

Trabajo Fin de Grado

Evaluación de la resistencia al glifosato en las especies *Conyza canadensis* (L.), *Conyza bonariensis* (L.), *Conyza sumatrensis* (Retz.) y *Aster squamatus* (Spreng.) en la comarca de Valdejalón

Evaluation of glyphosate resistance in the species *Conyza* (L.), *Conyza bonariensis* (L.), *Conyza bonariensis* (L.), *Conyza sumatrensis* (Retz.) y *Aster squamatus* (Spreng.) in the Valdejalón region

Autor/es

Leticia Artigas Serrano

Director/es

Joaquín Aibar Lete

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR
Año 2018

RESUMEN

Las malas hierbas han sido un problema desde el comienzo de la agricultura hasta la actualidad. Desde 1996 han proliferado los casos de resistencia a glifosato y hay ya 38 especies de malas hierbas resistentes a glifosato (Heap, 2018). En España el primer caso de resistencia detectado del género *Conyza* fue *C. bonariensis* encontrada en huertos de Sevilla por J. M^a. Urbano (2004), seguido por *C. canadensis* encontrada en huertos de Sevilla (Urbano, 2006) y posteriormente *C. sumatrensis* en huertos de Huelva (De Prado y González, 2009). En el caso de *A. squamatus* es resistente a tres imidazolinona, pero no hay casos detectados de resistencia a glifosato (Osuna *et al.*, 2003).

Se recogieron 6 poblaciones de *Conyza bonariensis*, 5 poblaciones de *Conyza canadensis*, 4 poblaciones de *Conyza sumatrensis* y 2 poblaciones de *Aster squamatus*, todas ellas en las hileras de los campales entre árboles. Se realizó un tratamiento con un diseño experimental completamente aleatorizado, con 5 repeticiones, en dos ensayos y seis dosis más un testigo sin tratar. En el estado de roseta se trataron con glifosato 36% aplicando las siguientes dosis: 1 l/ha (360 g i.a./ha), 2 l/ha (720 g i.a./ha), 4 l/ha (1440 g i.a./ha), 8 l/ha (2880 g i.a./ha), 16 l/ha (5760 g i.a./ha) y 32 l/ha (11520 g i.a./ha). Después del tratamiento se realizó un análisis visual de la supervivencia siguiendo la escala de puntuación propuesta por la Sociedad Europea de Investigación en Malas hierbas (EWRS) para determinar el grado de fitotoxicidad, un análisis de biomasa fresca/seca y los datos obtenidos se analizan mediante la dosis-respuesta.

Se demuestra resistencia de las especies *C. bonariensis* (Estación y Primi) y *C. canadensis* (Álvaro, Royo y Ave) y *C. sumatrensis* (Álvaro). También la dosis necesaria para llevar el control total es la dosis 5 que equivale a 16 l/ha. Los resultados de FR muestran que el aparente problema de resistencia no es muy grave, pero eso no significa que no se tengan que llevar a cabo medidas, se tienen que realizar buenas prácticas agrícolas y métodos de prevención de resistencias.

Palabras clave: Glifosato, resistencia, malas hierbas.

ABSTRACT

Weeds have been problematic from the inception of agriculture to the present day. Since 1996 cases of glyphosate resistance have proliferated and there are now 38 species of weeds resistant to glyphosate (Heap, 2018). In Spain, the first detected case of resistance of the genus *Conyza* was *C. bonariensis* found in Seville orchards by J. M^a. Urbano (2004). This was followed by *C. canadensis* found in Seville orchards (Urbano, 2006) and later *C. sumatrensis* in Huelva orchards (De Prado and González, 2009). *A. squamatus* is resistant to three imidazolinones, but there are no detected cases of resistance to glyphosate (Osuna et al., 2003).

Six populations of *Conyza bonariensis*, five populations of *Conyza canadensis*, four populations of *Conyza sumatrensis* and two populations of *Aster squamatus* were collected, all of them in the rows of fields between trees. A treatment was carried out with a completely randomized experimental design, with 5 repetitions, in two trials and six doses plus one untreated control. In the rosette state, 36% were treated with glyphosate at the following doses: 1 l/ha (360 g i.a./ha), 2 l/ha (720 g i.a./ha), 4 l/ha (1440 g i.a./ha), 8 l/ha (2880 g i.a./ha), 16 l/ha (5760 g i.a./ha) and 32 l/ha (11520 g i.a./ha). After treatment, a visual survival analysis was performed following the European Society for Weed Research (EWRS) proposed scoring scale to determine the degree of phytotoxicity, a fresh/dry biomass analysis and the data obtained are analyzed by dose-response.

Resistance is demonstrated in the species *C. bonariensis* (Estación and Primi) and *C. canadensis* (Álvaro, Royo and Ave) and *C. sumatrensis* (Álvaro). Also the necessary dose to carry out the total control is dose 5 which is equivalent to 16 l/ha. The results of FR show that the apparent resistance problem is not very serious, but that does not mean that measures do not have to be carried out, good agricultural practices and resistance prevention methods have to be carried out.

Key word: Glyphosate, resistance, weeds.

INDICE

INDICE.....	I
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. GENERO CONYZA.....	1
1.1.1. Origen	1
1.1.2. Descripción botánica	2
1.2. ASTER SQUAMATUS	7
1.2.1 Origen	7
1.2.2 Descripción botánica	8
1.3. LAS MALAS HIERBAS Y SU CONTROL	10
1.3.1. Control de <i>Conyza</i> spp. y <i>A. squamatus</i> en cultivos arbóreos	11
1.4. HERBICIDAS.....	13
1.4.1. Glifosato	13
1.5. RESISTENCIA A HERBICIDAS	16
1.5.1. Resistencia al glifosato	19
1.5.2. Prevención de resistencias	21
1.5.3. Evolución resistencia <i>Conyza</i> spp. y <i>A. squamatus</i>	21
1.5.4. Manejo de poblaciones resistentes.....	23
2. OBJETIVOS	24
3. MATERIAL Y MÉTODOS	25
3.1. Área de estudio.....	25
3.2. Material vegetal	26
3.3. Ensayos	29
4. RESULTADOS	33
4.1. Ensayo 1.....	33
4.1.1. Evaluación visual de la fitotoxicidad	34
4.1.2. Supervivencia	37
4.1.3. Biomasa según el peso fresco/seco.....	42
4.1.4. Factor de resistencia	54
4.2. Ensayo 2.....	57

4.2.1. Evaluación visual de la fitotoxicidad	57
4.2.2. Supervivencia	63
4.2.3. Biomasa según el peso fresco/seco.....	67
4.2.4. Factor de resistencia	80
4.3. Comparación de ensayos	83
4.3.2. Evaluación visual de la fitotoxicidad	83
4.3.1. Supervivencia	85
4.3.3. Factor de resistencia respecto a la supervivencia.....	88
4.3.4. Factor de resistencia respecto a la biomasa fresca/seca	89
5. CONCLUSIONES	90
6. BIBLIOGRAFIA.....	91

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las especies de interés de Conyza en el mundo.....	1
--	---

Figura 2. Distribución de las especies de interés de <i>Conyza</i> en la península ibérica.....	2
Figura 3. a, <i>C. bonariensis</i> ; b, <i>C. canadensis</i> ; c, <i>C. sumatrensis</i>	4
Figura 4. <i>C. bonariensis</i> adulta. Figura 5. Plántula <i>C. bonariensis</i>	5
Figura 6. <i>C. bonariensis</i> en campo. Figura 7. Plántula <i>C. bonariensis</i>	5
Figura 8. <i>C. canadensis</i> adulta. Figura 9. Plántula <i>C. canadensis</i>	6
Figura 10. <i>C. canadensis</i> en campo. Figura 11. Plántula <i>C. canadensis</i>	6
Figura 12. <i>C. sumatrensis</i> adulta. Figura 13. Plántula <i>C. sumatrensis</i>	7
Figura 14. <i>C. sumatrensis</i> en campo. Figura 15. Plántula <i>C. sumatrensis</i>	7
Figura 16. Distribución de <i>A. squamatus</i> por el mundo.....	8
Figura 17. Distribución <i>A. squamatus</i> en la península ibérica.....	8
Figura 18. <i>A. squamatus</i> adulta. Figura 19. Plántula <i>A. squamatus</i>	9
Figura 20. <i>A. squamatus</i> en campo. Figura 21. Plántula <i>A. squamatus</i>	9
Figura 22. Individuos resistentes en la población.....	17
Figura 23. Individuos tolerantes.....	17
Figura 24. Distribución casos de resistencia a herbicidas en el mundo.....	18
Figura 25. Localización de Ricla en el mapa de España, Aragón y Valdejalón.....	25
Figura 26. Mapa de dominios del paisaje del municipio de Ricla.....	26
Figura 27. Zona de ubicación de las semillas recolectadas.....	28
Figura 28. Separación de las semillas. Figura 29. Almacenamiento de las semillas....	28
Figura 30. Germinación de las semillas sembradas. Figura 31. Plántulas trasplantadas.	30
Figura 32. Pulverización de precisión CITA. Figura 33. Pulverización de precisión EPSH.	31
Figura 34. Peso fresco. Figura 35. Peso seco.....	32
Figura 36. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. bonariensis</i>	34
Figura 37. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. canadensis</i>	34
Figura 38. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. sumatrensis</i>	35
Figura 39. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 15 ddt.....	35
Figura 40. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt de <i>C. bonariensis</i>	36
Figura 41. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. en <i>C. canadensis</i>	36
Figura 42. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de <i>C. sumatrensis</i>	37
Figura 43. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 30 ddt.....	37
Figura 44. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt.	38
Figura 45. Supervivencia poblaciones <i>C. sumatrensis</i> a los 15 ddt.....	39
Figura 46. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.....	39
Figura 47. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.	40
Figura 48. Supervivencia <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.	40
Figura 49. Supervivencia <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.	41
Figura 50. Supervivencia <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.	41
Figura 51. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.....	42
Figura 52. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.....	43
Figura 53. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.	43
Figura 54. Peso fresco <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.....	44

