

## ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA DE *Ischaemum rugosum* Salisb. AL HERBICIDA BISPIRIBAC-SODIO EN VENEZUELA

Aída Ortiz<sup>1</sup>, Solsiré Blanco<sup>2</sup>, Georjan Arana<sup>3</sup>, Luis López<sup>4</sup>, Sandra Torres<sup>1</sup>, Yinerby Quintana<sup>1</sup>, Pedro Pérez<sup>1</sup>, Cástor Zambrano<sup>1</sup> y Albert Fischer<sup>5</sup>

### RESUMEN

*Ischaemum rugosum* es reportada como la maleza más difícil de controlar en arrozales de Venezuela. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia de *I. rugosum* a bispiribac-sodio. Se establecieron tres experimentos: (1) bioensayo de detección, (2) respuesta a dosis y (3) control de accesiones resistentes (R); en el primero se evaluaron 71 accesiones con una dosis recomendada de bispiribac-sodio (40 g·ha<sup>-1</sup> i.a.) comparando con un testigo, determinándose el porcentaje de peso fresco a los 21 días después de la aplicación. Para cuantificar la resistencia, se hizo el estudio de respuesta a dosis con accesiones R (IR37P, IR44P, IR75G, IR90G, IR82G y IR106G) y un testigo susceptible (S) (IR143G), usando 0, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 g·ha<sup>-1</sup> i.a. de bispiribac-sodio para las accesiones R y 0, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80 y 160 g·ha<sup>-1</sup> i.a. para las S. Se encontró que 26 accesiones de Portuguesa, 13 de Guárico y 2 de Cojedes, resultaron resistentes a bispiribac-sodio. Se reveló que IR37P; 106G; IR44P e IR82G mostraron índices de resistencias (IR = ED<sub>50</sub>R/ED<sub>50</sub>S) de 8; 44; 262,81 y 446,75 respectivamente, mientras que para IR75G e IR90G no fue posible estimar los elevados IR dado que ED<sub>50</sub>R > g·ha<sup>-1</sup> i.a. Para controlar estas accesiones R y detectar resistencia cruzada se las trató con 60, 30, 157, 160, 3360 y 988 g·ha<sup>-1</sup> i.a. de piribenzoxim; nicosulfuron; imazapir+imazetapir; profoxidim; propanil y oxadiazón, respectivamente. IR75G e IR90G fueron R a todos los herbicidas usados con excepción de oxadiazón.

**Palabras clave adicionales:** Arroz, *Oryza sativa*, paja rugosa, resistencia a herbicidas, inhibidor de ALS

### ABSTRACT

#### Current status in resistance of *Ischaemum rugosum* Salisb. to herbicide bispiribac-sodio in Venezuela

*Ischaemum rugosum* is reportedly the most difficult to control weed in rice fields of Venezuela. The objective of this study was to evaluate the resistance of *I. rugosum* to bispyribac-sodium. Three experiments were established: (1) detection bioassay, (2) dose response and (3) control of resistant (R) accessions. In the first experiment, 71 accessions and a susceptible (S) control were treated with 40 g·ha<sup>-1</sup> a.i. of bispyribac-sodium (recommended rate); fresh weight percent was measured 21 days after application. To quantify the resistance level, a dose response experiment was conducted with the R accessions IR37P, IR44P, IR75G, IR90G, IR82G and IR106G and the S accession IR143G; putatively R plants were treated with 0, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 g·ha<sup>-1</sup> a.i. of bispyribac-sodium and S plants with 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 g·ha<sup>-1</sup> a.i. We found that 26 accessions from the State of Portuguesa, 13 from Guárico and 2 from Cojedes were R to bispyribac-sodium. This test confirmed the resistance to bispyribac-sodium: IR37P; 106G; IR44P and IR82G showed resistance indices (RI = ED<sub>50</sub>R/ED<sub>50</sub>S) of 8, 44, 262.81 and 446.75 respectively, while RI values to quantify the high resistance of IR75G and IR90G could not be estimated (ED<sub>50</sub>R > 1280 g·ha<sup>-1</sup> a.i.). Cross-resistance was assayed by treating the R accessions with 60, 30, 157, 160, 3360 and 988 g·ha<sup>-1</sup> a.i. of pirybenzoxim; nicosulfuron, imazethapyr + imazethapyr; profoxydim, propanil and oxadiazon, respectively. IR75G and IR90G were R to all herbicides used except oxadiazon.

**Additional key words:** Rice, *Oryza sativa*, ribbed murainagrass, wrinkle grass, herbicide resistance, ALS inhibitor

### INTRODUCCIÓN

*Ischaemum rugosum* (paja rugosa, rolito o rugosa) representa el mayor problema en los

arrozales venezolanos debido a las fallas de control con herbicidas observadas en los últimos cinco años (Cásares, 2012), desplazando así en importancia a la paja americana [*Echinochloa*

Recibido: Octubre, 2012

Aceptado: Mayo 6, 2013

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay, Venezuela. e-mail: ortiza@agr.ucv.ve <sup>2</sup>Turén, estado Portuguesa. <sup>3</sup>La Victoria, estado Aragua. <sup>4</sup>Maracay, estado Aragua., Venezuela

<sup>5</sup>Dpto. Crop Science. Universidad de California, Davis. e-mail: afischer@ucdavis.edu

*colona* (L.) Link.], la que hace una década atrás fuera considerada como la principal limitante del cultivo.

*I. rugosum* es una maleza C<sub>4</sub>, originaria de Asia que puede comportarse como una planta anual o perenne, se reproduce a través de semilla, estolones y rizomas con un ciclo de 130 días; es muy competitiva por lo que se considera de importancia económica en los arrozales tropicales del mundo (Caton et al., 2004). Densidades de la maleza entre 42 a 48 plantas·m<sup>-2</sup> pueden reducir el rendimiento del arroz en un 50 % (Lubigan y Moody, 1990). Su semilla germina de 2 a 3 semanas después del arroz y las plántulas pueden emerger bajo el dosel del cultivo. Madura conjuntamente con el arroz, contamina la cosecha y se disemina a otros campos cada vez que se utiliza el *paddy* como semilla (Marengo y Reis, 1998).

Las recomendaciones técnicas para el control de *I. rugosum* en el país se basan principalmente en el control químico y en la preparación del suelo en batido (Cásares y Ortiz, 2009). Entre los herbicidas postemergentes usados en Venezuela para el control de esta maleza se encuentra el bispiribac-sodio [Sodium 2,6-bis [(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2-yl) oxy] benzoate] que ha sido ampliamente comercializado desde hace más de 12 años (Ortiz, 2008). Sin embargo, la paja rugosa ha mostrado resistencia a este herbicida (Zambrano y Espinoza, 2005).

