

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**SUSCEPTIBILIDAD DE *Lolium multiflorum* Lam. A APLICACIONES DE
GLIFOSATO EN RASTROJOS DE CULTIVOS DE VERANO**

por

**Eduardo Andrés DELLA VALLE VIVO
Juan Francisco FERRARI GALLOTI**

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2011**

Tesis aprobada por:

Director: _____

Dra. Ing. Agr. Amalia Ríos

Dra. Ing. Agr. Grisel Fernández

Dra. Ing. Agr. Juana Villalba

Ing. Agr. Daniel Bayce

Fecha: _____

Autor: _____

Eduardo Andrés Della Valle Vivo

Juan Francisco Ferrari Galloti

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal de Inia La Estanzuela, en especial a Mauricio Cabrera, Alejandra Díaz y Ana Laura Silveira por haber colaborado con esta tesis, estando siempre a disposición.

A la Dra. Ing. Agr. Amalia Ríos por habernos dado la posibilidad de realizar esta tesis bajo su tutoría.

A los productores que nos permitieron la instalación de los experimentos en sus predios.

A nuestras compañeras María José Aristegui, Magdalena Gómez y Lorena Frondoy por el apoyo brindado.

A Jimena Leone por su ayuda en la traducción, a Amalia Belgeri por la ayuda brindada.

En especial a nuestros padres, hermanos, familiares, amigos y novias, Valentina y Cecilia, por el apoyo incondicional en todos estos años, a lo largo de la carrera y de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCION</u>	1
2. <u>REVISION BIBLIOGRAFICA</u>	2
2.1. LA TECNOLOGIA DE LA SIEMBRA DIRECTA.....	2
2.1.1. <u>La siembra directa en el Uruguay</u>	2
2.1.2. <u>El glifosato como componente tecnológico en la siembra directa</u>	6
2.1.2.1. Generalidades.....	6
2.1.2.2. Modo de acción.....	8
2.1.2.3. Absorción.....	8
2.1.2.4. Residualidad.....	9
2.1.2.5. Adyuvantes.....	9
2.2. TOLERANCIA Y RESISTENCIA DE MALEZAS A HERBICIDAS.....	10
2.2.1. <u>La resistencia a herbicidas</u>	12
2.2.2. <u>Mecanismos de resistencia</u>	13
2.2.3. <u>Factores que determinan la tasa de evolución de la resistencia</u>	16
2.2.4. <u>Diagnostico de malezas resistentes a herbicidas</u>	21
2.2.5. <u>Resistencia al glifosato</u>	22
2.2.6. <u>Prevención y manejo de la resistencia</u>	27
2.3. GENERALIDADES DE LA ESPECIE <i>Lolium multiflorum</i> Lam.....	29
2.4. RESISTENCIA DEL RAIGRAS AL GLIFOSATO.....	30
2.4.1. <u>Mecanismos de resistencia en raigrás</u>	30
2.4.2. <u>Diferencias entre biotipos resistentes y susceptibles al glifosato</u>	30
2.4.3. <u>Manejo del raigrás resistente al glifosato</u>	35
3. <u>MATERIALES Y METODOS</u>	37
3.1. LOCALIZACIÓN.....	37
3.2. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	41
3.3. METODOLOGIA.....	41
3.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.....	42
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	43
4.1. RESULTADO DE CONTROL POR SITIO.....	45
4.1.1. <u>Evaluación realizada a los 10 días post aplicación</u>	45
4.1.2. <u>Evaluación realizada a los 20 días post aplicación</u>	46

4.1.3. <u>Evaluación realizada a los 30 días post aplicación</u>	47
4.2. <u>CONTROLES COMPARATIVOS ENTRE CHACRAS</u>	49
4.2.1. <u>Evaluaciones a los 10 días post aplicación</u>	50
4.2.2. <u>Evaluaciones a los 20 días post aplicación</u>	53
4.2.3. <u>Evaluaciones a los 30 días post aplicación</u>	58
5. <u>CONCLUSIONES</u>	64
6. <u>RESUMEN</u>	66
7. <u>SUMMARY</u>	68
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	70

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Principales factores que afectan a la evolución de la resistencia de malezas.....	17
2. Manejos Agronómicos y nivel de riesgo de aparición de resistencia asociado.....	21
3. Especies resistentes al grupo de las Glicinas.....	22
4. Fases fenológicas de biotipos de raigrás con distinta sensibilidad al herbicida glifosato considerándose el número de días después de la emergencia (DDE), inicio de la antesis, inicio de la maduración de las espiguillas e inicio de la senescencia.....	31
5. Control provocado por dosis crecientes de glifosato y dos herbicidas glufosinato, haloxyfop-r, dclofop y paraquat, aplicados sobre un biotipo de raigrás (<i>Lolium multiflorum</i>) resistente y uno sensible.....	35
6. Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 1).....	38
7. Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 2).....	38
8. Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 3).....	39
9. Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 4).....	39
10.Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 5).....	40
11.Fecha de aplicación y dosis de glifosato (sitio 6).....	41
12.Condiciones ambientales al momento de aplicación.....	42
13.Biomasa aérea, radical, total y relación parte aérea:parte radical del raigrás en los diferentes sitios en el momento previo a la aplicación.....	43

14. Resultados de la evaluación a los 10 días después de la aplicación.....	45
15. Resultados de la evaluación a los 20 días después de la aplicación.....	47
16. Resultados de la evaluación a los 30 días después de la aplicación.....	48

Figura No.

1. Evolución del número de biotipos de malezas resistentes a herbicidas según su modo de acción.....	12
2. Localización de los sitios donde se instalaron los experimentos.....	37
3. Estado del raigrás al momento de la aplicación en los correspondientes sitios.....	44
4. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	50
5. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	51
6. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	51
7. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	52
8. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	52
9. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	53
10. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 10 días post aplicación.....	53

11. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	54
12. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	55
13. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	55
14. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	56
15. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	56
16. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	57
17. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 20 días post aplicación.....	57
18. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	58
19. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	59
20. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	59
21. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	60
22. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	60
23. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	61

24. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha ⁻¹ , a los 30 días post aplicación.....	61
---	----

1. INTRODUCCIÓN

El área agrícola en Uruguay ha ido aumentando de la mano de la tecnología de la siembra directa, permitiendo colonizar zonas que antes eran pastoriles, levantando diferentes restricciones, ya sean topográficas, como escasa profundidad del perfil entre otras. Esta tecnología trae aparejado la dependencia del glifosato como sustituto del laboreo.

El proceso de intensificación agrícola, además está asociado a la siembra de soja resistente al glifosato. Tiene como consecuencia: en el corto plazo, la inversión de la flora, con predominio entre las invernales a las especies gramíneas como *Lolium multiflorum*, a lo que se le debería sumar en el largo plazo, el riesgo de ocurrencia de resistencia de malezas (Rios, 2005).

Las aplicaciones de glifosato para el mantenimiento de los barbechos limpios y su uso en cultivos transgénicos, ya sean invernales o estivales, aumentan el riesgo de resistencia.

El glifosato es el herbicida de mayor uso en la agricultura, determinado por varias aplicaciones en el año y durante años sucesivos. En el Uruguay, es el herbicida con el cual se está ejerciendo la mayor presión de selección dadas las áreas de aplicación y su frecuencia de uso. En Brasil, Chile y Argentina en sistemas de producción similares a los de Uruguay se ha constatado casos de resistencia de *L. multiflorum*, 2003, 2001 y 2007 respectivamente.

La ocurrencia de resistencia dependerá de cómo se aplique la tecnología de la siembra directa, la eficiencia de control, de la frecuencia y dosis utilizadas del herbicida y de las características biológicas de las comunidades de malezas presentes en las chacras.

Las especies que sobrevivan en estas situaciones dependerán del momento en que se realicen las aplicaciones de glifosato ya que pueden ocurrir emergencias posteriores a las aplicaciones. Además de las dosis utilizadas, ya que el uso de dosis sub letales produce presión de selección, teniendo como consecuencia la supervivencia de especies tolerantes al glifosato, las cuales producirán semillas que aumentaran su frecuencia.

Considerando estos antecedentes en la región y que en Uruguay existen establecimientos donde la tecnología de siembra directa ya supera los 15 años, en este trabajo se evalúa la susceptibilidad al glifosato de distintas poblaciones de *Lolium multiflorum*.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 LA TECNOLOGIA DE LA SIEMBRA DIRECTA

La tecnología de la siembra directa revolucionó la forma de realizar agricultura en el mundo. Su crecimiento en la región ha sido de gran importancia y velocidad, permitiendo extender el área hacia suelos nunca cultivados, lo cual es de gran relevancia ya que se trata de la región con mayor significación mundial en la producción de granos.

Según el Conservation Technology Information Center de los EEUU (CTIC, 1992), "No-Tillage", o sea Siembra Directa o Plantio Direto, es el sistema de siembra donde la preparación del suelo y el control de la vegetación se realizan con un mínimo disturbio, ubicando las semillas en una muy angosta cama de siembra o surco, dependiendo del uso de herbicidas para el control de las malezas; dejando el suelo intacto desde la cosecha hasta una nueva siembra (García Préchac, 1998), generándose una cobertura con los residuos de los cultivos anteriores.

Los elementos tecnológicos que caracterizan a la siembra directa son las máquinas de siembra directa, y el barbecho químico mediante el uso de herbicidas en particular herbicidas totales como glifosato. El conjunto de estos componentes manejados adecuadamente, permiten la correcta preparación de la cama de siembra (Ernst, 1999), sustituyendo de esta forma a los laboreos.

2.1.1 La siembra directa en Uruguay

En el Uruguay la siembra directa comenzó su expansión a inicios de la década del 90, dadas las ventajas que presenta esta tecnología, se encuentra en la actualidad ampliamente difundida en todo el territorio. La zona pionera en adoptar esta tecnología fue la región del litoral agrícola del país. Los productores de esta región fundaron en 1991 la Asociación Uruguaya Pro Siembra Directa (AUSID), con el objetivo de promover, desarrollar y difundir esta tecnología.

En la zafra 2010/2011 el área fue de 492.000 hectáreas para los cultivos de invierno, representando más del 90% el área sembrada con esta modalidad y en la zafra 2009/2010 fue de 1.004.505 hectáreas para los cultivos de verano lo que representa el 96,86% del total del área de cultivos de verano (URUGUAY. MGAP. DIEA, 2010).

La introducción de esta tecnología trajo aparejado cambios en las prácticas de manejo del suelo, en especial en la preparación de la sementera,

siendo en esta etapa donde se dan las mayores diferencias con el sistema de siembra convencional.

La eliminación del laboreo determina la necesidad de generar un paquete de medidas de manejo, como el uso de herbicidas utilizados para realizar barbechos químicos, sustituyendo el laboreo convencional (Ernst, 1999).

En el año 2000 expertos malherbólogos del INIA España visitaron la zona de Mercedes y destacaron que se cultivaba un gran número de hectáreas bajo el "Sistema de Siembra Directa", lo que lleva a un elevado uso de glifosato. Este problema se vio acrecentado cuando en esas chacras se comenzó a utilizar soja transgénica resistente al glifosato las cuales se las sometía a 2 o 3 tratamientos al año. En esa situación señalaron que la inversión de flora sería un problema a corto plazo, y a mediano plazo el riesgo de aparición de ecotipos de malezas resistente a este herbicida (Rios, 2005).

La inversión de flora producida por el uso de esta tecnología consiste en un cambio en la composición de la flora de un campo el cual es sometido al control de malezas. Un ejemplo es el incremento de malezas gramíneas que se produce en un cultivo de cereal de invierno si se abusa del empleo de herbicidas hormonales que controla únicamente especies dicotiledóneas (Chueca, citado por Taberner et al., 2007).

Otro factor que deriva en un cambio en la composición de la comunidad de malezas es la acumulación de restos vegetales en la superficie del suelo en sistemas de siembra directa, en este sentido Tuesca y Puricelli (2001) hacen referencia a que esto genera alteraciones en los factores ambientales y cambios en el comportamiento de los herbicidas aplicados al suelo.

Los restos que quedan en superficie alteran el tipo de radiación que llega al suelo reduciendo la temperatura en superficie y a su vez atenuando la amplitud de las mismas entre el día y la noche. El contenido de materia orgánica en superficie aumenta, producto de la degradación de los residuos por parte de los microorganismos del suelo. Tuesca y Puricelli (2001) afirman que la falta de disturbio periódico del suelo puede provocar compactación superficial debido al aumento de la densidad global y a la reducción del espacio poroso por disminución del volumen de macroporos en los primeros centímetros del suelo.

Consecuentemente aumenta la frecuencia de las especies que mejor se adaptan a esas condiciones, al mismo tiempo que se reduce la diversidad, frecuencia y densidad de especies que no lo hagan.

En este sentido Tuesca y Puricelli (2001) afirman que la menor presencia de latifoliadas anuales en siembra directa sería atribuible a la menor temperatura y a menores amplitudes térmicas en la superficie del suelo que ocurren en sistemas sin remoción de suelo. Además los residuos en superficie alteran el tipo de radiación que llega al suelo condicionando la germinación de muchas malezas latifoliadas fotoblásticas positivas.

En contrapartida las gramíneas anuales son, en general, favorecidas por los sistemas conservacionistas en comparación a sistemas con alto disturbio del suelo.

Las gramíneas anuales como el raigrás presentan radículas finas y flexibles que penetran más fácilmente en el suelo, a diferencia de las que caracterizan a muchas especies de malezas latifoliadas que son más gruesas y rígidas lo cual les dificulta arraigarse (Rios, 2006).

Estas características llevan a un aumento en la frecuencia, densidad y biomasa de gramíneas como el raigrás dadas sus características morfológicas y ecofisiológicas que conllevan a su predominio en los sistemas de siembra directa, ya sean en la etapa cultivos como pasturas, en definitiva respuestas adaptativas al ambiente que han determinado la persistencia de esta espontánea invernal en los campos naturales. En consecuencia, en sistemas de siembra directa, es dable esperar que en respuesta a los cambios en las prácticas agronómicas sea mayor la incidencia de gramíneas anuales (Rios, 2005).

Además de la caracterización de la evolución de las comunidades florísticas descritos anteriormente la adopción de la tecnología de la siembra directa presenta ventajas y desventajas, las cuales reseñó Garcia Préchac (1998):

Ventajas de la siembra directa:

- Control de la erosión y reducción de la degradación del suelo: el mantenimiento de la cobertura del suelo mediante rastrojos disminuye el escurrimiento superficial, principal responsable de la pérdida de las fracciones más fértiles del suelo. El no laboreo del suelo evita la oxidación de la materia orgánica manteniendo así las propiedades físicoquímicas del mismo.
- Mayor contenido de agua en el suelo: al disminuir el escurrimiento superficial aumenta la infiltración y al reducirse las pérdidas por

evaporación debido a la presencia de rastros en superficie ocurre una mayor conservación del agua.

- Mayor cantidad de días aptos para realizar tareas: el hecho de no remover la superficie del suelo genera un mejor “piso”, lo que da mayor oportunidad de siembras, cosechas o pastoreos.
- Menor cantidad de energía requerida: existe un menor consumo de combustibles asociado al menor número de pasadas al dejar de realizar el laboreo primario y secundario. Además se utiliza menor mano de obra. Dejan de ser necesarias las máquinas de laboreo y se pasa a requerir mucho menos potencia para impulsar las que se usan en siembra directa.
- Mantenimiento y promoción del equilibrio de la flora microbiana y fauna del suelo: la ausencia de disturbios en el suelo fomenta la estabilización de la actividad biológica.
- Expansión de la frontera agrícola: pasa a ser apta la siembra en zonas donde antes por problemas de erosión, drenaje o profundidad del perfil no era posible la instalación de cultivos.

Desventajas de la siembra directa:

- Dependencia del uso de herbicidas: la necesidad de utilización de agroquímicos como único medio para el control de la vegetación, con un único principio activo, genera una mayor presión de selección sobre las poblaciones de malezas. Dichos procesos pueden generar cambios en la flora y eventual aparición de resistencia, lo que implica un riesgo para la sostenibilidad de la tecnología.
- Menor velocidad de aporte de nitrógeno: el no laboreo del suelo disminuye el aporte de oxígeno lo que limita la actividad microbiana y por tanto la mineralización. Esto significa que no ocurre una inmediata liberación del nitrógeno disponible, sin embargo esta limitante se levanta con el tiempo de barbecho, durante el cual finaliza la inmovilización del nutriente y comienza su liberación a través de la mineralización.
- Menor temperatura del suelo: la mayor cantidad de agua y la menor radiación neta que llega al suelo a través de los rastros generan menor temperatura del mismo. Dicha limitante se ha solucionado modificando la

fecha de siembra, sobre todo para los cultivos más sensibles, sembrando según un umbral de temperatura específico.

- Compactación superficial: el laboreo genera, en el corto plazo, una descompactación superficial que prepara la cama de siembra, mientras que en el largo plazo la degradación del suelo ya mencionada genera una compactación subsuperficial. Al pasar a la siembra directa se heredan estos problemas, el tránsito de maquinaria y el pisoteo agravan la situación (Ernst, 1999). Sin embargo este problema puede resolverse con un adecuado tiempo de barbecho.
- Mayor probabilidad de ocurrencia de enfermedades y plagas: la presencia de rastrojos favorece la permanencia de patógenos que se alimentan de los mismos (necrotrofos). Al tratarse de un sistema más estable también se favorecen las poblaciones de insectos residentes.

De acuerdo a lo descrito por Garcia Préchac (1998) y reafirmando dichos conceptos, se puede concluir a modo de balance general que los resultados de la siembra directa son positivos ya que tiene grandes ventajas como la ampliación de la zona agrícola, debiéndose atender cada situación, considerando sus limitantes y realizando un manejo adecuado de los agroquímicos, utilizándolos en forma responsable evitando el uso reiterado de un mismo principio activo, para evitar la aparición de resistencia. Si bien existen limitantes, el manejo permite considerarlas, como por ejemplo, limitantes térmicas, se revierten adecuando las fechas de siembra.

2.1.2 El glifosato como componente tecnológico en la siembra directa

2.1.2.1 Generalidades

El Glifosato fue formulado por el Dr Henri Martin en 1950, que trabajaba para una pequeña compañía farmacéutica Cliag. En 1959 Cliag fue adquirida por Johnson & Johnson que vendió sus muestras de investigaciones, incluido el glifosato, para Aldrich Chemical. Monsanto desarrollo un programa específico para formular un herbicida sistémico, con control de plantas perennes, fue entonces que la actividad herbicida del glifosato fue comprobada (Halter, 2009).

El glifosato es un herbicida post-emergente del grupo químico de las glicinas sustituidas, clasificado como no selectivo y de acción sistémica. Presenta amplio espectro de acción, lo que posibilita un excelente control de las malezas anuales y perennes, tanto de gramíneas como de latifoliadas (Batista, 2009).

El herbicida glifosato es sintetizado a partir de un hidrogeno amínico del aminoácido glicina, por un radical de ester fosfórico. El término “glifosato” es generalmente utilizado para indicar tanto acido como sus sales, pues se reconoce que son biológicamente equivalentes (Luchini, 2009).

La eficiencia en el control de las malezas, asociadas a sus características positivas en cuanto a aspectos toxicológicos, ecotoxicológicos, facilidad de manejo, costo, aumento de productividad, entre otras, hicieron al glifosato el principal herbicida para uso en varios ambientes agrícolas y no agrícolas alrededor del mundo a lo largo de más de 30 años (Batista, 2009).

Según Schuette (1998), el glifosato es muy poco soluble en solventes orgánicos comunes, y bastante soluble en agua. Este herbicida tiene un coeficiente elevado de adsorción en el suelo ($K_d = 61 \text{ g/cm}^3$) y un coeficiente de partición octanol/agua muy bajo ($K_{ow} = 0,00033$), lo que indica baja tendencia para bioacumulacion. Estos valores sugieren que el glifosato tiene una baja movilidad, con poca tendencia de lixiviación en el suelo (Linders et al., 1994).

Franz et al. (1997), afirmó que el glifosato presenta poca volatilidad, debido a la baja presión de vapor del herbicida ($7,5 \times 10^{-8} \text{ mm Hg}$) y a su punto de fusión ($189,9 \text{ }^\circ\text{C}$). La vida media de hidrólisis del herbicida es de 35 días. El glifosato como sus sales de sólidos cristalinos se presentan bastante estables en presencia de luz, inclusive a temperaturas superiores a los $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

La principal ruta de descomposición del glifosato en el ambiente, es la degradación microbiana en el suelo (Franz et al. 1997, Schuette 1998). Según Luchini (2009), el herbicida es inactivado y biodegradado por microorganismos del suelo a tasas de degradación relacionadas a la actividad microbiana del suelo y a los factores que afectan a esta actividad.

El proceso de degradación biológica es realizado en condiciones aeróbicas y anaeróbicas por la microflora del suelo. La vida media de la degradación anaeróbica es de 22,1 días, siendo la vida media de la degradación aeróbica de 96,4 días y la vida media de desaparición en el campo de 44 días. Parece haber por lo tanto mayor facilidad de degradación del herbicida en medio anaeróbico (Luchini, 2009).

El glifosato debe ser considerado como la herramienta fundamental de la tecnología de la siembra directa debido a que con la aplicación del mismo y sumado a un correcto tiempo de barbecho, se sustituye el laboreo, solucionando de esta forma los problemas de enmalezamiento.

2.1.2.2 Modo de acción

Velini et al. (2009), describen el mecanismo por el cual el glifosato, ejerce su acción herbicida una vez que está en contacto con las plantas.