Figura 55. Peso seco <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.	44
Figura 56. Peso fresco <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.	45
Figura 57. Peso seco <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.	46
Figura 58. Peso fresco <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.	46
Figura 59. Peso seco <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.	47
Figura 60. Peso fresco por especies a los 30 ddt.	47
Figura 61. Peso seco por especies a los 30 ddt.	48
Figura 62. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.	48
Figura 63. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.	49
Figura 64. Peso fresco <i>C. bonariensis</i> a los 45 ddt.	49
Figura 65. Peso seco <i>C. bonariensis</i> a los 45 ddt.	50
Figura 66. Peso fresco <i>C. canadensis</i> a los 45 ddt.	51
Figura 67. Peso seco <i>C. canadensis</i> a los 45 ddt.	51
Figura 68. Peso fresco <i>C. sumatrensis</i> a los 45 ddt.	52
Figura 69. Peso seco <i>C. sumatrensis</i> a los 45 ddt.	53
Figura 70. Peso fresco por especies a los 45 ddt.	53
Figura 71. Peso seco por especies a los 45 ddt.	54
Figura 72. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. bonariensis</i>	58
Figura 73. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. canadensis</i>	58
Figura 74. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>C. sumatrensis</i>	59
Figura 75. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de <i>A. squamatus</i>	59
Figura 76. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 15 ddt.	60
Figura 77. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de <i>C. bonariensis</i>	60
Figura 78. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de <i>C. canadensis</i>	61
Figura 79. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de <i>C. sumatrensis</i>	61
Figura 80. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de <i>A. squamatus</i>	62
Figura 81. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 30 ddt.	62
Figura 82. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt.	63
Figura 83. Supervivencia <i>C. sumatrensis</i> a los 15 ddt.	64
Figura 84. Supervivencia <i>A. squamatus</i> a los 15 ddt.	64
Figura 85. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.	65
Figura 86. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.	65
Figura 87. Supervivencia <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.	66
Figura 88. Supervivencia <i>A. squamatus</i> a los 30 ddt.	66
Figura 89. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.	67
Figura 90. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.	68
Figura 91. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.	68
Figura 92. Peso fresco <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.	69
Figura 93. Peso seco <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.	69
Figura 94. Peso seco <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.	70

Figura 95. Peso seco <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.....	70
Figura 96. Peso fresco <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.	71
Figura 97. Peso seco <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.....	71
Figura 98. Peso fresco <i>A. squamatus</i> a los 30 ddt.....	72
Figura 99. Peso seco <i>A. squamatus</i> a los 30 ddt.....	73
Figura 100. Peso fresco por especies a los 30 ddt.....	73
Figura 101. Peso seco por especies a los 30 ddt.	74
Figura 102. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.	74
Figura 103. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.....	75
Figura 104. Peso fresco <i>C. bonariensis</i> a los 45 ddt.	75
Figura 105. Peso seco <i>C. bonariensis</i> a los 45 ddt.....	76
Figura 106. Peso fresco <i>C. canadensis</i> a los 45 ddt.....	76
Figura 107. Peso seco <i>C. canadensis</i> a los 45 ddt.....	77
Figura 108. Peso fresco <i>C. sumatrensis</i> a los 45 ddt.	77
Figura 109. Peso seco <i>C. sumatrensis</i> a los 45 ddt.....	78
Figura 110. Peso fresco <i>A. squamatus</i> a los 45 ddt.....	78
Figura 111. Peso seco <i>A. squamatus</i> a los 45 ddt.....	79
Figura 112. Peso fresco por especie a los 45 ddt.	79
Figura 113. Peso seco por especies a los 45 ddt.	80

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de las características de <i>Conyza</i>	3
Tabla 2. Localización de las especies del estudio.	27
Tabla 3. Duración de los ensayos	29
Tabla 4. Escala propuesta por EWRS.	31
Tabla 5. Poblaciones del ensayo 1.....	33
Tabla 6. Valores asignados al parámetro de supervivencia.	38
Tabla 7.LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de C. sumatrensis a los 15 ddt..	54
Tabla 8. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de C. bonariensis a los 30 ddt..	55
Tabla 9. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de C. canadensis a los 30 ddt..	55
Tabla 10. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de C. sumatrensis a los 30 ddt.....	55
Tabla 11.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. bonariensis a los 30 ddt.. ...	56
Tabla 12.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. canadensis a los 30 ddt.. ...	56
Tabla 13.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. sumatrensis a los 30 ddt.. .	56
Tabla 14.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. bonariensis a los 45 ddt.. ...	56
Tabla 15.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. canadensis los 45 ddt..	57
Tabla 16.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de C. sumatrensis a los 45 ddt.. .	57
Tabla 17.LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de <i>C. sumatrensis</i> a los 15 ddt. y 30 ddt..	80
Tabla 18.LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de <i>A. squamatus</i> a los 15 ddt. y 30 ddt.....	81
Tabla 19.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. bonariensis</i> a los 30 ddt.....	81
Tabla 20. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. canadensis</i> a los 30 ddt.....	81
Tabla 21. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. sumatrensis</i> a los 30 ddt.. .	82
Tabla 22.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>A. squamatus</i> a los 30 ddt.....	82
Tabla 23.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. bonariensis</i> a los 45 ddt.. ...	82
Tabla 24.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. canadensis</i> a los 45 ddt.....	82
Tabla 25. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>C. sumatrensis</i> a los 45 ddt.. .	83
Tabla 26. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de <i>A. squamatus</i> a los 45 ddt.....	83

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERO CONYZA

1.1.1. Origen

El género *Conyza* pertenece a la familia Asteraceae que comprende 23000 especies de plantas entre 1600-1700 géneros las cuales se distribuyen en todo el mundo, a excepción de la Antártida (Funk *et al.*, 2005). En el género *Conyza*, hay entre 50-80 especies distribuidas en casi todo el mundo creciendo en regiones templadas y subtropicales (Sansom *et al.*, 2013).

En la Figura 1 se puede observar la distribución de *C. bonariensis*, *C. canadensis* y *C. sumatrensis* en el mundo.

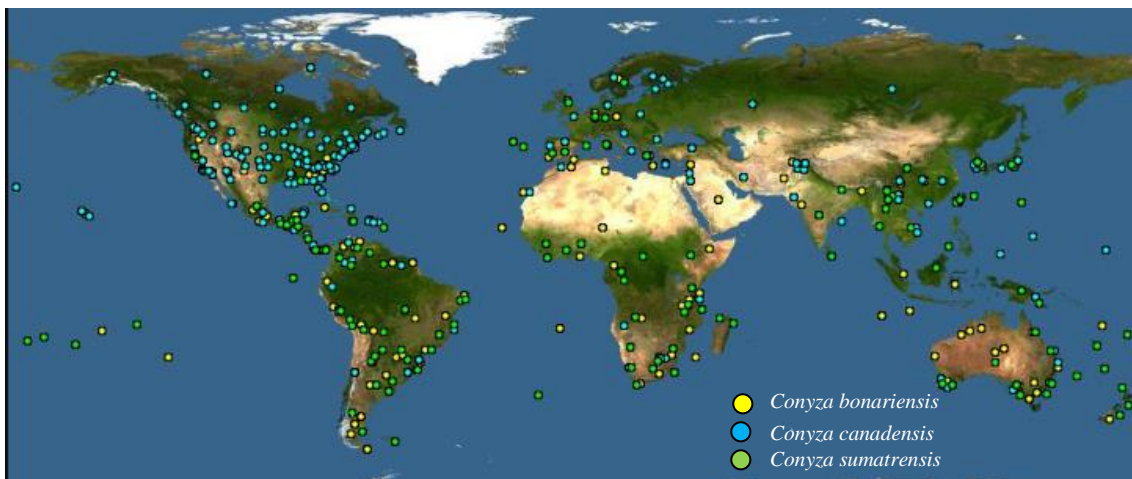


Figura 1. Distribución de las especies de interés de *Conyza* en el mundo.

Fuente: Discoverlife, 2018.

Las tres especies de interés del género *Conyza* se encuentran en Europa introducidas desde América encontrándose como malas hierbas en áreas cultivables y no cultivables. En la Figura 2 se puede observar la distribución de *C. bonariensis*, *C. canadensis* y *C. sumatrensis* en la península ibérica.

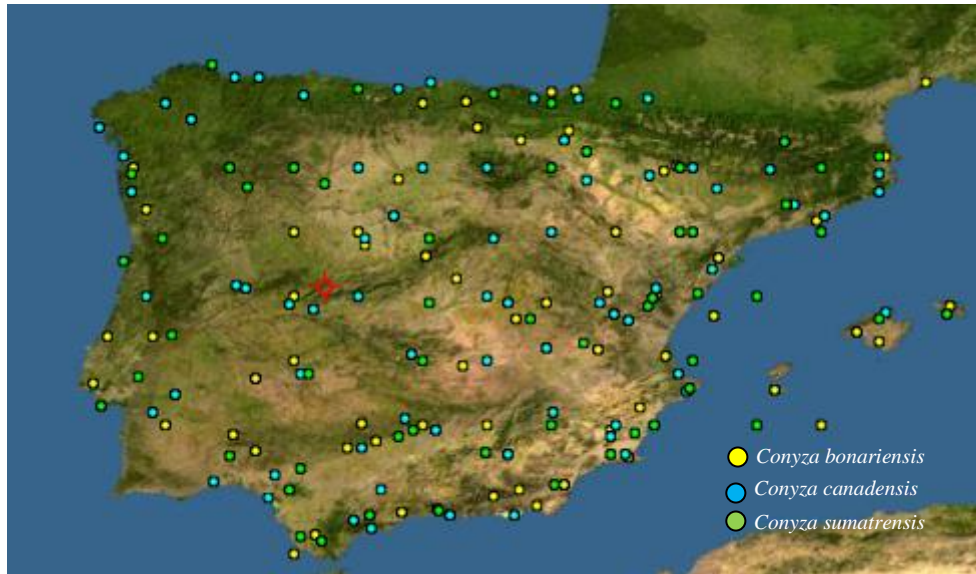


Figura 2. Distribución de las especies de interés de *Conyza* en la península ibérica.