La paja rugosa también ha mostrado resistencia a los herbicidas bipyridilos (Baki, 2000), fenoxaprop-etilo (Valverde, 2007), profloroxim (Moreno, 2010) y propanil (Medina, 2012).

El bispiribac-sodio es un herbicida perteneciente a la familia química del pirimidiniltiobenzoato (PTB), cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima acetolactato sintasa conocida como ALS, la primera enzima común en la ruta de la biosíntesis de los aminoácidos de cadena ramificada (Durner et al., 1990), considerándose el sitio primario de acción de 50 herbicidas comerciales. Estos productos inhibidores de ALS abarcan gran parte del mercado mundial de herbicidas ya que son eficaces para el control de malezas en muchos cultivos, se usan a bajas dosis y tienen poca toxicidad para seres humanos y animales. Sin embargo su alta especificidad y su uso repetido en siembras con monocultivos han presionado para seleccionar muchas malezas resistentes a estos

herbicidas (Saari et al., 1994; Gámez et al., 2013).

Investigaciones sobre el mecanismo de resistencia por sitio de acción de los herbicidas inhibidores de ALS han revelado que mutaciones puntuales en el gen *ALS* que dan lugar a sustituciones simples de aminoácidos en regiones conservadas de la enzima son causantes de su resistencia al efecto inhibitor del producto (Tranel y Wright, 2002).

También se ha encontrado resistencia de malezas a herbicidas inhibidores de ALS ajena al sitio de acción; así, biotipos con resistencia metabólica tienen una mayor capacidad de degradar al herbicida hacia formas no tóxicas comparados con las plantas susceptibles de la misma especie. Frecuentemente este tipo de resistencia involucra a enzimas monoxigenasas citocromo-P<sub>450</sub> que participan en el metabolismo de muchos herbicidas (Fischer y Valverde, 2010a).

Existe resistencia cruzada cuando un individuo posee resistencia a diferentes herbicidas vía un mismo mecanismo, ya sea debido a una misma alteración en el sitio de acción (resistencia cruzada por sitio de acción) o a un mecanismo que impida la acumulación de herbicidas a concentraciones tóxicas en su sitio de acción (resistencia cruzada ajena al sitio de acción por secuestro de herbicidas) (Fischer y Valverde, 2010b). Por su parte, la resistencia múltiple involucra resistencia a diferentes herbicidas cuando un individuo acumula diferentes mecanismos de resistencia a través de distintos eventos evolutivos (Hall et al., 1994).

La evolución de biotipos de malezas resistentes al bispiribac-sodio en Venezuela representa un impacto negativo para su uso. La caracterización de la resistencia de accesiones de *I. rugosum* a este herbicida proveerá una información útil para el desarrollo de estrategias de manejo integrado y prevención de dicha resistencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta de accesiones de *I. rugosum* provenientes de arrozales de Venezuela al herbicida bispiribac-sodio y establecer los niveles de resistencia. Adicionalmente, seleccionar algunas accesiones resistentes para evaluar su posible resistencia cruzada con otros herbicidas que pueden usarse para su control.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron durante los años 2008 a 2011 en forma masal 700 g de racimos con semillas de

cada uno de las 71 accesiones de *I. rugosum* provenientes de arrozales de los estados Guárico, Portuguesa, Cojedes y Carabobo donde los agricultores expresaban dificultad para el control de esta maleza con bispiribac-sodio. De estos cuatro estados, los tres primeros producían cerca del 99 % del arroz en el país (Kassen, 2009). Con fines de comparación, también se cosecharon semillas de otras áreas sin cultivo de arroz en las cuales este herbicida nunca había sido utilizado.

Los racimos de las panículas se desgranaron y las semillas maduras se almacenaron a 4 °C y 65 % HR para preservar la viabilidad de las semillas. Se realizaron tres tipos de bioensayos: uno exploratorio de detección para identificar accesiones resistentes, un segundo de respuesta a dosis para confirmar la resistencia a bispiribac-sodio y cuantificar sus niveles, y un tercero para evaluar resistencia cruzada y opciones de control usando ciertas accesiones R a bispiribac-sodio.

**Bioensayo de detección:** Plántulas de las 71 accesiones recolectadas en los estados de Portuguesa (51), Guárico (24), Cojedes (3) y Carabobo (1) se trataron en la etapa de tres a cuatro hojas con 40 g·ha<sup>-1</sup> i.a. de bispiribac-sodio (dosis comercial), y se contó con un tratamiento testigo sin aplicación de herbicida, bajo un diseño experimental completamente aleatorizado con cinco repeticiones. El herbicida se aplicó utilizando una cámara de aspersión con descarga de 100 L·ha<sup>-1</sup> y boquilla de abanico plano 8002E. Se añadió surfactante no iónico (0,2 mL·L<sup>-1</sup>), siliconado, con regulador de pH.

Las condiciones de crecimiento en invernadero fueron de 30-35 °C, 80 % HR y fotoperíodo de 12 horas bajo irradiancia de 1600 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. A las semillas se les rompió latencia colocándolas en una solución de nitrato de potasio 0,25 % e inyección de aire mediante una bomba de pecera; luego de tres días, las semillas germinadas se trasplantaron sobre la superficie de 500 g de suelo (serie Maracay, textura franca, pH 6,54) contenido en potes de 638 cm<sup>3</sup>.

Después de la emergencia y antes de la aplicación del herbicida, se raleó a cuatro plántulas iguales, espaciadas equidistantemente. Los potes se ubicaron en una piscina bajo

una lámina de agua constante de 10 cm de alto, la cual no sobrepasaba la superficie del suelo en los potes, manteniendo el suelo saturado. Tres días después de la aplicación (DDA) del herbicida se adicionó fertilizante Energy (180-100-40 más microelementos) a razón de 5 ml·L<sup>-1</sup>.

A los 21 DDA se cosechó la parte aérea de las plantas en cada pote y se midió el peso fresco inmediatamente después de cortar cada planta. Los datos de peso fresco se expresaron como porcentaje de crecimiento (peso fresco del tratamiento con herbicida/peso fresco promedio del tratamiento testigo sin herbicida x 100). En este experimento, se consideró como resistente (R) a aquellas accesiones que presentaron un peso fresco mayor al 20 % del tratamiento testigo sin herbicida cuando fueron tratadas con la dosis comercial recomendada de bispiribac-sodio (40 g·ha<sup>-1</sup> i.a.), ya que con esta biomasa *I. rugosum* pudo completar su ciclo de crecimiento y producir semillas viables (datos no publicados). Las accesiones restantes fueron consideradas como susceptibles (S).

