

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Resistencia del biotipo RCCR 1 de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A - carboxilasa (ACCasa).**

**Tesis para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con  
énfasis en Fitotecnia**

**Noylys Duarte Cascante**

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio**

**ENERO 2015**

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Vo. Bo, COMITÉ ASESOR DE TESIS**

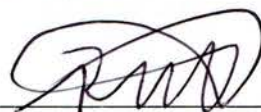
**Nombre**

Franklin Herrera Murillo, Dr  
Director de tesis.

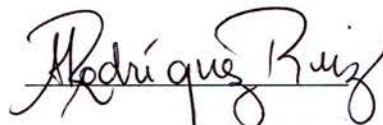
**FIRMA**



Renán Agüero, Ph.D.  
Miembro del comité.



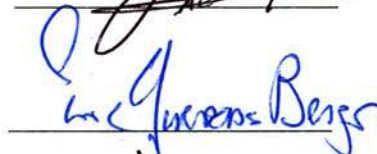
Ana María Rodríguez Ruiz, M.Sc.  
Miembro del comité.



Ing. Agr. Carlos. R. Arce.  
Miembro del comité.



Eric Guevara Berguer, Ph.D  
Director de la escuela.



Ing. Agr. Noylys Duarte Cascante  
Estudiante.



Aprobado en Reunión de la Comisión de trabajos Finales de Graduación el día:  
Viernes 9 de enero de 2015 en la Universidad de Costa Rica, Sede Rodrigo Facio

---

El artículo 30 del Reglamento de Trabajos Finales de Graduación de la Universidad de Costa Rica exige que el director de Tesis este en Régimen Académico, con una categoría de Adjunto o superior.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi madre María Elena Cascante Agüero, a su paciencia y al sacrificio de su tiempo, para que yo pudiera concretar mis sueños. Al futuro Ingeniero Agrónomo mi hijo Kurt Vásquez Duarte, el motor de mi vida. A ellos dedico cada página de esta tesis.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me brindaron su apoyo, conocimientos, sus recursos y sobre todo su amistad.

A mi hijo, quien a sido la fuerza que me impulsa cada día a luchar por un mejor futuro, y al cual amo con todo el corazón.

A mi madre, sin ella la realización de mis sueños no se hubiese podido cumplir. Por toda la fuerza que ha dedicado sin interés alguno, por el amor incondicional, ella merece más que yo el merito de esta tesis. De nuevo gracias

A mi hermana Nexy Duarte quien siempre me ha defendido, y su esposo Randall Navarro quien incondicionalmente se ha comportado como mi padre.

Al Dr. Franklin Herrera, director de esta tesis, quien me alentó cuando creía que iba a rendirme, infinitas gracias, por toda su dedicación, por creer en mí, por su carisma y entrega en todo lo que hace. Que Dios te devuelva todo lo bueno que eres para nosotros los estudiantes.

A los miembros del tribunal examinador y revisores de mi tesis, Dr. Renán Agüero y M.Sc. Ana María Rodríguez, los cuales han sido fundamentales ímaestros a lo largo de mi carrera. Al Ingeniero Agrónomo Carlos Arce, revisor de mi tesis, colega y amigo.

Al personal de la EEAFBM, Juan Carlos Alfaro y Gerardo García, quienes durante la realización de este trabajo me brindaron su valioso apoyo. Al señor Robert Meza por su colaboración con el préstamo de los lotes para hacer algunos de los experimentos y coleccionar semillas.

A todas las personas que están siempre pendientes de mi crecimiento profesional y personal.

De nuevo Gracias,

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	5
JUSTIFICACIÓN.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
Fase 1: Ubicación de lotes problema, recolección de semilla y pruebas preliminares de respuesta de la población de <i>R. cochinchinensis</i> a fluazifop-p-butyl.....	9
a. Ubicación de lote problema y primera recolección de semilla.....	9
b. Prueba preliminar para medir la respuesta de la población de <i>R. cochinchinensis</i> a fluazifop-p-butyl.....	10
Fase 2. Aplicación de fluazifop-p-butyl en lote con biotipos supuestamente resistentes y recolección de semilla de plantas sobrevivientes.....	10
Fase 3: Respuesta de <i>R. cochinchinensis</i> a tres herbicidas inhibidores de la ACCasa.....	11
a). <i>Respuesta de la población RCCR1 a dosis crecientes de los herbicidas fluazifop-p-butyl, cletodim y cyhalofop butyl</i> .....	12
Experimento 1. Respuesta de <i>R. cochinchinensis</i> RCCR1 al fluazifop-p-butyl.....	14
Experimento 2. Respuesta de <i>R. cochinchinensis</i> RCCR1 al <i>cyhalofop butyl</i> .....	15

Experimento 3. Respuesta de <i>R. cochinchinensis</i> RCCR1 al <i>clatodim</i> .....	15
Diseño experimental.....	16
Variables evaluadas.....	16
Análisis estadístico:.....	17
b). Respuesta de la población susceptible de <i>R. cochinchinensis</i> (FBS) a sub-dosis de los herbicidas <i>fluazifop-p-butil</i> , <i>clatodim</i> y <i>cyhalofop butil</i> .....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
CONCLUSIONES.....	34
LITERATURA CITADA.....	35
ANEXO FOTOGRÁFICO.....	39

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Recolección de semillas de <i>R. cochinchinensis cochinchinensis</i> en el lote en estudio. Upala, 2012.....	10
<b>Figura 2.</b> Producción de plántulas de <i>R. cochinchinensis</i> en bandejas y trasplante a recipientes plásticos, para lograr una mayor uniformidad en tamaño y número de plantas por recipientes. EEAFBM, Alajuela. 2013. ....	14
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de plantas de <i>R. cochinchinensis cochinchinensis</i> RCC1 con diferente grado de daño, ocho días después de la aplicación de fluazifop-p-butil a 125 g/ha.EEAFBM, Alajuela. 2013 . ....	21
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de plantas de <i>R. cochinchinensis cochinchinensis</i> RCC1 con diferente grado de daño, después de ser aplicadas en dos ocasiones con fluazifop-p-butil a 125 g/ha. EEAFBM, Alajuela. 2013. ....	21
<b>Figura 5.</b> Efecto de la dosis de fluazifop-p-butil sobre el peso seco de dos poblaciones de <i>R. cochinchinensis</i> . Alajuela. 2013. ....	24
<b>Figura 6.</b> Efecto de la dosis de cyhalofop butil sobre el peso seco de dos poblaciones de <i>R. cochinchinensis</i> . Alajuela. 2013 . ....	28
<b>Figura 7.</b> Efecto de la dosis de cletodim sobre el peso seco de dos poblaciones de <i>R. cochinchinensis</i> . Alajuela. 2013. ....	34
<b>Figura 8.</b> Efecto de sub dosis de cletodim en el peso seco por planta de la población FBS de <i>R. cochinchinensis</i> . Alajuela, 2014.....	32

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Características químicas del suelo utilizado en los experimentos con <i>R. cochinchinensis</i> en la EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.....	13
<b>Cuadro 2.</b> Tratamientos de <i>fluazifop-p-butyl</i> , utilizados en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 <i>R. cochinchinensis</i> . EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013. ....	15
<b>Cuadro 3.</b> Tratamientos de <i>cyhalofop butil</i> en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 de <i>R. cochinchinensis</i> . EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.....	16
<b>Cuadro 4.</b> Tratamientos de <i>cletodim</i> , utilizados en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 <i>R. cochinchinensis</i> . EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013. ....	16
<b>Cuadro 5.</b> Escala de la European Weed Research Society (EWRS) para evaluar toxicidad.17	
<b>Cuadro 6.</b> Tratamientos herbicidas evaluados para la determinación del GR <sub>50</sub> en el biotipo susceptible de <i>R. cochinchinensis</i> (FBS). EEAFBM, Alajuela. 2014. ....	20
<b>Cuadro 7.</b> Porcentaje de plantas de <i>R. cochinchinensis</i> RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis de fluazifop-p-butyl, 15 días después de su aplicación. EEAFBM, Alajuela. 2013. 24	
<b>Cuadro 8.</b> Estimación del GR <sub>50</sub> para fluazifop-p-butyl en las poblaciones de <i>R. cochinchinensis</i> resistente RCCR1 y susceptible FBS y el índice de resistencia GR <sub>50</sub> RCCR1/GR <sub>50</sub> FBS. Alajuela, 2014.....	25
<b>Cuadro 9.</b> Porcentaje de plantas de <i>R. cochinchinensis</i> de las poblaciones RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis del herbicida cyhalofop-butyl, quince días después de su aplicación. EEAFBM, Alajuela. 2013. ....	27
<b>Cuadro 10.</b> Estimación del GR <sub>50</sub> para cyhalofop butil en las poblaciones de <i>R. cochinchinensis</i> resistente RCCR1 y susceptible FBS y el índice de resistencia GR <sub>50</sub> RCCR1/GR <sub>50</sub> FBS. Alajuela, 2014.....	29
<b>Cuadro 11.</b> Porcentaje de plantas de <i>R. cochinchinensis</i> en las poblaciones RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis del herbicida cletodim. EEAFBM, Alajuela, 2013.....	32



## RESUMEN

Se realizaron seis experimentos en condiciones de casa de mallas, con el propósito de confirmar la posible presencia de resistencia a fluazifop-p-butyl, en una población de *R. cochinchinensis* denominada RCCR1, colectada en una finca dedicada a la producción de granos básicos, ubicada en Bella Vista de San José de Upala, Costa Rica y donde se había observado pérdida en la eficacia de este herbicida para controlar a esta maleza. También, se evaluó la posible resistencia cruzada a los herbicidas cyhalofop butil y cletodim, utilizados por el productor en los mismos lotes, en los cultivos de arroz y frijol respectivamente, todos inhibidores de la ACCasa. Como comparador se utilizó una población susceptible obtenida en la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, denominada FBS. La semilla se recolectó de las plantas sobrevivientes en el lote con aparente resistencia, y donde se aplicó fluazifop-p-butyl a la dosis comercial de 125 g/ha cuando la *R. cochinchinensis* estaba en estado de 3 a 4 hojas, y se hizo una segunda aplicación con la misma dosis 31 días después. Esto permitió observar en el campo que los individuos sobrevivientes estaban distribuidos en parches y conformaban aproximadamente el 20 % de la población de esta maleza. Cada unidad experimental consistió en un recipiente plástico de 3 litros de capacidad con 10 plantas de *R. cochinchinensis* de la población respectiva por recipiente. Cuando estuvieron en estado de 3 a 4 hojas se aplicaron los herbicidas con aspersor manual debidamente calibrado para un volumen de 250 litros/ha. Se evaluó el grado de daño a los 15 días después de la aplicación de los herbicidas y la biomasa seca a los 20 días después de la aplicación. Se calculó el GR<sub>50</sub> para cada población y herbicida y se estimó el índice de resistencia para cada herbicida en la población RCCR1. Los datos obtenidos permitieron confirmar que la población RCCR1 de *R. cochinchinensis* presentó resistencia a los herbicidas fluazifop-p-butyl y cyhalofop butil (FOPs), siendo cinco y trece veces más resistente que la población susceptible FBS, respectivamente. La población RCCR1 fue susceptible al cletodim (DIMs) en un rango de 30 a 60 g/ha, siendo 60 g/ha la dosis comercial normalmente utilizada. Mientras que la población FBS fue efectivamente controlada con la dosis comercial de cada herbicida, confirmando su susceptibilidad a estos herbicidas.