El modo de acción de un herbicida corresponde a todo un conjunto de eventos que ocurren desde su contacto inicial con las plantas hasta que las mismas están muertas o con el crecimiento paralizado.

Las etapas fundamentales para que exista control son: contacto con la planta; penetración; absorción; movimiento en la planta (entre órganos, tejidos, células y organelos); metabolismo y otras formas de inactivación o activación; interacción con el sitio de acción y desencadenamientos de eventos que efectivamente llevan a las plantas a detener su crecimiento o a la muerte.

Las informaciones disponibles, aun son insuficientes para una completa comprensión y descripción de su modo de acción. La información disponible indica que el sitio de acción del glifosato es la inhibición de la enzima 5enol piruvato 3-fosfatotransferasa (EPSPs) con consecuente reducción en la disponibilidad de los aminoácidos aromáticos como el triptófano, tirosina y fenilalanina.

La intensidad de acción de un herbicida sobre una planta determinada está relacionada con una serie de variables como dosis recibida, velocidad e intensidad de absorción, el movimiento en la planta y la intensidad de activación o inactivación.

La dosis necesaria para el control varía según la especie, pero todas las plantas se ven afectadas en mayor o en menor medida cuando son tratadas con glifosato.

2.1.2.3 Absorción

El glifosato es absorbido por las hojas y traslocado hacia los tejidos meristemáticos de la planta, preferentemente vía floema. Se une a la EPSPs, inhibiendo la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano, inhibiendo la síntesis de clorofila, estimulando la producción de etileno, reduciendo la síntesis de proteínas y elevando la concentración de ácido indol acético (AIA) (Rodríguez, 2009).

La absorción por las raíces es mínima, debido principalmente a su alto potencial de adsorción a las partículas del suelo. Se trata de un producto estable a la degradación por hidrólisis y fotólisis. En plantas el glifosato es

metabolizado solamente en pequeñas cantidades a ácido aminometilfosfórico (AMPA), en el suelo cuando está en solución el glifosato es rápidamente metabolizado por los microorganismos a AMPA, su principal metabolito, el cual es subsecuentemente mineralizado a CO₂ (Regitano y Castro, 2009).

2.1.2.4 Residualidad

Normalmente el glifosato presenta elevada tasa de degradación en el ambiente y por lo tanto baja persistencia debido a su fuerte adsorción a la matriz coloidal del suelo y a su rápida tasa de degradación por los microorganismos del suelo (Regitano y Castro, 2009).

El glifosato presenta bajo potencial de lixiviación, debido a su rápida y fuerte adsorción al suelo, lo cual hace poco probable la contaminación de aguas subterráneas. Se ha detectado en agua en raras ocasiones, siendo la mayoría de estas detecciones en aguas superficiales, cuando el producto fue transportado probablemente con sedimentos. Estas situaciones son excepcionales y pueden ocurrir en ocasiones de lluvias fuertes inmediatamente luego de aplicaciones del producto en suelos mojados (Regitano y Castro, 2009).

2.1.2.5 Adyuvantes

El segundo componente en la solución de la pulverización que altera el desempeño del producto glifosato es el adyuvante. Un adyuvante es definido como cualquier sustancia en la formulación adicionada a un tanque de pulverización para modificar la actividad de un herbicida y las características de la aplicación (Abraham, 2009).

Para un herbicida de aplicación foliar, la eficacia de la formulación aumenta significativamente por los surfactantes presentes que facilitan la absorción y transporte a través de la barrera de cera de la cutícula foliar.

Numerosos estudios indican que la primera barrera a la absorción del glifosato por la hoja es la película de cera de la cutícula (Sandberg et al., 1980). El volumen de las gotas y la concentración del herbicida en la solución determinan la disponibilidad del glifosato y de los surfactantes para atravesar a la cutícula en el área de contacto inicial de la gota. La superficie de contacto de la gota al llegar al objetivo puede ser modificada por los surfactantes presentes en la formulación (Franz et al., 1997).

Según Abraham (2009), el surfactante facilita la penetración en la cutícula de la hoja por 3 mecanismos: 1) aumento de la cobertura de

pulverización en la superficie foliar, a través de la reducción de la tensión superficial de la gota sobre la superficie cerosa de la hoja; 2) facilitando la remoción del aire entre la gota y la cutícula de la hoja y 3) promoviendo un buen contacto. Los surfactantes facilitan el humedecimiento y esparcimiento de las gotas de la pulverización en la superficie de la hoja y también pueden inducir la entrada por los estomas. Pueden también actuar como co-solventes, facilitando el movimiento del glifosato por las paredes celulares en las capas de las células epidérmicas y del mesófilo.

Nalewaja y Matysiak (1993), afirman que en Estados Unidos el adyuvante más comúnmente usado en tratamientos con glifosato, en ese momento, era el sulfato de amonio, que es usado como acondicionador de aguas en zonas donde la dureza del agua reduce la eficacia del herbicida. En la actualidad se dispone de una gran diversidad de formulaciones de glifosato, las cuales en ocasiones incluyen adyuvantes, y en otras, este debería ser adicionado. Una recomendación común para estos autores es usar 1 a 2% de sulfato de amonio seco, en la solución de la pulverización, particularmente en condiciones de agua dura o con mezclas de aplicaciones de distintos herbicidas, se afirma que la adición de sulfato de amonio en una concentración de hasta el 2% en el tanque de la pulverización, esencialmente, satura el sistema con iones de amonio al punto de interferir en la formación de sales insolubles de Ca o Mg con el glifosato. Tanto los iones de amonio como los de sulfato parecen ser esenciales para superar el efecto perjudicial de los iones Ca^{++} y Mg^{++} , que se encuentran en el agua dura.

2.2 TOLERANCIA Y RESISTENCIA DE MALEZAS A HERBICIDAS

La respuesta de una planta a los herbicidas es una cualidad heredable. Los términos para describir los niveles de respuesta a los herbicidas son tolerancia, susceptibilidad y resistencia.

La tolerancia a un herbicida es la capacidad natural heredable de una especie para sobrevivir y reproducirse luego de la aplicación de un principio activo. Es decir que las especies tolerantes a un herbicida nunca antes fueron controladas por ese herbicida y el aumento en su abundancia es el resultado de la presión de selección que controló en forma diferencial al resto de las especies susceptibles (Nisensohn y Tuesca, 2004)

La resistencia es definida por Fischer y Valverde (2005) como la capacidad hereditaria natural de algunos biotipos dentro de una población para sobrevivir y reproducirse después de la aplicación de un herbicida que, bajo condiciones normales de uso, controla eficazmente a esa población. La resistencia a uno o varios herbicidas es una característica cuya transmisión a

generaciones sucesivas de plantas depende de la naturaleza del gene o genes involucrados, ya sea por dominancia, dominancia incompleta o recesividad, y su aparición está relacionada con la presión de selección impuesta por el uso de los mismos herbicidas.

Nisensohn y Tuesca (2004) destacan que los biotipos resistentes son el resultado de mutaciones espontáneas que se dan al azar, no son inducidas por los herbicidas, es decir que los genes que determinan la resistencia a un herbicida pueden estar presentes en una especie aún antes que ese principio activo sea introducido en el mercado. La aplicación del herbicida selecciona eliminando a los individuos susceptibles y permitiendo que los resistentes sobrevivan.

Al respecto Kissman (2003), señala que todas las poblaciones de malezas, tienen grandes probabilidades de tener plantas individuales, biotipos resistentes y tolerantes a herbicidas.

Según Christoffoleti et al. (2000), los biotipos pueden presentar diversos niveles de resistencia, siendo que los mismos pueden ser cuantificados mediante dosis letal 50 (DL_{50}) que representa la dosis de herbicida en gramos de ingrediente activo por hectárea, necesaria para proporcionar 50% de control o reducción del crecimiento de la maleza.

El término resistencia es presentado tanto en referencia al comportamiento de un individuo frente a los mecanismos que posee como a los herbicidas a los cuales este individuo es resistente. De esta manera surgen los conceptos de resistencia cruzada y resistencia múltiple, las cuales fueron definidas por Christoffoleti et al. (2009).

La resistencia cruzada ocurre cuando biotipos de malezas son resistentes a dos o más herbicidas que presentan un mismo mecanismo de acción.

La resistencia múltiple ocurre cuando un individuo posee distintos mecanismos de resistencia, que confieren resistencia a herbicidas con mecanismos de acción diferentes.

2.2.1 La resistencia a herbicidas

El primer caso de resistencia a los herbicidas que se detectó fue al 2,4-D, constatado por Hilton (1957), pero la resistencia de las malezas a los herbicidas comenzó a ser reconocida solamente después que Ryan (1970) informó sobre el primer caso de resistencia a la triazina en *Senecio vulgaris* (Heap, 2011b).

Por muchos años las malezas resistentes a triazinas constituyeron el grupo más numeroso, pero fueron sobrepasadas por las que evolucionaron a resistentes al grupo de los inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS), hoy en día con 108 biotipos resistentes. Otros modos de acción o grupos de herbicidas relevantes para los cuales un número importante de malezas se ha vuelto resistentes son los inhibidores de acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa), las auxinas sintéticas, bipiridilos, ureas y amidas, y el herbicida derivado de glicina, glifosato (Espinoza Neira, 2009).

En el siguiente grafico se presenta la evolución del número de malezas resistentes a herbicidas según su modo de acción.

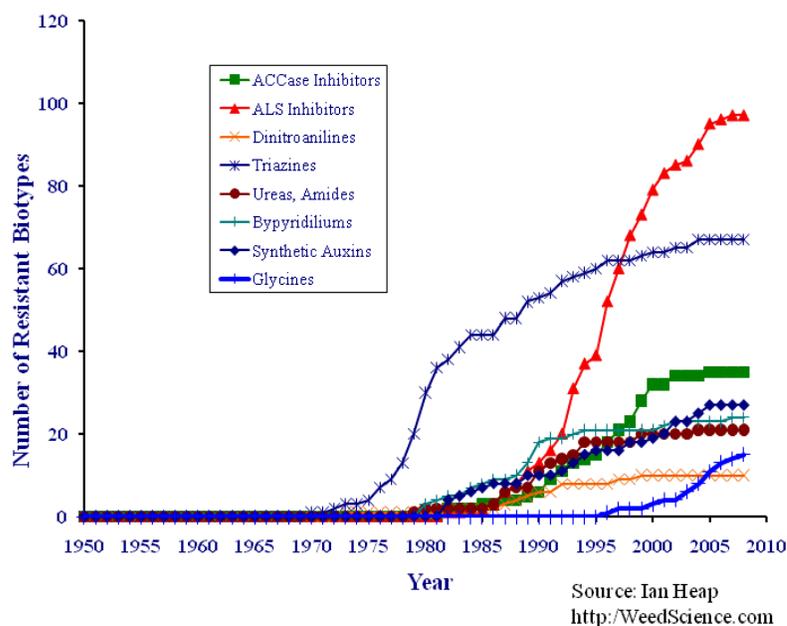


Figura No. 1: Evolución del número de biotipos de malezas resistentes a herbicidas según su modo de acción.

A nivel mundial, la tasa de aparición de biotipos resistentes se ha incrementado notablemente, según Heap (2011b), a la fecha existen 354 biotipos resistentes, 194 especies de los cuales 115 son dicotiledóneas y 82 son monocotiledoneas. En lo que concierne a glifosato, se han constatado 21 especies resistentes a partir del primer registro en 1996 en Australia (*Lolium*

rigidum) hasta el 2010 en ese mismo país (*Chloris truncata*) y en Estados Unidos (*Poa annua*).

Nisensohn y Tuesca (2004) afirman que el primer caso de resistencia en Argentina se detectó en 1996 en biotipos de yuyo colorado (*Amaranthus quitensis*) resistentes a herbicidas inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS) como los herbicidas imazetapir, clorimurón etil y flumetsulam entre otros. En 2005 y 2006 se documentó la resistencia a glifosato en biotipos de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) y estudios realizados durante 2007 en el sudoeste de la Provincia de Buenos Aires indican la existencia de poblaciones de raigrás (*Lolium multiflorum*) y de *Lolium perenne* en el 2008 resistentes a este principio activo.

Considerando la intensificación del uso de herbicidas en especial el glifosato con la inclusión de cultivos resistentes al mismo, es inevitable frente a la situación de riesgo que se encuentra la región y a la cual no es ajena Uruguay, donde aún no hay casos reportados, que continúen apareciendo biotipos resistentes.

La corriente internacional favorable para el mercado de los commodities, en combinación con los bajos precios del glifosato, indican claramente que las superficies sembradas con cultivos resistentes al glifosato soja, maíz entre otros continuará aumentando no sólo en Argentina y Brasil sino también en otros países como Paraguay y Uruguay, por lo que las condiciones claves que favorecen los cambios evolutivos en las poblaciones de malezas persisten y exacerbaban la situación (Vila-Aiub et al., 2008).

2.2.2 Mecanismos de resistencia

Cortez (2000), señala que existen por lo menos tres mecanismos generales que pueden explicar el desarrollo de resistencia a herbicidas e influenciar el modo de acción de estos compuestos, estos mecanismos son:

- a) Pérdida de afinidad del herbicida por el sitio de acción de la enzima
 - b) Metabolización o detoxificación del herbicida a sustancias menos fitotóxicas
 - c) Reducción de la concentración del herbicida en el sitio de acción, absorción foliar y/o traslocación del herbicida por el biotipo resistente (secuestro o compartimentación).
- a) Pérdida de afinidad del herbicida por el sitio de acción de la enzima:

El herbicida presenta un sitio de acción específico dentro de la planta, donde su acción dificulta el proceso o función de la misma. Ese sitio específico es a veces alterado. Esto resulta en una pérdida de afinidad imposibilitando la unión entre ambos, y la molécula del herbicida se torna incapaz de ejercer su acción fitotóxica.

Este mecanismo de resistencia fue observado por Christofolletti et al. (1997) en *Bidens pilosa* y por Vargas et al. (1999) en *Euphobia heterophylla* resistentes a los inhibidores de ALS. A su vez Cortez et al. (2002) lo detecto en *Digitaria sp*, la cual es resistente a los inhibidores de la ACCasa.

Asimismo los trabajos de Bearson et al. (2002a), Bearson et al. (2002b), Yuan et al. (2002) indican que específicamente en términos del sitio de acción, las posibilidades de las malezas para convertirse en plantas resistentes al glifosato son:

1) Presencia de mutaciones en el sitio de acción que aumenta la actividad de la enzima EPSPs.

2) Presencia de mutaciones en el sitio de acción que reduce la afinidad de la enzima con el glifosato.

3) Mayor producción de la enzima EPSPs en genotipos resistentes siendo que la alteración puede ocurrir a nivel transcripcional o post-transcripcional.

b) Metabolización o detoxificación del herbicida a sustancias menos fitotóxicas:

La resistencia de biotipos de malezas con relación a la metabolización del herbicida a compuestos no fitotóxicos, es un mecanismo de resistencia en que la planta degrada al herbicida antes que este le cause daños irreversibles. Las enzimas que están involucradas en este proceso son: la monoxigenasa del citocromo P450 y la glutatióna (reacciones de oxidación y conjugación). La velocidad de metabolización puede variar con la especie, con el estado de desarrollo de la planta y con la temperatura a la que está expuesta. Así, una misma cantidad de herbicida aplicada a una especie se puede tornar fitotóxica en determinadas condiciones, y no producir ningún daño en otras.

Kissmann (2003), Nisensohn y Tuesca (2004) coinciden en que la velocidad de la metabolización puede variar con la especie, con el estado de desarrollo de la planta y con la temperatura a la que está expuesta, o sea, depende del ambiente, por lo tanto se debe de considerar que es esperable una

mejor eficiencia del herbicida cuando la planta este en plena actividad y no bajo cualquier situación de estres.

c) Reducción de la concentración del herbicida en el sitio de acción, absorción foliar y/o traslocación del herbicida por el biotipo resistente (secuestro o compartimentación):

Algunas plantas tienen la capacidad de secuestrar los herbicidas sin que los mismos alcancen el sitio de acción de la planta en una concentración suficiente para que ocurra su control. Estas menores concentraciones pueden ocurrir por causa de la reducción de la retención y absorción del herbicida por la superficie foliar, o vía radical, por menor traslocación, por ocurrencia de fenómenos de secuestro en organelos celulares, como las vacuolas.

En lo que respecta a la absorción esta puede ser preemergente vía radícula o postemergente. En preemergencia la disminución de la absorción puede estar asociada a factores morfológicos, diferencias en profundidad o anatómicos del sistema radical o también a factores fisiológicos como la menor absorción activa del herbicida. La disminución de la absorción de tratamientos en postemergencia es dependiente de la cantidad de herbicida que queda adherida a la planta y es dependiente de las condiciones ambientales, de la tensión superficial de la solución, del volumen de agua, y de las características foliares, como área foliar y orientación de las hojas, y además de la presencia de ceras cuticulares.

El proceso de reducción de la traslocación depende del lugar donde se absorbe el herbicida. A nivel radical se identificaron tres mecanismos: acumulación del herbicida no metabolizado en la raíz, metabolización del herbicida en la raíz a una forma no traslocable, generalmente conjugados polares y restricción del movimiento del herbicida en el sistema vascular ya sea floema, xilema, vasos primarios y secundarios lo que imposibilita su llegada al sitio de acción.

Si la absorción se da vía foliar la reducción de la traslocación puede producirse según si su transporte se realiza vía xilema o floema. Por vía xilema, sigue el flujo de agua hacia los márgenes foliares y los espacios intervasculares. Mientras que vía floemática, hay dos procesos involucrados: el gradiente de concentración entre células del floema y células mesofílicas, y la capacidad de la planta de retener el herbicida en las células floemáticas evitando su transporte.

El secuestro o aislamiento implica que el herbicida es apartado de las regiones metabólicamente activas de la célula vegetal y trasladado a sitios

menos activos, por ejemplo a vacuolas donde es inocuo para el crecimiento. Este paso frecuentemente es precedido por la desactivación o conjugación de las moléculas como por ejemplo con glúcidos.

2.2.3 Factores que determinan la tasa de evolución de la resistencia

Para Jasieniuk et al. (1996), las reglas que regulan la evolución de la resistencia son aquellas involucradas en cualquier proceso evolutivo conducido por selección natural. Una fuerte presión de selección ejercida por herbicidas, por ejemplo sobre organismos con variación genética como las malezas, es necesaria para la evolución a la resistencia de herbicidas. Los genes de resistencia a herbicidas conllevan a la supervivencia y reproducción lo que deriva en el enriquecimiento del biotipo con resistencia, a unas pocas generaciones bajo condiciones continuas de selección por herbicidas.

Los principales factores que afectan la evolución de la resistencia de malezas a herbicidas han sido agrupados por Matiello et al. (1999) en: genéticos, bioecológicos y agronómicos. Los factores genéticos son inherentes a los individuos de una misma población de malezas. Los bioecológicos son resultado de una interacción entre las características de los individuos y la acción del ecosistema sobre esa población. Y por último los agronómicos son resultado de la selección producida por las prácticas agrícolas. De modo general, la velocidad y número de años para que la resistencia de las malezas se desarrolle está relacionada con esos tres factores. Los únicos factores que pueden ser manipulados por el hombre son los agronómicos en la implementación de estrategias del manejo de la resistencia.

Cuadro No. 1: Principales factores que afectan a la evolución de la resistencia de malezas.

Factores	Características
A- Factores Genéticos	Frecuencia inicial de resistencia Dominancia de los alelos resistentes Tipo de fecundación Numero de alelos resistentes Adaptación ecológica
B- Factores Bioecológicos	Especie. Numero de generaciones por año y tasa de reproducción. Longevidad de las semillas en el banco de semillas. Densidad de la especie. Susceptibilidad de la maleza al herbicida.
C- Factores Agronómicos	Característica del herbicida. Grupo químico. Residualidad. Eficiencia de control. Dosis utilizada. Prácticas culturales. Utilización exclusiva de herbicidas en el control de malezas. Uso repetitivo del mismo herbicida o de herbicidas con el mismo mecanismo de acción. Frecuencia de aplicación. Sistema del cultivo.

Otra forma de clasificar los factores que están relacionados con la evolución de la resistencia fue la que realizaron Nisensohn y Tiesca (2004), dividiendo a estos en factores relacionados con la biología de la especie y factores relacionados con el herbicida.