**Experimento de respuesta a dosis:** Del experimento anterior, se seleccionaron seis accesiones (IR82G; IR37P; IR106G; IR75G; IR44P e IR90G) que mostraron resistencia y otra susceptible (S) (IR143G) cuya mortalidad había sido casi del 100 % para la misma dosis de herbicida (Cuadros 1 y 2). Las dosis de bispiribac-sodio utilizadas para las accesiones R fueron: 0, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 g·ha<sup>-1</sup> i.a., mientras que para la S se usaron: 0; 0,31; 0,63; 1,25; 2,5; 5; 10; 20 g·ha<sup>-1</sup> i.a. Los tratamientos se ubicaron bajo un diseño completamente aleatorizado y se replicaron cinco veces; el experimento se repitió para su validación. Las aplicaciones se efectuaron sobre plantas al estado de tres a cuatro hojas. Tanto las condiciones de crecimiento, la aplicación del herbicida, como la cosecha fueron como en el experimento anterior. Con los datos de peso fresco expresados como porcentaje de crecimiento respecto al promedio del testigo sin herbicida se calculó la dosis de efecto medio (ED<sub>50</sub>, dosis para la cual se reduce el crecimiento de plantas tratadas a un 50% del de plantas no tratadas) para cada accesión y el correspondiente índice de resistencia (IR = ED<sub>50</sub>R/ED<sub>50</sub>S).

**Cuadro 1.** Peso fresco como porcentaje del testigo sin tratar (media  $\pm$  SE) y condición de resistencia de accesiones de *I. rugosum*<sup>+</sup> en respuesta a dosis de 40 g·ha<sup>-1</sup> i.a. de bispiribac-sodio

Accesiones	Peso fresco (%)	Condición de resistencia
IR37P	112,89 $\pm$ 10,34	R
IR1P	108,71 $\pm$ 10,46	R
IR39P	102,26 $\pm$ 4,35	R
IR110P	101,31 $\pm$ 5,57	R
IR301CO	98,56 $\pm$ 4,28	R
IR35P	98,42 $\pm$ 5,66	R
IR2P	98,21 $\pm$ 7,65	R
IR112P	97,06 $\pm$ 10,41	R
IR41P	96,94 $\pm$ 5,22	R
IR273P	94,66 $\pm$ 15,44	R
IR44P	94,45 $\pm$ 6,45	R
IR6CO	91,00 $\pm$ 8,97	R
IR45P	89,90 $\pm$ 8,24	R
IR27P	89,70 $\pm$ 5,48	R
IR38P	88,82 $\pm$ 6,98	R
IR264P	76,03 $\pm$ 8,34	R
IR21P	74,85 $\pm$ 8,21	R
IR36P	73,61 $\pm$ 5,89	R
IR20P	68,19 $\pm$ 9,41	R
IR269P	66,34 $\pm$ 10,86	R
IR275P	65,54 $\pm$ 16,83	R
IR234P	49,25 $\pm$ 13,45	R
IR265P	46,36 $\pm$ 16,43	R
IR25P	44,49 $\pm$ 7,26	R
IR196P	38,39 $\pm$ 12,99	R
IR190P	37,83 $\pm$ 7,04	R
IR232P	37,73 $\pm$ 9,69	R
IR26P	21,93 $\pm$ 5,72	R
IR189P	15,99 $\pm$ 2,17	S
IR200P	15,78 $\pm$ 0,93	S
IR122P	15,21 $\pm$ 0,48	S
IR117C <sup>++</sup>	14,85 $\pm$ 0,92	S
IR50P	13,87 $\pm$ 0,98	S
IR268P	12,19 $\pm$ 9,47	S
IR150CO	11,44 $\pm$ 1,54	S
IR19P	9,48 $\pm$ 1,21	S
IR192P	9,24 $\pm$ 0,37	S
IR145P <sup>++</sup>	9,17 $\pm$ 0,81	S
IR18P	8,23 $\pm$ 0,74	S
IR16P	7,45 $\pm$ 3,14	S
IR14P	7,03 $\pm$ 1,45	S
IR52P	6,77 $\pm$ 3,93	S
IR123P <sup>++</sup>	5,97 $\pm$ 0,77	S
IR32P	5,58 $\pm$ 0,66	S
IR31P	5,27 $\pm$ 1,04	S
IR34P	4,63 $\pm$ 0,98	S
IR193P	1,46 $\pm$ 0,84	S
IR120P <sup>++</sup>	1,44 $\pm$ 0,43	S

<sup>+</sup>Muestras provenientes de arrozales de los estados Portuguesa, Cojedes y Carabobo (sufijos P, CO y C en

las accesiones, respectivamente); <sup>++</sup>: Áreas no arroceras. R: resistente, S: susceptible

**Cuadro 2.** Peso fresco como porcentaje del testigo sin tratar (media  $\pm$  SE) y condición de resistencia de accesiones de *I. rugosum* provenientes de arrozales del estado Guárico (sufijo G en las accesiones) en respuesta a dosis de 40 g·ha<sup>-1</sup> i.a. de bispiribac-sodio

Accesiones	Peso fresco (%)	Condición de resistencia
IR82G	134,12 $\pm$ 12,69	R
IR81G	129,78 $\pm$ 11,04	R
IR78G	118,87 $\pm$ 5,56	R
IR105G	112,28 $\pm$ 10,51	R
IR106G	109,16 $\pm$ 1,63	R
IR75G	105,36 $\pm$ 2,01	R
IR149(b)G	102,07 $\pm$ 6,56	R
IR109G	96,23 $\pm$ 8,02	R
IR83G	94,7 $\pm$ 7,51	R
IR90G	89,01 $\pm$ 6,15	R
IR111G	76,39b $\pm$ 4,04	R
IR64G	42,89 $\pm$ 7,71	R
IR149(a)G	22,88 $\pm$ 1,32	R
IR10G	11,03 $\pm$ 0,96	S
IR13G	10,33 $\pm$ 1,38	S
IR57G	9,89 $\pm$ 1,77	S
IR184G <sup>**</sup>	9,42 $\pm$ 0,50	S
IR12G	8,53 $\pm$ 0,75	S
IR152G	8,23 $\pm$ 0,74	S
IR7G	5,64 $\pm$ 0,35	S
IR66G	2,91 $\pm$ 0,57	S
IR143G <sup>**</sup>	0,60 $\pm$ 0,05	S
IR76G	0	S