**Resistencia del biotipo RCCR 1 de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A - carboxilasa (ACCasa).**

### INTRODUCCIÓN

Los granos básicos, en especial el frijol y el arroz tienen un gran impacto en el sector económico, social y cultural de los países en vías de desarrollo, como en el caso de Costa Rica.

Esta importancia se ve reflejada en el número de productores de frijol que superó los 8000 en Costa Rica para el año 2006 (FAO 2006). Así mismo la producción para la temporada de julio 2014 a agosto 2015 fue de 16707 toneladas métricas de producto húmedo y sucio (CNP 2014).

El arroz es uno de los cultivos con mayor importancia a nivel mundial (FAO 2011). En Costa Rica en el periodo 2011/ 2012 produjeron un total de 261 644 toneladas métricas de granza seca y limpia, con un consumo per cápita de 53,71 kg/ año de arroz pilado (CONARROZ 2014).

Dentro de la tecnología de producción de estos cultivos es importante evitar que sean afectados negativamente por factores bióticos y abióticos, por lo que en particular el manejo de plantas indeseables es vital para la producción sostenible y rentable de los mismos.

El frijol y el arroz son cultivos anuales y altamente susceptibles a la competencia con malezas, por lo que el rendimiento puede verse afectado en el periodo crítico de establecimiento del cultivo. El periodo crítico de competencia para el frijol comprende desde la emergencia hasta los 30 días después de emergido (García 2009); en tanto, para el arroz el periodo crítico ocurre en los primeros 30 – 40 días después de la siembra, que equivale al primer tercio del ciclo (Labrada *et al.* 1996).

Dentro de las malezas que causan serios problemas en la producción de granos básicos y en especial afectando a pequeños y medianos productores, está *R. cochinchinensis* conocida con el nombre común de caminadora. Esta maleza es de gran importancia en Centroamérica por ser muy competitiva y agresiva (Avila *et al.* 2004). Algunos autores aseguran que está dentro de las peores 25 malezas en el mundo, causante de problemas en 28 países y afectando regiones del Caribe, Suramérica, Centroamérica, África y Sudeste de Asia (Salazar 2005). Dentro de las principales características morfológicas y fisiológicas de *R. cochinchinensis* se puede mencionar que se reproduce solamente por semillas, las que se dispersan principalmente por agua de riego; aunque pueden hacerlo por maquinaria e implementos agrícolas. Es una planta anual, de porte erecto, de 1 a 4 metros de altura, con tallos y hojas pubescentes, cuando jóvenes las hojas se presentan enrolladas. La inflorescencia es un solo racimo en forma de espiga cilíndrica. Las semillas poseen germinación escalonada y pueden permanecer viables hasta cinco años, además, una sola planta puede producir hasta 3000 semillas (Salazar 2005).

González y Webb (1989) y Unterladstaetter (1998), (citados por Avila *et al.* 2004) indican que las pérdidas por la invasión de *R. cochinchinensis* en cultivos como arroz puede llegar a ser del 100%, mientras que en frijol se indican pérdidas de hasta 86% en endimimiento (Ulloa y De La Cruz 1990).

Una de las alternativas de control de esta maleza en el cultivo de frijol es el uso de herbicidas inhibidores de la ACCasa, entre los cuales están el fluzifop-p-butil y el cletodim, mientras que en arroz se utiliza el cyhalofop butil (Esqueda y Tosquy 2014).

Para que un herbicida actúe de manera eficaz sobre la maleza, se deben cumplir ciertos pasos como, alcanzar adecuadamente a la maleza, ser absorbido y trasladado hasta el sitio de acción y ejercer su actividad inhibiendo un proceso vital para la planta (Taberner *et al.* 2007). Si esto se cumple pero no se ejerce la inhibición del proceso vital que antes ocurría, se puede estar frente a un caso de resistencia. Existen dos mecanismos

por los cuales esto puede suceder, una es que se altere el lugar donde actúa el herbicida, o que ocurra un cambio metabólico en algún proceso que interfiera con la acción del herbicida (Taberner *et al.* 2007).

La resistencia de malezas a herbicidas se define según HRAC (2014) como: "la capacidad evolucionada de una población de malezas, previamente susceptibles, de soportar un herbicida y de completar su ciclo de vida cuando el herbicida se utiliza en dosis normales en una situación agrícola".

La *Weed Science Society of America*, citada por Valverde y Heap (2009) define resistencia como "la capacidad hereditaria de una planta de sobrevivir y reproducirse después de ser expuesta a una dosis de herbicida que normalmente es letal para el tipo silvestre". Según Heap (2014) existe un incremento de las malezas resistentes en el mundo, sobrepasando las 434 en el 2014.

Taberner *et al.*(2007) indican que el ingrediente activo actúa sobre las poblaciones de malezas que son sensibles, pero algún biotipo de esa maleza sobrevive a la aplicación y se reproduce, heredando la condición a la siguiente generación que también podrá ser resistente. Además estos autores definen diferentes tipos de resistencia, como, resistencia cruzada cuando un biotipo desarrolla resistencia a otros herbicidas con el mismo mecanismo de acción, y resistencia múltiple cuando el biotipo es resistente a varios herbicidas con diferentes mecanismos de acción.

Los herbicidas fluazifop-p-butil, cletodim y cyhalofop butil son graminicidas, con un mismo mecanismo de acción, la inhibición de la enzima ACCasa que cataliza la síntesis de ácidos grasos, lo que produce un efecto letal en las malezas a las que se le aplican estos ingredientes activos (Avila *et al.* 2004).

Los ácidos grasos mantienen la integridad de las membranas celulares. Cuando estos herbicidas actúan cesa el crecimiento de las plantas, la sintomatología que se presenta es una coloración rojiza en tallos y hojas, para luego presentar necrosis y muerte. Estos

herbicidas son ampliamente utilizados, aplicándose en posemergencia y son específicos para poáceas (Robles *et al.* 2006).

Cuando se produce resistencia a inhibidores de la ACCasa, lo que se genera es una sustitución en las posiciones de aminoácidos, ocasionando mutaciones en el gen que codifica la enzima ACCasa (Vila *et al.* 2009). Por lo que la resistencia que desarrollan las malezas a este tipo de herbicidas es un cambio en el sitio de acción.

Vila *et al.* (2009) y Gressel (2002) indican que la resistencia que se genera al grupo de herbicidas pertenecientes a los inhibidores de la ACCasa, se debe a que el sitio activo es muy específico, además el gen que codifica la enzima tiene una alta frecuencia de mutación por lo que se altera el sitio de acoplamiento del herbicida y la enzima; lo que le confiere resistencia a la maleza (Diez De Ulzurrun y Leaden 2012).

#### ANTECEDENTES

Para el 2009, Valverde y Heap (2009) informaron de 332 casos de malezas resistentes a herbicidas de las cuales, 36 especies son resistentes al grupo de herbicidas que inhiben la acetil coenzima A- carboxilasa (ACCasa) y de estas últimas, 16 se han reportado en Latinoamérica, la mayoría en cultivos de cereales. Ejemplo de éstas se encuentran en los géneros: *Phalaris*, *Brachiaria*, *Digitaria*, *Eleusine*, *Sorghum*, *Rottboellia cochinchinensis*, entre otros. Sin embargo ya para el año 2014 se informa de 437 casos de resistencia a herbicidas. Ocurriendo esta resistencia a 155 herbicidas en 238 especies (WSSA 2014).

En el caso específico de *R. cochinchinensis*, Delgado *et al.* (2006) señalan que en un estudio de 13 biotipos de esta maleza que fueron evaluados por resistencia a nicosulfuron, once de ellos resultaron con diferentes grados de resistencia a este herbicida, un inhibidor de la ALS utilizado para el control de poáceas en el cultivo de maíz. También encontraron biotipos de *R. cochinchinensis* con resistencia a la mezcla foramsulfurom + iodosulfurón, ambos inhibidores de la ALS (Delgado *et al.* 2008).

En Costa Rica se reportan 8 casos de malezas resistentes a herbicidas, entre ellas *Paspalum paniculatum* y *Eleusine indica* (Valverde y Heap 2009), así como biotipos de *Echinochloa colona* con resistencia a imazapic e imazapir (inhibidores de la ALS) (Arce 2014, Heap 2013). También se demostró resistencia cruzada de la maleza *Echinochloa colona* a herbicidas pertenecientes al grupo de inhibidores de la ACCasa: fluazifop-p-butyl, cyhalofop-butyl y cycloxdim (Valverde *et al.* 2001a). En Costa Rica no hay informes oficiales de resistencia de *R. cochinchinensis* a inhibidores de la ACCasa, sin embargo, en Bolivia se demostró la resistencia de cuatro biotipos de *R. cochinchinensis* al herbicida fluazifop-p-butyl (inhibidor de la ACCasa) (Avila García *et al.* 2004).

En otros países se sabe que existen casos de malezas con resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa, como por ejemplo, en Argentina, Diez De Ulzurrun y Leaden (2012) corroboraron la resistencia de *Lolium multiflorum* al herbicida cletodim, además estos autores citan a Espinoza *et al* (2005) quienes informaron de la resistencia cruzada de *L. multiflorum* a cletodim y otros herbicidas inhibidores de la ACCasa. Yu *et al.* (2007) también mencionan la resistencia múltiple de *L rigidum* a inhibidores de la ACCasa y a otros grupos de herbicidas. Volenberg y Stoltenberg (2002), mencionan de biotipos de *Setaria faberi* y *Digitaria sanguinalis* con resistencia cruzada a fluazifop-p-butyl y cletodim, soportando hasta 10 veces la dosis comercial de los dos herbicidas.

En la finca donde se reportó la pérdida de eficacia del fluazifop-p-butyl para el control de *R. cochinchinensis* se acostumbra hacer rotación entre frijol y arroz, utilizando en el frijol los herbicidas fluazifop-p-butyl y cletodim, mientras que en arroz utilizan cyhalofop. Los tres herbicidas poseen el mismo mecanismo de acción, lo cual podría haber aumentado la presión de selección; situación que favorece la aparición de biotipos con resistencia cruzada a los herbicidas utilizados (Valverde *et al.* 2001b).

