manejar la resistencia en malezas.

RESISTENCIA

La evolución y diseminación de biotipos resistentes en las poblaciones de malezas lleva a la falla en el control con herbicidas. La resistencia es un ejemplo de evolución adaptativa de las malezas resultante de la selección ejercida por el uso repetido de un herbicida o de herbicidas que tengan en común algún proceso que impida su acumulación en el sitio de acción fitotóxica. Este proceso de uso repetido selecciona ciertos individuos ("biotipos") dentro de una población perteneciente a cierta especie que tienen la capacidad natural y heredable de sobrevivir y reproducirse luego de ser expuestos a un tratamiento herbicida que normalmente controlaría efectivamente a esa población. Los biotipos resistentes resultan de mutaciones espontáneas que se dan al azar en las poblaciones de las malezas. Se supone que los herbicidas no causan mutaciones; los mutantes resistentes son pre-existentes y el herbicida los selecciona al matar a los individuos susceptibles y permitiendo que los resistentes sobrevivan.

Plantas resistentes pueden también resultar por el uso de técnicas tales como la ingeniería genética o la selección de tipos variantes en cultivo de tejidos o mutagénesis, y es posible que estos genes de resistencia sean pasados por hibridación hacia la maleza. El subsiguiente uso repetido del herbicida seleccionará esos nuevos biotipos resultantes de un flujo de genes.

Los individuos resistentes de ocurrencia natural resultan de mutaciones espontáneas de baja frecuencia. Por lo tanto, cuanto más elevados sean los niveles de infestación de esas malezas, si la especie es muy prolífica y si la selección con el herbicida se ejerce sobre vastas superficies, mayor será la probabilidad de seleccionar esos mutantes. La evolución de resistencia en una población se acelera cuando la frecuencia inicial de genotipos resistentes es elevada, la resistencia es heredada por un solo gen dominante, la especie es de fecundación cruzada y muy susceptible al herbicida, y cuando éste mata a la planta a través de un único mecanismo (sitio de acción específico) o es inactivado por un proceso muy común en plantas. La selección de biotipos resistentes se intensifica si el herbicida es residual y, por sobretodo, cuándo más frecuentemente se use (DIGGLE Y NEVE, 2001; GRESSEL Y SEGEL, 1978). Las estrategias de mitigación de de resistencia buscan retardar el proceso de evolución fundamente mediante la disminución de la presión de selección ejercida con el uso de/los herbicidas. En general esto implica diversificar las tácticas de control de malezas adoptando el concepto de manejo integrado. Los mecanismos de resistencia condicionan la priorización de las técnicas de mitigación a emplear.

Resistencia de Sitio Activo.

El sitio activo de un herbicida es generalmente una proteína específica (enzima) que juega un rol clave en algún paso metabólico de la planta cuyo bloqueo resulta letal. Esta resistencia es conferida por una mutación puntual en el gene que codifica a esa proteína lo que causa insensibilidad a herbicidas con un modo de acción específico. Ciertos grupos de herbicidas son particularmente vulnerables pues existen varias mutaciones que son capaces de conferir resistencia y esto incrementa las probabilidades de que existan mutantes resistentes en las poblaciones incluso si estas nunca han sido sometidas a la selección por el herbicida. Así, se han determinado siete lugares altamente conservados en la enzima acetolactato sintasa (ALS) donde mutaciones puntuales son capaces de conferir resistencia a herbicidas inhibidores de esa enzima (LAPLANTE *et al.* 2009; TRANEL Y WRIGHT, 2002; WHALEY *et al.*, 2007). De forma similar, ocho mutaciones puntuales conocidas confieren resistencia a inhibidores de la enzima acetil CoA carboxilasa (ACCasa) resultando en diversos patrones de resistencia cruzada entre herbicidas ariloxifenoxipropionatos, ciclohexanedionas y pinoxaden (DÉLYE, 2005; DÉLYE *et al.* 2011; YU *et al.*, 2007). Resulta claro pues, que la existencia de mutaciones que confieren distintos esquemas de resistencia cruzada entre herbicidas de un mismo modo de acción sugiere que la forma más prudente de manejar el problema es siempre cambiar por un herbicida de diferente modo de acción pero igualmente efectivo contra la especie que se quiere controlar. El empleo de mezclas o las aplicaciones secuenciadas con herbicidas de distinto modo de acción es una forma efectiva de retardar la evolución de resistencia, pues los mutantes resistentes a un herbicida serían controlados por el otro y viceversa. Claro está que el uso recurrente de una misma mezcla podría seleccionar biotipos que hayan acumulado mecanismos de resistencia a ambos herbicidas (resistencia múltiple).