<sup>\*\*</sup>: Áreas no arroceras. R: resistente, S: susceptible

#### Experimento sobre resistencia cruzada en accesiones de *I. rugosum* R a bispiribac-sodio:

Este experimento se realizó con las mismas accesiones R (IR75G, IR90G, IR82G, IR37P, IR44P, IR106G e IR44P) y el testigo S (IR143G) del experimento anterior (los sufijos P, CO, C y G en la denominación de las accesiones, corresponden a Portuguesa, Cojedes, Carabobo y Guárico, respectivamente). Se trataron plántulas de estas accesiones con los siguientes herbicidas a sus dosis comerciales (en g·ha<sup>-1</sup> i.a.) de bispiribac-sodio (40), piribenzoxim (60), nicosulfuron (30), imazapir+imazetapir (38,5+115,5), profoxidim (160), propanil (3360) y oxadiazón (998), aplicados sobre plantas en la etapa de tres a cuatro hojas, excepto para propanil y oxadiazón que se aplicaron en la etapa de dos a tres hojas y a las 24 horas después del trasplante, respectivamente.

Se contó con un tratamiento testigo sin herbicida, la aplicación se hizo de manera similar a lo descrito en el experimento exploratorio. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con cinco repeticiones. Tanto la aplicación del herbicida, las condiciones de crecimiento y la cosecha se realizaron como en los experimentos anteriores y los datos de peso fresco se expresaron como porcentaje de crecimiento respecto al promedio del testigo sin herbicida.

**Análisis estadístico:** Los datos del bioensayo de detección se presentan como promedios y su error estándar en los Cuadros 1 y 2. Los datos de respuesta a dosis provenientes de experimentos repetidos se juntaron para su análisis al no detectarse interacción ( $P > 0,05$ ) entre experimentos y tratamientos, y se sometieron al análisis de regresión ajustando modelos que describían adecuadamente las tendencias y minimizaban el cuadrado medio del error. A los datos de peso fresco de las accesiones IR37P, IR106G e IR143G se les ajustó un modelo de regresión no lineal log-logístico de cuatro parámetros  $Y = c + (d - c) / [1 + (x/ED_{50})^b]$ , mientras que para IR44P, IR75G, IR90G e IR82G se ajustó el modelo con tres parámetros  $Y = d / [1 + (x/ED_{50})^b]$ , donde Y es el porcentaje de crecimiento, c es la respuesta media cuando la dosis de herbicida tiende a valores muy elevados, d es la respuesta media cuando la dosis de herbicida tiende a cero, b es la pendiente de la curva,  $ED_{50}$  es la dosis de herbicida en el punto de inflexión y x es la dosis de herbicida (Streibig et al., 1993). A las accesiones IR75G e IR90G no se les pudo determinar su  $ED_{50}$  pues ésta correspondería a una dosis mayor que la dosis más alta ensayada y así quedaría ubicada fuera del ámbito de observaciones. El análisis de regresión se realizó utilizando el programa Sigma Plot v.11. Los datos del experimento sobre resistencia cruzada se sometieron a análisis de varianza y prueba de medias de Tukey. La distribución normal de los datos se verificó mediante la prueba de Shapiro-Wilk y diagramas de distribución de los errores permitieron inferir homogeneidad de varianzas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Bioensayo de detección:** De las 44 accesiones de *I. rugosum* recolectadas en el estado Portuguesa, 26 (59 %) mostraron pesos frescos muy superiores al 20 % de las plantas no tratadas, por lo que se

consideraron como R (Cuadro 1). De manera similar, 13 accesiones de Guárico (57 %) se consideraron R (Cuadro 2) y dos de las tres (67 %) de Cojedes fueron R (Cuadro 1). La accesión de Carabobo resultó susceptible (S) (Cuadro 1). A los 21 DDA, todas las plantas consideradas como R estaban en condiciones de completar su ciclo vital y producir semillas.

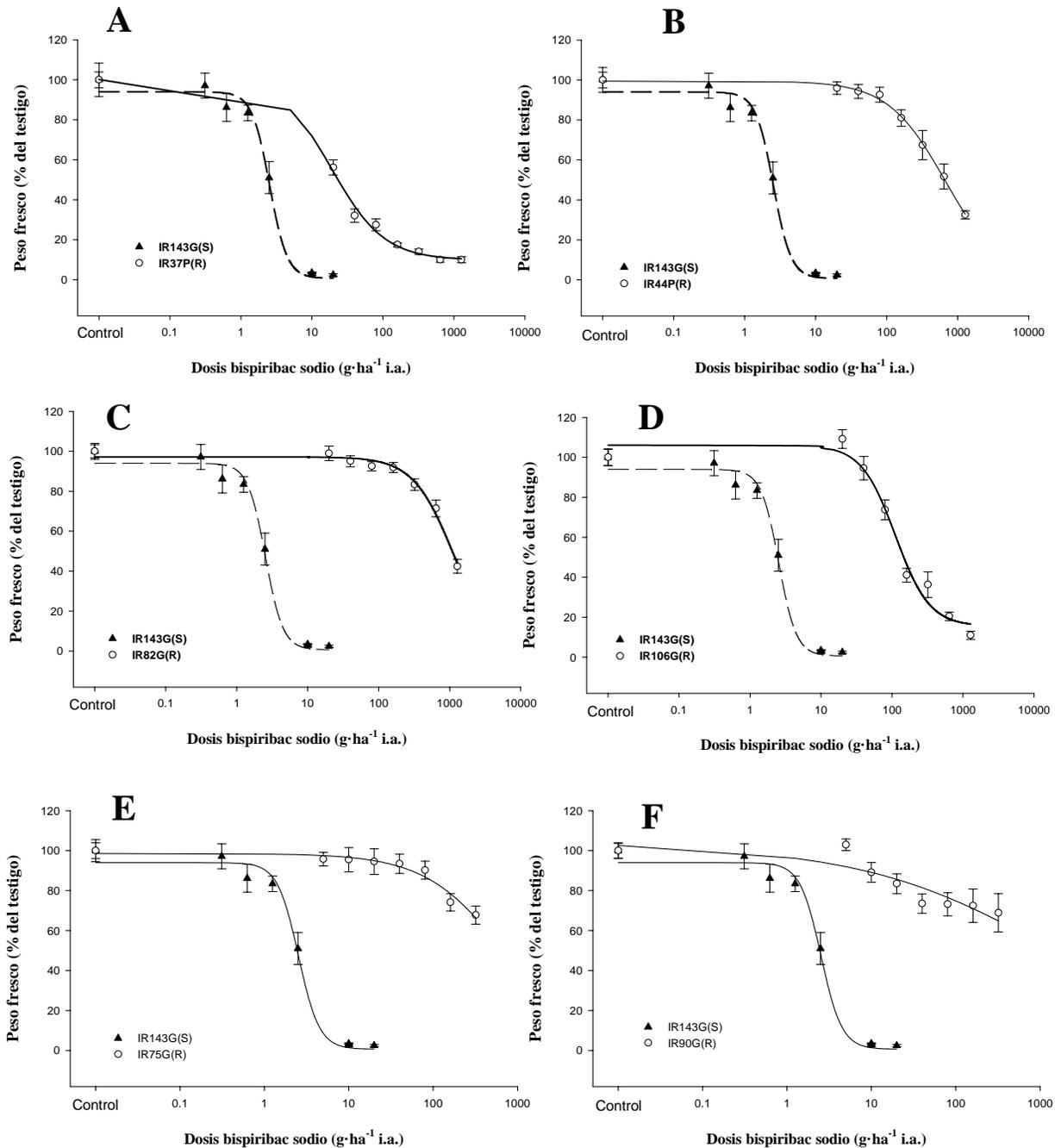
Hubo varios casos en que en una misma finca se encontraron accesiones R y S a bispiribac-sodio, lo cual refleja estados intermedios de selección poblacional por el uso repetido de bispiribac-sodio o de herbicidas con igual modo de acción o mecanismo de detoxificación durante más de doce años en esos predios. Tal es el caso de las accesiones IR192P(S) e IR193P(S) recolectadas en el estado Portuguesa (Cuadro 1) en un lote donde también se hallaron cinco accesiones R (IR1P; IR2P; IR41P, IR196 e IR190) (Cuadro 1), mientras que en otra finca se encontraron las accesiones IR110P(R) e IR200P(S). En el estado Guárico se halló a IR64G(R) e IR13G(S) en un mismo predio mientras que en otro estaban las accesiones resistentes IR82G, IR81G, IR78G, IR105G, IR106G e IR75G junto a la susceptible IR10G.