## **JUSTIFICACIÓN**

En la finca del señor Robert Meza (10°51'10" N y 085°2'17" O) ubicada en Pueblo Nuevo de San José de Upala, Costa Rica, se observó pérdida de eficacia del fluazifop-p-butil en el control de *R. cochinchinensis* en el cultivo del frijol. A través de personeros del INTA se le comunicó esta información al Departamento de Malezas de la Universidad de Costa Rica. Observaciones más detalladas de campo permitieron ver que cierto porcentaje de la población de esta maleza era controlada por este herbicida, mientras que otras plantas en el mismo sitio no eran afectadas, lo cual sugiere posible presencia de individuos con resistencia a este herbicida. Con base en observaciones de campo el productor mencionó que el control de esta maleza fue mejor con cletodim que con fluazifop-p-butil. En la finca donde se presentó este problema, también se cultiva arroz durante la estación lluviosa, cultivo en el cual se utiliza el cyhalofop-butil, un herbicida posemergente, inhibidor de la ACCasa, efectivo para el control de otras poáceas en arroz. Pero a criterio del productor también el control de *R. cochinchinensis* con este herbicida es pobre. Por esta situación fue necesario verificar si efectivamente en ese sitio hay una población de *R. cochinchinensis* con resistencia a fluazifop-p-butil y si ya hay resistencia cruzada a los herbicidas cyhalofop-butil y cletodim. Esta información será de utilidad para tomar medidas preventivas que eviten la diseminación de este problema, y para hacer nuevos estudios con posibles poblaciones resistentes y poder buscar otras alternativas de manejo.

## **OBJETIVO GENERAL**

Demostrar la resistencia cruzada del biotipo RCCR 1 de *R. cochinchinensis*, proveniente de una finca en Upala, Costa Rica, a los herbicidas fluazifop-p-butil, cletodim y cyhalofop-butil, todos inhibidores de la ACCasa.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Comprobar la resistencia de *R. cochinchinensis* (Biotipo RCCR1) al herbicida fluazifop-p-butil.

2. Definir si existe resistencia cruzada de *R. cochinchinensis* (Biotipo RCCR1) a los herbicidas cletodim y cyhalofop –butil , pertenecientes al grupo inhibidores de ACCasa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en una casa de mallas del departamento de malezas de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFBM) ubicada en el Barrio San José de Alajuela a una altitud de 840 msnm. El promedio de precipitación anual es de 1940 mm y la temperatura ambiente promedio anual de 22 °C.

El estudio se dividió en tres fases: fase 1: ubicación de los lotes con la problemática, recolección de semilla y pruebas preliminares con fluazifop-p-butyl; fase 2: aplicación de fluazifop-p-butyl en campo y recolección de semilla de plantas sobrevivientes; fase 3: pruebas experimentales con los tres herbicidas inhibidores de la ACCasa. Las fases 1 y 2 se realizaron de noviembre de 2012 a marzo de 2013; mientras que la fase 3 se realizó de mayo de 2013 a marzo de 2014.

### **Fase 1: Ubicación de lotes problema, recolección de semilla y pruebas preliminares de respuesta de la población de *R. cochinchinensis* a fluazifop-p-butyl.**

#### **a. Ubicación de lote problema y primera recolección de semilla.**

En esta primera fase se ubicó el lote donde se informó de fallas en la eficacia del fluazifop-p-butyl en el control de *R. cochinchinensis* (coordenadas 10°51'10" N y 085°2'17" O) ubicado en la finca del señor Robert Meza en Bellá Vista de Pueblo Nuevo, de San José de Upala, Costa Rica. Se realizó una entrevista focal con el productor para conocer su experiencia con el uso de este herbicida en frijol, el historial de eficacia, así como observaciones hechas en arroz, cultivo que él acostumbra rotar con el frijol. Cuando se realizó la primera visita, las plantas de *R. cochinchinensis* estaban en estado de madurez fisiológica, por lo que el 14 de noviembre del 2012 se hizo una recolección de semillas siguiendo un patrón de recorrido en “zig-zag”, sobre el cual se fijaron puntos de colecta hasta cubrir todo el lote de aproximadamente dos hectáreas



(Figura 1). Se recolectaron aproximadamente 400 g de semilla, equivalente a 50.000 semillas. La semilla se limpió y se dejó secando en una casa de mallas por 2 semanas.



**Figura 1.** Recolección de semillas de *R. cochinchinensis* en el lote en estudio. Upala, 2012.

b. Prueba preliminar para medir la respuesta de la población de *R. cochinchinensis* a fluazifop-p-butil.

Esta prueba se realizó en la casa de mallas del departamento de malezas de la EEAFBM. Para ello se llenaron recipientes plásticos # 300, de 3 litros de capacidad, con suelo franco arcilloso procedente de la EEAFBM, previamente sometido a un tratamiento de vapor para eliminar la posible presencia de semillas de *R. cochinchinensis* diferentes a las del objeto de estudio. Se sembraron 20 semillas por recipiente, una vez germinadas se raleó a 11 plantas por recipiente. Cuando las plantas tenían de tres a cuatro hojas se les aplicó fluazifop-p-butil, a 125 g/ha (1,0 l/ha de PC). Las plantas se mantuvieron dentro de la casa de mallas con suministro frecuente de agua para que estuviesen en buenas condiciones de crecimiento. Se contó con un total de 51 potes con 11 plantas por pote. El objetivo fue evaluar el porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* resistentes, para ello se contó el número de plantas sobrevivientes 8 días después de la aplicación de fluazifop -p- butil, determinando en ellas el grado de daño

según la escala de EWRS (ver cuadro 5). Un mes después de la primera aplicación se realizó una segunda aplicación de fluazifop-p-butil a 125 gramos de ia/ha; para garantizar que las plantas sobrevivientes fueran potencialmente resistentes, y para eliminar completamente las plantas susceptibles. Las plantas se dejaron hasta la etapa de reproducción, con el fin de recoger semilla para experimentos posteriores. Sin embargo esta vía resultó muy lenta y se obtuvo poca semilla, por lo cual se procedió a realizar la fase 2, con la idea de poder obtener un volumen alto de semillas de plantas sobrevivientes directamente en campo.

**Fase 2. Aplicación de fluazifop-p-butil en lote con biotipos supuestamente resistentes y recolección de semilla de plantas sobrevivientes.**

Esta fase se realizó en una plantación de frijol *var.* Guaymi en la finca del productor Robert Meza, en el lote donde se presentó la menor eficacia de control de *R. cochinchinensis* con el fluazifop-p-butil.

Una vez germinado el frijol y cuando las plantas de *R. cochinchinensis* alcanzaron entre 3 y 4 hojas se hizo una aplicación general de fluazifop-p-butil a 125 g/ha y dos semanas después se realizó una segunda aplicación a 125 g/ha. El control de hojas anchas se realizó con fomesafén 100 g/ha cuando éstas se encontraron entre 2 y 3 hojas.

Las plantas sobrevivientes se dejaron en el campo hasta la madurez para recolectar semilla que fue utilizada en la tercera fase. Se utilizó el mismo método de muestreo de la fase 1. La semilla se limpió y se dejó secar a temperatura ambiente por una semana, seguidamente se almacenó en cámara fría a 5 °C.

En pruebas preliminares se observó una alta desuniformidad en la germinación de esta semilla, por lo que se hicieron pruebas con diferentes métodos de ruptura de latencia. El mejor tratamiento encontrado fue la inmersión de la semilla durante 24 horas en agua y luego 12 horas a la sombra antes de sembrarla. Con esta técnica se logró una alta tasa de germinación y uniformidad, por lo que fue el tratamiento escogido para hacer los experimentos de la fase 3.

### **Fase 3: Respuesta de *R. cochinchinensis* a tres herbicidas inhibidores de la ACCasa.**

Esta fase comprendió dos partes, una en la cual se midió la respuesta de la población RCCR1 procedente de los lotes con problemas en Upala, a los herbicidas fluazifop-p-butil, cletodim y cyhalofop butil en dosis crecientes. En la otra parte se evaluó la respuesta de una población susceptible de *R. cochinchinensis* a sub-dosis de los mismos herbicidas, con el fin de estimar la dosis mínima que inhibía el 50 % del peso de las plantas. La población susceptible procedió del lote # 45 ubicado en las coordenadas 10°00'22" N y 84°15'88"O, de la EEAFBM, donde no se habían aplicado estos herbicidas. Esta segunda parte se hizo para generar los datos de GR<sub>50</sub> en la población susceptible, necesarios para calcular el índice GR<sub>50</sub> R/GR<sub>50</sub> S. Este es un índice que compara la dosis del herbicida necesario para inhibir el 50 % del crecimiento de una población resistente, contra el GR<sub>50</sub> de una población susceptible, generando un valor que da una idea de cuantas veces es más resistente esa población, y que puede servir para comparar entre poblaciones, o usarse en futuros trabajos de ésta índole (Jalaludin y Powles 2014).

#### **a). Respuesta de la población RCCR1 a dosis crecientes de los herbicidas fluazifop-p-butil, cletodim y cyhalofop butil.**

Se realizaron tres experimentos (uno para cada herbicida) en el invernadero D de la EEAFBM.

Para estos experimentos se utilizaron recipientes plásticos # 400, de aproximadamente 4 l de capacidad. Cada recipiente se llenó con suelo franco arcilloso procedente de la EEAFBM, que previamente se sometió a vaporización para eliminar la posible presencia de semillas de *R. cochinchinensis* diferentes a las que se deseaba evaluar. El análisis químico del suelo se indica en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Características químicas del suelo utilizado en los experimentos con *R. cochinchinensis* en la EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.

Solución Extractora:		pH	cmol(+)/L					%	mg/L				
KCl-Olsen Modificado		H <sub>2</sub> O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
	ID LAB	5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
Suelo lote EEAFBM	S-14-01291	6	0,17	7,93	2,73	0,45	11,28	2	8	1,4	10	96	6

Los valores debajo de cada elemento corresponden con los Niveles Críticos generales para la solución extractora usada.

CICE=Capacidad de intercambio de Cationes Efectiva=Acidez+Ca+Mg+K      SA=Porcentaje de Saturación de Acidez=(Acidez/CICE)\*100

Se utilizó una población de *R. cochinchinensis* denominada RCCR1 cosechada de plantas sobrevivientes a dos aplicaciones de fluzifop-p-butil (Fusilade 12,5 EC) en el lote problema ubicado en la finca del señor Robert Meza en Buena Vista de San José de Upala.

En cada recipiente, se trasplantaron 10 plántulas de *R. cochinchinensis* procedentes de bandejas donde la semilla se había pre germinado previamente, según resultados de un estudio complementario que se realizó con estas semillas anteriormente. Estos recipientes se mantuvieron en la casa de mallas de malezas de la EEAFBM, donde recibieron riegos periódicos para garantizar un buen crecimiento de las plántulas. (Figura 2).



**Figura 2.** Producción de plántulas de *R. cochinchinensis* en bandejas y trasplante a recipientes plásticos, para lograr una mayor uniformidad en tamaño y número de plantas por recipientes. EEAFBM, Alajuela. 2013.

Cuando las plantas estuvieron en estado de 3 a 4 hojas, se aplicaron los correspondientes tratamientos descritos en cada uno de los experimentos. Para ello se utilizó un aspersor de espalda con regulador de presión de 30 lbs/pulg<sup>2</sup> y boquilla 8002, el cual fue debidamente calibrado para aplicar un volumen equivalente a 200 l/ha. Con ello se hicieron los cálculos respectivos para dosificar correctamente cada tratamiento, el cual fue aplicado siguiendo las condiciones prefijadas en la calibración para garantizar la dosis correcta. Una vez realizada la aplicación de los herbicidas, los recipientes fueron distribuidos al azar sobre mesas dentro del invernadero. Posteriormente se continuó con riegos periódicos para mantener adecuadas condiciones de crecimiento. Los tratamientos evaluados se describen a continuación para cada uno de los experimentos con los herbicidas bajo estudio.