Fuente: Discoverlife, 2018.

Estas tres especies principales de *Conyza* son nativas de América, siendo *C. canadensis* originaria de Norteamérica y diploide ($n=18$ cromosomas)(Green 2010; Thebaud y Abbott, 1995), *C. bonariensis* y *C. sumatrensis* originarias de Sudamérica y poliploides ($n= 54$ cromosomas)(Thebaud y Abbott, 1995; Goldblatt, 1985).

También hay evidencia de hibridación interespecífica a bajos niveles (VanGessel, 2001) siendo reconocidos híbridos entre las tres especies:

- C. x flahaultiana* (Thell.) Sennen (*C. bonariensis* x *C. canadensis*)
- C. x daveauana* Sennen (*C. sumatrensis* x *C. bonariensis*)
- C. x rouyana* Sennen (*C. sumatrensis* x *C. canadensis*)

Los híbridos poseen características comunes de ambos progenitores (Recasens y Conesa, 2009).

1.1.2. Descripción botánica

En este trabajo se encontraron las tres especies de *Conyza* siendo identificadas mediante las pautas descritas por Recasens y Conesa (2009) resumidas en la tabla 1 y los dibujos de los capítulos y hojas de la parte media del tallo mostradas en la Figura 3.

Tabla 1. Descripción de las características de *Conyza*.

		C. bonariensis	C. canadensis	C. sumatrensis
Ciclo		Anual (bienal)	Anual (bienal)	Anual (Perennizante)
Cotiledones		Cotiledones de 3 mm, redondos y glabros	4 x 2 mm, elípticos o redondeados y glabros	2-3 x 1,5-2 mm, redondeados y glabros
Color general		Verde grisáceo	Verde claro	Verde grisáceo
Hojas	Indumento	Pelosidad densa y corta en ambas caras de la hoja	Pelosidad poco densa; con el margen foliar largamente ciliado	Pelosidad densa y corta distribuida en ambas caras de la hoja
	Superiores	Lineares, con un solo nervio visible, enteras o poco dentadas	Lineares, enteras o poco dentadas	Ensanchadas en la parte media, con nervios secundarios, visibles, dentadas
	Inferiores	Lanceolado-lineares, a menudo dentadas, de 2-5 x 0,3-0,6 cm	Lanceolado-lineares, enteras o dentadas, de 3-10 x 0,2-1 cm	Lanceoladas, dentadas, de 10-15 x 1,5-3 cm
Involucro	Forma	Muy ventrudo en la base	Casi cilíndrico	Poco ventrudo en la base
	Diámetro	8-10 mm en fructificación	3-5 mm en fructificación	4-7 mm en fructificación
	Brácteas	Muy pelosas	Glabrescentes	Muy pelosas
Flores	Número	50-120	25-50	130-200
	Periférica	Con lígula poco visible < 0,5 mm	Con lígula blanca 0,6-1 mm	Con lígula poco visible < 0,5 mm
Vilano cipsela		5-6 mm	3-3,5 mm	4-6 mm

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.

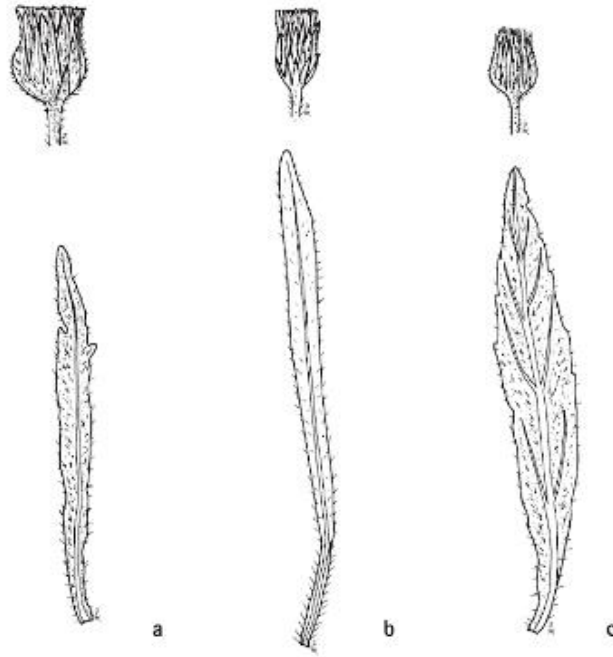


Figura 3. a, *C. bonariensis*; b, *C. canadensis*; c, *C. sumatrensis*.

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.

1.1.2.1. *Conyza bonariensis*

C. bonariensis es una planta anual de germinación preferentemente invernal, en el estado de plántula se encuentra en roseta, siendo de un color grisáceo y pubescente, los cotiledones miden 3 mm siendo redondeados y glabros. Las hojas verdaderas son alternas y pelosas, siendo las tres o cuatro primeras enteras orbiculares u ovales, en las siguientes aparecen dos dientes simétricos en el margen que aumentan en las hojas posteriores tornándose estas a dentadas o pinnatipartidas. Una vez se desarrolla el tallo las hojas son lineares o linear-lanceoladas, generalmente enteras (Recasens y Conesa, 2009) (Figuras 4 a 7).

Una planta puede producir más de 85000 semillas (Green, 2010). Pero esta producción de semillas varía en función de la altura de la planta y sus ramificaciones, por ejemplo, al cortar una planta esta se ramifica por lo tanto produce más semillas.

Las semillas son de germinación superficial siendo los suelos franco arenosos los preferidos para su germinación (Wu *et al.*, 2007). Según Shrestha *et al.* (2008), la semilla puede sobrevivir hasta 3 años bajo condiciones de campo y según Widderick *et al.* (2012)

la viabilidad de la semilla en el suelo se pierde en 12-18 meses. La floración se produce de julio a noviembre.



Figura 4. *C. bonariensis* adulta. Figura 5. Plántula *C. bonariensis*.

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.



Figura 6. *C. bonariensis* en campo. Figura 7. Plántula *C. bonariensis*.

Fuente: Leticia Artigas.

1.1.2.2. *Conyza canadensis*

C. canadensis es una planta anual de germinación invernal, en el estado de plántula se encuentra en roseta, siendo de un color verde claro brillante, los cotiledones miden 4 x 2 mm siendo elípticos o redondeados, glabros y con pecíolos aplanados. Las hojas verdaderas son alternas, glabrescentes con los bordes ciliados, las primeras hojas son enteras o dentadas, con el peciolo claramente diferenciado del limbo, más tarde se tornan a pinnatífidas. Una vez se desarrolla el tallo las hojas son lineares o linear-lanceoladas y enteras (Recasens y Conesa, 2009) (Figuras 8 a 11).

Una planta puede producir de 50000 - 200000 semillas dependiendo de la altura y las ramificaciones (Holm *et al.*, 1997). Las semillas son de germinación superficial reduciéndose la germinación en un 90% si se encuentran a más de 1 cm de profundidad (Weaver, 2001). La longevidad de las semillas en el suelo puede durar hasta 3 años (Wu

et al., 2007). Según el Dauer *et al.* (2007) la semilla regularmente se dispersa al menos 500 m. Prefiere suelos pedregosos, arenosos y arcillosos con poco humus (Weaver 2001; Wu *et al.*, 2007). La floración se produce de julio a octubre.



Figura 8. *C. canadensis* adulta. Figura 9. Plántula *C. canadensis*.

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.



Figura 10. *C. canadensis* en campo. Figura 11. Plántula *C. canadensis*.

Fuente: Leticia Artigas.

1.1.2.3. *Conyza sumatrensis*

C. sumatrensis es una planta anual de germinación invernal siendo en ocasiones perennizante, en el estado de plántula se encuentra en roseta, siendo de un color grisáceo y pubescente, los cotiledones miden 2-3 x 1,5-2 mm siendo redondeados y glabros con pecíolos muy cortos. Las hojas verdaderas son oblongas, alternas y pubescentes, siendo las primeras de pequeño tamaño, enteras, de limbo redondeado y después oval o elíptico, después las hojas son oblongas, dentadas a pinnatífidas. Una vez se desarrolla el tallo las hojas son enteras o dentadas (Recasens y Conesa, 2009) (Figuras 12 a 15).

Se adapta a la mayoría de suelos prefiriendo los descuidados y perturbados (Samson *et al.*, 2013). La floración de *C. sumatrensis* es menor que las demás *Conyzas* durando hasta septiembre.



Figura 12. *C. sumatrensis* adulta. Figura 13. Plántula *C. sumatrensis*.

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.



Figura 14. *C. sumatrensis* en campo. Figura 15. Plántula *C. sumatrensis*.

Fuente: Leticia Artigas.

1.2. ASTER SQUAMATUS

1.2.1 Origen

El género *Aster* pertenece a la familia Asteraceae que comprende alrededor de 200 especies utilizadas la gran mayoría como plantas ornamentales. En la Figura 16 se puede observar la distribución de *A. squamatus* en el mundo.



Figura 16. Distribución de *A. squamatus* por el mundo.

Fuente: Discoverlife, 2018.

En la Península ibérica se encuentra ampliamente distribuida introducida desde Sudamérica como muestra la Figura 17.