1) Factores relacionados con la biología de la especie:

a) Frecuencia de alelos resistentes

Los alelos de resistencia resultan de mutaciones al azar y pueden estar presentes en la población antes de que ésta haya sido expuesta al herbicida. A

medida que dicha frecuencia aumenta en una población, la tasa de evolución de la resistencia será mayor.

b) El modo de herencia de la resistencia

Si la resistencia es conferida por alelos dominantes la evolución será más rápida, debido a que tanto los individuos homocigotos como heterocigotos resultarán resistentes.

c) Número de genes que confieren resistencia

La herencia de la resistencia es comúnmente monogénica, es decir que está controlada por un solo gen, dando lugar a tasas de evolución relativamente elevadas. Por el contrario, cuando la resistencia está asociada con varios genes, es poligénica, la evolución es más lenta, ya que se requieren recombinaciones genéticas durante varias generaciones para reunir un número suficiente de alelos que den lugar a un genotipo resistente.

d) Características reproductivas de la especie

En las especies alógamas, los alelos de resistencia pueden dispersarse no sólo a través de las semillas, sino también mediante el polen transportado por el viento o por insectos. En las especies autóгамas el flujo génico es sumamente reducido entre individuos, en este caso la dispersión de alelos resistentes, se produce casi exclusivamente a través de semillas.

e) Capacidad reproductiva de la maleza

La producción de un elevado número de semillas y la capacidad de lograr más de una generación reproductiva por año, favorece la dispersión de la resistencia.

f) Tamaño de la población de malezas

En poblaciones de malezas con densidades elevadas, la probabilidad de que algunos individuos resistentes estén presentes será mayor.

g) Longevidad de las semillas en el suelo

En las especies que poseen un banco de semillas persistente, sólo una fracción de éste estará expuesta a la selección por el herbicida en cada estación de crecimiento. Así, en años sucesivos las poblaciones de plántulas reclutadas a partir del banco incluirán una proporción de individuos susceptibles. Esto resultará en una disminución de la frecuencia de alelos resistentes y hará más lenta la evolución de la resistencia.

h) Mecanismos de dispersión de semillas

En el caso de especies anemófilas, el viento puede dispersar semillas de genotipos resistentes a áreas no infestadas. La dispersión por efecto antrópico

también debe tenerse en cuenta ya que la maquinaria es una vía de transporte de estos genotipos a áreas libres de individuos resistentes.

i) Período de emergencia

En la medida que las poblaciones de malezas tengan períodos prolongados de germinación, la probabilidad de que el herbicida afecte sólo a una parte de dicha población se incrementa. Los individuos susceptibles que germinen con posterioridad a la aplicación contribuirán a disminuir la frecuencia de alelos resistentes y la evolución de la resistencia será más lenta.

j) El valor adaptativo (fitness) relativo de los genotipos resistentes y susceptibles

El valor adaptativo de un genotipo se mide a través del éxito reproductivo, es decir la cantidad de descendientes que están presentes en la siguiente generación. En poblaciones que se aparean al azar casi todos los alelos de la población van a estar en forma heterocigoto durante los primeros estadios de la evolución de la resistencia. En el caso que frente a las aplicaciones de herbicidas, los individuos heterocigotos (RS) tengan más fitness que los homocigotas susceptibles (SS), la evolución de la resistencia será rápida. Si en cambio, los heterocigotos poseen un fitness similar al de los susceptibles la resistencia va a evolucionar más lentamente. En algunos casos, el genotipo resistente tiene un valor adaptativo menor que el susceptible, en esta situación si se reduce la presión de selección, por ejemplo utilizando herbicidas con distinto sitio de acción, la frecuencia del genotipo resistente disminuye rápidamente en la población.

2) Factores relacionados con el herbicida:

a) Dosis empleadas

Cuando la resistencia es monogénica, el empleo de dosis elevadas aumenta la presión de selección y favorece la evolución de la resistencia. Por el contrario, la utilización de subdosis, al disminuir la presión de selección, puede atrasar la aparición de la resistencia. Si la resistencia es poligénica es necesario que se produzcan recombinaciones entre individuos durante varias generaciones para alcanzar un número suficiente de alelos que generen un genotipo resistente. En este caso, la utilización de subdosis de herbicidas permitirá que aquellos individuos que expresan mecanismos de resistencia relativamente débiles por no poseer la cantidad de alelos suficientes sobrevivan y contribuyan al pool de genes de resistencia. En cambio, al aplicar dosis altas se elimina la mayoría de la población disminuyendo así la frecuencia de alelos resistentes en la población total. En general, como a priori no se conocen los tipos de control genético de resistencia en una población, en términos prácticos lo más recomendable es emplear los herbicidas a las dosis recomendadas para no favorecer la evolución de resistencia poligénica.

b) Eficacia

La eficacia de un herbicida está relacionada con la mortalidad que causa en una población de malezas. Por ello los herbicidas más eficaces eliminarán una mayor proporción de individuos susceptibles y de este modo facilitarán la evolución de la resistencia.

c) Especificidad del sitio de acción

En el caso de herbicidas que interfieren con un solo sitio de acción, el cambio en un solo gen puede ser suficiente para afectar la unión de la molécula herbicida al sitio de acción. El uso de herbicidas con múltiples sitios de acción tendrá menor probabilidad de generar biotipos resistentes.

d) Residualidad

Los herbicidas no residuales sólo actúan sobre los individuos de la población ya emergidos. Los herbicidas residuales afectan además a las poblaciones que emergerán posteriormente a la aplicación, eliminando así una mayor proporción de individuos susceptibles de la población y favoreciendo la evolución de la resistencia.

e) Patrones de uso

El empleo repetido, dentro de la misma campaña agrícola o en campañas sucesivas del mismo herbicida o de herbicidas con igual sitio de acción favorecerá la evolución de poblaciones resistentes.

En forma resumida se presentan los manejos agronómicos y el nivel de riesgo de aparición de resistencia asociado según HRAC (2003).

Cuadro No. 2: Manejos Agronómicos y nivel de riesgo de aparición de resistencia asociado.

Manejos	Riesgo Bajo	Riesgo Medio	Riesgo Alto
Mezcla o rotación de herbicidas	Más de 2 mecanismos de acción	2 Mecanismos de acción	1 Mecanismo de acción
Forma de control de las malezas	Cultural, mecánico y químico	Cultural y químico	Químico
Uso de igual mecanismo de acción por ciclo	Una vez	Más de una vez	Muchas veces
Sistema de Cultivo	Rotación larga	Rotación Corta	Sin rotación
Resistencia relativa al mecanismo de acción	Desconocida	Limitada	Común
Nivel de infestación	Bajo	Medio	Alto
Control en los tres años anteriores	Bueno	Decreciente	Bajo

2.2.4 Diagnostico de malezas resistentes a herbicidas

Nisensohn y Tuesca (2004) afirman que se puede diagnosticar una situación de resistencia en el campo cuando hay más de un 30% de individuos resistentes en la población de cierta maleza. Es por ello que una detección temprana de ciertas “señales” permite hacer más eficientes los programas de control y prevenir la dispersión de la resistencia. Es importante destacar que las fallas en el control de malezas no siempre están asociadas con la presencia de biotipos resistentes sino que pueden relacionarse con empleo de dosis inadecuadas, deficiente incorporación del herbicida, incorrecto uso de coadyuvantes y surfactantes, condiciones ambientales desfavorables para la actividad del herbicida, momento inadecuado de aplicación o flujos de emergencia posteriores a la aplicación en el caso de herbicidas poco residuales.

Una vez que han sido descartadas estas causas, estos autores sostienen que se deberían considerar una serie de puntos, los cuales caracterizan a las chacras con presencia de poblaciones que han desarrollado resistencia.

- La especie sospechosa de presentar resistencia está inicialmente confinada en pequeños manchones.

- En algunas situaciones estos manchones tienen una dispersión bastante regular y pueden asociarse con fenómenos de dispersión antrópica, tales como en la cola de trilla producida por la cosechadora.
- Todas las especies susceptibles al herbicida son bien controladas excepto la especie sospechosa.
- Se detectan individuos de la especie sospechosa sin síntomas y dispersos entre plantas de la misma especie que han sido controladas.
- La especie sospechosa normalmente es muy susceptible al herbicida empleado y a la dosis utilizada.
- Al analizar los registros de la chacra se comprueba la utilización de estrategias de control químico en forma repetida sin emplear otros métodos de control como son el mecánico y el cultural.
- La historia de la chacra indica un uso extensivo e intensivo a lo largo del tiempo del herbicida aplicado o de herbicidas con el mismo mecanismo de acción.

2.2.5 Resistencia al glifosato

Se analizó en líneas precedentes que la resistencia a los herbicidas es un tema de gran importancia, en el caso de la resistencia al glifosato tiene una connotación aún más importante, ya que es el herbicida de acción no selectiva de mayor uso en el mundo, es por esto que el reporte de biotipos resistentes al glifosato es una de las problemáticas más difundidas, en la actualidad.

A continuación se presenta un cuadro con el listado de especies registradas como resistentes junto al país y año en que se declararon, (Heap 2011a).

Cuadro No. 3: Especies resistentes al grupo de las Glicinas

Especie	País	Año
1. <i>Amaranthus palmeri</i>	2005 - USA (Georgia)	2005
	2005 - USA (North Carolina)	
	2006 - USA (Arkansas)	
	2006 - USA (Tennessee)	
	2006 - USA (Tennessee)	

2007 - USA (New Mexico)
 2008 - USA (Alabama)
 2008 - USA (Georgia) *Multiple - 2 MOA's
 2008 - USA (Mississippi) *Multiple - 2 MOA's
 2008 - USA (Missouri)
 2010 - USA (Louisiana)

2. ***Amaranthus tuberculatus* (syn. *rudis*)** 2005 - USA (Missouri) *Multiple - 3 MOA's **2005**
 2006 - USA (Illinois) *Multiple - 2 MOA's
 2006 - USA (Kansas)
 2007 - USA (Minnesota)
 2009 - USA (Indiana)
 2009 - USA (Iowa)
 2010 - USA (Mississippi)

3. ***Ambrosia artemisiifolia*** 2004 - USA (Arkansas) **2004**
 2004 - USA (Missouri)
 2006 - USA (Ohio) *Multiple - 2 MOA's
 2007 - USA (Indiana)
 2007 - USA (Kansas)
 2007 - USA (North Dakota)
 2008 - USA (Minnesota)

4. ***Ambrosia trifida*** 2004 - USA (Ohio) **2004**
 2005 - USA (Arkansas)
 2005 - USA (Indiana)
 2006 - USA (Kansas)
 2006 - USA (Minnesota)
 2006 - USA (Ohio) *Multiple - 2 MOA's
 2007 - USA (Tennessee)
 2008 - Canada (Ontario)
 2008 - USA (Minnesota) *Multiple - 2 MOA's
 2009 - USA (Iowa)
 2009 - USA (Missouri)

2010 - USA (Mississippi)

5. <i>Chloris truncata</i>	2010 - Australia (New South Wales)	2010
-----------------------------------	-------------------------------------	-------------

6. <i>Conyza bonariensis</i>	2003 - South Africa 2004 - Spain 2005 - Brazil 2005 - Brazil 2005 - Israel 2006 - Colombia 2007 - USA (California) 2009 - USA (California) *Multiple - 2 MOA's 2010 - Australia (New South Wales)	2003
-------------------------------------	--	-------------

7. <i>Conyza canadensis</i>	2000 - USA (Delaware) 2001 - USA (Kentucky) 2001 - USA (Tennessee) 2002 - USA (Indiana) 2002 - USA (Maryland) 2002 - USA (Missouri) 2002 - USA (New Jersey) 2002 - USA (Ohio) 2003 - USA (Arkansas) 2003 - USA (Mississippi) 2003 - USA (North Carolina) 2003 - USA (Ohio) *Multiple - 2 MOA's 2003 - USA (Pennsylvania) 2005 - Brazil 2005 - USA (California) 2005 - USA (Illinois) 2005 - USA (Kansas) 2006 - China 2006 - Spain 2006 - USA (Nebraska)	2000
------------------------------------	---	-------------

2007 - Czech Republic
 2007 - USA (Michigan)
 2007 - USA (Mississippi) *Multiple - 2 MOA's

8. <i>Conyza sumatrensis</i>	2009 - Spain	2009
------------------------------	--------------	-------------

9. <i>Digitaria insularis</i>	2006 - Paraguay 2008 - Brazil 2008 - Brazil 2008 - Paraguay 2010 - Brazil	2006
-------------------------------	---	-------------

10. <i>Echinochloa colona</i>	2007 - Australia (New South Wales) 2009 - Australia (Queensland)	2007
-------------------------------	--	-------------

11. <i>Eleusine indica</i>	1997 - Malaysia *Multiple - 2 MOA's 2006 - Colombia 2010 - USA (Mississippi)	1997
----------------------------	--	-------------

12. <i>Euphorbia heterophylla</i>	2006 - Brazil *Multiple - 2 MOA's	2006
-----------------------------------	-----------------------------------	-------------

13. <i>Kochia scoparia</i>	2007 - USA (Kansas) 2007 - USA (Kansas)	2007
----------------------------	--	-------------

14. <i>Lolium multiflorum</i>	2001 - Chile 2002 - Chile 2002 - Chile *Multiple - 2 MOA's 2003 - Brazil 2004 - USA (Oregon) 2005 - USA (Mississippi) 2006 - Chile *Multiple - 2 MOA's 2006 - Spain 2007 - Argentina 2007 - Chile *Multiple - 3 MOA's 2008 - USA (Arkansas)	2001
15. <i>Lolium perenne</i>	2008 - Argentina	2008
16. <i>Lolium rigidum</i>	1996 - Australia (Victoria) 1997 - Australia (New South Wales) 1998 - USA (California) 1999 - Australia (South Australia) 1999 - Australia (Victoria) *Multiple - 4 MOA's 2001 - South Africa 2003 - Australia (Western Australia) 2003 - South Africa *Multiple - 3 MOA's 2005 - France 2005 - France 2006 - Spain 2007 - Italy 2008 - Australia (South Australia) *Multiple - 2 MOA's 2010 - Australia (South Australia) *Multiple - 2 MOA's	1996
17. <i>Parthenium hysterophorus</i>	2004 - Colombia	2004

18. <i>Plantago lanceolata</i>	2003 - South Africa	2003
--------------------------------	---------------------	-------------

19. <i>Poa annua</i>	2010 - USA (Missouri)	2010
----------------------	-----------------------	-------------

20. <i>Sorghum halepense</i>	2005 - Argentina 2006 - Argentina 2007 - USA (Arkansas) 2010 - USA (Louisiana)	2005
------------------------------	---	-------------

21. <i>Urochloa panicoides</i>	2008 - Australia (New South Wales)	2008
--------------------------------	-------------------------------------	-------------

2.2.6 Prevención y manejo de la resistencia

Para Nisensohn y Tuesca (2004) la prevención y el manejo de la resistencia se basa fundamentalmente en disminuir la presión de selección y para ello se pueden utilizar distintas estrategias, las mismas se describen a continuación:

- Realizar rotaciones de cultivos. Esto permite no solo cambiar el patrón de uso y el tipo de herbicida utilizado sino modificar periódicamente las señales del ambiente que son captadas por las malezas evitando así la adaptación e incremento poblacional de las mismas. Los cultivos difieren en su capacidad competitiva, por lo tanto la siembra de cultivares o híbridos muy competitivos pueden reducir significativamente la producción de semillas de malezas.

Un ejemplo de esto sería la siembra de diferentes cultivos que permitieran el uso de herbicidas con diferentes mecanismos de acción u otros métodos alternativos de control.

- Sembrar semillas fiscalizadas evitando así el posible ingreso de semillas de biotipos resistentes.

Es importante este punto ya que muchas veces se importan semillas desde el exterior donde ya está instalada esta problemática y donde esta semilla podría llegar a estar contaminada.

- Utilizar programas integrados de control de malezas en los que se combine el uso de herbicidas con otros métodos alternativos como mecánicos y culturales como ser fecha de siembra y arreglo espacial, que contribuyen a disminuir la densidad poblacional de la maleza.

El método cultural consiste en la utilización de medidas y procedimientos preventivos de diseminación de malezas, fortaleciendo la capacidad competitiva del cultivo mediante un rápido establecimiento y desarrollo. El método mecánico en la entrefila podría sustituir al control químico en ocasiones donde pueda ser utilizado, disminuyendo así la presión de selección.

- Monitorear las chacras regularmente identificando cambios en las poblaciones de malezas. Como ya se mencionó la aparición de resistencia es un proceso gradual y la identificación en una fase temprana facilita y reduce económicamente el costo de manejo del problema.
- Rotar herbicidas con distintos sitios de acción y no realizar más de dos aplicaciones consecutivas de herbicidas con el mismo sitio de acción en una misma chacra a menos que se incluyan otras prácticas de control efectivas en el manejo del sistema.
- Emplear combinaciones de herbicidas con distintos sitios de acción o aplicar en forma secuencial herbicidas con distintos sitios de acción pero similar espectro de control.
- Aplicar los herbicidas a las dosis recomendadas y en los momentos adecuados. Un gran número de casos sospechosos de tolerancia o de resistencia son en realidad el resultado de aplicaciones de herbicidas en malezas con condiciones de estrés o que presentan un grado de desarrollo más avanzado al recomendado en el marbete.
- Respetar las recomendaciones de aplicación como volumen, tipo de boquillas y presión de cada uno de los herbicidas que se utilicen.

- Verificar el resultado de la aplicación para detectar aquellas malezas que no hubieran sido totalmente controladas. Luego de descartarse todos los factores que pueden influir en la falta de eficacia, como ser, dosis, época de aplicación, factores climáticos anteriores o posteriores a la aplicación y estado de la maleza, si existe la sospecha de resistencia, realizar una segunda aplicación localizada sobre las plantas no afectadas. En el caso de que sobrevivan plantas se deben controlar químicamente con otro herbicida o en forma mecánica.
- Evitar la dispersión de propágulos, semillas, rizomas resistentes. Para ello se pueden utilizar herbicidas no selectivos en precosecha de los cultivos antes de la madurez de las semillas de malezas y limpiar los equipos de labranza y cosecha. En malezas cuyos propágulos no posean atributos que faciliten la dispersión el transporte a grandes distancias solo puede estar asociado con las actividades humanas.

2.3 GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Lolium multiflorum* Lam.

El raigrás pertenece a la familia *Poaceae*, su ciclo de crecimiento es anual. Florece desde setiembre y sazona desde noviembre a diciembre. Es frecuente en los campos y agresivo en cultivos invernales. Es originario del viejo mundo. Cultivado para pradera invernal; su forraje es productivo y apetecido. Presenta espiga dística de raquis tenaz, con los entrenudos gruesos y muy acanalados en la base. Sus espiguillas son sésiles multifloras; las laterales sin gluma I, con la gluma II abaxial, coriácea más gruesa y consistente que las glumelas, con 4 a 9 costillas prominentes. Antecio de dorso convexo y vientre acanalado. Palea de carenas ásperas o finamente ciliadas. El cariopse es glabro, de hilo lineal, adherido al antecio. Las plantas uruguayas tienen hojas glabras, de cara inferior lisa y muy brillante, las laminas frecuentemente son auriculada, glummas y lemas glabras; lema con arista subapical o mutica, obtusa o aguda, o ligeramente bidentada (Rosengurtt, 1970).

El raigrás es una especie utilizada en el mundo con varias finalidades: como cobertura de invierno en un sistema de siembra directa y como forrajera. En los sistemas de siembra directa, la quema o control de esa especie, normalmente es realizada con aplicación de herbicidas no selectivos, en diferentes estadios fenológicos siendo el glifosato el herbicida más utilizado para ese fin (Christoffoleti et al., 2009).

2.4 RESISTENCIA DEL RAIGRAS AL GLIFOSATO

2.4.1 Mecanismos de resistencia en raigrás

Preston et al. (2009), afirman se que hallaron dos grandes mecanismos de resistencia. Uno de ellos es un cambio en el patrón de traslocación acumulando el herbicida en el ápice de las hojas en vez de en los meristemas de crecimiento, lo que podría estar asociado a una traslocación diferente de este herbicida por los diferentes biotipos. En este sentido en un estudio realizado por Galvan et al. (2010) se observó que los biotipos resistentes presentan su mesófilo con mayor espacio intercelular, así como menor cantidad de floema en relación al xilema, lo que por sus funciones en la planta, pueden colaborar para tener menor sensibilidad al herbicida.

El segundo mecanismo hallado fue sustituciones de aminoácidos en el Pro 106 en el sitio de acción de la enzima EPSPs. Además los mismos sostienen que hay poblaciones que cuentan con los dos mecanismos. En el caso de resistencia al glifosato por mutaciones en el sitio de acción tienden a proporcionar un nivel más bajo de resistencia que el que tiene el mecanismo de traslocación alterado. Cada uno de estos mecanismos de resistencia se hereda como una característica monogénica que es ampliamente dominante. Como estas especies de raigrás son alogamas estrictas, esto asegura que los alelos de resistencia puedan moverse tanto en el polen como en la semilla.

Por otro lado Busi y Powles (2009), exponen que además los genes recesivos también pueden contribuir con la evolución de la resistencia de biotipos que están siendo expuestos a dosis subletales. Su trabajo arrojó que luego de tres o cuatro ciclos de selección con glifosato en dos ambientes distintos, la población que era inicialmente susceptible a la dosis terminó evidenciando resistencia. Después de tres generaciones los valores de DL_{50} se duplicaron en comparación con la población original, y se obtuvo hasta un 33% de supervivencia cuando se seleccionó con glifosato en la progenie.

Kogan y Pérez (2003), sostienen que es poco probable que los mayores niveles de expresión de la enzima EPSPs de los individuos resistentes al glifosato expliquen totalmente la mayor tolerancia al producto, sugiriendo que el mecanismo de resistencia no está basado en el sitio de acción.

2.4.2 Diferencias entre biotipos resistentes y susceptibles al glifosato

En este punto se intentara identificar las diferencias anatómicas y fisiológicas de los biotipos susceptibles y resistentes al glifosato con el fin de caracterizar a ambos.

Ferreira et al. (2009) realizaron estudios sobre el crecimiento y desarrollo de raigrás resistente y sensible al glifosato donde estos evidenciaron que el biotipo sensible acumula mayor cantidad de materia seca. La menor producción de materia seca del biotipo resistente en la parte aérea está relacionada a un menor número de macollos producidos. El biotipo susceptible presentó en promedio, 7,2 macollos por planta, en tanto el resistente presentó en promedio 4.4 macollos. El número de macollos determina el número de inflorescencias de la planta. Así, el número de inflorescencias producidas por el biotipo sensible es mayor y consecuentemente es mayor el número de semillas producidas. Otra característica observada fue el número de días necesarios después de emergencia para que los biotipos inicien el período reproductivo. En promedio el biotipo sensible florece 19 días antes que el biotipo resistente, y completa el ciclo en promedio 25 días antes.