La resistencia a glifosato puede también involucrar una alteración en el sitio activo. Este herbicida afecta una ruta bioquímica muy importante en plantas pues es una ruta por donde pasa una elevada proporción del carbono fijado por la fotosíntesis y donde se origina la síntesis de ácido indolacético, lignina, plastoquinona y la de metabolitos secundarios relevantes para la defensa contra agentes bióticos. Esta es la ruta biosintética del ácido shikímico y la enzima clave en este proceso es la EPSPS. La resistencia de sitio activo a glifosato resulta de mutaciones puntuales en la EPSPS. El primer caso de resistencia de sitio activo a glifosato reportado fue el de *Eleusine indica* (L.) Gaertn. en Malasia donde aparecen biotipos con niveles moderados de resistencia a nivel de planta (índices de resistencia R/S de la GR₅₀ entre 2 y 8) y a nivel de la actividad de la EPSPS (I₅₀ = 5) (BAERSON *et al.*, 2002; LIM JUNG LEE, 2000). Esta reducción de sensibilidad hacia el glifosato se asoció con mutaciones puntuales en el gene de la EPSPS causando que una prolina en posición 106 fuera reemplazada por serina (Pro106-Ser) (BAERSON *et al.*, 2002) o por treonina (Pro106-Thre) en la cadena de amino ácidos de la proteína EPSPS. Algo similar ocurre más adelante con biotipos de *Lolium* spp resistente a glifosato en Australia, Chile y California, donde la misma mutación (Pro106-Ser) confiere niveles moderados de resistencia a glifosato (POWLES Y PRESTON, 2006; SIMARMATA Y PENNER, 2008). En California, se identificó además un biotipo resistente con la mutación Pro106-Ala (JASIENIUK *et al.* 2008). Recientemente KAUNDUN *et al.* (2011) identificaron una nueva mutación (Pro106-Leu) en un biotipo de *Lolium rigidum* de Sudáfrica. Resistencia a glifosato en *Echinochloa colona* de California involucra también mutaciones que causan sustitución de Pro106 por serina o por treonina (ALARCÓN-REVERTE *et al.* 2011). En todos los casos estudiados, la resistencia conferida por la mutación en Pro106 de la EPSPS se hereda como un gene nuclear con dominancia

incompleta. Los niveles moderados de resistencia son suficientes para permitir la sobrevivencia y reproducción de las plantas a las dosis de campo y, por lo tanto, para que estos biotipos resistentes sean pasibles de selección por uso repetido de glifosato.

La resistencia de sitio activo también puede involucrar elevados niveles de expresión o de actividad de la enzima sobre la cual se ejerce el efecto del herbicida. Existen varios reportes señalando que la resistencia natural a glifosato en ciertas leguminosas (*Lotus* spp.) o aquella seleccionada en *Amaranthus palmerii* o en *Conyza canadensis* por uso repetido de glifosato involucran la presencia de elevados niveles de EPSPS (DINELLI *et al.*, 2006; GAINES *et al.* 2011; GRESSEL, 2002; ODELL *et al.*, 1990; PLINE-SRNIC, 2006). La sobreexpresión de la enzima que representa el sitio activo del herbicida puede deberse a efectos post transcripcionales, reguladores de expresión, o bien resultar de duplicaciones y/o amplificaciones génicas. En el caso de la recientemente descubierta resistencia en un biotipo de *A. palmerii* de Georgia, USA, la enzima EPSPS era susceptible al glifosato pero las plantas resistentes tenían 5 a 160 veces más copias del gene que las plantas susceptibles (GAINES *et al.* 2011). De modo que casos de sobreexpresión podrían involucrar múltiples genes.