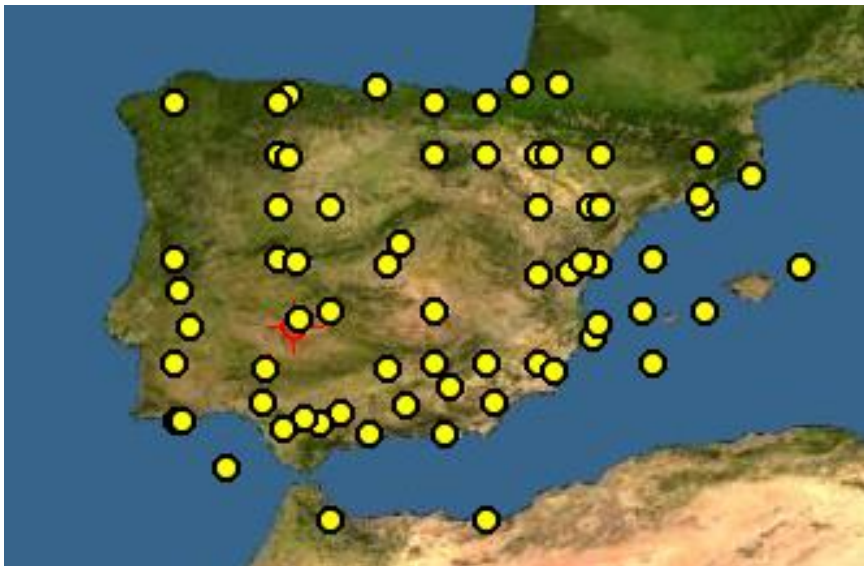


Figura 17. Distribución *A. squamatus* en la península ibérica.

Fuente: Discoverlife, 2018.

A. squamatus es originaria de Sudamérica siendo diploide ($2n=20$).

1.2.2 Descripción botánica

A. squamatus es una planta plurianual con cepa persistente (leñosa) portadora de yemas que rebrotan a finales de invierno o principios de primavera, en el estado de plántula se encuentra en roseta, siendo glabra con tintes violáceos, los cotiledones son

menores de 6 mm y redondeados. Las hojas verdaderas son alternas, enteras, ovales o estrechamente lanceoladas, un poco carnosas, atenuadas en la base y con el peciolo acanalado, con dientes hialinos en el margen que parecen cilios (Recasens y Conesa, 2009) (Figura 18 a 21).

En este estudio se vio una relación con *C. sumatrensis* debido a que conviven en la mayoría de los campos por lo que parece que prefiere campos descuidados y pedregosos, pero últimamente se encuentra sola invadiendo campos bien cuidados.

Las semillas pueden emerger desde una profundidad de menos de 1 cm viéndose germinando entre las grietas de baldosas y paredes.



Figura 18. *A. squamatus* adulta. Figura 19. Plántula *A. squamatus*.

Fuente: Recasens y Conesa, 2009.



Figura 20. *A. squamatus* en campo. Figura 21. Plántula *A. squamatus*.

Fuente: Leticia Artigas.

1.3. LAS MALAS HIERBAS Y SU CONTROL

Las malas hierbas han sido un problema desde el comienzo de la agricultura hasta la actualidad viéndose cada vez más incrementado por el cambio de las prácticas agrarias. Estas interfieren en el crecimiento y desarrollo del cultivo sobre todo cuando el cultivo es joven compitiendo con él por la luz, espacio y nutrientes, por lo que su control es necesario.

Los primeros métodos de control usados fueron manuales mediante la escarda, posteriormente con la aparición del tractor se utilizaron las máquinas y en los años 40 empezaron a desarrollarse los primeros herbicidas siendo 2,4-D el primero.

Actualmente hay varios tipos de medidas de laboreo y no laboreo para controlarlas (Universidad Pública de Navarra, 2018):

- **Métodos preventivos:** Sirven para evitar la introducción de las especies. Limpiar los márgenes de los campos (evita que se propaguen del campo del vecino); limpiar la maquinaria (evita que se introduzcan semillas resistentes de otros campos); asegurar que los plantones vienen limpios (en la tierra pueden contener semillas).
- **Métodos agronómicos:** Unos de los métodos más comúnmente utilizados antes del siglo XX para cultivos extensivos como intensivos ha sido la rotación de cultivos, pero para el caso de cultivos arbóreos no es factible. Para cultivos arbóreos lo que más se utiliza son las cubiertas vegetales que además de evitar la germinación de malas hierbas evita la erosión y mejora el balance hídrico.
- **Métodos mecánicos:** Unos de los métodos es la solarización que consiste en aumentar la temperatura del suelo a unos niveles mortales para las malas hierbas mediante unas cubiertas de plástico; otro método son las cubiertas inertes que cubren la superficie del suelo con "mulch" que actúan como barreras físicas estáticas impidiendo la germinación de malas hierbas y

reteniendo la humedad. Uno de los métodos más usados es la siega, pero se tiene que realizar antes de la floración para evitar la acumulación de semillas en la zona, siendo a veces no realizada de esta forma empeorando la situación.

- **Métodos biológicos:** Se utilizan organismos vivos como herbívoros que a través del pastoreo evitan la formación y propagación de semillas, pero estos en su pelaje pueden contener semillas si han estado en otro campo con plantas adultas en floración. Al igual que los cultivos, las malas hierbas tienen enemigos naturales o alóctonos que pueden dañar, reducir o eliminarlas siendo insectos, hongos, bacterias y nematodos. Los hongos patógenos son los más eficaces denominándose microherbicidas y los microbios no patógenos se denominan bioherbicidas (González, 2006).
- **Métodos químicos:** Los herbicidas son compuestos químicos que se aplican a las plantas y producen una alteración en su estructura o funciones que conduce a la muerte de la planta. Es el método más usado.

1.3.1. Control de *Conyza* spp. y *A. squamatus* en cultivos arbóreos

La gestión de *Conyza* spp. es una de las labores más problemáticas para el agricultor viéndose incrementada durante estos últimos años debido a la aparición de la resistencia al glifosato. En el caso de *A. squamatus* se está empezando a notar la presencia de esta mala hierba en la mayoría de campos sola o conviviendo con las especies *Conyza*. Esto se debe en gran parte al cambio de del sistema de laboreo siendo ahora el más utilizado el no laboreo.

Con el laboreo tradicional se conseguía un control eficaz debido a que las semillas eran enterradas a una profundidad donde estas ya no podían germinar y como se ha visto anteriormente estas especies requieren muy poca profundidad para poder

germinar. En el laboreo mínimo las labores son superficiales por lo que estas quedan enterradas superficialmente empeorando la situación dado que se realiza una siembra de las malas hierbas. El sistema de no-laboreo mantiene en la superficie restos del cultivo anterior siendo en el caso de cultivos arbóreos los restos de la poda, esto genera una mayor infestación de las malas hierbas, pero genera una mejora de la calidad del suelo evitando la erosión y compactación, aumentando la materia orgánica y actividad biológica y reduciendo los costes económicos al no tener que utilizar maquinaria (González, 2003).

En cultivos arbóreos al no poder realizar adecuadamente el laboreo lo más eficaz para eliminar las malas hierbas es el no-laboreo mediante el uso de herbicidas lo que conlleva el uso excesivo del glifosato.

En este uso excesivo pueden llevarse a cabo errores como:

- **Realizar tratamientos subletales** que controlan las malas hierbas susceptibles, pero la dosis utilizada es menor que la requerida para controlar *Conyza* spp. creando un estrés fisiológico en el que la planta ya no crece correctamente, ya no es susceptible a tratamientos posteriores y puede generar una floración avanzada (Wada y Takemo, 2010) creando una mayor proliferación de semillas.
- **Uso de mezclas inapropiadas** de glifosato con otros herbicidas puede causar antagonismo, reduciendo la translocación de glifosato a través de la mala hierba (Selleck, 1981; Flint y Barrett, 1989).
- **Realizar el tratamiento en condiciones de estrés** debido a que los estomas se cierran y la actividad sistémica de las malas hierbas se reduce (De Ruiter y Meinen, 1998).
- **Realizar la aplicación del herbicida en etapas de crecimiento con mayor tolerancia al glifosato**, estudios realizados en el invernadero y el campo por la Universidad de Córdoba (De Prado, 2007) han demostrado que la tolerancia del género *Conyza* al glifosato depende del momento de su aplicación. Siendo el más eficaz el periodo desde plántula hasta la etapa de roseta (Shrestha *et al.*, 2008).

Estudios realizados por Urbano (2008) mostraron mejoras en el control con glifosato añadiendo amitrol, clopiralida, flazasulfurón, fluoxipir, glufosinato y MCPA.

Por lo tanto, lo esencial para los agricultores es conocer el tipo de problema que tienen en sus cultivos y poder realizar el método de control adecuado.

1.4. HERBICIDAS

En los países industrializados los herbicidas se aplican sobre el 85-100% de todos los cultivos principales.

Las sales inorgánicas, tales como sulfato de cobre, se usaron para el control de malezas de hoja ancha en cereales hacia finales del siglo XIX, pero el primer herbicida orgánico: DNOC (dinitro-ortocresol), no fue introducido hasta 1932. El uso extensivo de herbicidas de dosis relativamente bajas (1-2 kg i.a./ha) comenzó en 1945 con el lanzamiento de los herbicidas reguladores de crecimiento 2, 4-D y MCPA. El éxito de éstos condujo a una intensificación de la investigación y las inversiones, generando nuevos grupos de herbicidas y compuestos (Caseley, 1996). En la actualidad hay aproximadamente 270 ingredientes activos con 17 mecanismos de acción (Dyer, 2011).

1.4.1. Glifosato

El herbicida glifosato se ha utilizado ampliamente en la agricultura durante más de 40 años y hoy es el herbicida más comercializado en el mundo (Duke y Powles, 2008). El glifosato fue patentado por su acción herbicida en 1969 y sus propiedades fueron descritas por primera vez en 1971 (Gauvrit, 1996).

1.4.1.1. Características generales

El glifosato ralentiza el crecimiento, incluido el de las raíces y los rizomas, pero no tiene ningún efecto sobre la germinación. Su acción puede tardar algún tiempo, y las plantas perennes no muestran síntomas hasta mucho después del tratamiento. Estos síntomas, que varían según las especies y las etapas fisiológicas, suelen consistir en una clorosis, seguida de deformidades y necrosis. El modo de transporte de este herbicida, típicamente simplástico, lo hace capaz de destruir los órganos subterráneos de las malas

hierbas perennes, especialmente porque es bien absorbido por los órganos aéreos. Después de su aplicación y de la destrucción de las malas hierbas, es posible volver a plantar en muy poco tiempo, ya que es muy fuertemente adsorbido y rápidamente degradado en el suelo (Scalla, 1991).