En un trabajo realizado por Galvan et al. (2010) se presentan los datos de las diferencias morfofisiológicas entre biotipos susceptibles y resistentes, evidenciando la precocidad de los biotipos susceptibles.

El desfase en la floración en biotipos susceptibles y resistentes es de fundamental importancia para la mantención de la sensibilidad de esa planta al glifosato, una vez que los estigmas de esas plantas estuvieran receptivos, solamente el polen de las anteras de plantas sensibles estará disponible.

Cuadro No. 4: Fases fenológicas de biotipos de raigrás con distinta sensibilidad al herbicida glifosato considerándose el número de días después de la emergencia (DDE), inicio de la antesis, inicio de la maduración de las espiguillas e inicio de la senescencia

Biotipo	Inicio de antesis	Inicio de maduración de la espiga	Inicio de senescencia
B1S	105	126	168
B2R	126	147	189
B3R	126	147	189
B4R	126	147	189

La capacidad de acumular materia seca es un importante indicador de la habilidad competitiva de una especie. En condiciones de competencia, a campo, el biotipo sensible puede en esas condiciones ejercer un efecto supresor sobre el crecimiento del biotipo resistente. La floración anticipada del biotipo sensible provoca una desincronización con la floración del biotipo resistente. A pesar de esta característica, ocurren cruzamientos, dado el largo

periodo de floración del raigrás y la continua emisión de inflorescencias, aunque se reduce la tasa de cruzamientos y, consecuentemente, disminuye la diseminación de la resistencia. El mayor número de semillas producidas garantiza al biotipo susceptible un mayor número de descendientes y la tendencia a dominar el ambiente (Ferreira et al., 2009).

Silva et al. (2005) sostienen que variables como tasa de crecimiento, área foliar específica e índice de área foliar, presentaron valores superiores con aumento de la densidad de plantas susceptibles. El área foliar específica relaciona la superficie con el peso de la hoja, representando el espesor de esta. Las plantas de raigrás del biotipo sensible presentaron hojas más gruesas, que las plantas del biotipo resistente, en todas las densidades evaluadas.

El índice de área foliar está relacionado a la capacidad del biotipo de cubrir rápidamente el suelo, impidiendo el acceso de luz a otras plantas que compiten; de esta forma, el biotipo susceptible compite más, al cubrir el suelo más rápidamente que el biotipo resistente.

Con relación a lo expuesto, en ausencia de presión de selección, sin el uso del glifosato, el equilibrio poblacional del raigrás tenderá hacia el biotipo susceptible en detrimento del biotipo resistente. En cambio ante la presencia de presión de selección por el uso de glifosato el equilibrio de la población tendería hacia un biotipo resistente.

Según los estudios realizados por Ferreira et al. (2007) al evaluar el potencial competitivo de los biotipos de raigrás con el cultivo de trigo, se constató que los biotipos susceptibles fueron más competitivos que los resistentes, dado que fue menor la reducción de porcentajes de macollos en la materia seca de la parte aérea, altura de las plantas y en el área foliar, en relación al biotipo resistente, con un incremento de la densidad de plantas de raigrás del mismo biotipo. Concluyeron que existe diferencia en la capacidad competitiva entre los biotipos de raigrás resistente y susceptible. La mayor parte de los estudios con biotipos resistentes y susceptibles a los herbicidas, indica que los biotipos susceptibles presentan mayor adaptabilidad ecológica.

Algunos estudios indican que características relacionadas a la fotosíntesis y al uso del agua también fueron alteradas en el biotipo resistente, probablemente como consecuencia del mecanismo que confiere resistencia al glifosato. Ferreira et al. (2007) concluyeron que el biotipo resistente de raigrás posee menor capacidad competitiva que el susceptible.

En el biotipo resistente, el flujo de gases a través de los estomas, en condiciones normales de crecimiento, no es alterada, mientras que, cuando el

biotipo resistente compite con plantas del biotipo susceptible, la tasa de fotosíntesis disminuye. Como consecuencia, la concentración interna de CO_2 de la hoja aumenta, pues su consumo disminuye. Considerando que la apertura estomática está asociada a la concentración interna de CO_2 y, en mayor grado a la disponibilidad de luz, se puede prever que en el campo, las plantas de biotipo resistente al glifosato tienden a tener menor periodo de apertura estomática cuando están en competencia con plantas del biotipo susceptible al glifosato, que poseen mayor capacidad de acumulación de biomasa (Ferreira et al., 2009).

Messinger et al. (2006), estudiaron que la fotosíntesis y consecuentemente la respiración dependen del flujo constante de CO_2 y O_2 entrando y saliendo de la célula; este flujo libre es función de la concentración de estos gases en los espacios intercelulares dependientes de la apertura estomática, controladora mayormente del flujo de gases.

La apertura estomática es regulada en gran parte por la turgencia tanto de las células guardianas que controlan la apertura de los estomas, como de las células epidérmicas de los estomas (Humble y Hsiao, 1970).

Ante un potencial hídrico bajo, que induce el cierre estomático y reduce la conductancia foliar, se inhibe la fotosíntesis y también la respiración (Attridge, 1990). Ante esta situación una de las dos probables causas de menor capacidad competitiva del biotipo de raigrás resistente al glifosato puede ser menor tiempo de apertura estomática, que disminuye la capacidad de intercambio de gases y reduce la tasa fotosintética (Ferreira et al., 2009).

Cuando las plantas están en condiciones de sombreado, la reacción natural es favorecer la elongación de la planta en detrimento de la acumulación de materia seca (Weller et al., 1997), respuesta directamente asociada al balance de radiación rojo y rojo lejano percibidos por los fitocromos. Además de la menor capacidad fotosintética, el biotipo de raigrás resistente al glifosato parece tener menor capacidad de elongación rápida como forma de escapar al sombreado (Ferreira et al., 2009).

Plantas de raigrás susceptibles al glifosato son capaces de incrementar la conductancia estomática cuando compite con varias plantas de biotipos resistentes, de menor capacidad competitiva. Los biotipos resistentes y susceptibles tampoco difieren en cuanto a la presión de vapor en la cámara subestomática, tanto en plantas aisladas como en competencia. La presión de vapor en la cámara subestomática está directamente relacionada con el estatus hídrico de la planta y la dinámica del vapor de agua en la interface planta-atmósfera (Brodribb y Hill, 2000).

La tasa de transpiración es mayor para las plantas susceptibles cuando la competencia es baja.

En situaciones de bajos niveles de competencia, los biotipos resistentes al glifosato son más eficientes que los susceptibles en el uso del agua. Pero cuando la competencia aumenta el resistente se torna cada vez menos eficiente, mientras que el susceptible mantiene su eficiencia constante. En resumen, algunos estudios evidencian que el biotipo resistente produce menos materia seca porque los estomas se cierran rápidamente para evitar que se produzca demasiada deshidratación, y terminan capturando cantidades relativamente pequeñas de CO₂ (Brodrribb y Hill, 2000).

Una de las probables razones por las cuales un biotipo resistente sea más eficiente que el susceptible en el uso del agua, puede ser debido a menor eficiencia en la absorción del flujo de agua por la corriente transpiratoria y por el menor tiempo de apertura estomática (Ferreira et al., 2009).

Considerando que a mayor acumulación de materia seca, mayor número de macollos, floración anticipada, mayor tiempo de apertura estomática y captura de CO₂, mayor producción de semillas y menor ciclo son características importantes que pueden ser utilizadas como herramienta en el manejo y control de la resistencia, la adopción de prácticas culturales que favorecen al biotipo de raigrás sensible al glifosato podrá ser una estrategia eficiente para manejar áreas con resistencia (Ferreira et al., 2009).

En lo que respecta a la diferencia en la respuesta frente a aplicaciones de glifosato, con el fin de diferenciar a los biotipos susceptibles de los biotipos resistentes Ferreira et al. (2006) verificaron que el biotipo susceptible y el resistente absorben el glifosato en la misma intensidad. Observaron una importante diferencia en la traslocación del glifosato marcado con ¹⁴C entre los biotipos resistentes y los susceptibles. El biotipo resistente presentó mayor acumulación de glifosato en la hoja después de 64 horas de la aplicación del producto, en tanto el susceptible la mayor acumulación fue en las raíces. Estos autores evaluando la capacidad de exudación radicular de dos biotipos de raigrás, no observaron diferencias entre ellas.

La diferencia entre los biotipos resistentes y susceptibles se encontró en la variación de la respuesta de biotipos de raigrás sensible y resistente a diferentes dosis de glifosato que indico un factor de resistencia (FR) de 16,8. Eso significa que el raigrás resistente puede requerir de una dosis de glifosato de hasta 16,8 veces mayor que el sensible para observar el mismo efecto. La aplicación secuencial de dosis de glifosato, practica eficiente sobre especies de difícil control, no presento aumento satisfactorio en el control de raigrás

resistente. En general se observa que el tiempo necesario para que ocurra la muerte del biotipo resistente, en respuesta a herbicidas gramínicos, es mayor que aquella requerida para biotipos sensibles (Ferreira et al., 2009).

Esto concuerda con los resultados obtenidos por el trabajo de Roman et al. (2004), donde se realizaron distintos tratamientos en base a distintas dosis de glifosato y otros herbicidas evaluando el control en tres momentos diferentes después de las aplicaciones, estos se observan en el cuadro 5.

Cuadro No. 5: Control provocado por dosis crecientes de glifosato y dos herbicidas glufosinato, haloxyfop-r, diclofop y paraquat, aplicados sobre un biotipo de raigrás (*Lolium multiflorum*) resistente y uno sensible.

Producto	Dosis (g ha)	Toxicidad %					
		Biotipo Sensible			Biotipo Resistente		
		7 DDA ¹	14 DDA	25 DDA	7 DDA	14 DDA	25 DDA
1) Testigo	0	0 b ^{2/}	0 b	0 b	0 e	0 d	0 e
2) Glifosato	360*	90 a	100 a	100 a	0 e	0 d	0 e
3) Glifosato	720*	95 a	100 a	100 a	6 d e	14 c	12 d
4) Glifosato	1440*	95 a	100 a	100 a	11 d	20 c	15 d
5) Glifosato	2880*	95 a	100 a	100 a	25 c	40 b	30 c
6) Glifosato	5760*	95 a	100 a	100 a	38 b	48 b	45 b
7) Glufosinato	400	100 a	100 a	100 a	95 a	100 a	100 a
8) Haloxyfop-r	60	95 a	100 a	100 a	90 a	100 a	100 a
9) Diclofop	284	95 a	100 a	100 a	90 a	100 a	100 a
10) Paraquat	400	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

*Dosis en g e.a. ha⁻¹

1/ Días después del tratamiento; 2/ medias seguidas por la misma letra, en la columna, no difieren entre sí por el test de Duncan con 5% de probabilidad.

2.4.3 Manejo del raigrás resistente al glifosato

Cuando se detecta en una chacra una posibilidad de ocurrencia de resistencia al glifosato de las poblaciones de raigrás presentes, es importante tomar una serie de medidas, tanto para prevenir la resistencia en el caso de que no haya surgido aún, como también para erradicar las plantas resistentes en

caso que se haya detectado la misma. Christoffoleti et al. (2009) menciona una serie de manejos:

- Monitorear el cultivo después de la aplicación del herbicida eliminando los focos iniciales de resistencia evitando una caída de semillas, que produzca una resiembra.
- Evitar la diseminación del raigrás resistente, evitando la utilización de semilla de raigrás para la siembra como forrajera originaria de la limpieza de semilla de cereales. Esta práctica puede favorecer la diseminación de semillas resistentes.
- Utilizar cultivos de invierno con fin de ciclo más precoz, controlando así el raigrás en un estadio de desarrollo más joven y como consecuencia más susceptible.
- Realizar resiembra. Como probablemente el raigrás resistente al glifosato presenta menor adaptación ecológica, es de esperar que, controlando las plantas de biotipo resistente en el área se está haciendo una siembra de plantas susceptibles, hay un enriquecimiento del banco de semillas de plantas susceptibles y una disminución del banco de semillas de plantas resistentes. Esta práctica, en tanto no fue validada hasta el momento a través de la experimentación agrícola.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 LOCALIZACIÓN

Los experimentos se instalaron en los departamentos de Paysandú, Río Negro y Soriano, eligiéndose establecimientos con larga historia de cero laboreo, allí se seleccionaron chacras las cuales presentaban infestaciones generalizadas de raigrás espontáneo. También se utilizó como criterio de selección de estas chacras la historia agrícola y el manejo de las mismas, principalmente dosis de glifosato y frecuencia de aplicaciones.

Teniendo en cuenta estos criterios se seleccionaron las siguientes chacras, cuya localización se observan en la siguiente figura.



Figura No. 2: Localización de los sitios donde se instalaron los experimentos.

La historia de chacra de cada sitio donde se instalaron los experimentos se describen en forma detallada a continuación, indicando la rotación, frecuencias de aplicaciones y dosis de glifosato utilizadas.

Sitio 1:

Rotación: 2004-P1/2005-P2/2006-P3/2007-Barbecho-Soja1°/2008-Trigo-Soja2°/2009-Cebada-Maíz2°/2010-Barbecho

Cuadro No. 6: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
2007	4
	2
2008	3
	2.5
2009	2
	2.5
2010	5
	4

Sitio 2:

Rotación: 2006-P1/2007-P2/2008-P3/2009-Barbecho-Soja1°/2010-Barbecho

Cuadro No. 7: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
2009	2
	2
	3
2010	4
	5
	4

Sitio 3:

Rotación: 2005-P1/2006-P2/2007-P3-Soja1°/2008-Cebada-Soja2°/2009-Trigo-Soja2°/2010-Barbecho.

Cuadro No. 8: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
2008	3
	2.5
	2.5
2009	3
	3
	4
	4
2010	3
	3
	3

Sitio 4:

Rotación:2000-Trigo-Barbecho/2001-Trigo-Barbecho/2002-Trigo-Soja2°/2003-Barbecho-Girasol1°/2004-Brbecho-Soja1°/2005-Trigo-Soja2°/2006-Brabecho-Maiz1°/2007-Brabecho-Soja1°/2008-Trigo-Soja2°/2009-Barbecho-Maiz1°/2010-Barbecho-Soja1°.

Cuadro No. 9: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
20/01/2000	4
21/06/2000	2
1/03/2002	5
15/06/2002	3
14/12/2002	2.5
23/01/2003	3
13/08/2003	3
5/05/2004	1
11/09/2004	3
7/11/2004	2.5
12/12/2004	3
12/02/2005	3
24/05/2005	3
25/01/2006	2
19/07/2006	3.5
13/09/2006	3
24/11/2007	1.5
26/01/2008	1.5
20/01/2009	2.5
7/08/2009	2
11/09/2009	2
6/04/2010	1.5
16/09/2010	2
22/11/2010	2.5
3/01/2011	1.5
22/01/2011	1.5

Sitio 5:

Rotación: 2003-Barbecho-Soja1°/2004-Cebada-Soja2°/2005-Barbecho-Soja1°/2006-Cebada-Soja2°/2007-Trigo-Soja2°/2008-Trigo-Soja2°/2009-Barbecho-Soja1°/2010-Barbecho.

Cuadro No. 10: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
13/07/2003	3.5
15/10/2003	3.5
15/12/2003	3
15/01/2004	3
01/06/2004	3
20/07/2004	3
13/01/2005	3
13/08/2005	3
19/12/2005	5
01/07/2006	4
02/01/2007	4
20/01/2008	1.8
30/05/2008	1
30/12/2008	4
25/09/2009	5
06/12/2009	5

Sitio 6:

Rotación: 2002-Barbecho-Soja1°/2003-Barbecho-Soja1°/2004-Barbecho-Maiz1°/2005-Brabecho-Soja1°/2006-Cebada-Soja2°/2007-Trigo-Soja2°/2008-Trigo-Soja2°/2009-Trigo-Soja2°/2010-Barbecho.

Cuadro No. 11: Fecha de aplicación y dosis de glifosato.

Fecha	Glifosato L/ha
15/02/2001	4
11/05/2001	4
13/12/2001	6
11/11/2002	4
12/12/2002	3.5
24/02/2003	2.5
29/08/2003	3.5
05/11/2003	3.5
03/12/2003	3.8
27/01/2004	2.5
14/07/2004	3
16/09/2004	2
20/03/2005	5
18/08/2005	3
31/10/2005	4
02/12/2005	4
20/01/2006	4
15/05/2006	4
04/12/2006	4
29/01/2007	3
01/12/2007	3.5
14/05/2008	1.8
07/01/2009	1.8
13/02/2009	4
02/01/2010	6
28/09/2010	4
25/05/2010	4

3.2 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con tres repeticiones y siete dosis de herbicida y el testigo sin aplicación, teniendo cada parcela 2 x 5 m. Los tratamientos realizados en cada uno de los experimentos fueron de: 500, 1.000, 2.000, 4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹ de glifosato. El glifosato utilizado para el experimento fue Touchdown, formulado con sal potásica de N-fosfometil glicina, el cual presenta una concentración de 500 g e.a. por litro.

3.3 METODOLOGÍA

Con el objetivo de caracterizar el desarrollo de las plantas a tratar se estimó materia seca total de la parte aérea y radical de la población de raigrás que formaba parte de la comunidad de malezas presentes en las chacras. Para ello, previo a la realización de las aplicaciones se extrajeron 5 muestras al azar

utilizando un cuadro de 30 x 30 cm. Las plantas fueron lavadas cuidadosamente con agua sobre una rejilla para evitar pérdidas, luego se separó la parte aérea de la raíz y se secaron por separado en un horno a 60 °C durante 72 horas.

Las aplicaciones se realizaron con un equipo de CO₂, provisto de picos Teejet AI 110 02, utilizando un volumen de 110 L.ha⁻¹. Al momento de realizar las aplicaciones se registraron las condiciones climáticas, las mismas fueron tomadas con un anemómetro kestrel 3.000. Estas se detallan a continuación en el cuadro 12.

Cuadro No. 12: Condiciones ambientales al momento de aplicación.

Variables	Sitios					
	1	2	3	4	5	6
Día	27/08/10	27/08/10	27/08/10	27/08/10	17/08/10	17/08/10
Hora	9:45	10:15	9:15	11.10	9.45	12.45
Temp (°C)	15,3	14,5	13,3	16,3	16	22
HR (%)	95	95	85	75	65	51
Vient (Km.h ⁻¹)	10	9,6	5,6	9,8	9,8	10

Las evaluaciones de control se realizaron a los 10, 20, 30 días post aplicación (DPA). Las fechas correspondieron para los sitios 1, 2, 3 y 4 al 07/09, 17/09 y 27/09, y para los sitios 5 y 6 al 27/08, 07/09 y 17/09. La escala que se uso fue: de control pobre, inferior a 59%, control regular entre 60 a 79%, bueno de 80 a 94% y excelente superior a 95%. Estas lecturas fueron realizadas mediante una escala de estimación visual.

3.4 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza utilizándose dos modelos, uno en el caso del análisis de los efectos de la dosis en cada sitio y otro comparando efecto de dosis en las distintas localizaciones. Los valores de porcentaje de control, fueron transformados a arco seno raíz de x/100 según lo indicaron los test de normalidad. Las medias se compararon por el test de MDS al 5 % de probabilidad.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente se presentan los resultados de las determinaciones de materia seca total, aérea, radical y la relación parte aérea:parte radical (PA:PR) promedio de las 5 sub muestras tomadas en cada sitio al momento de realizar las aplicaciones, con las que como se comentara, se pretendió caracterizar el desarrollo de las poblaciones en los diferentes sitios en estudio (Cuadro 13).

Cuadro No. 13: Biomasa aérea, radical, total y relación parte aérea:parte radical del raigrás en los diferentes sitios en el momento previo a la aplicación.

Biomasa	Sitio					
	1	2	3	4	5	6
	Biomasa g MS m ⁻²					
Aéreo	239	472	128	317	267	283
Radical	222	222	100	261	183	150
Total	461	694	228	578	450	433
PA:PR	1,08	2,13	1,28	1,21	1,45	1,89

Del cuadro anterior se puede observar una importante variabilidad tanto en los valores de materia seca total así como en los de parte aérea y radical, lo cual se puede adjudicar a los diferentes manejos previos en cada sitio por parte de los productores, así como también a los diferentes ambientes como tipo de suelo y precipitaciones entre otras.

En lo que respecta a la relación parte aérea y parte radical (PA:PR), se observa que las diferencias existentes son menores, pudiendo agrupar a los diferentes sitios en 2 estratos, por un lado el 2 y 6, con valores en el entorno de 2 y por otro lado el 1, 3, 4 y 5, con valores menores a 1,45.

A continuación se adjuntan las fotos de cada sitio previo a las aplicaciones y al momento de ser realizados los muestreos.



Figura No. 3: Estado del raigrás al momento de aplicación en los correspondientes sitios.

Se presentan y discuten primero los resultados del análisis estadístico de cada chacra individualmente y se realiza la comparación entre dosis para cada chacra y en cada fecha de evaluación.

4.1 RESULTADOS DE CONTROL POR SITIO

4.1.1 Evaluación realizada a los 10 días post aplicación

A los diez días después de la aplicación se realizaron las evaluaciones de todos los sitios, los resultados se presentan en el cuadro 14.

Cuadro No. 14: Resultados de la evaluación a los 10 días después de la aplicación.