### **Experimento 1. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al fluazifop-p-butil.**

En el cuadro 2 se indican los tratamientos utilizados de fluazifop – p- butil, para los biotipos RCC1 y FBS. Los tratamientos 7 y 8 se utilizaron como referencia con la población susceptible de la EEAFBM, uno fue el testigo y el otro la dosis comercial de fluazifop-p-butil de 125 g/ha.

**Cuadro 2.** Tratamientos de fluazifop- p- butil, utilizados en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 *R. cochinchinensis*. EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.

Tratamientos	Descripción	i.a en g ha <sup>-1</sup> de fluazifop p butil	Producto comercial L ha <sup>-1</sup>
1	RCCR1Upala	0	0
2	RCCR1Upala	62,5	0,5
3	RCCR1Upala	125	1
4	RCCR1Upala	250	2
5	RCCR1Upala	500	4
6	RCCR1Upala	1000	8
7	FBS	0	0
8	FBS	125	1

El producto comercial utilizado fue Fusilade 12,5 EC, formulación que normalmente utilizaba el productor donde se originó el problema de control de *R. cochinchinensis*.

### **Experimento 2. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al cyhalofop butil.**

En el cuadro 3 se indican los tratamientos utilizados en el experimento con cyhalofop- butil. El producto comercial utilizado fue Clincher 18 EC, herbicida selectivo al arroz y que se utiliza en aplicación posemergente a este cultivo para el control de poáceas.

**Cuadro 3.** Tratamientos de cyhalofop- butil en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 de *R. cochinchinensis*. EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.

Tratamientos	Descripción	i.a en g ha <sup>-1</sup> de cyhalofop- butil	Producto comercial L ha <sup>-1</sup>
1	RCCR 1 Upala	0	0
2	RCCR1 Upala	135	0,75
3	RCCR1 Upala	270	1,5
4	RCCR 1 Upala	540	3
5	RCCR 1 Upala	1080	6
6	RCCR 1 Upala	2160	12
7	FBS	0	0
8	FBS	270	1,5

Los tratamientos 7 y 8 se utilizaron como referencia con la población susceptible de la EEAFBM, uno fue el testigo y el otro la dosis comercial de cyhalofop- p- butil a 270 g/ha.

#### **Experimento 3. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al cletodim.**

**Cuadro 4.** Tratamientos de cletodim, utilizados en el experimento de resistencia del biotipo RCCR1 *R. cochinchinensis*. EEAFBM, Alajuela, Costa Rica. 2013.

En el cuadro 4 aparecen los diferentes tratamientos evaluados con el herbicida cletodim.

Tratamientos	Descripción	De i.a en g ha <sup>-1</sup> de Cletodim ester	De producto comercial L ha <sup>-1</sup>
1	RCCR1 Upala	0	0
2	RCCR1 Upala	27	0,225
3	RCCR1 Upala	54	0,45
4	RCCR1 Upala	108	0,9
5	RCCR1 Upala	216	1,8
6	RCCR1 Upala	432	3,6
7	FBS	0	0
8	FBS	54	0,45

Los tratamientos 7 y 8 se utilizaron como referencia con la población susceptible de la EEAFBM, uno fue el testigo y el otro la dosis comercial de cletodim 108 g/ha. El

producto comercial utilizado fue el Select 12 EC, herbicida que también se usa para el control de poáceas en frijol y otros cultivos dicotiledóneos.

### **Diseño experimental**

El diseño utilizado en cada experimento de la fase 3 fue irrestricto al azar con 4 repeticiones. Cada unidad experimental fue un recipiente plástico con 10 plantas de *R. cochinchinensis*.

### **VARIABLES EVALUADAS**

**Porcentaje de daño:** A los 15 días después de la aplicación se contó el número de plantas según el grado de daño y se transformó a porcentaje. Para medir el grado de daño se utilizó la escala de evaluación de toxicidad propuesta por la European Weed Research Society, con sus siglas en inglés EWRS (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society (EWRS) para evaluar toxicidad.

<b>Valor (categoría)</b>	<b>Efecto o daño</b>
1	Sin efecto
2	Síntomas muy ligeros
3	Síntomas ligeros
4	Síntomas leves a moderados
5	Daños medios
6	Daños elevados
7	Daños severos
8	Daños muy severos
9	Muerte de las plantas

**Fuente:**(Morales *et al.* 2005)

**Peso fresco:** las plantas vivas se cosecharon a nivel de suelo a los 20 días después de la aplicación y se midió el peso fresco en una balanza electrónica con precisión de décima de gramo.



Peso seco: las plantas descritas en el apartado anterior, se colocaron en un horno de secado a 70 grados Celsius durante 3 días, al cabo del cual se dejaron enfriar y se tomó el peso seco en una balanza electrónica con precisión de décima de gramo.

#### **Análisis estadístico:**

La variable porcentaje de plantas según grado de daño se analizó mediante una tabla de contingencia. A las variables de respuesta obtenidas se les practicó un análisis de varianza mediante el programa estadístico Infostat comparando las medias según prueba de la diferencia mínima significativa con probabilidad de  $\alpha = 0.05$ . Para determinar los valores de  $GR_{50}$  se hizo un análisis de modelos de regresión y se escogió el que tuviera mayor  $R^2$  y fuera significativo. Se despejó la ecuación seleccionada para calcular el valor de "x" (dosis del herbicida) que inhibía el 50 % del crecimiento, en este caso estimado como peso seco en gramos.

#### **b). Respuesta de la población susceptible de *R. cochinchinensis* (FBS) a sub-dosis de los herbicidas fluazifop-p-butyl, cletodim y cyhalofop- butyl.**

Dentro de los procedimientos para determinar si un biotipo o población es resistente, se utiliza el  $GR_{50}$  (por sus siglas en inglés), que corresponde a la dosis del ingrediente activo que es capaz de reducir en un 50 % la biomasa del biotipo en estudio. Para comparar el grado de resistencia entre poblaciones de la misma especie se utiliza un índice generado por el cociente del  $GR_{50}$  de la población resistente /  $GR_{50}$  de la población susceptible para cada herbicida, según Jalaludin y Powles (2014). Para obtener el  $GR_{50}$  de la población susceptible a los herbicidas fluazifop- p- butyl, cletodim y cyhalofop, fue necesario realizar tres experimentos adicionales, en los cuales se utilizó la población *de R. cochinchinensis* colectada en un lote de la EEAFBM ubicada en La Garita, Alajuela, donde no se habían utilizado herbicidas inhibidores de la ACCasa.

La semilla cosechada se limpió y almacenó durante 6 meses en cámara fría a 5 °C. Previo a la siembra se tomó la semilla y se sumergió en agua a temperatura ambiente durante 24 horas, luego se sacó, se escurrió y se dejó secando a la sombra por 12 horas,

seguidamente se colocaron en una bandeja con el mismo suelo franco arcilloso utilizado en los tres experimentos con el biotipo RCCR1. Cuando las plántulas emergieron, se trasplantaron en grupos de 10 plantas por pote plástico de 3 litros de capacidad. Cuando las plantas alcanzaron el estado de 3 a 4 hojas se aplicaron los tratamientos herbicidas (Cuadro 6). Los recipientes siempre se mantuvieron sobre mesas en una casa de mallas, donde recibieron riegos periódicos para mantener buena humedad.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 5 dosis del herbicida y cinco repeticiones. Cada herbicida se manejó como un experimento aparte. Cada unidad experimental estuvo constituida por un recipiente conteniendo 10 plantas de *R. cochinchinensis*.

Las formulaciones comerciales evaluadas fueron: fluazifop-p-butil (Fusilade 12.5 EC); cletodim (Select 12 EC) y cyhalofop- butil (Clincher 18 EC). Los tratamientos evaluados incluyeron dosis equivalentes a 0 %, 25 %, 50 %, 75 % y 100% de la dosis comercial. Para determinar el  $GR_{50}$  de una población o biotipo susceptible es necesario hacerlo con sub dosis, debido a que la dosis comercial elimina las plantas susceptibles.

**Cuadro 6.** Tratamientos herbicidas evaluados para la determinación del  $GR_{50}$  en el biotipo susceptible de *R. cochinchinensis* (FBS). EEAFBM, Alajuela.2014.

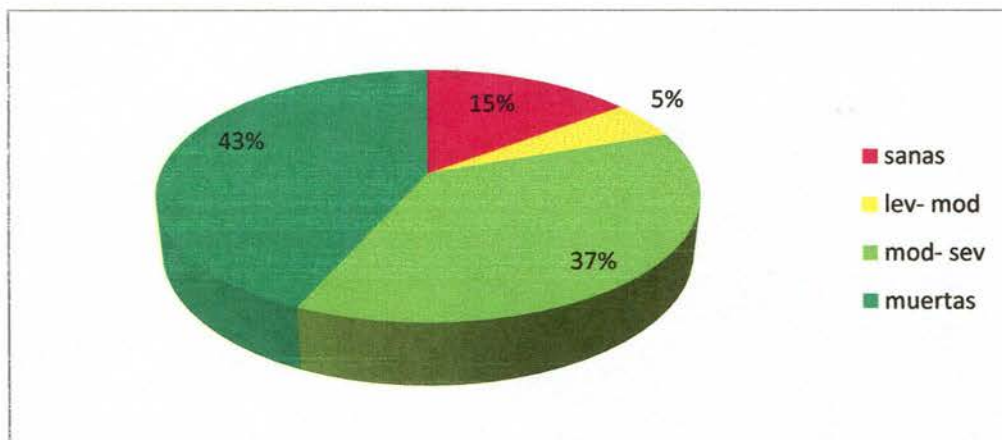
Tratamiento	Fluazifop g/ha	Cletodim g/ha	Cyhalofop g/ha
1	0	0	0
2	30	15	45
3	60	30	90
4	90	45	135
5	125	60	180

Veintidós días después de la aplicación de los tratamientos se cortó la parte aérea de las plantas y se colocó en un horno para secado de muestras durante 48 horas a 70 °C. Se tomó el peso seco para cada tratamiento.