En el suelo, el glifosato se integra rápidamente con las arcillas, que lo inmovilizan e inactivan. Su degradación es llevada a cabo por microorganismos. Su vida media es muy variable, oscilando entre unos pocos días y varios años; los factores más influyentes parecen ser la población microbiana y el grado de adsorción de glifosato. Por un lado, la actividad microbiana se correlaciona positivamente con degradación, mientras que el pH y el contenido de materia orgánica tienen poco impacto (Gauvrit, 1996).

Cuando la humedad relativa del aire es alta, el glifosato penetra en las plantas. La alta solubilidad en agua del glifosato (sal isopropilamina) lo convierte en un herbicida altamente sensible a la lixiviación del agua de lluvia (Caseley, 1989).

El movimiento del glifosato en las plantas se ve favorecido por condiciones que favorecen la fotosíntesis y asimilan la migración. Sin embargo, estos dos procesos se reducen en condiciones de estrés hídrico, las plantas que han experimentado un estrés hídrico reducen la actividad del glifosato, mientras que las plantas no estresadas se destruyen completamente después de 14 días (Gauvrit, 1996).

La penetración del glifosato puede ser tres veces mayor cuando se administra en su formulación comercial que cuando se aplica como una sal de isopropilamina no adyuvante. Entre las sustancias que ayudan a la penetración foliar del glifosato se encuentran los tensioactivos y especialmente el amonio y las aminas, que son más eficaces que los iones sodio o potasio (Gauvrit, 1996).

En conclusión, las condiciones climáticas que favorecen la acción herbicida del glifosato son (Gauvrit, 1996):

- La ausencia de estrés hídrico en los días anteriores al tratamiento;
- Alta humedad del aire en el momento y en las horas siguientes al tratamiento;
- Alta temperatura y humedad del suelo durante y en los días posteriores al tratamiento;
- Ausencia de lluvia después del tratamiento

1.4.1.2. Modo de acción

La fitotoxicidad del glifosato se explicó por primera vez en 1972 cuando Jaworski demostró que reduce el contenido de aminoácidos aromáticos (Scalla, 1991).

La enzima que constituye el objetivo principal del glifosato fue finalmente identificada por Steinrucken y Amrhein (1980) quienes, después de localizar el bloqueo entre shikimate y corismate, han demostrado que se ejerce sobre la 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintetasa (EPSP sintetasa), que es responsable de añadir fosfoenolpiruvato al fosfato de shikimate-3-fosfato para dar 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato (Scalla, 1991) que participa en la vía de síntesis de tres aminoácidos: fenilalanina, tirosina y triptófano. El resultado es un cese de la síntesis de proteínas, que afecta al crecimiento, y la acumulación de un precursor fitotóxico (Gauvrit, 1996).

La EPSP sintetasa es una enzima cloroplástica codificada por el genoma nuclear y sintetizada en el citosol como precursor (Scalla, 1991). El primer efecto de la inhibición de la enzima EPSP sintetasa es una fuerte acumulación de shikimate y sus derivados; también se genera una deficiencia de arogenato, un controlador de la primera enzima en la ruta de síntesis del shikimate, la DAHPS (3-deoxi-D-arabinoheptulosonato-7-fosfato-sintetasa). El glifosato se une fuertemente al complejo EPSP sintetasa-shikimate 3-fosfato, limitando la entrada del fosfoenolpiruvato. En las plantas la EPSP sintetasa se sintetiza en el citoplasma y entra en el cloroplasto en forma de una proenzima; el glifosato también puede unirse a ésta proenzima (Trezzi et al, 2001), aumentando su acción inhibitoria sobre el proceso de formación de 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato (Anzalone, 2007).

La inhibición de la enzima EPSP no es la única razón por la cual el glifosato causa la muerte en las plantas susceptibles; existe gran cantidad de evidencias que indican que mucha de la toxicidad que produce el glifosato es resultado de una profunda alteración del metabolismo del carbono producida por la desregulación de la ruta del shikimate (Duke y Dayan, 2001). Otro efecto significativo del glifosato en las plantas es el incremento en la descomposición del ácido indol acético (IAA) y la inhibición de la síntesis de porfirina (Rao, 2002).

Entre las diversas alteraciones metabólicas inducidas por el glifosato, dos efectos son de interés (Scalla, 1991):

- **Disminución del contenido de clorofila:** Se trata de un efecto temprano del glifosato (Kitchen *et al*, 1981). Este efecto se explica en primer lugar por la inhibición de la síntesis de los ciclos de porfirinas, precursores de las clorofilas. Por otro lado, el efecto acelerador de la luz sobre la clorosis indica la participación de reacciones fotooxidativas que conducen a la destrucción de las clorofilas. Tendríamos una disminución en la síntesis y aceleración del catabolismo clorofílico;
- **Reducción del contenido de auxina de los tejidos tratados:** Además de detener la síntesis de triptófano, precursor de la auxina, la aceleración del catabolismo de la propia hormona podría contribuir a ralentizar el crecimiento (Lee *et al.*, 1983). A nivel de la planta, también se inhibe el transporte de auxina en el basípeto, lo que causa un aumento en el crecimiento de la mala hierba a dosis subletales.

1.5. RESISTENCIA A HERBICIDAS

La resistencia a herbicidas está generalmente asociada con una alta presión de selección impuesta por el uso repetido de herbicidas con el mismo modo de acción en campos con monocultivo o en campos con mínimo laboreo. Tres son los componentes que contribuyen a la presión de selección (Salas, 2001):

- Alta eficacia del herbicida
- Uso frecuente del mismo herbicida o herbicidas con el mismo modo de acción
- El uso de herbicidas con una larga persistencia en el suelo.

La definición de resistencia a herbicidas es la capacidad evolutiva de una población de malas hierbas para sobrevivir a la aplicación de un herbicida que se sabe que previamente la controlaba (Royuela, 2014).

El número de individuos resistentes al herbicida en la población cambia con el tiempo.



Figura 22. Individuos resistentes en la población.

Fuente: Royuela, 2014.

La definición de tolerancia a herbicidas es la capacidad inherente de una especie para sobrevivir y reproducirse después de un tratamiento de herbicida (Royuela, 2014).



Figura 23. Individuos tolerantes.

Fuente: Royuela, 2014.

Por lo que no hay que confundir ambas definiciones.

Actualmente hay 495 casos únicos (especies x sitio de acción) de malas hierbas resistentes a herbicidas en todo el mundo, con 255 especies (148 dicotiledóneas y 107 monocotiledóneas). Las malas hierbas han desarrollado resistencia a 23 de los 26 sitios de acción de herbicidas conocidos y a 163 herbicidas diferentes. Se han registrado malas hierbas resistentes a los herbicidas en 92 cultivos en 70 países (Heap, 2018).

Siendo *Lolium rigidum* la especie que más resistencias ha desarrollado a diferentes sitios de acción, un total de 13, seguida de *Echinochloa crus-galli* y *Poa annua* con resistencias múltiples a 9 sitios de acción, *Avena fatua*, *Eleusine indica* y *Lolium perenne spp. multiflorum* con resistencia a 8 sitios de acción (Heap, 2018).

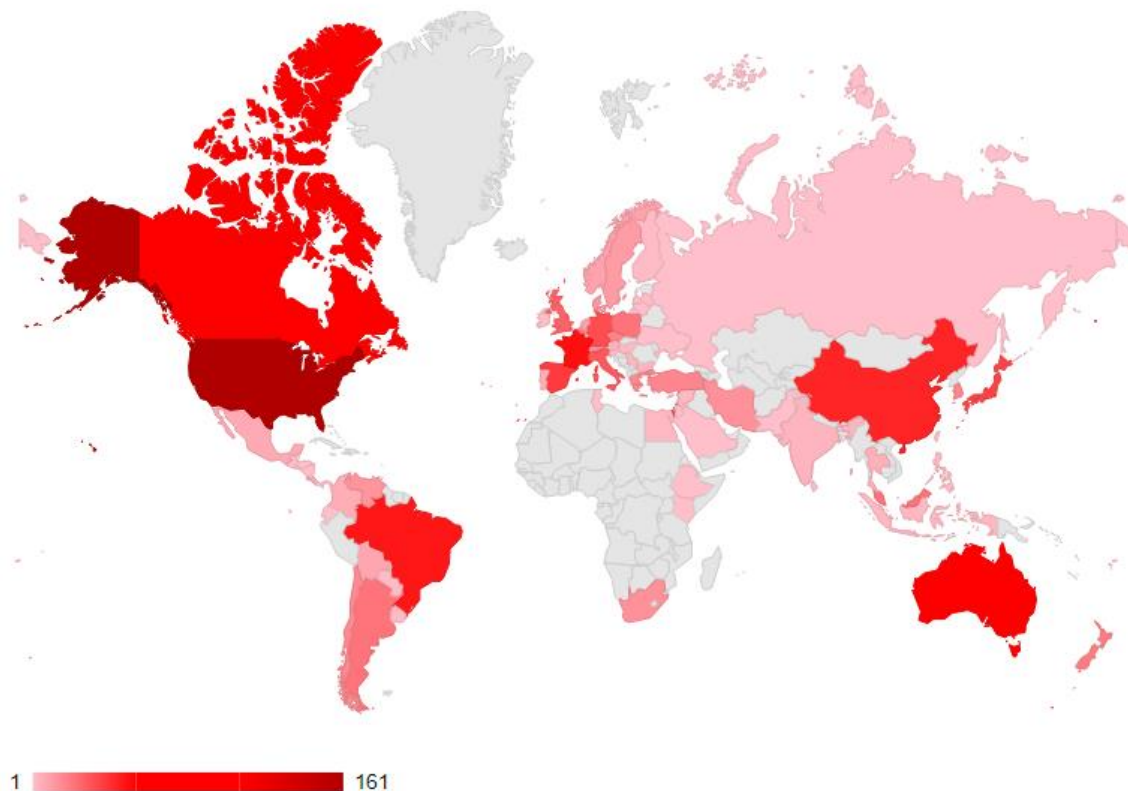


Figura 24. Distribución casos de resistencia a herbicidas en el mundo.