Resistencias Fuera del Sitio Activo.

Estas resistencias pueden involucrar diversos mecanismos y a veces resultar de la acumulación de diversos genes con efectos menores. En muchos casos la resistencia es poco específica e involucra a varios herbicidas, incluso herbicidas que no se han usado antes. Esto ocurre muy a menudo cuando la resistencia se debe a un incremento en la planta de su capacidad de detoxificar herbicidas. También puede estar presente en plantas sometida a estreses ambientales y no necesariamente expuestas a selección por herbicidas (YASUOR *et al.* 2011). Se trata pues de la expresión elevada de mecanismos que normalmente existen en las plantas y que cumplen muy diversas funciones por lo que su especificidad por los herbicidas es también diversa y amplia (YUN *et al.* 2005; YUAN *et al.* 2007). Un dramático ejemplo de resistencia fuera del sitio activo es la de *Echinochloa phyllopogon* en California que ha evolucionado resistencia a tiocarbamatos, a diversos herbicidas inhibidores de la ALS y la ACCasa, así como a clomazone y a paraquat (BAKKALI *et al.*, 2007; FISCHER *et al.*, 2000a; FISCHER *et al.*, 2000b; FISCHER *et al.*, 2004; OSUNA *et al.*, 2002; RUIZ-SANTAELLA *et al.*, 2006; YASUOR *et al.*, 2008; YUN *et al.*, 2005). Estas resistencias involucran enzimas citocromo P450 (P450), glutatión transferasas (GST), y posiblemente también mecanismos de tolerancia a formas reactivas tóxicas de oxígeno a nivel de plástidos. Estas complejas resistencias multifactoriales, que probablemente sean expresión de una sobrerregulación de mecanismos de tolerancia a estreses, resultan sumamente complicadas de manejar pues involucran múltiples herbicidas, incluso herbicidas a los cuales las plantas nunca han sido expuestas. Estos mecanismos de resistencia fuera del sitio activo se observan también en las plantas cultivadas y son la razón del uso selectivo de herbicidas. El concepto a tener en cuenta aquí es que, si bien la resistencia de sitio activo puede manejarse sustituyendo el herbicida afectado por otro con un mecanismo de acción diferente, esto puede no ser válido con resistencia que no es de sitio activo. Por ejemplo, si varios herbicidas diferentes comparten una misma ruta metabólica de degradación como puede ser la tan frecuente detoxificación por P450, entonces todos ellos estarán seleccionando por el mismo mecanismo de resistencia, y cambiar uno por el otro no tendrá efecto ninguno en cuanto a disminuir la presión de selección a favor de biotipos resistentes. Podríamos concluir que si la resistencia se va a manejar cambiando de herbicidas, no alcanzaría sólo con que los herbicidas difieran en su mecanismo de acción, sino que también sería necesario que

difierieran en el mecanismo que impida su acumulación a concentraciones inhibitorias a nivel del sitio activo en planta. El problema es que las rutas metabólicas que detoxifican a la mayoría de los herbicidas (siendo P450 y GST las dos más relevantes) son muy comunes en plantas. Lo cual también sería el caso de ciertos transportadores involucrados en el "secuestro" de herbicidas fuera del sitio activo (MARTINOIA *et al.* 2002). Información reciente sugiere que transportadores de membrana, como los transportadores ABC, pueden conferirle a las malezas resistencia fuera del sitio activo hacia múltiples herbicidas (GRESSEL 2002; YUAN *et al.*, 2007). Parecería pues que cuanto más diversificado, complejo y elaborado sea el paquete de herbicidas que se emplee, mayor y más diversa puede ser la capacidad de resistencia de los biotipos seleccionados.