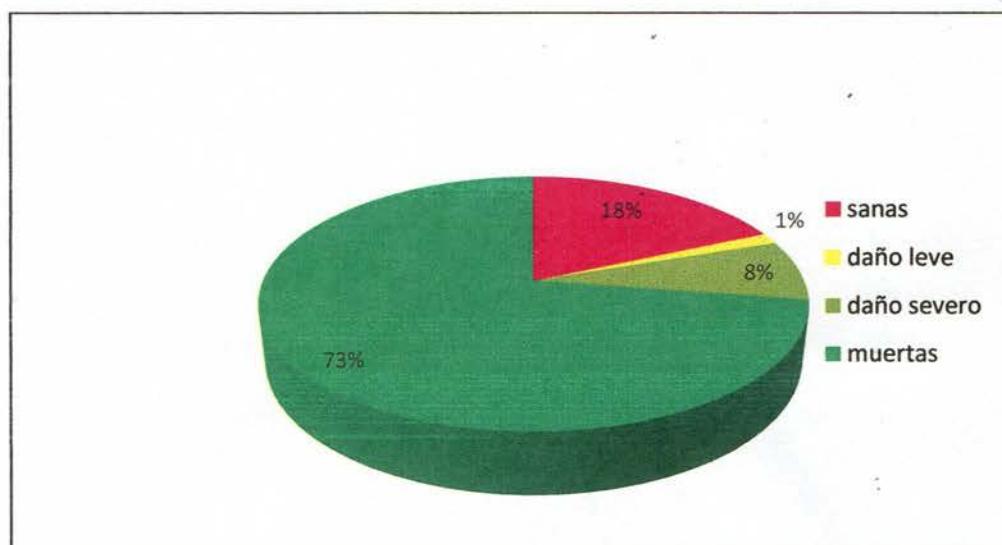
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1º Fase: Prueba preliminar: Respuesta de la población RCCR1 a fluazifop -p-butil.**

Ocho días después de aplicar la dosis comercial recomendada de fluazifop-p-butil se encontró que el 80 % de las plantas tratadas estaban con daños severos o muertas. En tanto un 15 % no mostraron síntomas de toxicidad, y un 5 % presentaron daños leves (Figura 3). Estos datos sugieren, que hay evidencia de individuos que no fueron afectados por la dosis comercial del herbicida. La proporción de estos individuos con supuesta resistencia se mantuvo similar después de una segunda aplicación de fluazifop-p-butil a la misma dosis, realizada un mes después de la primera aplicación (Fig4). Los datos preliminares sugieren que hay segregación, o bien mezcla de semillas de población susceptible y resistente, ya que se presentaron desde individuos que soportaron la dosis comercial hasta otros totalmente susceptibles. Como la semilla utilizada en esta primera prueba preliminar, fue colectada en el lote problema cuando estaba en barbecho, es muy probable que se trate de una mezcla de individuos susceptibles y resistentes. Razón por la cual se procedió a realizar aplicaciones en campo con este herbicida y recolectar semilla de los individuos sobrevivientes, a fin de trabajar con una población más uniforme. Cabe indicar que las plantas sobrevivientes se dejaron en el invernadero y llegaron a producir semillas viables.



**Figura 3.** Porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* RCCR1 con diferente grado de daño, ocho días después de la aplicación de fluazifop-p-butil a 125 g/ha. EAFBM, Alajuela. 2013 .



**Figura 4.** Porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* RCCR1 con diferente grado de daño, después de ser aplicadas en dos ocasiones con fluazifop-p-butil a 125 g/ha. EAFBM, Alajuela. 2013.

## **Fase 2. Aplicación de fluazifop-p-butil en lote con biotipos supuestamente resistentes y recolección de semilla de plantas sobrevivientes.**

Después de hacer las dos aplicaciones de fluazifop – p- butil en el lote donde se había observado la pérdida de eficacia del mismo en el control de *R. cochinchinensis*, se pudo observar que las plantas sobrevivientes estaban distribuidas en parches de diferente tamaño distribuidos por todo el lote. En tanto en el resto de las áreas ocupadas también por *R. cochinchinensis* el control de esta maleza fue total. Estos datos coincidieron con los resultados de la prueba preliminar, en el cual aproximadamente el 20 % de las plantas tratadas no fueron afectadas por este herbicida, aún al doble de la dosis comercial recomendada.

Las plantas sobrevivientes en campo a las dos aplicaciones de fluazifop-p-butil se dejaron madurar y se recolectaron las espigas enteras, las cuales después de dejarlas secar sobre una lona, se desprendieron fácilmente sus semillas. Se observó que fue más fácil y eficiente la recolección de las espigas cortándolas con cuchillo, en comparación a la recolección manual de las semillas maduras por espiga.

El procedimiento de aplicar el herbicida en el lote problema y dejar las plantas sobrevivientes para recoger semilla, fue muy exitoso en este caso específico, ya que permitió observar la distribución real de las plantas sobrevivientes en el campo y recolectar abundante semilla de estas plantas con mayor uniformidad en cuanto a su potencial de resistencia. Las observaciones de campo aportaron información valiosa, pues para el establecimiento de experimentos futuros en campo, se debe considerar la distribución heterogénea y en parches de esta población resistente. Según Valverde y Heap (2009) los herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa son el segundo grupo de herbicidas más propenso a seleccionar poblaciones de malezas resistentes, a este grupo de herbicidas que pertenece la familia química del fluazifop p- butil.

**Fase 3. Respuesta de la población RCCR1 a dosis crecientes de los herbicidas fluazifop-p-butil, cletodim y cyhalofop butil.**

**Experimento 1. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 a dosis crecientes de fluazifop-p-butil.**

Considerando la evaluación de grado de daño según la escala de la EWRS, se encontró que el 100 % de las plantas tratadas con fluazifop-p-butil hasta 250 g/ha, no mostraron ningún síntoma de toxicidad, catalogándose como sanas (Cuadro 7). Cabe indicar que esta dosis representa el doble de la dosis comercial que se recomienda para controlar esta maleza. A 500 g/ha de este herbicida se observó un 57 % de las plantas sanas, mientras que el resto de las plantas mostraron grados de daño intermedios. Datos que concuerdan con lo señalado por Avila *et al.* (2004), quienes encontraron que un biotipo resistente de *R. cochinchinensis* en Bolivia, no mostró daños significativos al ser tratado con 400 g/ha de este herbicida. A 1000 g/ha que representa 8 veces la dosis comercial, un 5 % de las plantas aún se mantuvieron sin ningún síntoma de toxicidad, y un 35 % con solo daños leves. Aún a esta dosis solo un 20 % de las plantas mostraron daños entre severos y muy severos, pero ninguna de las plantas tratadas murió (Cuadro 7). Cabe indicar que la población susceptible procedente de la EEAFBM utilizada como referencia (FBS), en su totalidad y de manera muy uniforme, mostró daños muy severos con la dosis comercial del herbicida, y si se hubiese dejado más tiempo posiblemente todas las plantas habrían llegado a morir. El mismo comportamiento se observó con la variable peso seco por planta (Figura 5). En este caso para la población RCCR1 se presentó un efecto significativo en la reducción del peso seco por planta a partir de la dosis de 500 g/ha. En tanto para la población FBS con la dosis comercial las plantas mostraron una fuerte reducción en el crecimiento y daños muy severos.

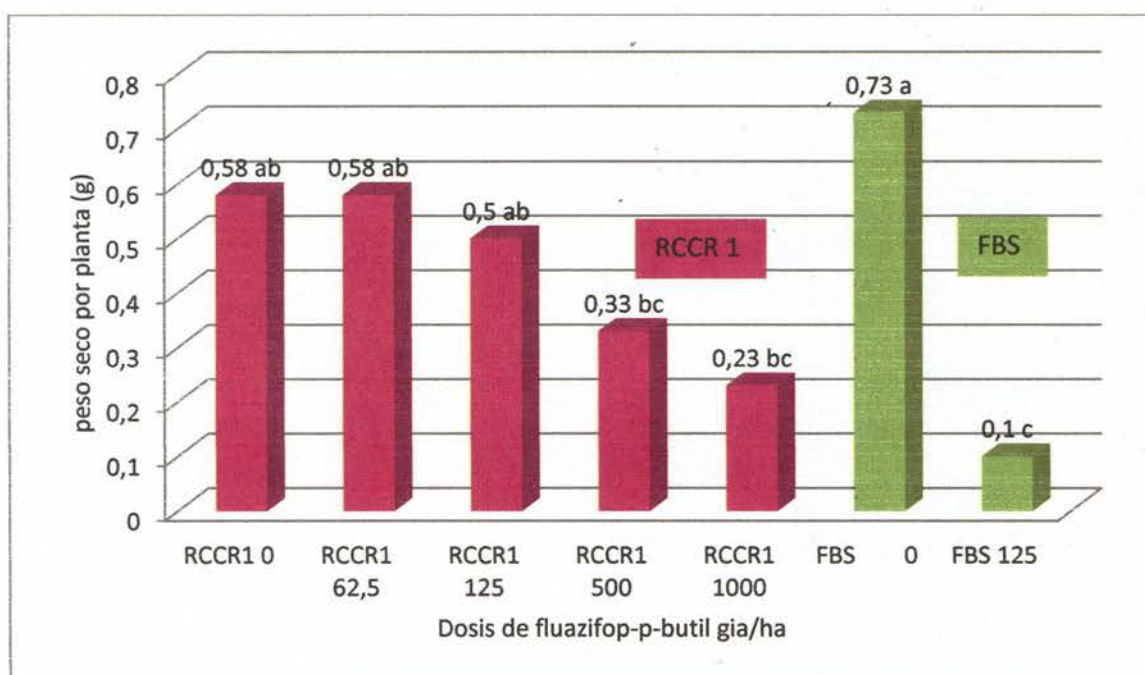
**Cuadro 7.** Porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* de las poblaciones RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis del herbicida fluazifop-p-butil, quince días después de su aplicación. EEAFBM, Alajuela. 2013.

Población	Tratamiento	Grado de daño								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
RCC1	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	62,5	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	125	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	57,5	0	22,5	0	2,5	17,5	0	0	0
	1000	5	35	5	17,5	15	2,5	7,5	12,5	0
La Fabio	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	125	0	0	0	0	0	0	0	100	0

\*Grado de daño según la escala de EWRS, donde 1 son plantas sanas, incrementándose el grado de daño hasta 9 que es muerte de las plantas tratadas.

RCCR1= Población 1 resistente de *R. cochinchinensis* procedente de Upala, Alajuela.

FBS= Población susceptible de *R. cochinchinensis* procedente de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica.



**Figura 5.** Efecto de la dosis de fluazifop-p-butil sobre el peso seco de dos poblaciones de *R. cochinchinensis*. Alajuela. 2013.

Con respecto a los resultados obtenidos en el experimento con sub dosis de fluazifop-p-butyl para determinar el GR<sub>50</sub> de la población susceptible FBS, se encontró que efectivamente esta población fue susceptible al fluazifop-p-butyl. El análisis de regresión dio significativo para el modelo cuadrático con un R<sup>2</sup> de 0,99. Con estos datos se estimó la dosis (X) del herbicida en la cual se alcanzaba el 50 % del peso seco del testigo, valor que fue de 81 g/ha de fluazifop-p-butyl /ha, siendo que la dosis comercial es de 125 g/ha (Cuadro 8). Estos resultados concuerdan con lo señalado por Ávila *et al.* (2004) quienes afirman que en los biotipos susceptibles a partir de los 80 g/ha se presentan daños severos en las plantas de *R. cochinchinensis*.