Fuente: Heap, 2018.

Los cinco herbicidas que más resistencias han creado hasta el momento han sido el clorosulfuron con 160 casos, la atrazina con 74 casos, el setoxidim con 48 casos, el glifosato con 46 casos y por último el 2,4-D con 38 casos (Heap, 2018).

Las poblaciones de malas hierbas adquieren resistencia por la interacción de algunos elementos clave. Los genes que confieren resistencia están presentes naturalmente en las poblaciones salvajes, pero se piensa, que las mutaciones para la resistencia no son inducidas por los herbicidas (Jasienuk *et al.*, 1996).

Otras dos características importantes de una mala hierba, en lo que se refiere a la evolución de la resistencia a los herbicidas, son la magnitud y la viabilidad del banco de semillas y la adaptación de las malas hierbas. El banco de semillas puede actuar como un amortiguador retrasando la evolución de la resistencia debido a que contiene semillas de los individuos susceptibles. En algunos casos los individuos que presentan una mutación (la que confiere resistencia a los herbicidas) están menos adaptados en ausencia de los herbicidas. Es difícil medir la falta de adaptación, pero puede ser relacionada con una menor eficiencia de los procesos fisiológicos clave como la

fotosíntesis, una menor producción de semillas o una menor capacidad competitiva (Labrada, 2004).

Nos podemos encontrar ante un caso de resistencia a herbicidas con los siguientes casos (Salas, 2001):

- Campos en donde determinas poblaciones de malas hierbas, bien controladas en el pasado, ahora no se pueden controlar con el herbicida normalmente usado. Sin embargo, otras poblaciones de la misma mala hierba son controladas en el mismo campo con el mismo herbicida.
- Campos en donde la falta de control no puede atribuirse a factores edáficos (humedad, pH, presencia de altos contenidos de materia orgánica, etc)
- Campos en donde los fallos de control no pueden atribuirse a las condiciones meteorológicas.
- Campos en donde las malas hierbas que no se pueden controlar con herbicida están distribuidas en pequeñas áreas y no en líneas que siguen la dirección del tratamiento.

1.5.1. Resistencia al glifosato

El glifosato se ha utilizado ampliamente en tierras agrícolas y no agrícolas durante más de 40 años y se ha convertido en el más ampliamente utilizado en el mundo (Powles, 2008). El glifosato es el mejor herbicida que ha salido al mercado hasta el momento y puede justificarse por su eficacia, su bajo impacto ambiental y su precio. Además, el glifosato es uno de los herbicidas con menor riesgo de desarrollar resistencias.

Sin embargo, todo tiene un límite. Cuando se ignoran las estrategias de prevención de resistencias y se usa de forma continuada un mismo herbicida el resultado es la aparición de resistencias.

El primer caso de resistencia al glifosato fue detectado en 1996, 22 años después de la introducción del herbicida, lo cual contrasta con otros herbicidas como los

inhibidores de la Acetato lactato sintasa ALS o de la Acetil coenzima A carboxilasa ACCasa que sólo tardaron 2 y 5 años en desarrollar malas hierbas resistentes (Urbano, 2005).

Desde 1996 han proliferado los casos de resistencia a glifosato y hay ya 38 especies de malas hierbas resistentes a glifosato. La primera en desarrollar resistencia al glifosato fue *Lolium rigidum* en 1996 en Australia, seguida por *Eleusine indica* en 1997 Malasia, después *Conyza canadensis* en 2000 en Estados Unidos; *Lolium perenne ssp. multiflorum* en 2001 en Chile; *Conyza bonariensis* y *Plantago lanceolata* en 2003 en Sudáfrica; *Ambrosia artemisiifolia* en España, *Ambrosia trifida* en Estados Unidos y *Parthenium hysterophorus* en Colombia en 2004; *Amaranthus tuberculatus* y *Amaranthus palmeri* en Estados Unidos, *Sorghum halepense* en Argentina, *Digitaria insulares* en Paraguay y *Hedyotis verticillata* en Malasia en 2005; *Kochia scoparia* en Estados Unidos y *Echinochloa colona* en Australia en 2007; *Cynodon hirsutus* en Argentina y *Urochloa panicoides* en Australia en 2008; *Conyza sumatrensis* en España en 2009; *Raphanus raphanistrum* y *Chloris truncata* en Australia, *Poa annua* en Estados Unidos, *Leptochloa virgata* en Mejioco, *Paspalum paniculatum* en Costa Rica en 2010; *Bromus diandrus* en Australia en 2011; *Brassica rapa* en Argentina en 2012; *Amaranthus hybridus* en Argentina, *Biden pilosa* en Mejioco, *Sonchus oleraceus* y *Brachiaria eruciformis* en Australia en 2014; *Lactuca serriola* y *Chloris virgata* en Australia, *Salsola tragus* y *Helianthus annuus* en Estados Unidos en 2015; *Hordeum murinum ssp. glaucum* y *Tridax procumbens* en Australia en 2016; y las más recientes *Bromus catharticus* en Argentina y *Lactuca saligna* en Australia en 2017 (Heap, 2018).

La mayoría de estas especies también han aparecido en otros países y se han confirmado su resistencia como el caso de *Conyza canadensis* que se ha registrado 38 veces siendo el último país Corea del Sur en 2017 o *Lolium rigidum* que se ha registrado 16 veces siendo el último país Grecia en 2016.

En Europa se han desarrollado resistencia al glifosato en 8 países (Francia, Grecia, Hungría, Italia, Polonia, Portugal, Suiza y España) siendo las especies *Lolium rigidum*, *Lolium perenne ssp. multiflorum*, *Conyza canadensis*, *Conyza bonariensis* y *Conyza sumatrensis*. En España se han encontrado resistencia a las 5 especies anteriores siendo el único país de Europa que tiene todas (Heap, 2018).

1.5.2. Prevención de resistencias

En campos donde la resistencia a los herbicidas aún no ha aparecido, se tiene que hacer todo lo posible para integrar las tácticas de control de malas hierbas que puedan evitar o retrasar la selección de poblaciones resistentes.

Algunas recomendaciones generales que se han hecho para retrasar o evitar la aparición de malas hierbas resistentes se indican a continuación (Esqueda *et al.*, 2005):

- Revisar los campos antes de la aplicación de cualquier herbicida para determinar si las especies y niveles de infestación justifican la aplicación de herbicidas,
- Usar métodos de control de malas hierbas alternativos, como cultivos mecánicos, etc.,
- Limitar el número de aplicaciones de un solo herbicida o herbicidas.
- Inspeccionar los campos después de la aplicación para detectar malas hierbas que no se controlaron.
- Limpiar la maquinaria agrícola antes de abandonar terrenos infestados o con sospecha de tener malas hierbas resistentes.

1.5.3. Evolución resistencia *Conyza* spp. y *A. squamatus*

En relación a la resistencia el género *Conyza* posee una “habilidad” especial para desarrollar biotipos resistentes a herbicidas viéndose a nivel nacional (en 1987 se detectó la primera resistencia a triazinas en *Conyza canadensis* y *Conyza bonariensis*) y a nivel mundial en la actualidad se han encontrado resistencia a cinco modos de acción en *Conyza canadensis*, cuatro modos de acción en *Conyza canadensis* y seis modos de acción en *Conyza sumatrensis* (Heap, 2018).

En España el primer caso de resistencia detectado fue *Conyza bonariensis* encontrada en huertos de Sevilla por J. M^a. Urbano (2004), seguido por *Conyza canadensis* encontrada en huertos de de Sevilla (Urbano, 2006) y posteriormente *Conyza sumatrensis* en huertos de Huelva (De Prado y González, 2009).

En el caso de *Aster squamatus* es resistente a tres imidazolinona, pero no hay casos detectados de resistencia a glifosato (Osuna *et al.*, 2003).

1.5.3.1. Mecanismos de resistencia en *Conyza* spp.

Las mutaciones que confieren resistencia a los herbicidas pueden ser clasificados en dos tipos (Dèlye *et al.*, 2015).

- El primer tipo es estructural, cambios en una secuencia de ADN que codifica una proteína. Por ejemplo, las mutaciones que confiere una sustitución de aminoácidos en el sitio de unión de herbicidas de una proteína diana puede disminuir la afinidad del herbicida con el objetivo (TSR). Alternativamente, las mutaciones en el sitio de una enzima metabólica o de una proteína transportadora puede mejorar la actividad de estas proteínas en degradación o compartimentación de herbicidas de su lugar de acción, respectivamente (NTSR).
- El segundo tipo de mutaciones asociadas con resistencia a los herbicidas resulta en una diferencia en la expresión de uno o varios genes en plantas resistentes en comparación con las plantas sensibles, es decir, las mutaciones reguladoras (Dèlye 2013; Yuan *et al.*, 2007). Estas mutaciones son cambios en una secuencia de ADN que pueden causar un aumento en la expresión de la proteína diana que compensa la acción inhibitoria (TSR), o una variación en la expresión de la enzima de herbicida que metaboliza o de proteínas transportadoras que llevarán a un aumento de la degradación o compartimentación del lugar de acción del herbicida, respectivamente (NTSR).

A diferencia de la resistencia a los herbicidas en el sitio objetivo, la NTSR es poco conocida a nivel molecular. En la NTSR la resistencia puede ser controlada por múltiples genes, cada uno de los cuales proporciona sólo un modesto nivel de insensibilidad a los herbicidas. Esta naturaleza cuantitativa de la resistencia a los herbicidas NTSR hace más difícil el estudio (Tranel, 2014).

Los resultados indican que los mecanismos resistentes a sitios no objetivo (NTSR) explican la resistencia en *C. bonariensis* y *C. canadensis*, mientras que los mecanismos NTSR y resistentes al sitio objetivo (TSR) contribuyen a la resistencia en *C. sumatrensis*. (Amaro-Blanco *et al.*, 2018).