Sitio (g.e.a.ha ⁻¹)	1	2	3	4	5	6
	Porcentaje de control (%)					
500	7 d	30 e	18 f	12 e	20 d	42 b
1.000	33 c	32 e	25 ef	20 de	32 c	50 ab
1.500	60 b	38 d	28 e	30 d	33 c	53 ab
2.000	76 ab	50 c	43 d	47 c	40 bc	57 ab
4.000	87 a	67 b	65 c	63 b	50 ab	60 a
6.000	90 a	73 a	80 b	77 a	50 ab	63 a
8.000	93 a	77 a	92 a	83 a	53 a	63 a
C.V %	15	4.8	6.3	9.4	10.3	10.6
Pr>F	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002	0.0960
MDS	14.4	4	5	7.2	7	9

Medias seguidas de letras iguales en la columna no difieren entre sí por el test de DMS a 5% de significancia.

Tal como se observa en el cuadro 14, con la dosis de 500 g hay una gran amplitud de control, pero no se alcanza el 50%, por lo tanto con esta dosis se logra un control pobre. En lo que respecta al control obtenido con la dosis de 1.000 g se observa que solo en el sitio 6 se alcanza el 50%, lo cual es coherente con el control obtenido en ese mismo sitio a 500 g ya que fue en el que se obtuvo mejor resultado. Cuando se evaluó la dosis de 1.500 g se sigue destacando el sitio 6, 53%, el cual es superado únicamente por el sitio 1 con un 60% de control, mientras que los restantes se sitúan en el rango de 28 a 38%. Con la dosis de 2.000 g, se observa que los sitios tienen buena respuesta teniendo en cuenta la dosis aplicada.

El 1 alcanzó un 76% de control, seguido por el 6 con un 57%, mientras que los sitios 2, 3, 4 y 5 se sitúan entre 40 a 50%, los cuales son controles pobres. Siguiendo con el análisis se observa que con la dosis de 4000 g el único sitio que presenta un control bueno (87%) es el 1 mientras que los

restantes no alcanzan el 70%. En lo que respecta a la dosis de 6.000 g, considerada muy elevada, se observa que los sitios 1 y 3 son los únicos que alcanzaron un control bueno, 90 y 80% respectivamente, mientras que en los restantes los controles fueron bajos, destacándose el sitio 5 el cual apenas alcanza el 50%. Con las dosis de 8.000 g, se le suman al sitio 1 y 3, el sitio 4 los cuales tienen control bueno, mientras que los demás permanecen muy bajos excepto el sitio 2 que alcanzó un 77% de control.

Al analizar estadísticamente las diferentes dosis evaluadas en cada uno de los sitios, se determinaron para todos los sitios que no hubo diferencias significativas para los porcentajes de control de las dosis de 6.000 y 8.000 g, excepto en el sitio 3 en la dosis de 6.000.

Es importante entonces destacar que los controles a los 10 días después de aplicación con dosis usadas comercialmente, no se deberían esperar buenas respuestas debido a que este periodo es insuficiente como para alcanzar controles excelentes, lo cual se explica por las velocidades de control. No sucede lo mismo a altas dosis ya que se aceleraron los procesos de control. Formoso (2006), obtuvo similares resultados, ya que con dosis de 1.440 g e.a.ha⁻¹, alcanzo controles en el mejor de los casos de 74%, en chacras con una disponibilidad de 1.160 kg de MS ha⁻¹, y con dosis de 2.880 g, obtuvo controles de 82%.

4.1.2 Evaluación realizada a los 20 días después de la aplicación

Es importante destacar que en la evaluación a los 20 días post aplicación los controles fueron muy superiores que los evaluados a los 10 días, evidenciado por el tiempo necesario mínimo para que se visualice el efecto del control.

Los resultados presentados en el cuadro 15, indican que a la dosis de 500 g únicamente en el sitio 6 se logra obtener un control superior al 50%, mientras que en los restantes se ubican entre 22 y 40%. A la dosis de 1.000 g se destacan los sitios 5 y 6 que lograron un control superior al 70%. Con la dosis de 1.500 g se destacan los mismos sitios que en la dosis anterior, a los cuales se le suma el sitio 1, aumentando el control para esta dosis, que en este caso es mayor al 83%, mientras que los sitios 2,3 y 4 no superan el 50%. En lo que respecta a la dosis de 2.000 g siguen siendo superiores los sitios 1, 5 y 6, logrando el sitio 1 y 5 un control excelente de 92 y 96% respectivamente, mientras que el 2, 3 y 4 están en el rango de 62 a 77%. Para la dosis de 4.000 g los sitios 1, 3 y 5 tienen un excelente control, en el 6 es casi excelente siendo de 93%, mientras que en el 2 y el 4 los valores son levemente inferiores, 88% y 78% respectivamente. Con la dosis de 6.000 g ya casi todos alcanzan un

control excelente, excepto los sitios 2 y 4 lo cual se mantiene para la dosis de 8.000 g.

Cuadro No. 15: Resultados de la evaluación a los 20 días después de la aplicación.

Sitio	1	2	3	4	5	6
(g.e.a.ha ⁻¹)	Porcentaje de control (%)					
500	33 c	32 d	22 f	33 e	40 d	53 d
1.000	53 c	40 cd	33 e	37 e	88 c	78 c
1.500	83 c	45 c	50 d	48 d	93 bc	87 bc
2.000	92 ab	63 b	77 c	62 c	96 b	89 bc
4.000	99 a	88 a	95 b	78 b	97 ab	93 ab
6.000	99 a	92 a	98 ab	93 a	100 a	96 ab
8.000	99 a	94 a	99 a	94 a	100 a	98 a
C.V %	13	8	6.7	6.7	5.7	8.6
Pr>F	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
MDS	15.6	7.8	7	6.5	7.6	10.6

Medias seguidas de letras iguales en la columna no difieren entre sí por el test de DMS a 5% de significancia.

En este caso con dosis comercialmente utilizadas a la hora de iniciar un periodo de barbecho, comienzan a notarse buenos resultados sobre todo con aquellas de 1.500 a 2.000 g, por lo tanto hay que tener en cuenta la relación existente entre dosis utilizada, días post aplicación y estado en que se encuentra la maleza al momento de la aplicación, a efectos de definir los resultados que se pueden alcanzar. En base a estos resultados son necesarios al menos 20 días para lograr un buen control, sumándole a este periodo el requerido para la descomposición de la materia seca, lo que define que no haya inmovilización de nutrientes al momento de la siembra, así como también un periodo suficiente como para lograr acumular agua en el perfil del suelo, lo que determinara la duración del periodo de barbecho. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Formoso (2006), ya que para dosis de 1.440 y 2.880 g e.a ha⁻¹ en todas las situaciones supero el 69% de control, siendo el mayor control de 100% excepto en chacras que habían sido pastoreadas.

4.1.3 Evaluación realizada a los 30 días post aplicación

En la evaluación a los 30 días post aplicación presentada en el cuadro 16, se observa, que con la dosis de 500 g solo se obtuvo un control bueno en el sitio 6, por lo tanto se puede concluir que esta dosis para iniciar un barbecho no es suficiente como para tener buenos resultados. Con respecto a la dosis 1.000 g de glifosato los resultados no son uniformes en los diferentes sitios ya que en los experimentos de los sitios 5 y 6 se obtuvieron controles excelentes de 96 y

97% respectivamente mientras que de los restantes el que mayor porcentaje obtuvo fue el sitio 1 que alcanzó el 70%. Cuando se evaluó la dosis de 1.500 g se obtuvieron resultados similares que con la dosis inferior a esta. Los controles para las dosis en los sitios 5 y 6 fueron excelentes, el sitio 1 alcanza el 91% y los restantes estuvieron en el entorno de los 53 a 77%. A la dosis de 2.000 g se comienzan a homogeneizar los controles obtenidos en los diferentes sitios, con controles buenos, sitio 2, 3 y 4, a excelentes. Ya a una dosis de 4.000g se obtuvieron controles excelentes en todos los sitios excepto en el 2, el cual alcanzo el 90%. Luego a partir de 6.000 g se obtuvieron controles excelentes, sin presentar diferencias significativas con la dosis de 8.000g de glifosato excepto el sitio 2, que si bien el control fue excelente para ambas dosis, presento diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro No. 16: Resultados de la evaluación a los 30 días después de la aplicación.

Sitio	1	2	3	4	5	6
(g.e.a.ha ⁻¹)	Porcentaje de control (%)					
500	50 c	37 f	37 f	43 e	78 c	85 c
1.000	70 c	47 f	48 e	58 d	96 b	97 b
1.500	91 b	53 e	68 d	77 c	97 ab	97 b
2.000	95 ab	78 d	87 c	92 b	99 ab	98 b
4.000	100 a	90 c	95 b	98 a	100 a	98 b
6.000	100 a	96 b	98 ab	100 a	100 a	100 a
8.000	100 a	99 a	99 a	100 a	100 a	99 a
C.V %	12.1	5.4	5.6	5.2	5.2	3.8
Pr>F	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
MDS	16.1	5.8	6.4	6.5	7.7	5.6

Medias seguidas de letras iguales en la columna no difieren entre sí por el test de DMS a 5% de significancia.

Roman et al. (2004), en ensayos sobre biotipos resistentes al glifosato observaron que aún con dosis de 5.760 g e.a.ha⁻¹, no alcanzaron controles que superaran el 50%. Este punto es de suma importancia ya que en este experimento no se presentaron estos resultados, lo cual indicaría que aún estamos en presencia de biotipos susceptibles.

Sería de gran relevancia que se siguieran monitoreando las poblaciones de raigrás espontaneo en las chacras con importante historia de siembra directa, ya que en los viñedos de Valparaíso la resistencia en *L. multiflorum* se diagnosticó luego de 10 años de haber comenzado a utilizar esta tecnología.

La evaluación a los 30 días después de la aplicación reafirma lo mencionado anteriormente, ya que con dosis de 1.500 y 2.000 g, usadas a nivel

de chacra comercial, se alcanzan resultados muy buenos, sin descuidar que en los sitios 2, 3 y 4 los resultados no fueron los mejores, esto sin duda está afectado por el estado fenológico en el que se encontraban las plantas y la disponibilidad de materia seca que había de raigrás al momento de la aplicación en los sitios 2 y 4. Devlin et al. (1991), Klingaman et al. (1991), Blackshaw y Harker (1997) en este sentido sostuvieron que a medida que las malezas incrementan su tamaño, se hacen menos susceptibles a los herbicidas. Esto no sucedió en el sitio 3 donde el menor control se debió a que esta chacra se encontraba pastoreada, por lo tanto había menor acumulación de materia seca determinando una menor exposición de superficie foliar expuesta al momento de la aplicación, lo que afecta produciendo una menor intercepción del herbicida, lo cual condiciona los resultados. Estos mismos resultados determinó Formoso (2006), cuando evaluó el control de raigrás con diferentes dosis de glifosato sobre chacras con raigrás pastoreadas.

Sería conveniente iniciar el período de barbecho con el raigrás en etapas tempranas de su ciclo de desarrollo y posiblemente con una disponibilidad de materia seca que no supere $2.500 \text{ kg MS.ha}^{-1}$, lo que favorecería la eficiencia de control. Por otro lado se podría considerar como una alternativa en alguna circunstancia, ya que en la agricultura los tiempos muchas veces son cortos y juegan en contra, la opción de aumentar las dosis de glifosato sin llegar a excesos, para acelerar los procesos, tanto de detención del crecimiento, como de senescencia y descomposición de la materia seca y así de esta forma, acelerar procesos cuando los barbechos son más cortos. Lo mencionado tendría como consecuencia, una anticipación de la fecha de siembra, lo cual es de suma importancia ya que sembrar en fecha es de las medidas de manejo de mayor relevancia en el resultado final.

Estos resultados se obtuvieron en situaciones contrastantes debido a los diferentes ambientes donde se encontraban, así como también la historia de cada una de las chacras, con acumulaciones de biomasa total que variaron de los 228 a 694 kg MS.m^{-2} . Así como en las condiciones ambientales en las cuales se realizaron las aplicaciones, se debe destacar que las mismas no fueron limitantes ya que en todos los casos las plantas se presentaban turgentes.

4.2 CONTROLES COMPARATIVOS ENTRE CHACRAS

Las respuestas que se obtuvieron se presentan en las figuras 4 a 24, donde se detallan los resultados del análisis estadístico. Se compararon los diferentes sitios para cada dosis de glifosato en las tres evaluaciones realizadas.

4.2.1 Evaluación a los 10 días post aplicación

Según se observa en la figura 4, con la dosis de 500 g, el control para todos los sitios resultó pobre ya que en ninguna de las chacras se alcanzó el 50% de control, de lo que se desprende que la misma es una dosis insuficiente para obtener resultados satisfactorios, como ya fue mencionado. No corresponde relacionar estos resultados a las condiciones ambientales al momento de aplicación ya que las mismas no fueron limitantes.

Estadísticamente se puede concluir, al observar de las figuras 4 a 10, que a dosis bajas el sitio 6 fue el que obtuvo mejores resultados, de 500g a 1.500g, pero en ningún caso fue excelente, sin embargo a dosis altas fue el sitio 1 el que obtuvo mejores resultados, siendo el porcentaje de control para el mismo superior a 85%, a partir de 4.000 g, el cual no puede cuantificarse un excelente control aún a la mayor dosis utilizada.

Al comparar los sitios a una misma dosis, a los 10 días post aplicación se determina que este período no es suficiente como para observar buenos controles, más aún a dosis bajas.