La resistencia a herbicidas resulta de un proceso evolutivo que involucra eventos de selección que causan mortalidad elevada como sucede cuando se aplican herbicidas sobre grandes poblaciones de malezas y algunos biotipos muy raros logran sobrevivir y reproducirse. Los biotipos resistentes propagan sus genes de resistencia y logran perpetuarse en los bancos de semillas del suelo. La rapidez de la evolución de la resistencia dependerá de la genética de la maleza, de su biología, de la eficacia del herbicida y de las técnicas de manejo de las malezas empleadas en el sistema de cultivo (Powles y Yu, 2010). Consistente con este concepto, las accesiones IR143G, IR145P, IR123P, IR120P e IR117C que se comportaron como S a bispiribac-sodio (Cuadros 1 y 2) provenían de áreas sin siembra de arroz donde no se había usado bispiribac-sodio.

**Experimento de respuesta a dosis:** La dosis de herbicida requerida para inhibir el 50 % del crecimiento ( $ED_{50}$ ) de *I. rugosum* en el experimento de respuesta a dosis en plantas completas y los parámetros de las ecuaciones

usados para estimar esta dosis se presentan en el Cuadro 3. Se comprobó que las accesiones IR37P e IR44P colectadas en Portuguesa, así como

IR82G, IR75G, IR90G e IR106G recolectadas en Guárico fueron resistentes al bispiribac-sodio (Figura 1).



**Figura 1.** Peso fresco de accesiones de *I. rugosum* como porcentaje del testigo susceptible IR143G, en respuesta a dosis crecientes de bispiribac-sodio. Las barras representan el error estándar ( $n = 10$ ). La dosis comercial de bispiribac-sodio fue  $40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ i.a.}$  Los parámetros de las regresiones ajustadas se presentan en el Cuadro 3

La relación de dosis para efecto medio ( $ED_{50}$ ) reveló que las accesiones IR37P; 106G; IR44P e IR82G mostraron claros niveles de resistencia con valores IR de 8; 44; 262,81 y 446,75 respectivamente, mientras que para IR75G e IR90G no fue posible estimar la

$ED_{50}$  dentro del rango de datos ( $>1280 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  i.a.) (Cuadro 3). Por otra parte, con una dosis de sólo  $5 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  i.a. se suprimió completamente el crecimiento de plantas de la accesión IR143G confirmando su susceptibilidad (Figura 1).

**Cuadro 3.** Parámetros de las ecuaciones de regresión utilizadas para estimar la dosis de bispiribac-sodio requerida para reducir al 50 % ( $ED_{50}$ ) la biomasa de plantas de *I. rugosum* susceptibles y resistentes a este herbicida, coeficientes de regresión e índices de resistencia

Accesión	Ecuación	Parámetros de regresión				$R^2$	P	IR
		b	c	d	$ED_{50}$ ( $\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ i.a.)			
IR143G(S)	$Y = c + [(d-c)/1 + (x/ED_{50})^b]$	-3,50 (1,75)	0,67 (6,95)	93,98 (5,70)	2,53 (0,34)	0,88	$P < 0,001$	
IR37P(R)	$Y = c + [(d-c)/[1 + (x/ED_{50})^b]]$	-1,17 (0,51)	9,87 (5,93)	100,15 (7,34)	19,35 (5,63)	0,86	$P < 0,001$	8
IR106G(R)	$Y = c + [(d-c)/[1 + (x/ED_{50})^b]]$	-1,80 (0,69)	15,55 (8,51)	106 (7,71)	111,83 (26,44)	0,82	$P < 0,001$	44
IR44P(R)	$Y = d/(1+(x/ED_{50})^b)$	2,48 (0,8)	-	99,45 (6,8)	664,9 (171,2)	0,70	$P < 0,001$	262,81
IR82G(R)	$Y = d/(1+(x/ED_{50})^b)$	3,51 (0,95)	-	97,16 (3,37)	1130,28 (164,87)	0,72	$P < 0,001$	446,75
IR75G(R)	$Y = d/(1+(x/ED_{50})^b)$	2,13 (1,57)	-	98,53 (6,91)	$>1280$	0,32	$P < 0,001$	No calculable
IR90G(R)	$Y = d/(1+(x/ED_{50})^b)$	0,89 (0,62)	-	102,63 (5,95)	$>1280$	0,24	$P < 0,001$	No calculable

Y es el peso fresco expresado como porcentaje sobre el testigo (no tratado), x es la dosis del herbicida ( $\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$  i.a.), c y d son los coeficientes correspondientes a la asíntota inferior y superior, b es la pendiente de la línea,  $ED_{50}$  es la dosis de herbicida que se requiere para reducir el 50 % del crecimiento (Streibig et al., 1993), valores entre paréntesis reflejan los límites del intervalo de confianza al 95 %,  $R^2$  es una estimación del coeficiente de determinación (Schabenberger et al., 1999), P es el nivel de significancia, e IR es el índice de resistencia ( $ED_{50} \text{ R}/ED_{50} \text{ S}$ ). Dado que las  $ED_{50}$  de las accesiones R IR75G e IR90G se encuentran fuera del rango de dosis estudiadas ( $> 1280 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  i.a.), el IR tiende a un valor muy elevado que no puede ser calculado.