1.5.4. Manejo de poblaciones resistentes

El conocimiento de cómo se desarrolla la resistencia, es importante para implementar sistemas de producción que prevengan o disminuyan su aparición. Los factores de importancia a considerar para implementar programas de manejo de resistencia son: características de las malas hierbas, características de los herbicidas y prácticas culturales.

Las características de las malas hierbas que conducen a un desarrollo rápido de la resistencia a un herbicida en particular incluyen:

- Hábito de crecimiento anual,
- Alta producción de semilla,
- Poca dormancia en la semilla,
- Varias generaciones reproductivas en cada ciclo de crecimiento
- Extremadamente alta susceptibilidad a un herbicida en particular.

Las características de los herbicidas incluyen:

- Un solo sitio de acción,
- Alta eficiencia en una especie en particular,
- Alta residualidad en el suelo,
- Aplicación de dosis más altas que las necesarias para su control
- Alta frecuencia de uso.

Las prácticas culturales incluyen:

- Producción continua del mismo cultivo,
- Poca o nula labranza para el control de malas hierbas o no eliminación de las malas hierbas que no han controlado los herbicidas y

- Continuo o repetido uso de un solo herbicida o varios herbicidas que tienen el mismo tipo de acción.

Para que una mezcla de herbicidas sea útil para retrasar la rápida selección de resistencia, idealmente los herbicidas en la mezcla deberían tener las siguientes características:

- Controlar el mismo espectro de malezas,
- Tener una persistencia similar, con el objeto de controlar las mismas generaciones de malezas,
- Tener diferentes sitios de acción,
- Tener resistencia cruzada negativa y
- Ser degradados de manera diferente.

Las mezclas sinérgicas que posiblemente retrasarán la aparición de la resistencia son aquellas que combinan un herbicida con uno o más compuestos que previenen el catabolismo del herbicida en el suelo y en la planta, incrementan la absorción y retención, incrementan la translocación, promueven respuestas fisiológicas, anatómicas y morfológicas en la planta, suprimen las defensas contra microorganismos y micotoxinas y evitan el antagonismo. Además, el sinergismo puede dar otras ventajas como: reducción de las dosis de herbicida utilizadas, control de malas hierbas en un estado avanzado de crecimiento y menor impacto ambiental (Esqueda, 2007).

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es determinar si existen ecotipos de *Conyza canadensis*, *Conyza bonariensis*, *Conyza sumatrensis* y *Aster squamatus* resistentes al glifosato en la comarca de Valdejalón y el objetivo específico establecer las dosis respuesta al glifosato para cada especie.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El área de estudio se encuentra principalmente en Ricla (Zaragoza) situada en el Valle del Jalón a 382 metros de altitud. Pertenece a la Comarca de Valdejalón encontrándose entre Zaragoza y Calatayud (Figura 25).

El término municipal tiene una superficie de 90,7 km² con una población de 2894 habitantes (INE 2017). La temperatura media anual es de 15,6 °C siendo la máxima 22,65 °C y la mínima 8,53 °C. La precipitación media anual es de 227,9 l/m³ (IAEST, 2018).

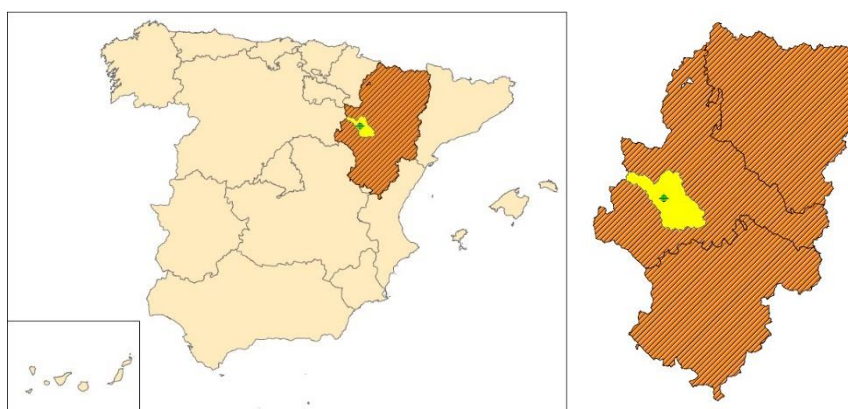


Figura 25. Localización de Ricla en el mapa de España, Aragón y Valdejalón.

Fuente: Leticia Artigas.

La parte inferior del municipio corresponde a una ZEPA denominado Desfiladeros del río Jalón que ocupa 3356,03 ha del municipio.

La principal actividad del municipio es la agricultura siendo básicamente todo el municipio agricultura de regadío. Hay parches de frutales, viñedos y olivos de secano y una parte de pastizal-matorral correspondiente al monte aun sin ocupar.

En relación al dominio del paisaje el municipio de Ricla consta con 3 dominios del paisaje, piedemontes con secanos y cultivos en mosaico, montaña media calcárea ibérica matorralizada con coníferas y agricultura de secano y regadío en amplias depresiones. Siendo el principal dominio del paisaje los piedemontes con secanos y cultivos en mosaico (Figura 26).

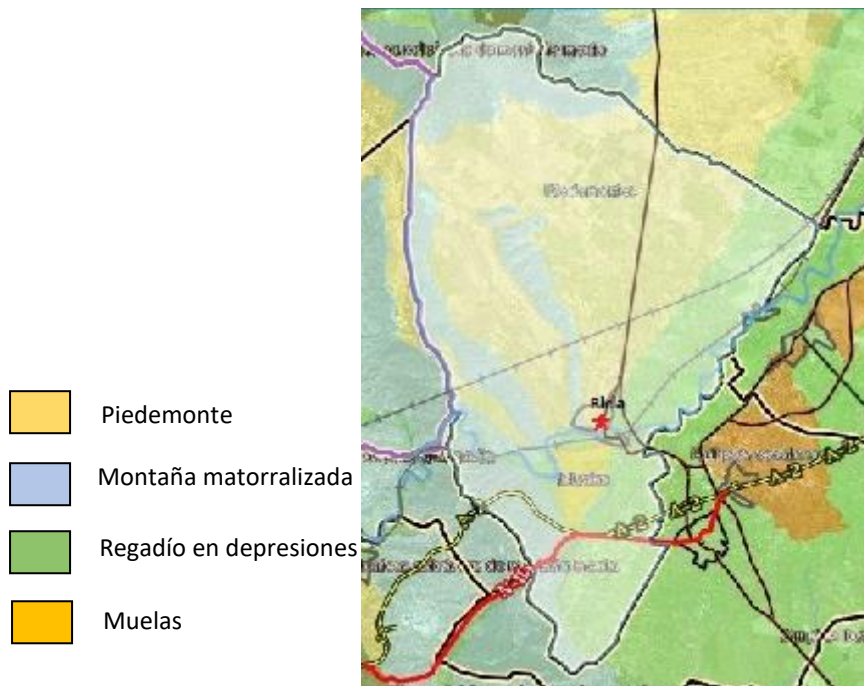


Figura 26. Mapa de dominios del paisaje del municipio de Ricla.

Fuente: IDEARagon, 2018.

3.2. Material vegetal

Para realizar el estudio lo primero que se realizó fue un análisis del territorio para ver en qué zonas se encontraban las especies de interés y en que campos convivían varias de las especies usando la guía de identificación de malas hierbas en plántulas de Recasens y Conesa (2009) para asegurar la correcta identificación de cada especie.

Una vez realizado el análisis del territorio, el material vegetal se obtuvo de semillas recolectadas en cultivos de melocotoneros, cerezos y paraguayos en la localidad de Ricla y sus alrededores próximos a La Almunia de Doña Godina y Calatorao.

Se recogieron 6 poblaciones de *Conyza bonariensis*, 5 poblaciones de *Conyza canadensis*, 4 poblaciones de *Conyza sumatrensis* y 2 poblaciones de *Aster squamatus*, todas ellas en las hileras de los árboles (Tabla 2).

Tabla 2. Localización de las especies del estudio.

Población	Nombre	Especie	Coordenadas		Cultivo	Tratamientos de glifosato
			X	Y		
P.1	Primi ★	<i>C. bonariensis</i>	41,5372114	-1,4088263	Melocotones	Habitual
P.2		<i>C. canadensis</i>				
P.3	Pedro ☆	<i>C. bonariensis</i>	41,5378481,	-1,4091676	Paraguayos y cerezos	Habitual
P.4		<i>C. canadensis</i>				
P.5		<i>C. sumatrensis</i>				
P.6	Álvaro ★	<i>C. sumatrensis</i>	41,5453637,	-1,4133082	Melocotones	Poco frecuente
P.7		<i>C. bonariensis</i>				
P.8		<i>C. canadensis</i>				
P.9	Royo ★	<i>A. squamatus</i>	41,576090,	-1,4126088	Melocotones	Poco frecuente
P.10		<i>C. bonariensis</i>				
P.11		<i>C. sumatrensis</i>				
P.12		<i>C. canadensis</i>				
P.13	Ave ★	<i>C. bonariensis</i>	41,5277690,	-1,3950866	Cerezos	Habitual
P.14		<i>C. canadensis</i>				
P.16	Estación ★	<i>A. squamatus</i>	41,4995149,	-1,4014599	Cerezos	No se conoce
P.17		<i>C. bonariensis</i>				
P.18		<i>C. sumatrensis</i>				

Fuente: Elaboración propia.

La distribución de las especies se muestra en la Figura 27.