Aparte de la resistencias de sitio activo, el único otro mecanismo de resistencia a glifosato que se ha identificado por ahora en malezas de campo involucra un impedimento en su transporte (POWLES Y PRESTON, 2006). Varios biotipos de *Lolium* spp de Australia y en *Conyza canadensis* de USA resistentes a glifosato poseen una EPSPS sensible al glifosato, pero en estas plantas el herbicida no es suficientemente transportado desde su punto de aplicación hacia el resto de la planta para alcanzar puntos de crecimiento vulnerables. Recientemente GE *et al.* (2010) demostraron que el glifosato es activamente acumulado y secuestrado dentro de las vacuolas de las células adyacentes al punto de aplicación del herbicida lo que impide su transporte hacia otros sitios. Esto sería debido a la presencia de transportadores específicos a nivel del tonoplasto de plantas resistentes. En plantas resistentes de *Lolium* spp, se observó que el glifosato tendía a acumularse en el ápice de las hojas tratadas y exhibía poca translocación hacia las raíces. Mientras que en plantas susceptibles, la acumulación se daba en las regiones inferiores de las plantas y en las raíces (LORRAINE-COLWILL *et al.*, 2002). Las bases moleculares del mecanismo de resistencia por translocación reducida en *Lolium* spp. Aún no ha sido elucidado (YU *et al.* 2007). Estudios de heredabilidad en varias accesiones de ambas especies demostraron que esta resistencia sería de herencia monogénica involucrando un gene nuclear de dominancia incompleta (POWLES Y PRESTON, 2006). Es posible que aún existan otros mecanismos de resistencia a glifosato fuera del sitio activo (KAUNDUN *et al.* 2011). Muy significativos son los estudios preliminares de BUSI Y POWLES (2009) sugiriendo herencia poligénica en resistencia a glifosato seleccionada a partir del uso recurrente de dosis bajas de glifosato. De todas formas, los estudios de mecanismos de resistencia a glifosato están recién en sus comienzos y sólo se conocen por el momento mecanismos para cuatro de las 21 especies de malezas que han evolucionado resistencia a este herbicida (HEAP, 2011).

Creo que de esta forma dejamos en claro que la resistencia a herbicidas no se maneja solamente en base a alternar herbicidas dentro de un sistema productivo donde el control de malezas se basa únicamente en un uso intensivo de productos herbicidas. Por otra parte, se ha demostrado que el abandono de los sistemas de labranza y su sustitución por el laboreo cero con glifosato en presiembra incrementa drásticamente las probabilidades de evolución de resistencia a ese herbicida (NEVE *et al.*, 2003), pues malezas que sobrevivan a la aplicación del glifosato portando gene(s) de resistencia ya no tendrán oportunidad de ser eliminadas por ninguna otra práctica agrícola si la única técnica de control de malezas a emplear durante el ciclo del cultivo es nuevamente el glifosato! El manejo y prevención de la resistencia pasan indudablemente por un sistema de control de malezas diversificado, donde se diversifiquen no sólo las opciones químicas y las tácticas de uso de herbicidas (mezclas y secuencias), sino que además se de oportunidad a la implementación periódica de prácticas agronómicas de control (rotaciones, laboreo, etc.). La

innovación en las tecnologías biotecnológicas que otorguen nuevos paradigmas para el uso de cultivos resistentes a herbicidas será fundamental en el futuro (GRESSEL, 2011).

Niveles de Resistencia Genes y Dosis.