**Cuadro 4.** Peso fresco como porcentaje del testigo sin tratar de accesiones de *I. rugosum* provenientes de arrozales de los estados Guárico y Portuguesa en respuesta a diferentes herbicidas

Accesión	Bispiribac-sodio	Piribenzoxim	Nicosulfuron	Imazapir-imazetapir	Profoxidim	Propanil	Oxadiazon
	$40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$60 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$30 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$157 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$160 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$3360 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$	$988 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$
IR75G	89,79 b R	89,99 a R	98,39 a R	91,34 b R	92,46 ab R	49,56 bc R	0 S
IR90G	82,47 b R	85,59 a R	63,54 b R	45,60 c R	110,41 a R	95,05 a R	0 S
IR82G	124,05 a R	89,14 a R	68,48 b R	113,26 a R	4,86 c S	32,82 cd R	0 S
IR44P	94,45 ab R	48,16 b R	60,54 b S	5,16 d S	85,13 ab R	8,47 d S	0 S
IR106G	111,61 ab R	0,31 c R	4,08 c S	3,49 d S	5,07 c S	68,82 ab R	0 S
IR37P	112,89 ab R	4,49 c S	4,55 c S	3,98 d S	75,70 b R	12,88 d S	0 S
IR143G	0,60 c S	0 c S	4,82 c S	4,86 d S	0 c S	1,74 d S	0 S

La letra mayúscula indica la condición de la accesión ante cada herbicida (R: resistente; S: Susceptible). Promedios en columnas con letras iguales no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

#### Experimento sobre resistencia cruzada en accesiones de *I. rugosum* R a bispiribac-sodio:

Se encontró que IR75G e IR90G presentaron resistencia a todos los herbicidas probados en este experimento, con excepción del oxadiazón, por lo que se infiere que a nivel poblacional existe resistencia cruzada involucrando a los otros herbicidas (Cuadro 4). También se pudo observar

en las accesiones IR75G, IR90G e IR82G resistencia cruzada a bispiribac-sodio, piribenzoxim (PTB), nicosulfuron (SU) e imazapir+imazetapir (IMI). Es importante resaltar que otras accesiones como IR44P e IR106G sólo fueron R a bispiribac-sodio y piribenzoxim, y que IR37P sólo lo fue a bispiribac-sodio (Cuadro 4), sugiriendo así que existieron varios eventos de

evolución de resistencia a inhibidores de ALS en *I. rugosum* en los arrozales de Venezuela reveladores de una diversidad en el uso de herbicidas en este cultivo. Igualmente se observaron varios patrones de resistencia en la respuesta a profoxidim y a propanil; por ejemplo, se encontró que IR75G e IR90G son R a profoxidim y propanil, IR44P e IR37P son R a profoxidim pero S a propanil, mientras que IR106G e IR82G son R a propanil y S a profoxidim (Cuadro 4), lo que confirma que las malezas evolucionan como R en función del manejo que les da el agricultor. Todas las accesiones R a cualquiera de los herbicidas evaluados en este estudio fueron susceptibles a oxadiazón, por lo que este herbicida representa una opción de manejo para la resistencia de *I. rugosum* a herbicidas en Venezuela (Cuadro 4).

El Cuadro 4 muestra accesiones con resistencia a múltiples herbicidas. No obstante, no se podría especular sobre el o los mecanismos de resistencia actuantes. Al trabajar con accesiones potencial y genéticamente heterogéneas y no con líneas puras, no se conoce si la resistencia a varios herbicidas surge de la mezcla de individuos con diferentes resistencias dentro de una misma población o si, a nivel individual, las plantas son resistentes a varios herbicidas. Tampoco si esto involucra un mismo gen (resistencia cruzada) o diferentes genes o procesos de selección (resistencia múltiple) (Hall et al., 1994).

Es posible que el uso repetido de herbicidas con el mismo mecanismo de acción (inhibidores de la ALS) pudiese haber seleccionado biotipos resistentes con mutaciones capaces de conferir resistencia cruzada a los herbicidas involucrados, tal como se discutió en la introducción de este trabajo. Por ejemplo, se mencionan tres mutaciones puntuales en el gen que codifica la ALS que podrían provocar resistencia a PTB, SU, e IMI tal como ocurre con IR75G, IR90G e IR82G (Sibony et al., 2001; Ashigh et al., 2009; Uchino et al., 2007).

Por otra parte, los altos índices de resistencia a bispiribac-sodio observados en las accesiones IR75G, IR82G, IR90 e IR44P (Cuadro 3; Figura 1) podrían sugerir mecanismos de resistencia por alteración en el sitio de acople del herbicida a la ALS (Valverde et al., 2000). No es descartable que la resistencia ajena al sitio de acción también pudiera estar involucrada, particularmente en

casos de resistencia a herbicidas con diferente sitio de acción ya que muchos herbicidas inhibidores de la ALS son susceptibles a resistencia metabólica por detoxificación a través de actividad P<sub>450</sub> (Yuan et al., 2007). Isoenzimas P<sub>450</sub> pueden también estar involucradas en la resistencia a propanil (Caseley et al., 1996). Es así que incluso fincas con manejos de cultivo contrastantes pueden presentar biotipos que comparten resistencias a herbicidas con los mismos y/o diferentes mecanismos de acción. Otro mecanismo de resistencia ajeno al sitio de acción que podría estar presente en aquellas accesiones R a propanil sería el conferido por un incremento en la actividad de la enzima aril acilamidasa (Leah et al., 1994; Hirase y Hoagland, 2006).