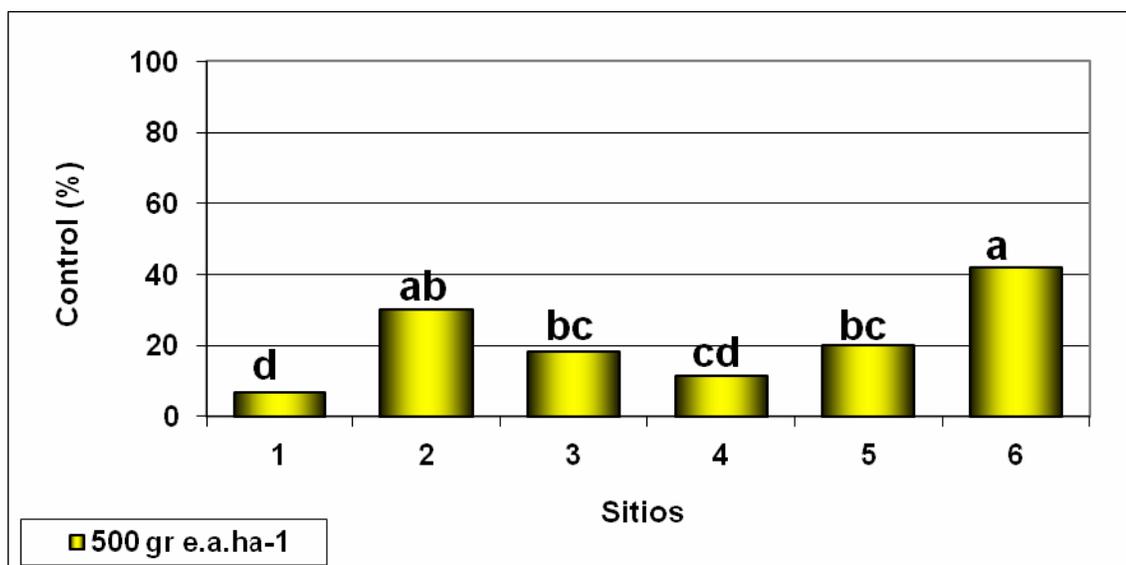


Figura No. 4: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

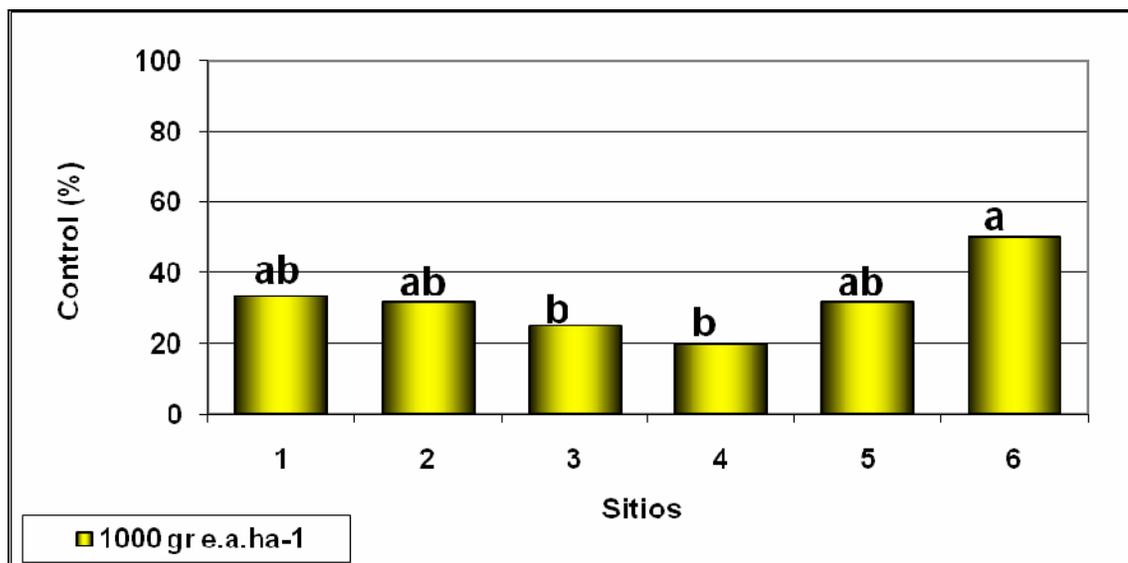


Figura No. 5: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

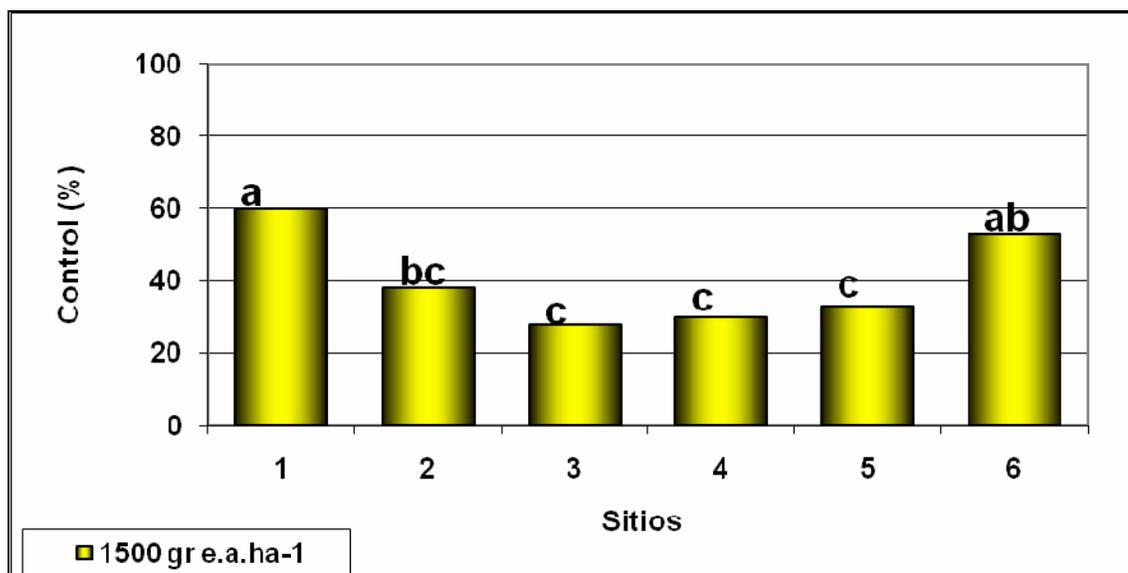


Figura No. 6: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

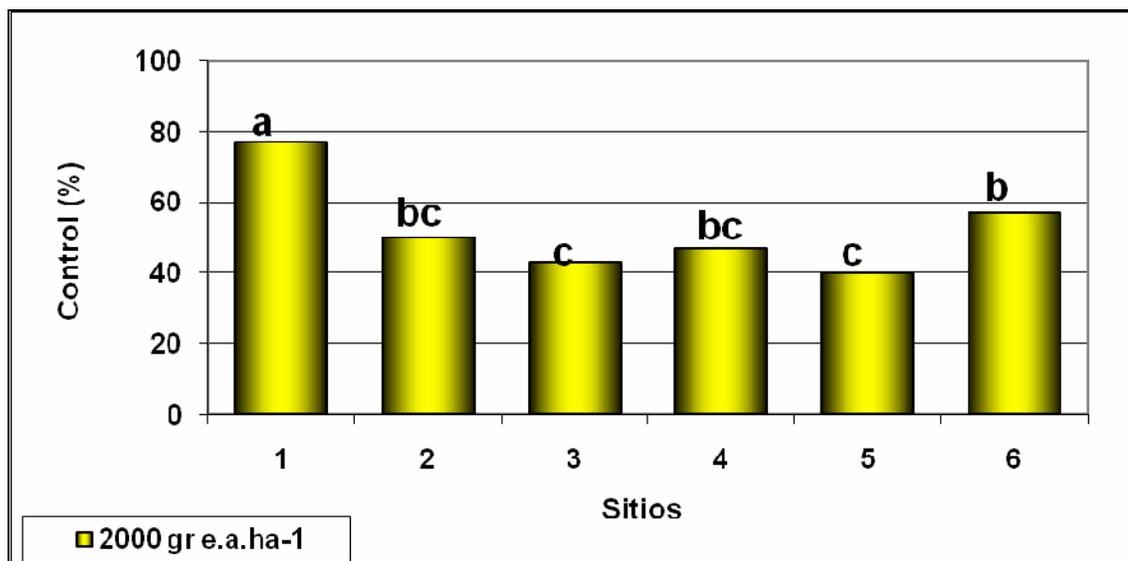


Figura No. 7: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

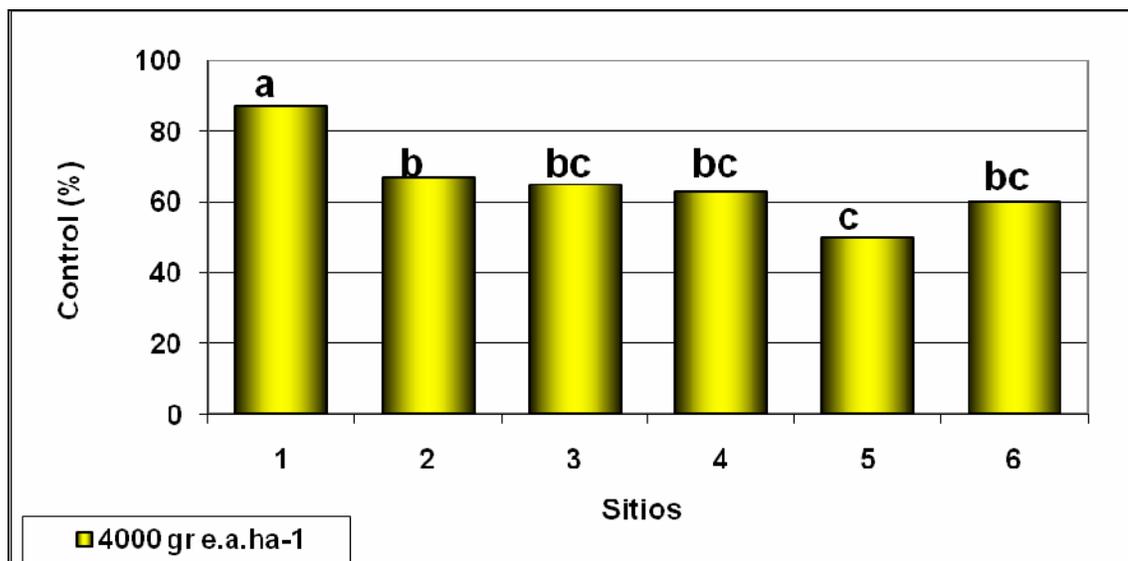


Figura No. 8: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

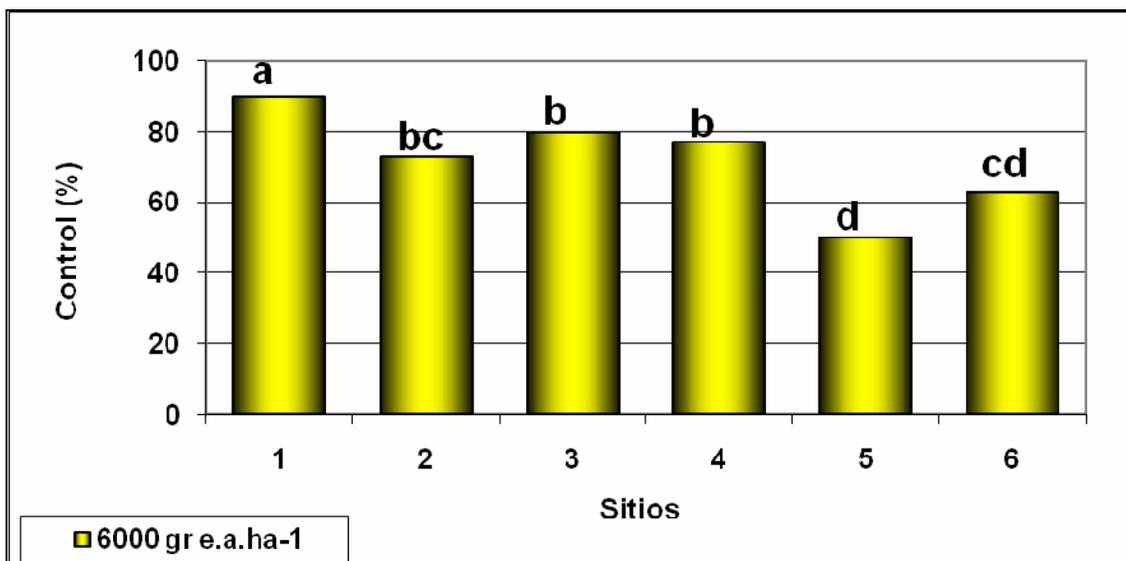


Figura No. 9: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

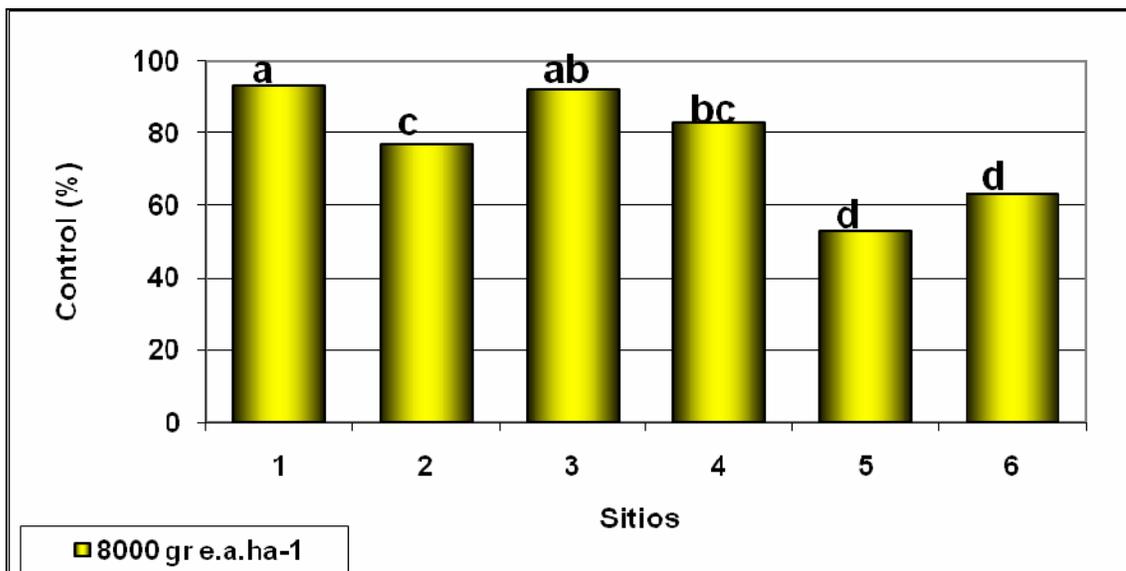


Figura No. 10. Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha⁻¹, a los 10 días post aplicación.

4.2.2 Evaluación a los 20 días post aplicación

Los resultados obtenidos a los 20 días post aplicación para las diferentes dosis se presentan en el cuadro 15.

Con respecto a la dosis de 500 g las diferencias entre los sitios comparados con la evaluación de los 10 días post aplicación disminuyen, aumentando el porcentaje de control, esto último sucede también para las demás dosis evaluadas. Manteniéndose los padrones de respuesta cuantificados en la evaluación realizada a los 10 días de la aplicación.

Con 20 días de barbecho ya se observa como dosis utilizadas en chacras comerciales comienzan a alcanzar una eficiencia de control satisfactoria, los que nos lleva a pensar en la importancia que tiene tener en cuenta la velocidad de reducción de crecimiento y muerte de la planta, con esto se quiere decir que no por el hecho de aplicar altas dosis se va a tener buenos resultados, sino que las respuestas están asociadas a el tiempo necesario para que la planta detenga su crecimiento y alcance la senescencia. Por lo tanto con dosis de 1.500 y 2.000 g y un periodo de barbecho mayor a 20 días se logran muy buenos resultados.

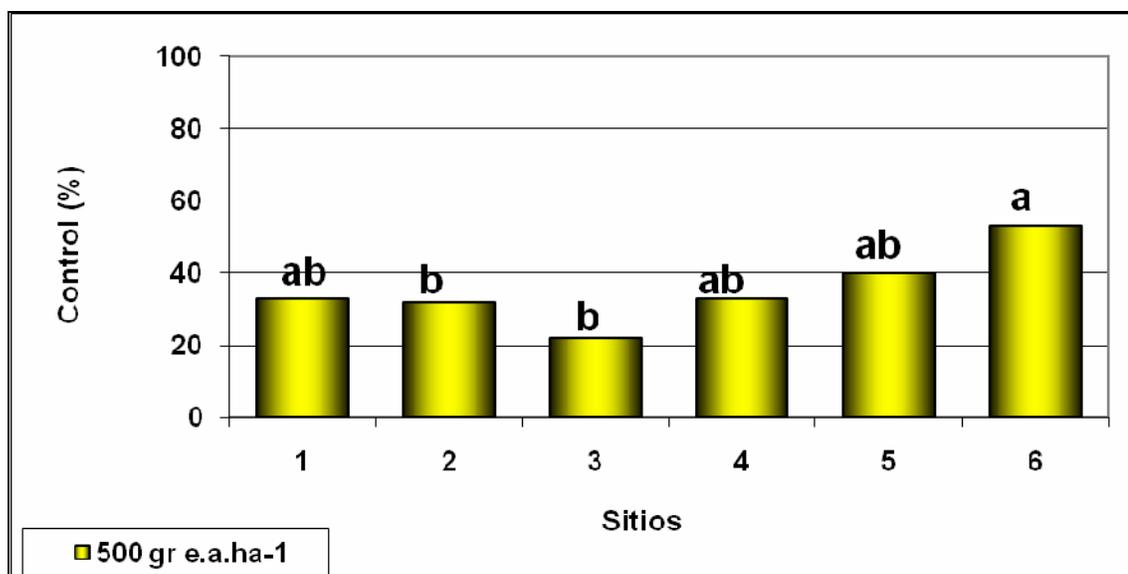


Figura No. 11: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

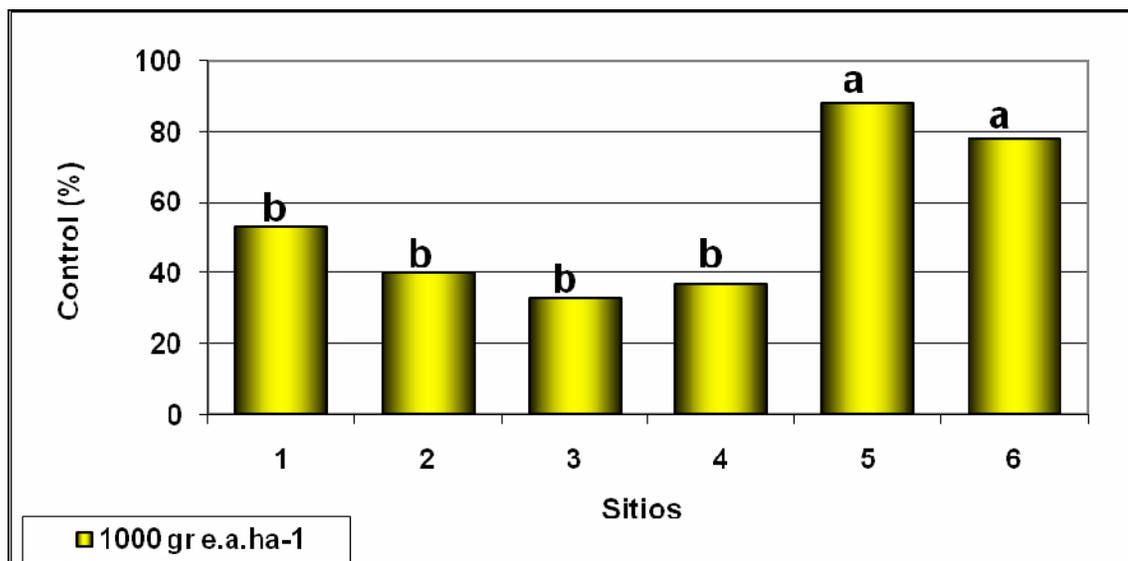


Figura No. 12: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

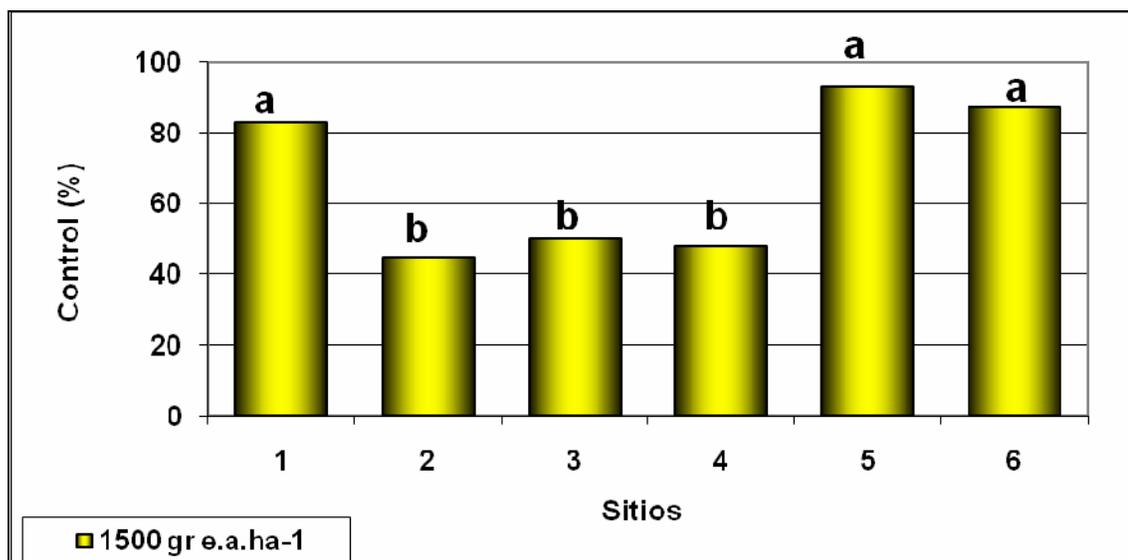


Figura No. 13: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

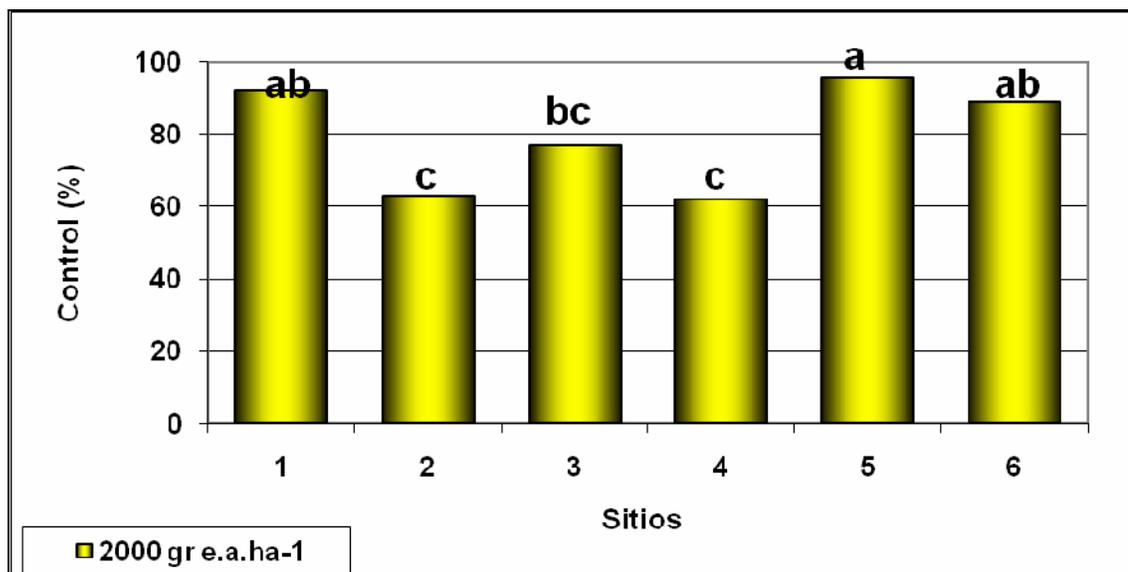


Figura No. 14: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

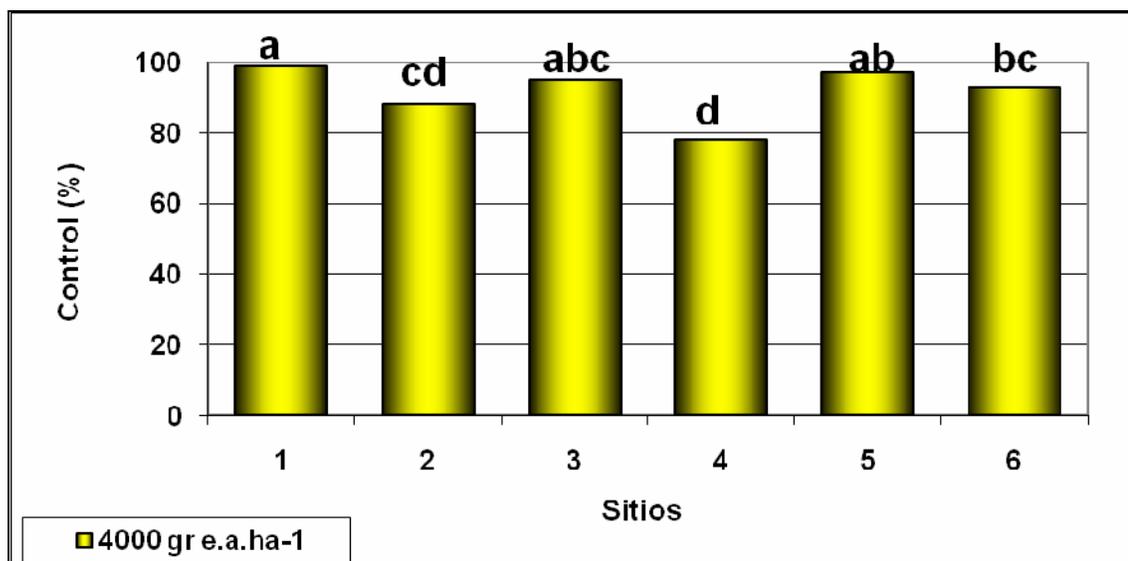


Figura No. 15: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

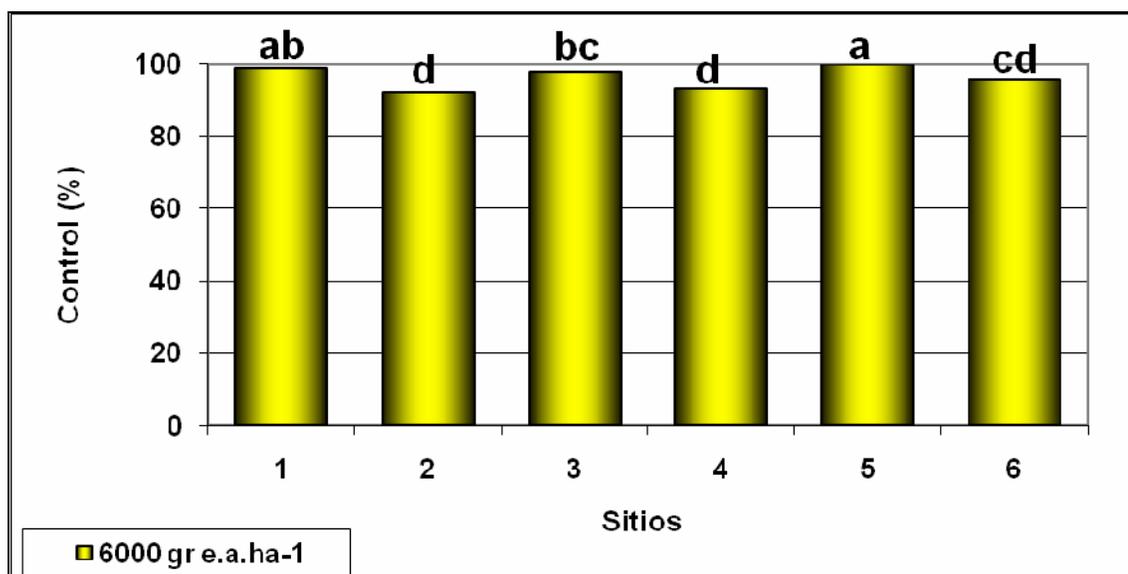


Figura No. 16: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

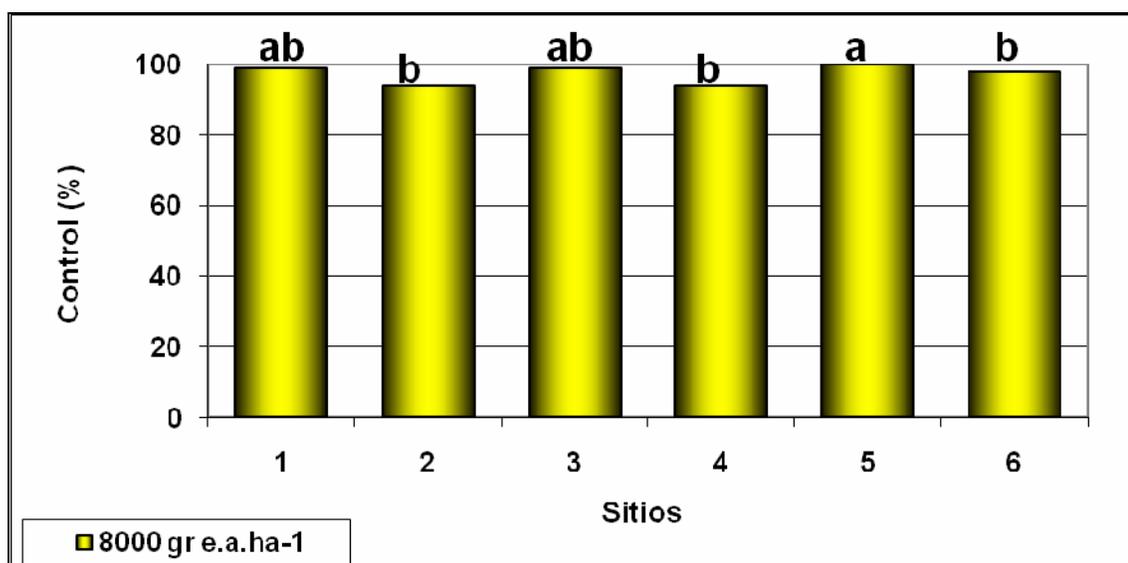


Figura No. 17: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha⁻¹, a los 20 días post aplicación.