La resistencia de sitio activo es normalmente gobernada por genes mayores de herencia monogénica que suelen conferir elevados niveles de resistencia (la excepción a esto es la resistencia de sitio activo al glifosato). La resistencia evolucionará rápidamente si resulta de una alteración del sitio activo controlada por herencia monogénica. Esta evolución se acelera cuando el herbicida es altamente fitotóxico (como es el caso de los inhibidores de la ALS) o se usa a una dosis elevada, dado que en estos casos prácticamente todos los individuos sobrevivientes que pasen su descendencia a la próxima generación serán portadores del gene de resistencia (la *presión de selección* a favor de la resistencia será máxima). Por el contrario, dosis bajas o herbicidas poco letales permitirán que un mayor número de individuos susceptibles sobrevivan y produzcan semilla, lo que diluirá el avance de la selección por resistencia (baja presión de selección). Por lo tanto, una forma efectiva de retrasar la evolución de resistencia de sitio activo sería emplear dosis bajas de herbicida para reducir la presión de selección. Pero la situación puede ser muy diferente si la resistencia está controlada por varios genes de efecto parcial como suele ser el caso con ciertas resistencias ajenas al sitio activo. A menudo se trata de genes de efecto menor que confieren bajos niveles de resistencia cuya acumulación en un mismo genotipo resulta en niveles de resistencia suficientes como para permitir la sobrevivencia a un tratamiento herbicida con la dosis comercial. Este sería el caso de resistencias de tipo metabólico o de resistencia multifactorial como la que comentamos anteriormente donde suele observarse variabilidad en los niveles intra-específicos de resistencia que se asocia con herencia poligénica (BUSI *et al.* 2010). En este caso, dosis bajas de herbicida capaces de matar al biotipo susceptible podrían permitir la supervivencia de individuos poseedores de algunos genes de resistencia parcial. Esos sobrevivientes podrían intercambiar y acumular genes de resistencia, o tener tiempo para duplicar o amplificar algunos de esos genes con efectos menores. El resultado sería un aumento con el tiempo del nivel de resistencia individual de ciertos genotipos, cuya frecuencia aumentará bajo selección del herbicida. Esto fue comprobado con una población de *Lolium rigidum* (especie de fecundación cruzada) de Australia susceptible a diclofop, la que fue sometida a tres ciclos de selección recurrente mediante aplicación de este herbicida (POWLES Y NEVE, 2005). Al cabo de los tres ciclos, su nivel de resistencia se había incrementado 56 veces; estudios de actividad enzimática de la ACCasa (sitio activo del diclofop) comprobaron que la resistencia no era de sitio activo. Se ha involucrado el efecto de más de un gene en ciertos casos de resistencia a glifosato que explica cómo los niveles de resistencia en ciertos casos se han incrementado gradualmente en áreas sometidas a presión de selección por aplicación de dosis bajas de glifosato, como es la lenta evolución de resistencia en biotipos de *Lolium* spp. australianos (GRESSEL 2002; VALVERDE Y GRESSEL, 2006). Recientemente, BUSI Y POWLES (2009) sometiendo plantas susceptibles de *Lolium rigidum* a selección recurrente con glifosato obtuvieron progenies resistentes al cabo de sólo 3 ciclos de selección, demostrando la contribución aditiva de genes menores y el potencial de dosis subletales en seleccionar por resistencia a glifosato. Estas ideas habían ya sido sugeridas o propuestas hace muchos años (HEAP, 1988; GRESSEL 1995) y recién ahora comienzan a recibir merecida atención y comprobación, incluso por quienes en su momento las criticaron duramente. Es posible también que dosis subletales de herbicida actúen como factor estresante y es sabido que organismos sometidos a estrés

incrementan la frecuencia de mutaciones adaptativas (GRESSEL, 2010). De esta forma plantas que sobrevivan a tratamientos herbicidas subletales podrían tener niveles mutacionales elevados que incluyan mutaciones confiriendo resistencia tanto de tipo multifactorial por genes menores como de sitio activo por genes mayores. No debemos ser negligentes con las poblaciones que presenten niveles bajos de resistencia pues éstas pueden estar aún en etapas tempranas de la selección por resistencia (los individuos resistentes son un bajo porcentaje del total) o bien consistir de individuos con resistencia intermedia gobernada por genes de efecto menor, la cual es potencialmente incrementable si estos individuos logran sobrevivir y recombinar esos genes. Debe sonar la alarma cuando aparecen individuos que escapan a dosis algo bajas (o a dosis normales aplicadas con la maleza en estado de crecimiento algo más avanzado de lo deseable) pero que pueden controlarse cuando se elevan un poco las dosis de aplicación. Por lo que la estrategia de manejo de resistencia más adecuada sería la de utilizar las dosis de etiqueta más efectivas, evitando dosis bajas, pero eliminando siempre cualquier planta sobreviviente (podrían ser resistentes por genes mayores) con métodos de control alternativo