El índice de resistencia (IR) estimado como el cociente entre el GR<sub>50</sub> de la población RCCR1, procedente de los lotes donde fluazifop-p-butyl mostró pobre control de *R. cochinchinensis* y el GR<sub>50</sub> de la población susceptible de la EEAFBM, denominada FBS, indicó un valor de 5,4 (Cuadro 8). Esto significa que el biotipo RCCR1 es 5,4 veces más resistente al fluazifop-p-butyl que la población susceptible FBS, utilizada como referencia. Cabe resaltar que entre los distintos grupos de herbicidas, los inhibidores de la enzima ACCasa (al que pertenece este herbicida) solo necesita de 6 a 8 años para que se presente un alto riesgo de poblaciones resistentes, o sea que ejercen una elevada presión de selección (FAO 2007).

**Cuadro 8.** Estimación del GR<sub>50</sub> para fluazifop-p-butyl en las poblaciones de *R. cochinchinensis* resistente RCCR1 y susceptible FBS y el índice de resistencia GR<sub>50</sub> RCCR1/GR<sub>50</sub> FBS. Alajuela, 2014.

Población	Herbicida	Regresión	R <sup>2</sup>	GR <sub>50</sub>	IR*
RCCR1	fluazifop p butil	$0,29 = 0,594 + (-0,0007) * X + (0 * X ^2)$	0,98	434	5,4
FBS	fluazifop p butil	$1,74 = 3,4417 + (-0,0291) * X + (0,0001 * X ^2)$	0,99	81	

\*IR (índice de resistencia)= GR<sub>50</sub> RCCI/GR<sub>50</sub> FBS

RCCR1= Población resistente de *R. cochinchinensis* procedente de Upala, Alajuela.

FBS= Población susceptible de *R. cochinchinensis* procedente de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica.

Con estos resultados, y considerando la definición de malezas resistentes de Taberner *et al.* (2009) y Valverde y Heap (2009), se puede decir que la población



RCCR1 obtenida en la finca del productor Robert Meza ubicada en Bella vista de Pueblo Nuevo, de San José de Upala, presenta resistencia al herbicida fluazifop-p-butyl. Lo anterior explica porque aplicaciones comerciales de este herbicida no dan un control satisfactorio de esta maleza, según la experiencia del productor. Aunque es el primer caso en el que se documenta la presencia de una población de *R. cochinchinensis* resistente a fluazifop-p-butyl en Costa Rica, ya se ha informado de biotipos de *R. cochinchinensis* resistentes a fluazifop-p-butyl en Bolivia (Avila *et al.* 2004).

Cabe indicar que aunque no se hicieron evaluaciones particulares, a simple vista no se observaron diferencias morfológicas apreciables entre la población RCCR1 y la FBS, siendo ambos de características muy similares, de porte intermedio, alta producción de hijos, alta producción de espigas y semillas, tallo verde y con pocas raíces de anclaje “raíces aéreas en la base del tallo”. Sin embargo, es probable que ocurran morfotipos de esta especie en el lote donde se recogió semilla de la población RCCR, ya que se observó en menor densidad otro tipo de *R. cochinchinensis* de mayor tamaño, coloración de tallo rojiza, muchas raíces de anclaje en la base del tallo, con menor producción de inflorescencias y altamente atacado en sus inflorescencias por un hongo no identificado. Debido a que su densidad en el lote fue muy baja no se consideró en los estudios. Salazar (2005) en un estudio realizado con *R. cochinchinensis* en Guatemala menciona la presencia de varios morfotipos de esta maleza, variando principalmente en altura de planta a floración, número de inflorescencias y color de tallo, entre otros.

### **Experimento 2. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al cyhalofop butil.**

De acuerdo con la variable porcentaje de daño, se encontró que las plantas de la población RCCR1 tratadas con dosis de hasta 270 g/ha no mostraron ningún síntoma de toxicidad. Esta es la dosis comercial recomendada para controlar poáceas indeseables en arroz. A 540 g/ha el 70 % de las plantas no presentaron síntomas de toxicidad, mientras que un 25 % mostró síntomas leves. A 1080 g/ha que representó cuatro veces la dosis comercial, se encontró que todas las plantas tratadas presentaron daños entre moderados y muy severos, y a 2160 g/ha que representa ocho veces la dosis comercial,

el 45 % de las plantas murieron, mientras que el restante 55% presentó daños muy severos (Cuadro 9). Un dato interesante es que la población FBS (de la EEAFBM), supuestamente susceptible, si bien fue afectada por la dosis comercial, mostrando daños entre moderados y muy severos, esas plantas no llegaron a morir en el plazo del experimento, lo cual podría indicar que se requiere dar un mayor plazo a la hora de evaluar, o que pudieran existir algunos individuos con cierto grado de resistencia (Cuadro 9). Sin embargo, en otra parte de la investigación para determinar el GR<sub>50</sub> de la población FBS susceptible, se observaron daños muy severos en todas las plantas tratadas con la dosis comercial de este herbicida.

**Cuadro 9.** Porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* de las poblaciones RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis del herbicida cyhalofop-butil, quince días después de su aplicación. EEAFBM, Alajuela. 2013.

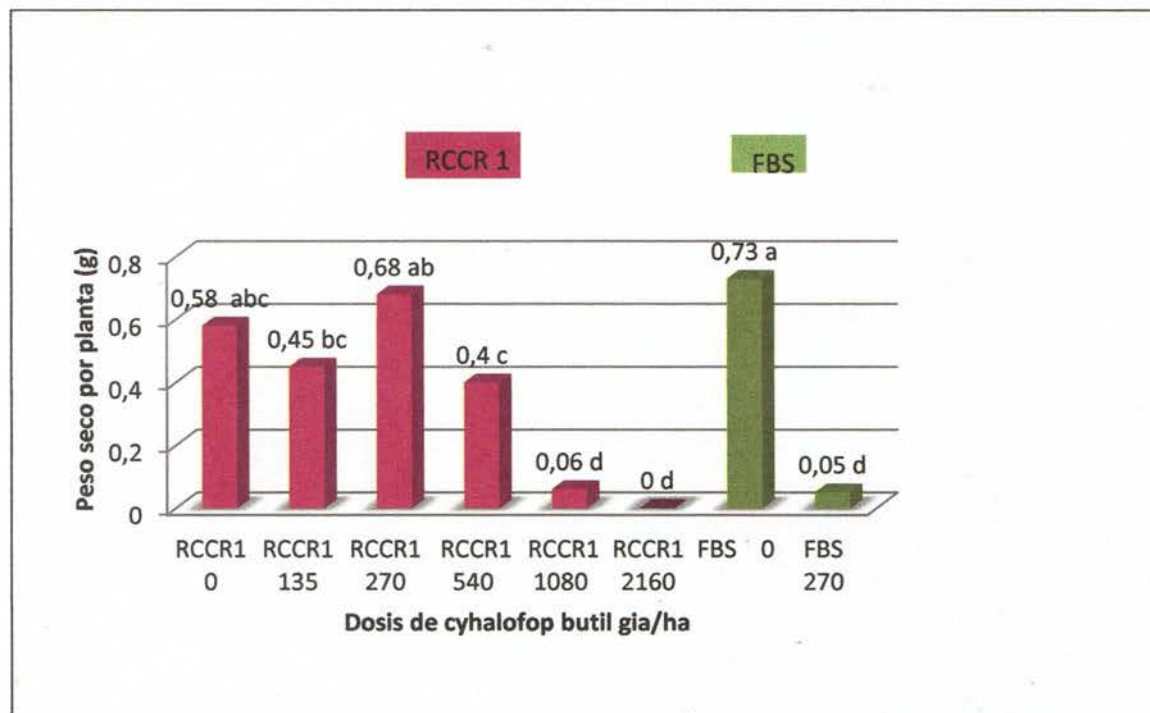
Población	tratamientos (g/ha cyhalofop p butil)	Grado de daño								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
RCCR1	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	135	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	270	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	540	70	25	5	0	0	0	0	0	0
	1080	0	0	0	5	46	13	23	8	5
	2160	0	0	0	0	0	0	0	55	45
FBS	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	270	3	0	0	0	0	42	39	16	0

\*Grado de daño según la escala de EWRS, donde 1 son plantas sanas, incrementándose el grado de daño hasta 9 que es muerte de las plantas tratadas.

RCCR1= Población resistente de *R. cochinchinensis* procedente de Upala, Alajuela.

FBS= Población susceptible de *R. cochinchinensis* procedente de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica.

Con la variable peso seco por planta se observó una reducción drástica y significativa a partir de la dosis de 1080 g/ha de cyhalofop-butil, lo que representa cuatro veces la dosis comercial. En contraste la población susceptible FBS a la dosis comercial de 270 g/ha fue severamente afectada y el peso seco drásticamente reducido, mientras que no ocurrió lo mismo con la población RCCR1 a la misma dosis (Figura 6).



**Figura 6.** Efecto de la dosis de cyhalofop - butil sobre el peso seco de dos poblaciones de *R. cochinchinensis*. Alajuela. 2013.

Con respecto al  $GR_{50}$  para cyhalofop- butil en la población RCCR1 se encontró que la dosis que redujo el crecimiento en un 50 % fue 576 gia/ha (Cuadro 10). Mientras que en la población susceptible el  $GR_{50}$  estimado fue de 43,5 gia/ha, bastante bajo si se considera que la dosis comercial oscila entre 180 y 270 gia/ha según el estado de desarrollo y tipo de maleza poácea a controlar. El índice de resistencia (IR) estimado para la población RCCR1 con cyhalofop- butil fue de 13,2. Esto indica que esta población fue 13 veces más resistente que la población susceptible de referencia FBS. Este valor relativamente alto en parte se debió a que la población FBS fue muy susceptible al cyhalofop- butil y con solo 43 gia/ha se inhibió el 50 % del crecimiento, además los datos reales también indicaron un fuerte efecto con 45 gia/ha, lo cual sugiere que poblaciones susceptibles de *R. cochinchinensis* en estados de 2 a 4 hojas podrían ser

controladas eficientemente con hasta una cuarta parte de la dosis que normalmente se aplica.

**Cuadro 10.** Estimación del GR<sub>50</sub> para cyhalofop- butil en las poblaciones de *R. cochinchinensis* resistente RCCR1 y susceptible FBS y el índice de resistencia (GR<sub>50</sub> RCCR1/GR<sub>50</sub> FBS). Alajuela, 2014.

Población	Herbicida	Regresión	R <sup>2</sup>	GR 50	IR*
RCCR1	cyhalofop butil	$0,29 = 0,6355 + (-0,0006) * X + (0 * X ^ 2)$	0,8329	576	13,2
FBS	cyhalofop butil	$1,265 = 2,5217 + (0,0188) * X + (-0,04036 * X ^ 1/2)$	0,9981	43,5	

\*IR (índice de resistencia)= GR<sub>50</sub> RCC1/GR<sub>50</sub> FBS

RCCR1= Población resistente de *R. cochinchinensis* procedente de Upala, Alajuela.

FBS= Población susceptible de *R. cochinchinensis* procedente de la Estación Experimental

Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica.