Como ejemplo de especies con resistencia múltiple se pueden citar algunos biotipos de *E. phyllopogon* en campos de California mantenidos bajo monocultivo de arroz por más de 70 años. Estos biotipos exhiben una resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de la ALS (bispiribac-sodio, penoxsulam y ortosulfamuron) e inhibidores de la biosíntesis de carotenoides (clomazone) (Fischer et al., 2000; Fischer et al., 2009) y auxínicos (quinclorac) (Yasuor et al., 2012). Las resistencias encontradas involucran mayormente mecanismos ajenos al sitio de acción, como son una elevada desintoxicación mediatizada por la actividad P<sub>450</sub> (Yun et al. 2005), bajas tasas de absorción foliar (Bakkali et al., 2007, y desintoxicación del cianuro producido en respuesta a quinclorac (Yasuor et al., 2012).

La susceptibilidad a oxadiazón que exhibieron los biotipos resistentes es consistente con su amplio espectro y selectividad marginal, lo cual sugiere que los mecanismos de resistencia metabólica en plantas no serían demasiado frecuentes o efectivos con este herbicida. Por otra parte, se han detectado muy pocos casos de resistencia de sitio de acción a herbicidas de este grupo (Heap 2012).

La resistencia detectada es un ejemplo de la plasticidad fisiológica evolutiva de ciertas malezas y enfatiza que diversificar el espectro de herbicidas en un sistema de monocultivo que sólo depende de herbicidas para el control de malezas es una práctica que suele conducir a la evolución de resistencias a múltiples herbicidas (Fischer y Valverde, 2010b). En particular, cuando el

mecanismo de resistencia sea ajeno al sitio de acción, el cambio o mezcla de herbicidas con diferentes mecanismos de acción (Gressel y Segel, 1990) no siempre es un criterio correcto para mitigar la evolución de resistencia. Esto se debe a que al no estar disponible una clasificación de los herbicidas según su ruta de degradación o mecanismo de inmovilización se puede estar cambiando de herbicida pero seguir ejerciendo presión de selección por resistencia ajena al sitio de acción.

La prevención o retraso de la evolución de resistencia se basa en reducir la presión de selección ejercida por el uso repetido de ciertos herbicidas, por lo cual se hace necesario combinar técnicas de manejo de malezas para controlar los biotipos resistentes y proteger así la vida útil de herbicidas útiles (Fischer y Valverde, 2010a). La integración de prácticas tales como la rotación de cultivos, que causan cambios de la flora de malezas, el uso de otros herbicidas con diferentes mecanismos de acción, la implementación de prácticas de control cultural en sistemas alternativos de implantación de arroz, el uso genotipos de cultivos competitivos y las quemadas químicas en falsa siembra son técnicas que han dado resultados positivos en el manejo de la resistencia a múltiples herbicidas en malezas, incluyendo las del arroz (Fischer y Valverde, 2010b; HRAC, 2011; Pittelkow et al., 2012). La resistencia a múltiples herbicidas en una población de malezas es poco predecible y complica mucho la elección de nuevos herbicidas a emplearse. Por esto, representa una seria amenaza a la sustentabilidad del control químico y del sistema productivo en cuestión.

### CONCLUSIONES

Más de la mitad del total de las accesiones recolectadas en campos de arroz de los estados productores de Venezuela muestran resistencia al bispiribac-sodio.

Consistente con el concepto de evolución de la resistencia, las accesiones IR143G, IR145P, IR123P, IR120P e IR117C, que provenían de áreas donde no se había usado bispiribac-sodio, se comportaron como susceptibles al herbicida. Por el contrario, en otros sitios se hallaron estados intermedios de selección poblacional debido al uso repetido durante años del herbicida, lo cual se

reflejó por el hecho de que en un mismo predio había tanto accesiones resistentes como susceptibles.

Entre las accesiones resistentes, las IR75G, IR90G, IR37P, IR44P, IR82G e IR106G mostraron respuesta variable a otros herbicidas. Sin embargo, estas seis accesiones resultaron susceptibles a oxadiazón, lo cual indica que existe una opción de manejo de malezas resistente en los campos de arroz afectados por estos biotipos de *I. rugosum*.

### LITERATURA CITADA

1. Ashigh J., C. L. Corbett, P. J. Smith, J. Laplante y F.J. Tariff. 2009. Characterization and diagnostic tests of resistance to acetohydroxyacid synthase inhibitors due to an Asp376Glu substitution in *Amaranthus powellii*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95:38-46
2. Baki B. 2000. Group D/22 resistant saramolla (*Ischameum rugosum*). <http://www.weedscience.org/details/case.aspx?resistID=139> (consulta del 9/8/2013).
3. Bakkali Y., J. P. Ruiz-Santaella, M. D. Osuna, J. Wagner, A. J. Fischer y R. De Prado. 2007. Late Watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): Mechanisms Involved in the Resistance to Fenoxaprop-*p*-ethyl. *J. Agric. Food Chem.* 55 (10):4052–4058.
4. Cásares, M. 2012. Diagnóstico sobre la situación del manejo de malezas y la resistencia a herbicidas en el cultivo de arroz en Venezuela. Trabajo de ascenso. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 146 p.
5. Cásares, M. y A. Ortiz, 2009. Evolución en el uso de herbicidas pre y post emergentes en control de malezas en arroz en Venezuela: (1996-2000-2007). In: E. Sousa, I. Calha, I. Monteiro. L. Rodrigues. J. Portugal y T. Vasconcelos (eds.). *Herbología y Biodiversidades Numa Agricultura Sustentável. XIX Congreso de Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM)*. Lisboa. Volumen 2. pp. 691-694.
6. Caseley J.C., J. M. Leah, C.R. Riches, B.E. Valverde. 1996. Combating propanil resistance