CONCLUSIONES

Es lógico esperar que surjan y se incrementen en muchas regiones agrícolas los casos de resistencia a glifosato en malezas como consecuencia del empleo masivo de este herbicida sobre grandes extensiones en conjunción con CRGs implantados bajo labranza cero en sistemas agronómicos con control de malezas muy poco diversificado. Esto comprometerá la sustentabilidad de los sistemas agrícolas con CRGs y la eficacia a largo plazo de uno de los herbicidas más útiles y seguros que existen. Un análisis de los mecanismos que confieren resistencia a herbicidas en las malezas sugiere que no sólo es importante preocuparse de mitigar la evolución de biotipos resistentes a glifosato, sino que los riesgos de evolución de resistencia múltiple involucrando herbicidas que se emplean para controlar malezas resistentes a glifosato son también elevados, dado que muchos de esos herbicidas alternativos pertenecen a los llamados grupos químicos de "alto riesgo" de resistencia. La diversidad, complejidad, y baja especificidad relativa de muchos mecanismos de resistencia que operan fuera del sitio activo, así como la abundante disponibilidad de herbicidas pertenecientes a grupos donde diversas mutaciones confieren resistencia cruzada de sitio activo, sugieren que la evolución de biotipos con resistencia a múltiples herbicidas complicará la mitigación de resistencia basada únicamente en cambiar o mezclar herbicidas. Niveles bajos de resistencia en una maleza no deben ignorarse pues pueden representar etapas tempranas en la selección poblacional de individuos resistentes o pueden deberse a la presencia de genes que confieren resistencia parcial y a menudo multifactorial. Mutaciones secuenciales de alelos para un mismo gen así como la amplificación o la acumulación por recombinación de genes de resistencia parcial, tal como puede ocurrir bajo selección con herbicidas a dosis bajas o gradualmente incrementadas, pueden elevar los niveles de resistencia en plantas individuales. El manejo de malezas integrando herbicidas con labranza y prácticas de diversificación debe ser la base para reducir la presión evolutiva de selección que favorece a los biotipos de maleza resistentes a herbicidas. En el caso del uso actual masivo de glifosato en sistemas CRG, será laborioso convencer a los productores para que introduzcan modificaciones (laboreo alterno, otros herbicidas de presembrado y postemergentes, rotación de cultivos, empleo de cultivares más competitivos y otras) a un

sistema que resulta tan conveniente y simplificado por el empleo flexible de un único herbicida eficiente y seguro. Pero el desafío vale la pena a fin de preservar herbicidas que sean eficaces, seguros y ambientalmente compatibles como herramientas de control de malezas.

BIBLIOGRAFÍA

- ALARCÓN-REVERTE, R., A. GARCÍA, M. JASIENIUK, T. LANINI, B. HANSON, A. FISCHER. (2011). Glyphosate driven selection strikes again: Investigating the mechanism of resistance in *Echinochloa colona* from California. Abstracts (2011) Meeting of the Weed Science Society of America, February 7-10, Portland, OR, Abstract No. 114, <http://wssaabstracts.com/public/4/abstract-114.html>
- BAERSON, S.R., D.J. RODRIGUEZ, M. TRAN, Y. FENG, N.A. BIEST, G.M. DILL. (2002). Glyphosate-Resistant Goosegrass. Identification of a Mutation in the Target Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase. *Plant Physiology* 129:1265-1275.
- BAKKALI, Y., J.P. RUIZ-SANTAELLA, M.D. OSUNA, J. WAGNER, A.J. FISCHER, R. DE PRADO. (2007). Late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): mechanisms involved in the resistance to fenoxaprop-ethyl. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 55:4052-4058.
- BUSI, R., S.B. POWLES. (2009). Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity* 103:318-325.
- BUSI, R., M.M. VILA-AIUB, S.B. POWLES. (2010). Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. *Heredity* 106:817-824.
- DÉLYE, C. (2005). Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Science* 53, 728-746.
- DÉLYE C., PERNIN F., MICHEL S. (2011). 'Universal' PCR assays detecting mutations in acetyl-coenzyme A carboxylase or acetolactate synthase that endow herbicide resistance in grass weeds. *Weed Research* 51:353-362. DOI: 10.1111/j.1365-3180.2011.00852.x.
- DIGGLE, A.J., D P. NEVE. (2001). The population dynamics and genetics of herbicide resistance-a modeling approach. in S.B. Powles and D.L. Shaner (Eds.) *Herbicide Resistance and World Grains*:61-99.
- DINELLI, G., I. MAROTTI, A. BONETTI, M. MINELLI, P. CATIZONE, J. BARNES. (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.
- DUKE, S.O., S.B. POWLES. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64:319-325.
- FISCHER, A.J., D.P. CHEETHAM, R. DE PRADO. (2004). Enhanced effect of thiobencarb on bispyribac-sodium control of *E. phyllopogon* (Stapf) Koss in California rice (*Oryza sativa* L.). *Weed Biology and Management* 4:206-212.
- FISCHER, A.J., C.M. ATEH, D.E. BAYER, J.E. HILL. (2000a). Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllopogon* in California *Oryza sativa* fields. *Weed Science* 48:225-230.