### Experimento 3. Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al cletodim.

Según el grado de daño, a los 15 días después de la aplicación las plantas tratadas con dosis entre 27 y 216 g/ha de cletodim no mostraron daños, o si éstos aparecieron fueron leves (Cuadro 11). A la dosis de 432 g/ha, que representa ocho veces la dosis comercial, el 97 % de las plantas presentó un grado de daño inferior a cuatro, o sea, síntomas de muy ligeros a moderados. Entre tanto la población susceptible FBS tratada con la dosis comercial de cletodim (54 g/ha) presentó alta variabilidad en el grado de daño, observándose desde plantas sanas hasta algunas con daños muy severos (Cuadro 11, anexo 16) Estos datos podrían sugerir cierto grado de resistencia a cletodim en la población RCCR1, pero al analizar los datos obtenidos con la variable peso seco, tomados a los 20 días después de la aplicación, se observó un comportamiento diferente al de grado de daño. En este caso ocurrió una disminución significativa en el peso seco por planta a partir de la mitad de la dosis comercial (27 g/ha), siendo similar el efecto en el resto de las dosis evaluadas (Figura 7). Es probable que esta diferencia se deba a que en el caso de este herbicida, se requiere dar más tiempo para evaluar la variable grado de daño y así permitir que la planta exprese toda la sintomatología. Cabe indicar

que se decidió evaluar grado de daño 15 días después de la aplicación de los herbicidas, principalmente porque se tenía experiencia con el fluazifop-p-butil, para el cual este periodo de espera es adecuado. Sin embargo se notó que para cyhalofop y cletodim lo deseable sería hacer la evaluación de esta variable entre los 20 y 22 días después de la aplicación.

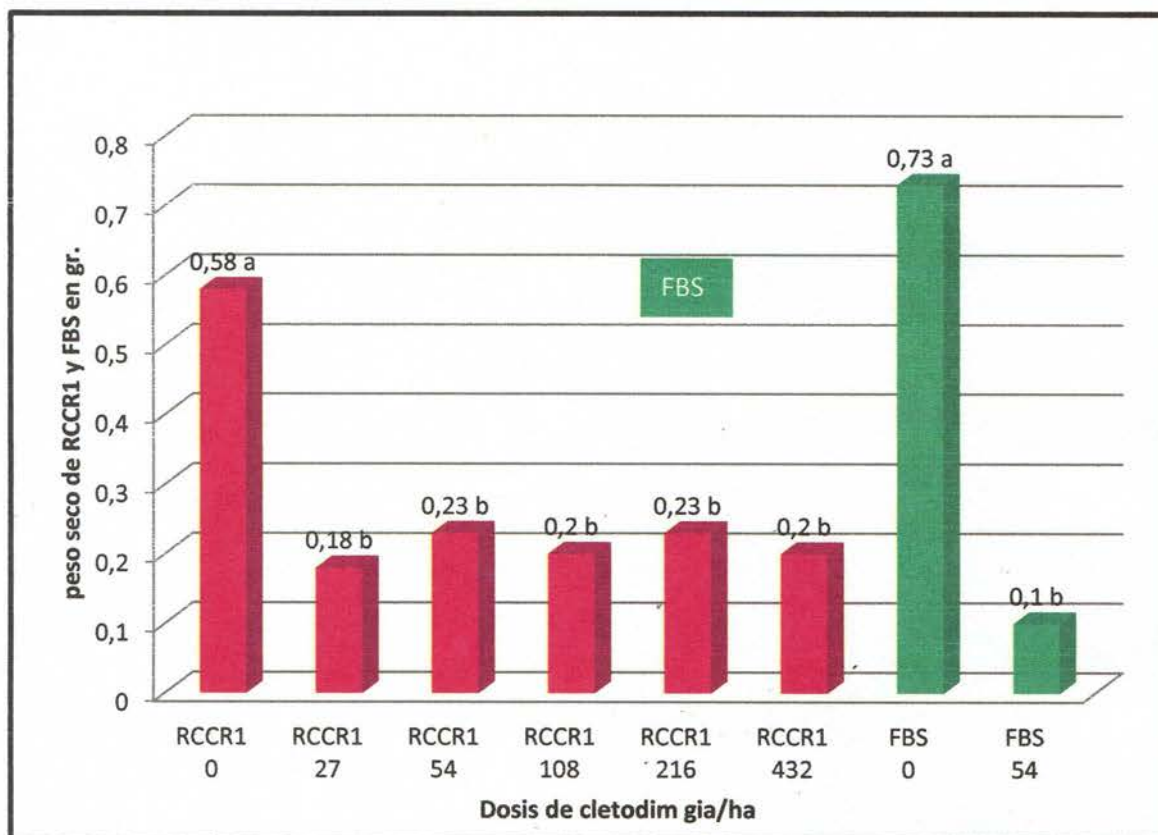
**Cuadro 11.** Porcentaje de plantas de *R. cochinchinensis* en las poblaciones RCCR1 y FBS por grado de daño según dosis del herbicida cletodim. EEAFBM, Alajuela. 2013.

Población	tratamientos (g/ha cletodim)	Grado de daño								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
RCCR1	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	27	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	108	85	0	12,5	0	2,5	0	0	0	0
	216	70	30	0	0	0	0	0	0	0
	432	0	12,5	25	60	0	2,5	0	0	0
FBS	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	13	13	0	25	18	20	0	13	0

\*Grado de daño según la escala de EWRS, donde 1 son plantas sanas, incrementándose el grado de daño hasta 9 que es muerte de las plantas tratadas.

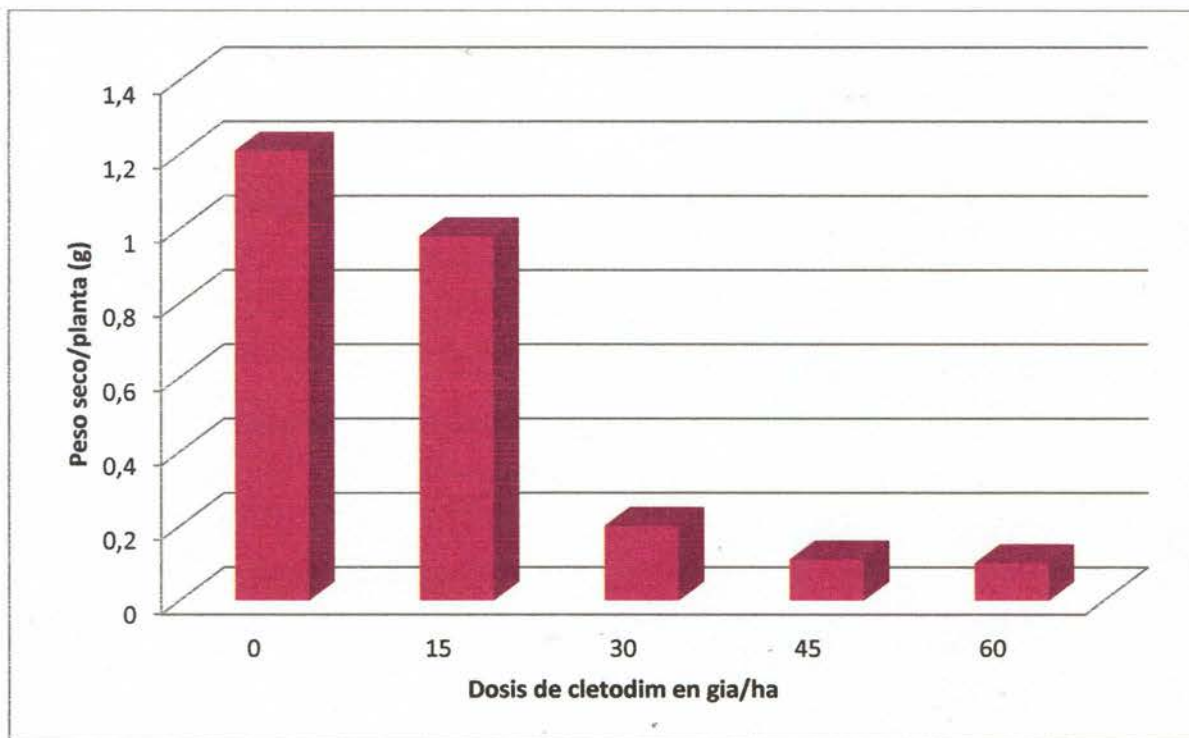
RCCR1= Población resistente de *R. cochinchinensis* procedente de Upala, Costa Rica.

FBS= Población susceptible de *R. cochinchinensis* procedente de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica.



**Figura 7.** Efecto de la dosis de cletodim sobre el peso seco de dos poblaciones de *R. cochinchenensis*. Alajuela. 2013.

Los resultados indican que el efecto del cletodim fue similar en la población RCCR1 y la población susceptible FBS, pues con dosis tan bajas como 27 o 30 g/ha que representan aproximadamente la mitad de la dosis comercial, la reducción en el peso seco fue muy severa y significativa en ambas poblaciones (Figuras 7 y 8). Por lo tanto puede decirse que la población RCCR1 evaluada en este experimento es susceptible al cletodim bajo las condiciones evaluadas.



**Figura 8.** Efecto de sub dosis de cletodim en el peso seco por planta de la población FBS de *R. cochinchinensis*. Alajuela, 2014.

De acuerdo con estos resultados y para responder a los objetivos específicos propuestos, se puede indicar que efectivamente la población RCCR1 de *R. cochinchinensis* procedente de Upala muestra resistencia al herbicida fluazifop-p-butil, lo cual explica las fallas observadas por el agricultor en el control de esta maleza cuando aplica este herbicida. Por otro lado, también se puede indicar que la población RCCR1 presenta resistencia cruzada a cyhalofop butil, pero no a cletodim. Los tres herbicidas evaluados presentan el mismo mecanismo de acción, son inhibidores de la enzima ACCasa, por lo que se afecta severamente la síntesis de ácidos grasos y lípidos, causando la muerte de las plantas susceptibles (Vencill 2010, Somos *et al* 2010, Kaundum 2014).

Los herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa, se han clasificado en tres grupos: los ariloxifenoxipropionatos (conocidos como APP o FOPs), ciclohexanodionas (CHD o DIMs) y fenilpirazol (PPZ o DEN) (Kaundum, 2014). Esta clasificación es importante en tanto las mutaciones que ocurren en la enzima ACCasa pueden conferir resistencia a unos grupos y no a otros, aun cuando se trate del mismo mecanismo de acción. Kaundum (2014) menciona que se ha documentado resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa en al menos en 43 poáceas, y que los estudios genéticos realizados indican que esto se debe a cambios ocurridos en el codón de la enzima en las posiciones 1781, 1999, 2027, 2041, 2078, 2088 y 2096. Powles y YU (2010) indican que la sustitución Trp-2027-Cys en el dominio CT de la ACCasa confiere resistencia a los APP (ariloxifenoxipropionatos) y a los PPZ (fenilpirazolininas), pero no a los CHD (ciclohexanodionas). En un estudio molecular realizado por Castillo *et al* (2014), con las mismas poblaciones RCCR1 y FBS de *R. cochinchinensis* encontraron que la población RCCR1 presentó una sustitución Trp-2027-Cys en la posición 2027, conocida por conferir resistencia al grupo de los FOPs o APP, al cual pertenecen los herbicidas fluazifop-p-butil y cyhalofop- butil, pero no confiere resistencia al grupo de los DIMs al cual pertenece el cletodim. Esto podría explicar porque esta población resultó con resistencia a los herbicidas fluazifop- p- butil y cyhalofop- butil, pero no al cletodim. Esto concuerda con lo expuesto por Valverde y Heap (2009) que aseguran que muchas de las malezas gramíneas en Latinoamérica resistentes a los herbicidas “fop”, pueden ser controladas con los herbicidas “dim”, tal es el caso del cletodim.