- in *Echinochloa colona* with synergists that inhibit acylamidase and oxygenases, Second International Weed Control Congress, Department of Weed Control and Pesticide Ecology, Copenhagen, Denmark. pp. 455-460.
7. Caton, B.P., M. Mortimer y J.E. Hill. 2004. A Practical Field Guide to Weeds of Rice in Asia. International Rice Research Institute. Los Baños. Philippines. 61 p.
  8. Durner, J., V. Gailus y P. Boger. 1990. New aspects on inhibition of plant acetolactate synthase by chlorsulfuron and imazaquin. *Plant Physiol.* 95:1144-1149.
  9. Fischer, A. J. y B. E. Valverde. 2010a. Estrategias de prevención, detección y manejo de la resistencia a herbicidas con énfasis en el cultivo de arroz. *In: J. A. Domínguez-Valenzuela y J. L. Medina-Pitalúa* (eds.). Resistencia de Plantas a herbicidas. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. pp. 78-104.
  10. Fischer, A.J. y B.V. Valverde. 2010b. Resistencia a herbicidas en malezas asociadas con arroz. *In: V. Degiovanny, C.P. Martínez y F. Motta* (eds.). Producción Eco-eficiente del Arroz en América Latina, Tomo I. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. pp. 447-487.
  11. Fischer A. J., C. M. Ateh, D. E. Bayer y J. E. Hill. 2000. Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllopogon* in California *Oryza sativa* fields. *Weed Sci.* 48:225
  12. Fischer A.J., D. Pavlovic, H. Yasuor y A. Merotto Jr. 2009. ¿Se relaciona la evolución de los mecanismos multifactoriales de resistencia a herbicidas con la tolerancia al estrés? *In: N. Espinoza* (ed.). Seminario Internacional de Diagnóstico y Manejo de la Resistencia a Herbicidas. Serie de Actas INIA N° 44. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Carillanca. Temuco, Chile. pp. 71-79.
  13. Gámez, A., C. Zambrano y C. Ramis. 2013. Caracterización metabólica y enzimática de la resistencia al herbicida nicosulfuron en biotipos de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton. *Bioagro* 25(1): 3-10.
  14. Gressel J. y L.A. Segel. 1990. Modelling the effectiveness of herbicide rotations and mixtures as strategies to delay or preclude resistance. *Weed Technol.* 4:186-198.
  15. Hall, L.; J.A. Holtum y S.B. Powles. 1994. Mechanisms responsible for cross-resistance and multiple resistance. *In: S.B. Powles y J.A. Holtum* (eds.). *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*. Lewis, Boca Raton, FL. pp. 243-261.
  16. Heap, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 2012. <http://www.weedscience.com>. (consulta del 9/8/2013).
  17. HRAC (Herbicide Resistance Action Committee). 2011. Guideline to the Management of Herbicide Resistance. <http://www.hracglobal.com/publications/managementofherbiceresistance/tabid/225/default>. (consulta del 9/8/2013).
  18. Hirase K. y R. E. Hoagland. 2006. Characterization of aryl acylamidase activity from propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* [L.] Beauv.). *Weed Biology and Management* 6, 197-203.
  19. Kassen, F. 2009. El arroz en Venezuela. 1er Foro Arrocero Venezuela. Federación Venezolana de Asociaciones de Productores de Arroz, Fevearroz. Acarigua, Venezuela. 34 p.
  20. Leah JM, JC Caseley, RE Riches, BE Valverde. 1994. Association between elevated activity of aryl acylamidase and propanil resistance in jungle-rice, *Echinochloa colona*. *Pest Sci.* 42:281-289.
  21. Lubigan, R.T. y K. Moody. 1990. *Ischaemum rugosum*- some aspects of growth, competitiveness, and control. International Research Rice International. Los Baños, Philippines. 29 p.
  22. Marengo R. A. y A. C.S. Reis. 1998. Shading as an environmental factor affecting the growth of *Ischaemum rugosum*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 10(2): 107-112
  23. Medina. B. 2012. Evaluación de la resistencia de *Ischaemum rugosum* Salisb. al herbicida propanil utilizado en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) en Venezuela. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad central de Venezuela. 36 p.
  24. Moreno, J. 2010. Evaluación del índice de resistencia de poblaciones de *Ischaemum rugosum* Salisb., al herbicida profoxidim,

- recolectadas en arrozales del estado Portuguesa. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 44 p.
25. Ortiz, A. 2008. Herbicidas usados en el cultivo de arroz en Venezuela. El Malezologo. Boletín de la Sociedad Venezolana para el Combate de Malezas (SOVECOM). pp. 17-19
  26. 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.
  27. Pittelkow C.M., A.J. Fischer, M.J. Moechnig, J.E. Hill, K.B. Koffler, R.G. Mutters, C.A. Greer, Y.S. Cho, C. Van Kessel, B.A. Linquist. 2012. Agronomic productivity and nitrogen requirements of alternative tillage and crop establishment systems for improved weed control in direct-seeded rice. Field Crops Research 130: 128-137.
  28. Powles S. B. y Q. Yu. 2010. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. Annu. Rev. Plant Biol. 61: 317-347.
  29. Saari, L. L., J. C. Cotterman y D. C. Thill. 1994. Resistance to acetolactato synthase inhibiting herbicides. In: S. B. Powles y J.A. Holtum (eds.). Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry. Lewis Pub. Chelsea, Michigan. pp. 83-139.
  30. Schabenberger O., B.E. Tharp, J.J. Kells y D. Penner. 1999. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. Agron. J. 91:713-721.
  31. Sibony, M., A. Michel, H.U. Haas, B. Rubin y K. Hurle. 2001. Sulfometuron-resistant *Amaranthus retroflexus* : cross-resistance and molecular basis for resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. Weed Research 41 (6) :509-522
  32. Streibig, J., M. Rudemo y J. Jensen. 1993. Dose-response curves and statistical models. In: J.C. Streibig y P. Kudsk (eds.). Herbicide Bioassays. CRC, Boca Raton, FL. pp. 29-55.
  33. Tranel P.J. y T.R. Wright. 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? Weed Science 50:700-712.
  34. Yuan J.S., P.T. Tranel y C.N. Stewart Jr. 2007. Non-target-site herbicide resistance: a family business. Trends in Plant Science 12:7-13.
  35. Uchino A, S. Ogata, H. Kohara, S. Yoshida, T. Yoshioka y H. Watanabe. 2007. Molecular basis of diverse responses to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in sulfonyleurea-resistant biotypes of *Schoenoplectus juncoideus*. Weed Biology and Management 7: 89-96
  36. Valverde, B. 2007. Status and Management of Grass-Weed Herbicide Resistance in Latin America. Weed Technology 21: 310-323.
  37. Valverde, B.E., C.R. Riches y J.C. Caseley. 2000. Prevention and management of herbicide resistant weeds in rice: experiences from Central America with *Echinochloa colona*. Cámara de Insumos Agropecuarios, San José. 123 p.
  38. Yasuor, H., M. Milan, J.W. Eckert y A.J. Fischer. 2012. Quinclorac resistance: a concerted hormonal and enzymatic effort in *Echinochloa phyllopogon*. Pest Management Science 68(1): 108-115.
  39. Yun M.S., Y. Yogo, R. Miura, Y. Yamasue y 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.
  40. Zambrano, C. y H. Espinoza. 2005. Evaluación de la resistencia de biotipos de *Ischaemum rugosum* Salisb., al herbicida bispiribac sodio provenientes de campos arroceros de los estados Portuguesa y Guárico. Anales de Botánica Agrícola 12: 5-12.