- FISCHER, A.J., D.E. BAYER, M.D. CARRIERE, C.M. ATEH, K.-O. YIM. (2000b). Mechanisms of resistance to bBispyribac-sodium in an *Echinochloa phyllopogon* accession. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68:156-165.
- GAINES, T.A., W. ZHANG, D. WANG, B. BUKUN, S.T. CHISHOLM, D.L. SHANER, S.J. NISSEN, W.L. PATZOLDT, P.J. TRANEL, A.S. CULPEPPER, T.L. GREY, T.M. WEBSTER, W.K. VENCILL, R.D. SAMMONS, J. JIANG, C. PRESTON, J.E. LEACH, P. WESTRA. (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:1029-1034.
- GE, X., D.A. D'AVIGNON, J.J.H. ACKERMAN, AND R.D. SAMMONS. (2010). Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Management Science* 66:345-348.
- GRESSEL J. (1995). Catch 22 - Mutually exclusive strategies for delaying/preventing polygenically vs. monogenically inherited resistances, in *Options 2000*, ed. by Ragsdale N. American Chemical Society pp. 330-349, Washington, D.C.
- GRESSEL, J. (2010). Low pesticide rates may hasten the evolution of resistance by increasing mutation frequencies. *Pest Management Science* 67:253-257.
- GRESSEL, J. (2011). Global advances in weed management. *Journal of Agricultural Science* 149:47-53.
- GRESSEL, J., L.A. SEGEL. (1978). The paucity of plants evolving genetic resistance to herbicides: possible reasons and implications. *J. Theor. Biol.* 75:349-371.
- GRESSEL, J. (2002). *Molecular biology of weed control*. London and New York, Taylor & Francis. Pp.168-172; 195-198; 207-214.
- HEAP, I. (1988). Resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *PhD Thesis*, University Waite Agriculture Institute, Adelaide, Australia.
- HEAP, I. (2011). International survey of herbicide-resistant weeds. Web page: <http://www.weedscience.org/in.asp>. Accessed: July 2011.
- JASIENIUK, M., R.AHMAD, A. SHERWOOD, J. FIRESTONE, A. PEREZ-JONES, W. T. LANINI, C. MALLORY-SMITH, Z. STEDNICK. (2008). Glyphosate Resistance in *Lolium multiflorum* of California: Distribution, Expression, and Molecular Evidence for an Altered Target Enzyme. *Proceedings 5th International Weed Science Congress*, Vol. Abstract No. 58. International Weed Science Society and Weed Science Society of America, Vancouver, British Columbia, Canada.
- KAUNDUN, S.S., R.P. DALE, I.A. ZELAYA, G. DINELLI, I. MAROTTI, E. MCINDOE, A. CAIRNS. (2011). A Novel P106L Mutation in EPSPS and an Unknown Mechanism(s) Act Additively To Confer Resistance to Glyphosate in a South African *Lolium rigidum* Population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:3227-3233.
- LAPLANTE J., RAJCAN I., TARDIF F. (2009). Multiple allelic forms of acetohydroxyacid synthase are responsible for herbicide resistance in *Setaria viridis*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 119:577-585. DOI: 10.1007/s00122-009-1067-5.
- LIM JUNG LEE, J.N. 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science* 56:336-339.
- LORRAINE-COLWILL, D.F., S.B. POWLES, T.R. HAWKES, P.H. HOLLINSHEAD, S.A.J. WARNER, C. PRESTON. (2002). Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 74:62-72.
- MARTINOIA, E., M. KLEIN, M. GEISLER, L. BOVET, C. FORESTIER, Ü. KOLUKISA OGLU, B. MÜLLER-RÖBER, B. SCHULZ. (2002). Multifunctionality of plant ABC transporters - more than just detoxifiers. *Planta* 214:345-355.