4.2.3 Evaluación a los 30 días post aplicación

En las figuras 18 a 24, se presentan los resultados de las evaluaciones realizadas al mes de las aplicaciones para las diferentes dosis de glifosato en los distintos sitios.

Se observa como al aumentar las dosis disminuye la amplitud de las diferencias en el grado de control entre los sitios, lo cual también se destacó para las evaluaciones realizadas a los 20 días post aplicación. Al analizar los valores de las dosis de 500g los mismos se sitúan en un rango de 37 a 85%, a la dosis de 1.000g se sitúan en un rango de 47 a 97%, con la dosis de 1.500 g el rango es de 53 a 97%, para la dosis de 2.000 g el rango es de 78 a 99%, en el caso de la dosis de 4.000 g los controles van de 95 a 100%, con la dosis de 6.000 g, el rango de control es de 96 a 100% y finalmente con la dosis de 8.000 g el rango de control es muy acotado ya que es de 99 a 100%.

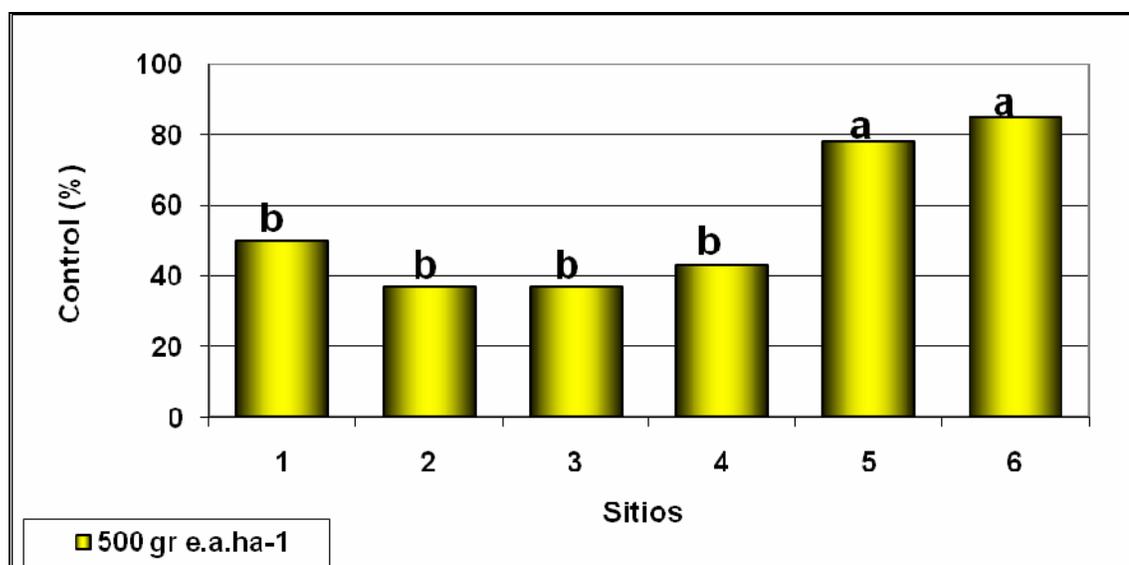


Figura No. 18: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 500 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

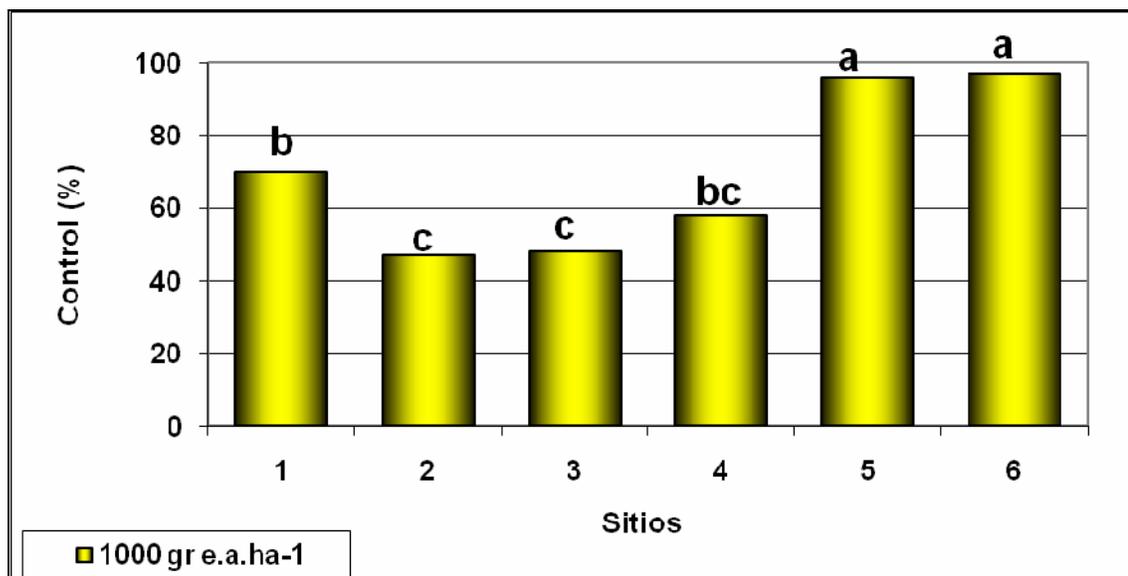


Figura No. 19: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.000 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

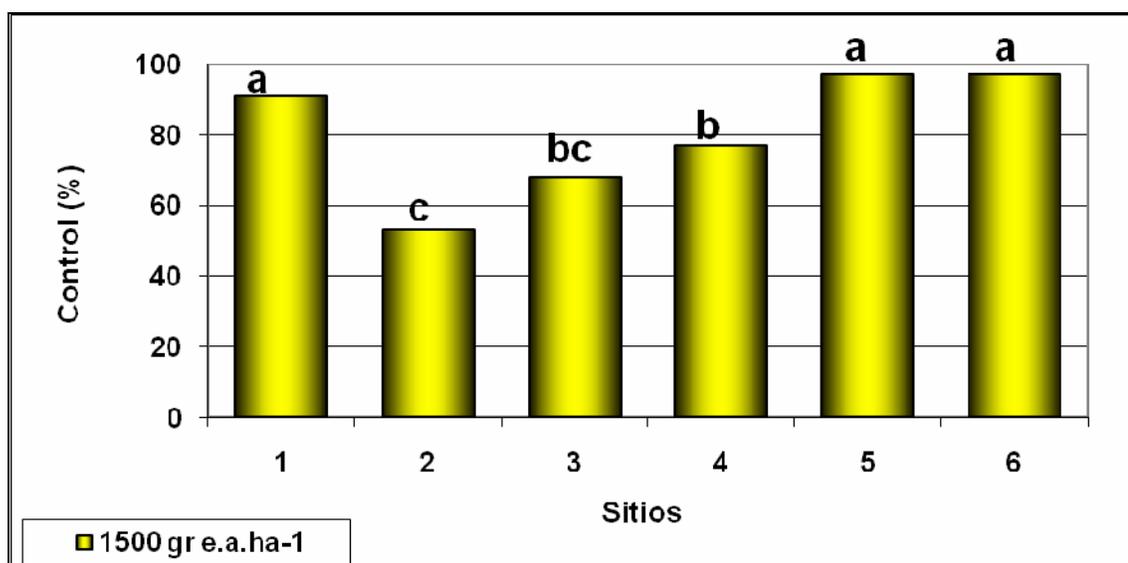


Figura No. 20: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 1.500 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

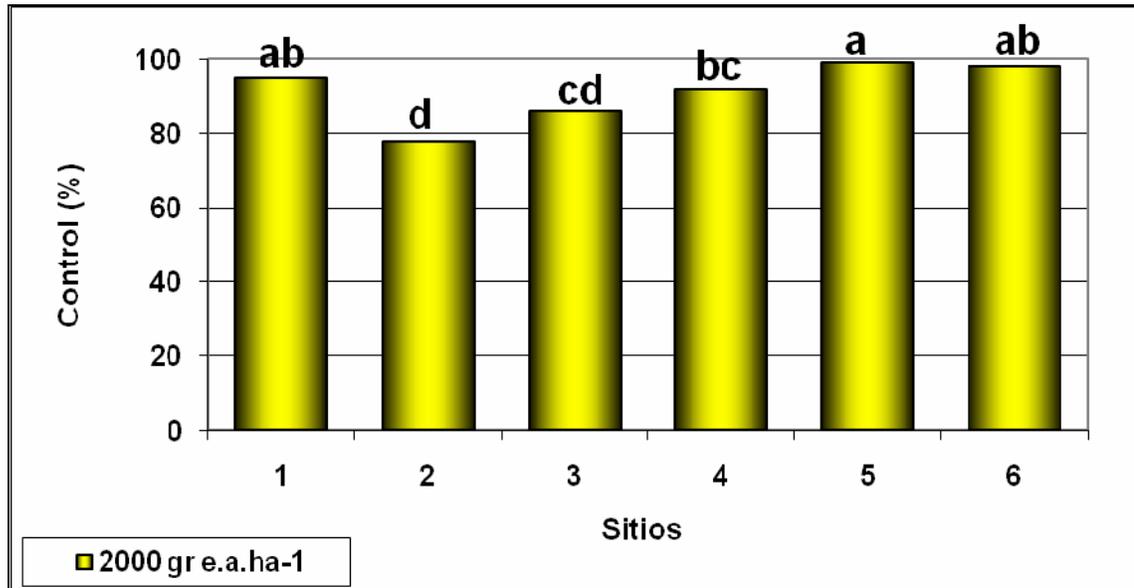


Figura No. 21: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 2.000 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

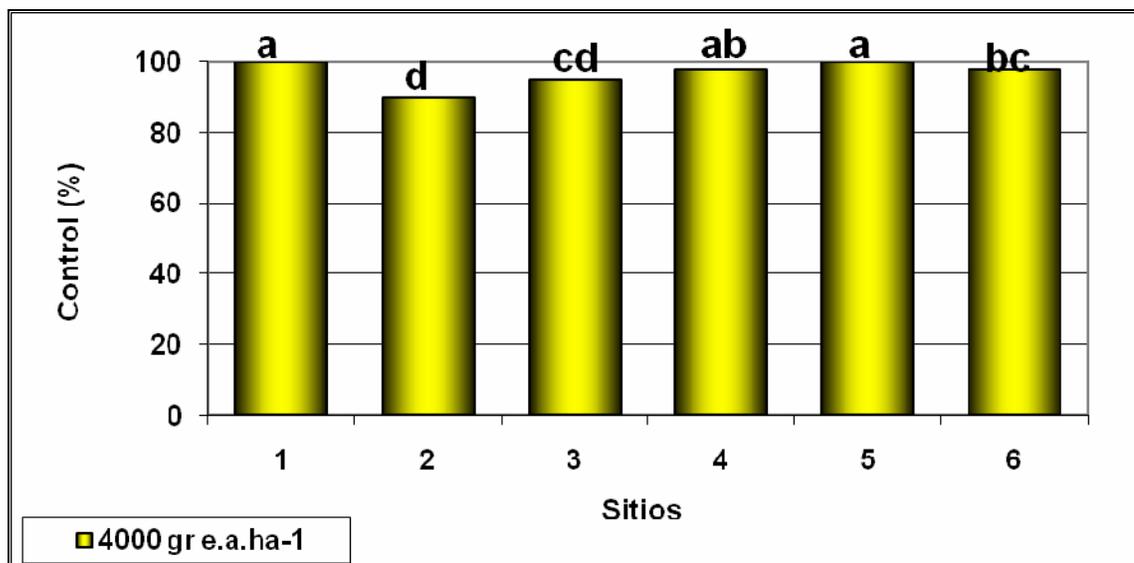


Figura No. 22: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 4.000 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

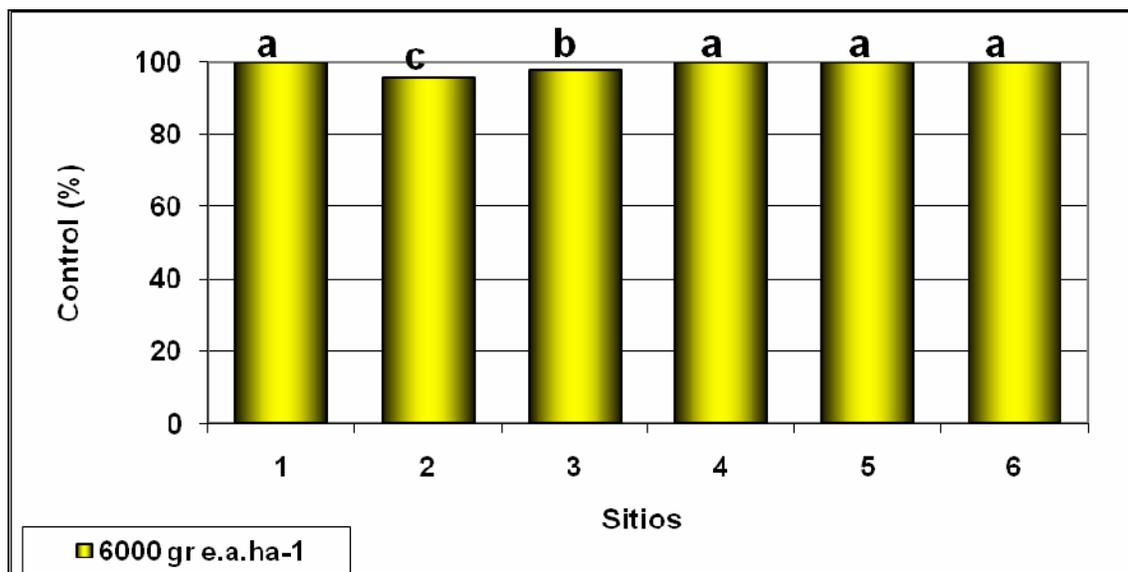


Figura No. 23: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 6.000 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

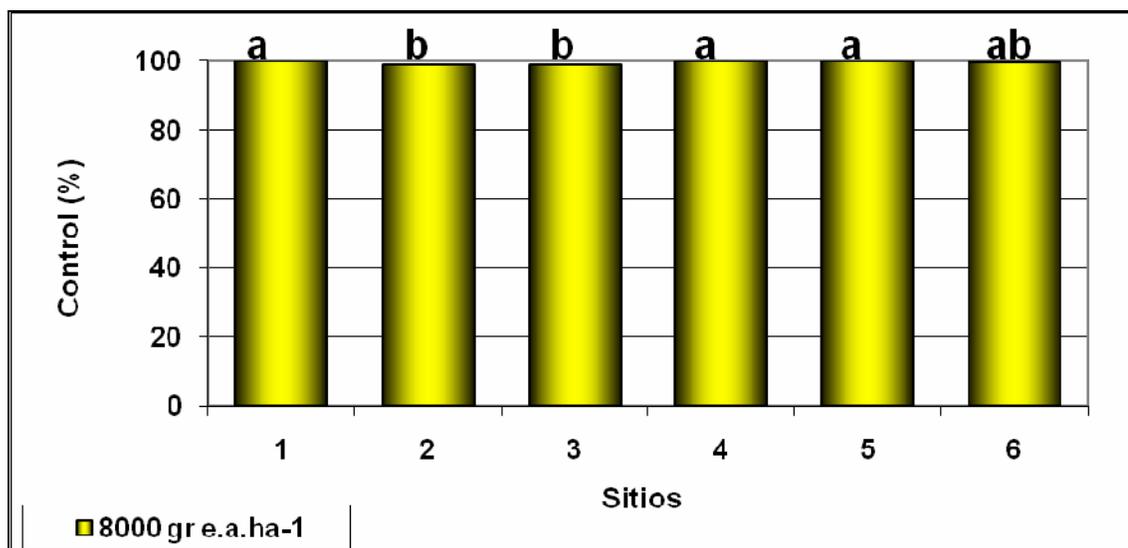


Figura No. 24: Resultados de las evaluaciones de control de raigrás, en la dosis de 8.000 g e.a.ha⁻¹, a los 30 días post aplicación.

Cuando se observan los resultados obtenidos en cada sitio y se los relaciona a los kg de materia seca presentes el día de la aplicación, se destaca que los sitios 2 y 4 fue donde mayor dificultad de control hubo, así como también los que mayor cantidad de materia seca presentaba respecto a los

otros, teniendo una disponibilidad de 472 y 317 kg de MS.m² respectivamente. En los sitios 1, 5 y 6, donde había menor disponibilidad de materia seca, fue donde se alcanzaron los mejores controles tanto a dosis bajas como altas. Se debe analizar aparte el sitio 3, el cual presentaba menor disponibilidad de materia seca que los sitios 1, 5 y 6 y que tuvo peor control que estos, que como ya se menciona se encontraba pastoreado. Esta observación es de suma importancia ya que esto estaría determinando la necesidad de comenzar los barbechos con la mayor anticipación posible en el tiempo, debido a que cuanto menor acumulación de materia seca haya mejores serán los resultados de control, siempre y cuando esa menor área foliar permita una correcta interceptación y traslocación del glifosato. En situaciones como la del sitio 3, para tener buenos resultados sería importante antes de iniciar el periodo de barbecho esperar que rebrote el raigrás recuperando de esta forma superficie foliar, haciendo más eficiente la aplicación del herbicida.

Se plantea la alternativa de que en un sistema de rotación se realice un cultivo de verano, y que se tenga la necesidad de generar una cobertura del suelo en el invierno para disminuir el riesgo de erosión, el raigrás es una alternativa, por lo tanto sería importante tener en cuenta no solo las condiciones climáticas a la hora de decidir el comienzo del barbecho para lograr una buena cama de siembra, sino que también es importante evaluar la acumulación de materia seca producida por la cobertura, ya que como se menciona anteriormente, ésta afecta directamente a la velocidad de senescencia y descomposición de la misma. Kogan y Alister (2008) haciendo referencia a lo mismo mencionan que la dosis y el estado de la planta al momento de la aplicación del glifosato determinan el grado de control. En general las especies anuales son más sensibles en sus primeros estados de desarrollo, 2 - 4 hojas. En la medida que las plantas se acercan a la etapa reproductiva son más tolerantes, y por ende, se requerirá de una dosis mayor, lo que aumentaría los costos de producción.

El uso de bajas dosis como 500 g la cual a los 30 días de evaluación alcanzó, en el mejor de los casos el 85% de control en el sitio 6, son insuficientes para la realización barbechos y tiene consecuencias negativas ya que las subdosis ejercen una presión de selección a favor de biotipos tolerantes, provocando que estos produzcan semillas y se dispersen aumentando la frecuencia de los mismos. En este sentido Della Penna y Savarese (2008), afirmaron que se debe aplicar la dosis adecuada, en el momento adecuado, con la formulación adecuada. Se debe elegir la dosis según las malezas presentes, su estado de desarrollo y las condiciones ambientales.

Esto evidencia que existe una variación en la susceptibilidad de las poblaciones de raigrás frente a distintas dosis de glifosato, es decir que a una misma dosis podemos encontrar dos poblaciones que respondan de forma diferente, no solo por el estado de la planta y características de la aplicación, sino también por las características innatas de la población.

5. CONCLUSIONES

En las evaluaciones realizadas a los 10, 20 y 30 días post aplicación se observaron diferencias importantes en las velocidades de control para las distintas dosis. Con las dosis más bajas no se alcanzaron controles satisfactorios, sin embargo con las dosis mayores (4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹) se superó el 80% de control a los 30 días post aplicación.

En la evaluación que se realizó a los 10 días post aplicación, los porcentajes de control obtenidos a la dosis de 500 g de glifosato, fueron inferiores al 42%, con 1.000 g variaron entre 20 y 50%, con 1.500 g entre 28 y 60%, con 2.000 g entre 40 y 77%, con 4.000 g entre 50 y 87%, con 6.000 g entre 50 y 90% y con la dosis de 8.000 g variaron entre 53 y 93%.

Los porcentajes de controles para la evaluación a los 20 días post aplicación fueron con la dosis de 500 g entre 22 y 53%, con la dosis de 1.000 g entre 33 y 88%, con 1.500 g entre 45 y 93%, con 2.000 g entre 62 y 96%, con 4.000 g entre 78 y 99%, con 6.000 g entre 92 y 100% y con la dosis de 8.000 g de glifosato, los resultados estuvieron en el rango de 94 y 100% siendo los mismos excelentes.