También los resultados confirman en parte las observaciones del agricultor donde se presentó el problema de pobre control de *R. cochinchinensis* con fluazifop-p-butil, quién indicó que el control de esta maleza en frijol era mejor con cletodim, y que en los ciclos de arroz, el cyhalofop tenía problemas para controlar la *R. cochinchinensis*. Es probable que el uso repetido y en dosis relativamente altas de cyhalofop en arroz y fluazifop-p-butil en frijol, haya incrementado paulatinamente la presión de selección de los individuos con resistencia.



De acuerdo con esta situación es importante dejar de utilizar herbicidas FOPs en estos sitios donde se presentó resistencia, y tomar medidas preventivas para no diseminar semilla de los individuos resistentes a otros lotes o áreas vecinas. También sería importante hacer rotación con otros cultivos donde se puedan utilizar alternativas de manejo de malezas que no incluyan a los herbicidas FOPs. En el caso de frijol y arroz convendría que evaluaran la eficacia de la pendimetalina para el control de los biotipos resistentes, pues se conoce que este herbicida en preemergencia tiene buen control sobre *R. cochinchinensis* (Vencill 2010). La deshierba manual antes de que las plantas de *R. cochinchinensis* produzcan semillas, lo mismo que control con chapeas en los periodos de barbecho, pueden contribuir a bajar la presión de selección en estos lotes.

## CONCLUSIONES

1. Se confirma que la población RCCR1 de *R. cochinchinensis* procedente de San José de Upala, presentó resistencia al herbicida fluazifop-p-butil, siendo cinco veces más resistente que la población susceptible de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno (FBS), el índice de resistencia fue 5,4.
2. La misma población RCCR1 presentó resistencia cruzada al cyhalofop - butil, con un índice de resistencia equivalente a 13 veces más resistente que la población susceptible (FBS) utilizada como referencia.
3. La población RCCR1 fue susceptible al herbicida cletodim (grupo DIMs).
4. La población RCCR1 resultó con resistencia al grupo FOPs pero no al grupo de herbicidas DIMs, aun cuando ambos tienen el mismo mecanismo de acción.
5. La población FBS fue susceptible a los herbicidas fluazifop-p-butil, cyhalofop- butil y cletodim.
6. La metodología de aplicar en el campo el herbicida que se sospecha hay resistencia y coleccionar semillas de los individuos sobrevivientes, fue muy efectiva y permitió ver la distribución real de los individuos resistentes en el campo.

## LITERATURA CITADA

Arce, C. Verificación de la resistencia de poblaciones de *Echinochloa colona* a la formulación de los herbicidas Imazapic + Imazapir que inhiben la ALS (acetolactato sintetasa) y alternativas para su control químico en arroz (*Oryza sativa* L.). Tesis para optar por el grado de licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitosanidad. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 57 pp.

Avila, W; Bolaños, A; Valverde, B; Segura, A. 2004. Resistance of *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) WD Clayton to fluazifop-p-butyl in biotypes from Santa Cruz, Bolivia. . Wimauma, Asociación Latinoamericana de Malezas. 219-225 pp. 02-01-2014, <http://gcrec.ifas.ufl.edu/Weed%20Science/ALAM/Web%20page/ALAM01.htm>

Castillo, M; Brenes, A; Herrera, F; Gómez A. (En prensa). Molecular basis for resistance to fluazifop - p - butyl in itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) (Lour.) W.D. Clayton) from Costa Rica. Planta Daninha (en prensa).

CONARROZ. 2014. Estadísticas arroceras.. Corporación Arroceras Nacional. San José, Costa Rica. 05-11-2014, <http://www.conarroz.com/>

CNP. 2014. Estadísticas y análisis de mercado del frijol. Consejo Nacional de Producción. San José, Costa Rica. 05-11-2014, <http://www.simacr.go.cr/index.php/produccion-de-frijol-2/item/1350-estimaciones-frijol>

Delgado, M; Ortiz, A; Zambrano, C. 2006. Resistencia de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) WD Clayton al herbicida nicosulfuron en cultivos de maíz. Agronomía Tropical 56(2):171-182.

Delgado, M; Ortiz, A; Zambrano, C. 2008. Poblaciones de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) WD Clayton con resistencia cruzada al foramsulfuron+ iodosulfuron. Agronomía Tropical 58(2):175-180.

Diez De Ulzurrun, P; Leaden, M. 2012. Sensitivity analysis of *Lolium multiflorum* biotypes to Glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides. *Planta Daninha* 30(3):667-673. 03-10-2013, <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/IPM/Weeds/Download/manejo.pdf>.

Esqueda, V; Tosquy, O. 2014. Validación de *cyhalofop- butil + clomazone* para el control de *Echinochloa colona* (L.) Link en arroz de temporal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (5): 741-751 .

FAO. 2006. Desarrollo de la capacidad técnica para la evaluación de la competitividad de los productos agropecuarios y los efectos de la apertura comercial” Estudio de Competitividad del Frijol en Costa Rica con la Metodología de la Matriz de Análisis De Política (MAP) Zona Norte, Costa Rica.

\_\_\_\_\_. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes: 100 preguntas sobre resistencias. Consultado. 10-10-2012 <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB0QFjAA&url=ftp%3A%2F%2Fftp.fao.org%2Fdocrep%2Ffao%2F010%2Fa1422s%2Fa1422s00.pdf&ei=MxppVKifMMiYgwTFiIPADw&usg=AFQjCNHxhRRomFmyqr16iDSL04hU07taA&bvm=bv.79142246,d.eXY>

\_\_\_\_\_. 2011. Análisis del Estado de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe. enero - marzo 1:11 pp.

Garcia, E. 2009. Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucia, Teustepe y San Lorenzo del departamento de Boaco, Nicaragua. IICA-RED SICTA-COSUDE:24p.

Gressel, J. 2002. *Molecular Biology of Weed Control*. Frontier in life Science. Ed. Taylor & Francis, London. 510 p.

Heap, I. 2013. Encuesta Internacional de Malezas Resistentes a Herbicidas (ISHRW). Consultado. 05-06-2013, <http://www.weedscience.com>.

Heap, I. S.F. Las peores malezas mundiales resistentes a herbicidas. *Weed Science. Revista especial*. 7- 11 pp. 05-06-2013,

[http://www.aapresid.org.ar/rem/wpcontent/uploads/sites/3/2013/02/REMSD12\\_001.pdf](http://www.aapresid.org.ar/rem/wpcontent/uploads/sites/3/2013/02/REMSD12_001.pdf)

Heap, I. S.F. International survey of herbicide-resistant weeds. 27 p. 05-06-2013, <http://www.cabdirect.org/abstracts/20002301280.html>

HRAC. 2014. Management of resistance. Consultado. 18-12-2014, <http://www.hracglobal.com/Overview/ManagementofResistance.aspx>

Jalaludin, Q.; Powles. S.B. 2014. Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in an *Eleusine indica* population. Weed Research (DOI: 10.1111/wre.12118). 17-05-2013, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/wre.12118/abstract>

Kaundum, SS. 2014. Resistance to acetyl- CoA carboxylase inhibiting herbicides. Biological Sciences ( United Kingdom) Doi: 10.1002/ps.3790.

Labrada, R; Caseley, J; Parker, C. 1996. Manejo de Malezas para Países en Desarrollo.(Estudio FAO Producción y Protección Vegetal. .

Morales, LH; García, R; Ninfa, M; Pérez, JF; Galán, LJ. 2005. Evaluación en campo de formulaciones de *Bacillus thuringiensis* contra *Diatraea* sp. Ciencia UANL 8(1).

Powles, BS; Yu, Q. 2010. Evolución en acción: las plantas resistentes a los herbicidas. Annu. Rev. Plant Biol. 61: 317-347.

Robles, R; Sanchez, R. 2006. Clasificación y uso de los herbicidas por su modo de acción. Seretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 65 p.

Salazar, E. 2005. Recopilación de la diversidad agromorfológica de la maleza caminadora *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W Clayton, en el cultivo de la caña de azúcar en el departamento de Escuintla. Tesis para optar por el título de licenciado en agronomía, Universidad San Carlos de Guatemala. 49 pp

Somos, Q; Areas, O; Cañera, MZ; Generales, E. 2010. Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar. Lea 12:42.

Taberner, A; Cirujeda, A; Zaragoza, C. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas: 100 preguntas sobre resistencias. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia. 67 p

Ulloa, M; De la Cruz, R. 1990. Competencia de caminadora *R. cochinchinensis* en cultivos de frijol rojo *Phaseolus vulgaris* L. Manejo Integrado de Plagas 15: 1-12.

Valverde, B; Itoh, K; Powles, S; Shaner, D. 2001a. World rice and herbicide resistance. *Herbicide resistance and world grains* 2(1):195-249.

Valverde, B; Riches, C; Caseley, J. 2001b. Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz. Experiencias en America Central con *Echinochloa colona*. San José, CR: Cámara de Insumos Agropecuarios.

Valverde, B; Heap, I. 2009. El estado actual de la resistencia a herbicidas en el mundo. Seminario Internacional Diagnostico y Manejo de la Resistencia a Herbicidas, Temuco.

Vencill, W.K (ed) 2010. *Herbicide Handbook*. WSSA. 493 p.

Vila, M; Neve, P; Powles, S. 2009. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* 184(4):751-767.

Volenberg, D; Stoltenberg, D. 2002. Altered acetyl-coenzyme A carboxylase confers resistance to clethodim, fluazifop and sethoxydim in *Setaria faberi* and *Digitaria sanguinalis*. *Weed Research* 42(5):342-350.

WSSA 2014. Gráficos sobre especies resistentes a herbicidas. 10-12-2014.  
<http://www.weedscience.org/summary/home.asp>

**ANEXOS**

**Figura 1A.** Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al fluazifop-p-butyl. De izquierda a derecha: testigo, 62,5 g/ha, 125 g/ha, 250 g/ha, 500 g/ha y 1000 g/ha. EEAFBM. Alajuela, 2014.



**Figura 2A.** Respuesta de *R. cochinchinensis* RCCR1 al Cyhalofop butyl. De izquierda a derecha: testigo, 135 g/ha, 270 g/ha, 540 g/ha, 1080 g/ha, 2160 g/ha. EEAFBM. Alajuela, 2014.



**Figura 3A.** Efecto de los tres herbicidas evaluados en la población susceptible FBS. De izquierda a derecha: testigo FBS, dosis comercial de fluazifop p- butil 125 g/ha, dosis comercial de Cyhalofop butil 270 g/ha, dosis comercial de cletodim 54 g/ha. 15dda. EEAFBM. Alajuela, 2014.