- NEVE, P., A.J. DIGGLE, F.P. SMITH, S.B. POWLES. (2003). Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum* II: past, present and future glyphosate use in Australian cropping. *Weed Research* 43:418-427.
- ODELL, J.T., P.G. CAIMI, N.S. YADAV, AND C.J. MAUVAIS. (1990). Comparison of increased expression of wild-type and herbicide-resistant acetolactate synthase genes in transgenic plants, and indication of posttranscriptional limitation on enzyme activity. *Plant Physiology* 94:1647-1654.
- OSUNA, M.D., F. VIDOTTO, A.J. FISCHER, D.E. BAYER, R. DE PRADO, A. FERRERO. (2002). Cross-resistance to bispyribac-sodium and bensulfuron-methyl in *Echinochloa phyllopogon* and *Cyperus difformis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 73:9-17.
- PLINE-SRNIC, W. (2006). Physiological Mechanisms of Glyphosate Resistance. *Weed Technology* 20:290-300.
- POWLES, S., P. NEVE. (2005). Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. *Theor Appl Genet* 110:1154-1166.
- POWLES, S.B., C. PRESTON. (2006). Evolved Glyphosate Resistance in Plants: Biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology* 20:282-289.
- RUIZ-SANTAELLA, J.P., R. DE PRADO, J. WAGNER, A.J. FISCHER, R. GERHARDS. (2006). Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. from California. *Journal of Plant Diseases and Protection*:95-100.
- SIMARMATA, M., D. PENNER. (2008). The basis for glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. *Weed Science* 56:181-188.
- TRANEL P.J., WRIGHT T.R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* 50:700-712.
- VALVERDE, B., J. GRESSEL. (2006). Dealing with the Evolution and Spread of Sorghum halepense Glyphosate Resistance in Argentina-A Consultancy Report to SENASA.
- WHALEY C.M., WILSON H.P., WESTWOOD J.H. (2007) A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides. *Weed Science* 55:83-90.
- YASUOR, H., P.L. TENBROOK, R.S. TJEERDEMA, A.J. FISCHER. (2008). Responses to clomazone and 5-ketoclomazone by *Echinochloa phyllopogon* resistant to multiple herbicides in Californian rice fields. *Pest Management Science* 64:1031-1039.
- YASUOR, H., M. MILAN, J.W. ECKERT, A.J. FISCHER. (2011). Quinclorac resistance: a concerted hormonal and enzymatic effort in *Echinochloa phyllopogon*. *Pest Management Science*, DOI: 10.1002/ps.2230.
- YU, Q., A. COLLAVO, M.Q. ZHENG, M. OWEN, M. SATTIN, S.B. POWLES. (2007). Diversity of acetyl-coenzyme a carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: Evaluation using clethodim. *Plant Physiology* 145:547-558.
- YUAN, J.S., P.T. TRANEL, AND C.N. STEWART JR. (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. *TRENDS in Plant Science* 12:7-13.
- YUN, M.-S., Y. YOGO, Y. YAMASUE, AND A.J. FISCHER. (2005). Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83:107-114.

Summary: Mechanisms and mitigation of herbicide resistance. The evolution of biotypes with resistance to multiple herbicides complicates the mitigation of resistance by only changing or mixing different herbicides. Low resistance levels in individuals within a weed population should not be

ignored, because they can gradually increase when the selection pressure from repeated herbicide treatment at low dosages allows for sequential mutations of alleles for a given gene, gene amplification and/or accumulation via recombination of genes for partial resistance in individual plants. Integrated weed management should be the basis for reducing the evolutionary selection pressure in favor of herbicide-resistant weed biotypes. In the case of the current massive use of glyphosate in herbicide-resistant crops systems, farmers need to diversify a very convenient and flexible system based on the use of a single safe and effective herbicide. But the challenge is justified in order to preserve an efficacious, safe and unique weed control tool.

Keywords: active site, glyphosate, metabolism, recurrent selection, translocation.