A los 30 días post aplicación, con 500 g los controles fueron pobres excepto en los sitios 5 y 6 donde se obtuvieron resultados de 78 y 85% respectivamente. Con la dosis de 1.000 g en 2 sitios se alcanzó un control excelente con valores de 96 y 97% para los sitios 5 y 6 respectivamente mientras que en las restantes excepto en el sitio 1, 70%, los controles fueron regulares. Con 1.500 g se obtuvieron excelentes controles para los sitios 1, 6 y 5 superando el 90%, mientras que los restantes sitios variaron entre el 53 y 77%. Para la dosis de 2.000 g los controles superaron el 90% menos los sitios 2 y 3, que tuvieron controles de 78 y 87% respectivamente, mientras que a partir de la dosis de 4.000 g se supera el 90% del control para todos los sitios, siendo mayor a las dos dosis superiores, mayor a 96% para la dosis de 6.000 g y mayor al 98% a la dosis de 8.000 g.

Al comparar las respuestas de los sitios para cada dosis, en las tres evaluaciones realizadas, se determinó que a medida que aumentan las dosis, disminuye la amplitud de las diferencias en porcentajes de control entre los sitios.

Las dosis bajas de 500 g de e.a.ha⁻¹ fue insuficiente como para comenzar un barbecho químico con este herbicida en situaciones de chacra con raigrás como maleza dominante, a partir de las dosis de 1.500 y 2.000 g de

e.a.ha⁻¹ se obtuvieron muy buenos controles. Los mayores controles se observaron de los 20 a 30 días post aplicación.

Sería de gran relevancia que se siguieran monitoreando las poblaciones de raigrás espontaneo en las chacras con importante historia de siembra directa y aplicaciones sistemáticas de glifosato.

6. RESUMEN

La tecnología de la siembra directa trae aparejado la dependencia del glifosato como sustituto del laboreo. Altas frecuencias de aplicaciones tiene como consecuencia: en el corto plazo, la inversión de la flora, con predominio entre las invernales a las especies gramíneas como *Lolium multiflorum*, a lo que se le debería sumar en el largo plazo, el riesgo de ocurrencia de resistencia de malezas. En este trabajo se evalúa la susceptibilidad al glifosato de distintas poblaciones de raigrás. Se evaluó en 6 sitios, 7 dosis de glifosato: 500, 1.000, 1.500, 2.000, 4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹, manteniéndose un testigo sin aplicación. Las evaluaciones se realizaron a los 10, 20 y 30 días post aplicación. En las mismas se evidenciaron marcadas diferencias en las velocidades de control para distintas dosis. Con las dosis más bajas no se alcanzaron controles satisfactorios, sin embargo con las dosis mayores, 4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹, se superó el 90% de control a los 30 días post aplicación en todos los sitios. En la evaluación que se realizó a los 10 días post aplicación, los porcentajes de control obtenidos a la dosis de 500 g de glifosato, fueron inferiores al 42%, con 1.000 g variaron entre 20 y 50%, con 1.500 g entre 28 y 60%, con 2.000 g entre 40 y 77%, con 4.000 g entre 50 y 87%, con 6.000 g entre 50 y 90% y con la dosis de 8.000 g variaron entre 53 y 93%. Los porcentajes de controles para la evaluación a los 20 días post aplicación fueron con la dosis de 500 g entre 22 y 53%, con la dosis de 1.000 g entre 33 y 88%, con 1500 g entre 45 y 93%, con 2.000 g entre 62 y 96%, con 4.000 g entre 78 y 99%, con 6.000 g entre 92 y 100% y con la dosis de 8.000 g de glifosato los resultados estuvieron en el rango de 94 y 100% siendo los mismos excelentes. A los 30 días post aplicación, con 500 g los controles fueron muy pobres excepto en los sitios 5 y 6 donde se obtuvieron resultados de 78 y 85% respectivamente. Con la dosis de 1.000 g en 2 sitios se alcanzó un control excelente con valores de 96 y 97% para los sitios 5 y 6 respectivamente mientras que en las restantes excepto en el sitio 1, 70%, los controles fueron regulares. Con 1.500 g se obtuvieron excelentes controles para los sitios 1, 6 y 5 superando el 90%, mientras que los restantes sitios variaron entre el 53 y 77%. Para la dosis de 2.000 g los controles superaron el 90% menos los sitios 2 y 3, que tuvieron controles de 78 y 87% respectivamente, mientras que a partir de la dosis de 4.000 g se supera el 90% del control para todos los sitios, siendo mayor a las dos dosis superiores, mayor a 96% para la dosis de 6.000 g y mayor al 98% a la dosis de 8.000 g. Al comparar las respuestas de los sitios para cada dosis, en las tres evaluaciones realizadas, se determinó que a medida que aumentan las dosis, disminuye la amplitud de las diferencias en porcentajes de control de los sitios. Se puede concluir entonces que la susceptibilidad de las poblaciones de raigrás para los diferentes sitios varía en función del estado fenológico en el cual se realiza la aplicación así como también en la MS por hectárea presentes en cada uno de los sitios.

Palabras clave: Susceptibilidad; Glifosato; Raigrás; Barbechos.

7. SUMMARY

The no tillage technology brings along the dependence of the glyphosate as a substitute for tilling. High application frequencies bring the following consequences: In the short term, the inversion of the flora, with predominance of *Lolium multiflorum* among winter gramineous species, and in the large term, the risk of occurrence of weeds resistance. In this work it is evaluated the susceptibility of different populations of ryegrass to glyphosate. Seven doses of glyphosate 500, 1.000, 1.500, 2.000, 4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹, were evaluated in 6 sites, with one standard of comparison without any application. The evaluations were performed 10, 20 and 30 days after the application. Those evaluations, marked differences were noticed in the speed of control among different doses. With the lowest doses no satisfactory controls were achieved. However, with the highest doses, 4.000, 6.000 y 8.000 g e.a.ha⁻¹, the 90% of control at 30 days after application was surpassed in every site. In the evaluation performed 10 days after the application, the percentages of control that were achieved with the 500 g dose of glyphosate were lower than 42%. The percentages varied from 20% to 50% with the 1.000 g dose, 28% to 60% with 1.500 g dose, 40% to 77% with the 2.000 g dose, 50% to 87% with the 4.000 g dose, 50% to 90% with the 6.000 g dose, and 53% to 93% with the 8.000 g dose. The percentages of controls for the evaluation at 20 days after the application varied from 22% and 53% with the 500 g dose, from 33% to 88% with the 1.000 g dose, from 45% to 93% with the 1.500 g dose, from 62% to 96% with 2.000 g dose, from 78% to 99% with the 4.000 g dose, from 92% y 100% with the 6.000 g dose, and with the dose of 8.000 g of glyphosate the results were excellent varying from 94 to 100%. Thirty days after the application of 500 g, controls were poor except in sites 5 and 6, where results of 78% and 85% were registered, respectively. With the 1.000 g dose, an excellent control was achieved in 2 sites, registering figures of 96% and 97% for sites 5 and 6, respectively, whereas in the rest, except in site 1, 70%, controls were average. With a 1.500 g dose, excellent controls were achieved for sites 1, 6 and 5, exceeding 90%, while the rest of the sites varied from 53% to 77%. For doses of 2.000 g, controls surpassed 90%, except in sites 2 and 3, which achieved controls of 78% and 87%, respectively, whereas with doses of 4.000 g or higher, control exceeded 90% in all sites, surpassing the two higher doses, figures higher than 96% for the 6.000 g dose, and higher than 98% for the 8.000 g dose. When comparing how the sites respond to each dose, in the three evaluations performed, it has been determined that as the dose increases, there is a reduction in the range of the control percentages of the sites. Therefore, it can be concluded that the susceptibility of populations of ryegrass for different sites varies depending on the phenological stage where the application is made, as well as the dry matter per hectare present in each of the sites.

Key words: Susceptibility; Glyphosate; Ryegrass; Fallow.

8. BIBLIOGRAFIA

1. ABRAHAM, W. 2009. Formulações de glyphosate e adjuvantes. In: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. Glyphosate. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 179-190.
2. ATTRIDAGE, T. H 1990. The natural light environment. In: Attridge, T.H. ed. Light and plant responses; a study of plant photophysiology and the natural environment. London, Edward Arnold. pp. 1-5.
3. BATISTA, A. J. 2009. A molécula glyphosate e a agricultura Brasileira. In: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. Glyphosate. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 17-20.
4. BEARSON, S. R. 2002a. Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase. *Plant Physiology*. 129 (3): 1265-1275.
5. _____. 2002b. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*. 50 (6): 721-730.
6. BELGERI, A.; CAULIN, P. 2008. Comunidades de malezas en siembra directa en el litoral agrícola centro. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 59 p.
7. BLACKSHAW, E. B.; HARKER, N. 1997. Scentless chamomile (*Matricaria perforata*) growth, development, and seed production. *Weed Science*. 45: 701-705.
8. BRODRIBB, T.J.; HILL, R. S. 2000. Increases in water potential gradient reduce xylem conductivity in whole plants. Evidence from a low-pressure conductivity method. *Plant Physiology*. 123 (2): 1021-1028.
9. 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.
10. CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTÓRIA FILHO, R.; SILVA, C. B. 1994. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. *Planta Daninha*. 12 (1): 1-20.

11. _____.; MEDEIROS, D.; MONQUEIRO, P. A.; PASSINI, T. 2000. Plantas daninhas á cultura da soja: controle químico e resistência a herbicidas. In: Sousa Câmara, G.M. de., ed. Soja; tecnologia da produção. Piracicaba, ESALQ. pp. 179-202.
12. _____.; LÓPEZ OVEJERO, R. F. 2004. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. In: Christoffoleti, P. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. Piracicaba, HRAC. pp. 9-29.
13. _____.; MOREIRA, M. S.; PINTO de CARVALHO, S. J.; LOPEZ-OVEJERO, R. F.; NICOLAI, M.; CAMPONEZ do BRASIL CARDINALI, V. 2009. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs. In: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. Glyphosate. Botucatu, SP, FAPESP/UNESP. pp. 309-349.
14. CORTEZ, M. G.; 2000. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas inibidores de acetil coenzima A carboxilase. Tesis de doctorado. São Paulo, Brasil. Universidad de São Paulo. 214 p.
15. DELLA PENA, A. B.; SAVARESE, S. P. 2008. Legislación en la Argentina sobre cultivos genéticamente modificados y malezas resistentes al glifosato. In: Seminario Internacional (1º, 2008, Colonia del Sacramento, Uruguay). Viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables. La Estanzuela, Colonia, INIA. pp. 154-163. (Actividades de Difusión no. 554).
16. DEVILIN, D. L.; LONG, J. H.; MADDUX, L. D. 1991. Using reduced rates of postemergence herbicides in soybeans (*Glycine max*). Weed Technology. 5: 840-843.
17. ERNST, O. 1999. Siembra sin laboreo en cultivo de verano. In: Ernst, O.; García Prechac, F.; Martino, D. eds. Siembra sin laboreo de cultivos y pasturas. Montevideo. PROCISUR/EEMAC/INIA. 1 disco compacto.
18. ESPINOZA NEIRA, N. 2009. Estado actual de la resistencia a herbicidas en el mundo. In: Seminario Internacional Diagnóstico y Manejo de la Resistencia a Herbicidas (2009, Temuco, Chile). Trabajos presentados. Carrillanca, Temuco, Centro Regional de Investigación. pp. 1-26 (Serie Actas INIA no. 44).

19. FERREIRA, E. A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; VARGAS, L.; VIANA, R. G.; GUIMARÃES, A. A.; GALON, L. 2006. Potencial competitivo de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). *Planta Daninha*. 26 (2): 261-269.
20. _____.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; SANTOS, J. B.; OLIVEIRA, J. A.; VARGAS, L.; KHOURI, K. R.; GUIMARÃES, A. A. 2007. Distribuição de glyphosate e acúmulo de nutrientes em biótipos de azevém. *Planta Daninha*. 26 (1):165-173.
21. _____.; VARGAS, L.; da SILVA, A. A. 2009. Manejo de plantas daninhas tolerantes ou resistentes ao glyphosate no Brasil. *In*: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. *Glyphosate*. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 357-400.
22. FISCHER, A.; VALVERDE, B. E. 2005. Evolución de resistencia a herbicidas, diagnóstico y manejo de malezas. *In*: Seminario Taller Iberoamericano de Resistencia a Herbicidas y Cultivos Transgénicos (2005, Colonia de Sacramento). Ponencias. Colonia, INIA. 1 disco compacto.
23. FORMOSO, F. A. 2006. Evaluación de la susceptibilidad de raigrás espontáneo (*Lolium multiflorum* Lam) a glifosato en sistemas de siembra directa del litoral agrícola. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 42 p.
24. FRANZ, J. E.; MAO, M. K.; SIKORSKI, J. A. 1997. Behavior of glyphosate in soil, hydrosols, and water: Methods for glyphosate analyses. *In*: American Chemical Society. *Glyphosate; a unique global herbicide*. Washington, DC. pp. 27-64 (ACS Monograph no.189).
25. GALVAN, J.; RIZZARDI, M. A.; SCHEFFER-BASO, S. M. 2010. Aspectos morfológicos de biotipos de azevém com distinta susceptibilidade ao glifosato. *In*: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas (27º, 2010, Ribeirão Preto, SP). *Trabalhos apresentados*. Ribeirão Preto, SP, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. pp. 865-869.
26. GARCIA PRÉCHAC, F. 1998. Fundamentos de la siembra directa y su utilización en el Uruguay. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 22 mar. 2011. Disponible en <http://www.rau.edu.uy/agro/uepp/siembra1.htm>.

27. HALTER, S. 2009. História do herbicida agrícola glyphosate. In: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. Glyphosate. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 11-16.
28. HEAP, I. 2011a. Glycine(g/9) resistant weeds by species and country (en línea). Corvallis, International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Consultado 8 feb. 2011. Disponible en <http://www.weedscience.org/in.asp>.
29. _____. 2011b. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. (en línea). Consultado 10 mar. 2011. Disponible en <http://www.wedscience.org/in.asp>.
30. HRAC. 2011. Asociación para la prevención y el control de las resistencias; la resistencia de los herbicidas. (en línea). s.l., Herbicide Resistance Action Committee. s.p. Consultado 18 dic. 2010. Disponible en <http://www.hracglobal.com/Overview/Laprevensi%C3%B3nyelcontrolde lasresistencias/tabid/352/Default.aspx>.
31. HUMBLE, G. D.; HSIAO, T.C.1970. Light-dependent influx and efflux of potassium of guard cells during stomatal opening and closing. Plant Physiology. 46 (3): 483-487.
32. JASIENIUK, M.; BRULEBABEL, A. L.; MORRISON, I. N. 1996. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. Weed Science. 44: 176-193.
33. KISSMAN, K. G. 1996. Resistência de plantas a herbicidas. São Paulo, BASF. 33. p.
34. _____. 2003. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 8 feb. 2011. Disponible en http://www.hracbr.com.br/arquivos/texto_resistencia_herbicidas.doc
35. KLINGAMAN, T. E.; KING, C. A.; OLIVER, R. L. 1991. Effect of application rate, weed species, and weed stage of growth on imazetaphyr activity. Weed Science. 40: 227-232.
36. KOGAN, M.; PEREZ, A. 2003. Herbicidas; fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción. Santiago, Chile, Universidad Católica de Chile. 333 p.

37. _____.; ALISTER, C. 2008. Factores que pueden afectar la efectividad del herbicida glifosato. *In*: Seminario Internacional (1º, 2008, Colonia del Sacramento, Uruguay). Viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables. La Estanzuela, Colonia, INIA. pp. 11-26 (Actividades de Difusión no. 554).
38. LINDERS, J. B. H. J.; JANSMA, J. W.; MENSINK, B. J. W. G.; ORTEMANN, K. 1994. Pesticides, benefaction or pandoras box?; a synopsis of the environmental aspect of 243 pesticides. (en línea). Research for Man and Environment. National Institute of Public Health and Environment. Bilthoven. Report no.67101014. s.p. Consultado 21 feb. 2011. Disponible en <http://rivm.openrepository.com/rivm/handle/10029/10254>
39. LUCHINI, L. C. 2009. Considerações sobre algumas propriedades físico-químicas do glyphosate. *In*: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. Glyphosate. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 21-29.
40. MATIELLO, R. R.; RONZELLI JÚNIOR, P.; PURÍSSIMO, C. 1999. Mecanismos de resistência: fatores biológicos, agrônomicos e genéticos. *In*: Curso de manejo de resistência de plantas daninhas aos herbicidas. (2º, 1999, Ponta Grossa). Anais. Ponta Grossa, AEACG. pp 27-40.
41. MELO, P. T. B. S.; SCHUCU, L. O. B.; ASSIS, F. N.; CONCENÇO, G. 2006. Comportamento de populações de arroz irrigado em função das proporções de plantas originadas de sementes de alta e baixa qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Agrociência*. 12 (2): 37-43.
42. MESSINGER, S. M.; BUCKLEY, T. N.; MOTT, K. A. 2006. Evidence for involvement of photosynthetic processes in the stomatal response to CO₂. *Plant Physiology*. 140: 771-778.
43. NALEWAJA, J. D.; MATYSIAK, R. 1993. Influence of diammonium sulfate and other salts on glyphosate phytotoxicity. *Pesticide Science*. 38: 77-84.
44. NISENSOHON, L. A., TUESCA, D. H. 2004. Resistencia a herbicidas. *In*: Vitta, J. ed. Herbicidas; características y fundamentos de su actividad. Rosario, UNR. pp. 67-83.

45. OWEN, M. J.; POWLES, S. B. 2010. Glyphosate-resistant rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). Populations in the western Australian grain belt. *Weed Technology*. 24 (1): 44-49.
46. PRESTON, C.; WAKELIN, A. M.; DOLMAN, F. C.; BOSTAMAN, Y.; BOUTSAILS, P. 2009. A decade of Glyphosate-resistant *Lolium* around the world: mechanisms, genes, fitness and agronomic management. *Weed Science*. 57 (4): 435-441.
47. PYSTINA, N. V.; DANILOV, R. A. 2001. Influence of light regimes on respiration, activity of alternative respiratory pathway and carbohydrates content in mature leaves of *Ajuga reptans* L. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 13. (3): 285-292.
48. REGITANO, J. B.; CASTRO, N. R. A. 2009. Sorção do glyphosate no solo. *In*: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. *Glyphosate*. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 153-173.
49. RIOS, A. 2005. Resistencia de malezas a herbicidas. Young, Sociedad Rural de Río Negro, INIA. 10 p. (Actividades de Difusión no. 408).
50. _____. 2006. La resistencia de malezas a herbicidas. *In*: Jornada Técnica de Lechería (1°, 2006, Florida, Uruguay). *Memorias*. La Estanzuela, Colonia, INIA pp. 107-113 (Actividades de Difusión no. 455).
51. RODRIGUES, J. D. 2009. Absorção e transporte de solutos nas plantas. *In*: Velini, E. D.; Meschede, D. K.; Carbonari, C. A.; Bueno Trindade, M. A. eds. *Glyphosate*. Botucatu, SP, FAPEF/UNESP. pp. 31-112.
52. ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; MATTEI, R. W. 2004. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. *Planta Daninha*. 22 (2): 301-306.
53. ROSENGURTT, B.; ARRILLAGA, B. de MAFFEI.; IZAQUIRRE, P. de ARTUCIO. 1970. Gramíneas de ciclo invernal; poáceas: *Lolium l.* *In*: Gramíneas Uruguayas. Montevideo, Universidad de la República, Departamento de Publicaciones. pp. 119-123.
54. SANDBERG, D. L.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. 1980. Absorption, translocation, and metabolism of ¹⁴C-glyphosate in several weeds species. *Weeds Research (Oxford)*. 20 (4): 195-200.

55. SCHUETTE, J. 1998. Environmental fate of Glyphosate. (en línea). Sacramento, CA, Department of Pesticide Regulation. Environmental Monitoring and Pest Management. s.p. Consultado 21 feb. 2011. Disponible en <http://www.cdpr.ca.gov/docs/empm/pubs/fatememo/glyphos.pdf>.
56. SILVA, A. C.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; FERREIRA, E. A. 2005. Análise de crescimento de *Brachiaria brizantha* submetida a doses reduzidas de fluazifop-p-butil. *Planta Daninha*. 23 (1): 85-91.
57. TABERNER, A.; CIRUJEADA, A.; ZARAGOZA, C. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas 100 preguntas sobre resistencia. (en línea). Roma, FAO. pp. 1-67. Consultado 11 mar. 2011. Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1422s/a1422s00.pdf>.
58. TUESCA, D.; PURICELLI, E. 2001. Análisis de los cambios en las comunidades de malezas asociados al sistema de labranza y al uso continuo de Glifosato. In: Díaz, R. coord. Siembra directa en el cono sur. Montevideo, PROCISUR. pp. 183-201.
59. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCION DE ESTADISTICAS AGROPECUARIAS. 2010. Anuario estadístico agropecuario 2009. Montevideo. 215 p.
60. VANDERZEE, D.; KENNEDY, R. A. 1983. Development of photosynthetic activity following anaerobic germination in rice-mimic grass. *Plant Physiology*. 73: 332-339.
61. VILA-AIUB, M. M.; VIDAL, R. A.; BALVI, M. C.; GUNDEL, P. E.; TRUCCO, F. D.; GERSHA, C. M. 2008. Review glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems an overview. *Pest Management Science*. 64: 366-371.
62. WELLER, J. L.; MURFET, I. C.; REID, J. B. 1997. Pea mutants with reduced sensitivity to far- red light define an important role for phytochrome A in day-length detection. *Plant Physiology*. 114: 1225-1236.
63. YUAN, C.; CHAING, M. Y.; CHEN, Y. M. 2002. Triple mechanisms of glyphosate-resistance in naturally occurring glyphosate-resistance plant *Dicliptera chinensis*. *Plant Science (Limerick)*. 163: 543-554.