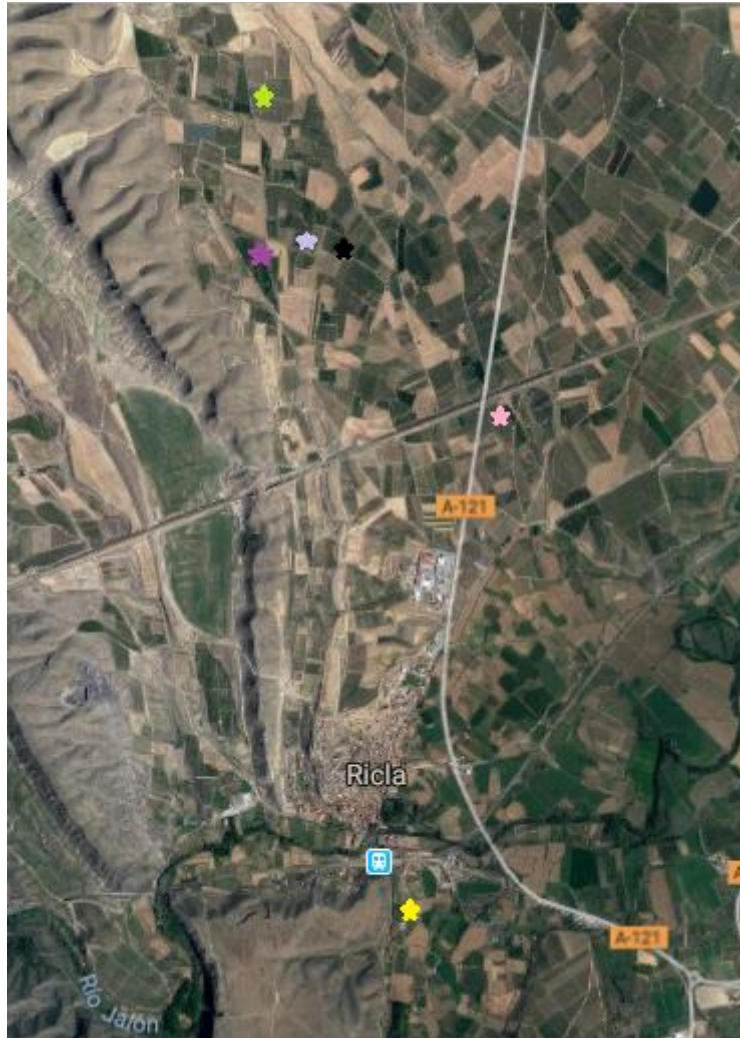


Figura 27. Zona de ubicación de las semillas recolectadas.

Fuente: GoogleMaps

Las semillas se recogieron en frascos cortando las inflorescencias para evitar su pérdida y se procedió a la separación de las semillas manteniéndolas secas para evitar su degradación (Figura 28 y 29).



Figura 28. Separación de las semillas. Figura 29. Almacenamiento de las semillas

Fuente: Leticia Artigas.

Después se realizaron ensayos de laboratorio e invernadero para determinar la resistencia al glifosato en las especies de *C. canadensis*, *C. bonariensis*, *C. sumatrensis* y *A. squamatus*.

3.3. Ensayos

La recolección de las semillas se llevó a cabo el 14 y 15 de octubre de 2017. La tabla 4 muestra una diferencia del doble del tiempo en el ensayo 1 con el ensayo 2, debido a las condiciones meteorológicas del momento.

Tabla 3. Duración de los ensayos

	Siembra	Trasplante	Tratamiento	Final	Total días
Ensayo 1	19 octubre	21 y 22 noviembre	31 enero	21 marzo	154
Ensayo 2	10 abril	18 abril	7 mayo	19 junio	71

Fuente: Elaboración propia.

Las semillas se sembraron en macetas con turba y hasta su germinación se colocaron en un compartimento con calor en el suelo para acelerar el crecimiento, en el caso del primer ensayo, porque las condiciones climáticas no eran las adecuadas al ser octubre. Las plántulas fueron trasplantadas a macetas individuales de 7 x 7 x 8 cm (Figuras 30 y 31).



Figura 30. Germinación de las semillas sembradas. Figura 31. Plántulas trasplantadas.

Fuente: Leticia Artigas.

Una vez que se alcanzó la altura adecuada se realizaron los tratamientos en dos ensayos, con un diseño experimental completamente aleatorizado, con 5 repeticiones y seis dosis más un testigo sin tratar.

En el estado de roseta se trataron con glifosato 36% aplicando las siguientes dosis: 1 l/ha (360 g i.a./ha), 2 l/ha (720 g i.a./ha), 4 l/ha (1440 g i.a./ha), 8 l/ha (2880 g i.a./ha), 16 l/ha (5760 g i.a./ha) y 32 l/ha (11520 g i.a./ha).

Cada ensayo se realizó con un equipo diferente, siendo el primero realizado en el CITA y el segundo en la EPSH.

La aplicación del glifosato se realizó mediante un pulverizador de precisión, con una altura de barra constante (50 cm), velocidad de avance constante (3,4 km/h), presión constante (2 bar) y dos boquillas con una separación de 50 cm en el caso del equipo del CITA. El equipo de la EPSH tiene una altura de barra constante (50 cm), velocidad de avance constante (0,812 km/h), presión constante (2 bar) y dos boquillas con una separación de 50cm. Las boquillas utilizadas en ambos pulverizadores fueron el modelo TEEJET® XR8002VS, con un ángulo de aspersion de 80° (en abanico), un caudal de 0,2 l/min, con punta de acero inoxidable y codificación de colores VisiFlo (Amarillo).



Figura 32. Pulverización de precisión CITA. Figura 33. Pulverización de precisión EPSH.

Fuente: Leticia Artigas.

Con el pulverizador de precisión se realizaron aplicaciones de 200 l/ha de caldo calculando para cada dosis la cantidad exacta de caldo a aplicar (Véase Anexo I)

Después del tratamiento, cada 15 días se realizó un análisis visual de la fitotoxicidad sobre las especies estudiadas siguiendo la escala de puntuación por la Sociedad Europea de Investigación en Malas hierbas (EWRS) para determinar el grado de fitotoxicidad (Tabla 4).

Tabla 4. Escala propuesta por EWRS.

VALOR	EFECTO
1	Sin efecto
2	Síntomas muy ligeros
3	Síntomas ligeros
4	Síntomas que no se reflejan en los rendimientos
5	Daño medio
6	Daño elevado
7	Daños muy elevados
8	Daños severos
9	Muerte completa

Fuente: EWRS, 2018.

A los 30 ddt. se realizó un análisis de biomasa fresca/seca cogiendo dos repeticiones (macetas) de cada dosis y población pesando el peso fresco de la parte

aérea y después de dos días en una estufa a 40° su peso seco (Figuras 34 y 35). Este procedimiento se realizó también a los 45 ddt..

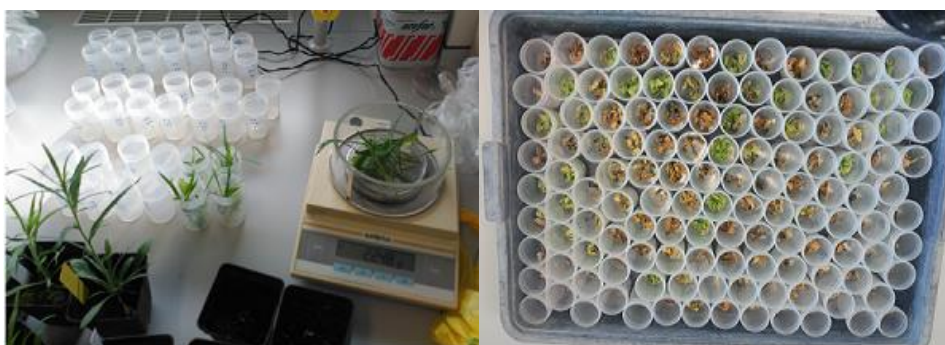


Figura 34. Peso fresco. Figura 35. Peso seco.

Fuente: Leticia Artigas.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico de software libre R, Versión 3.5.1, con el paquete adicional “drc” especializado para el análisis de datos dosis-respuesta (Ritz y Streibig, 2005).

Los modelos dosis-respuesta son modelos de regresión en los que la variable independiente se denomina dosis o concentración y la variable dependiente se denomina respuesta o efecto. Abarcan una gama de modelos estadísticos de regresión no lineal y análisis de supervivencia paramétrico.

El modelo dosis-respuesta utilizado es el log-logístico mediante la siguiente fórmula:

$$f(x, (b, c, d, e)) = c + \frac{d - c}{1 + \exp \{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

Donde c es el límite inferior de la curva, d es el límite superior, e es la EC₅₀ o lo que es lo mismo, la concentración efectiva que produce una respuesta a la mitad valor total del parámetro estudiado (o también LD₅₀ si se refiere a supervivencia o GR₅₀ si se refiere a biomasa), b es la pendiente de la curva en su punto de inflexión (Ritz *et al.*, 2015).

Para la determinación del factor de resistencia de los parámetros considerados en el presente estudio, es necesario calcular la cantidad de herbicida necesaria para

conseguir un 50% de reducción del parámetro estudiado en cada población (EC₅₀, LD₅₀ o GR₅₀). Por lo tanto, el parámetro LD₅₀ permite calcular el factor de resistencia mediante el cociente entre la posible población resistente y la población sensible. El factor de resistencia proporciona información sobre el número de veces que habría que aumentar la dosis de herbicida para conseguir el mismo efecto sobre el biotipo resistente y se asume que si es superior a 10 y el carácter es heredable se trata de una población resistente, aunque sólo se haya realizado un experimento de dosis – respuesta (Heap, 2005).

4. RESULTADOS

4.1. Ensayo 1

No todas las poblaciones germinaron, la tabla 5 muestra un resumen de las poblaciones que aparecen en el ensayo 1 para ayudar a la lectura de las Figuras.

Tabla 5. Poblaciones del ensayo 1.

Nombre	Población
Primi	P.1 <i>C. bonariensis</i> P.2 <i>C. canadensis</i>
Pedro	P.5 <i>C. sumatrensis</i>
Álvaro	P.6 <i>C. sumatrensis</i> P.8 <i>C. canadensis</i>
Royo	P.10 <i>C. bonariensis</i> P.11 <i>C. sumatrensis</i> P.12 <i>C. canadensis</i>
Ave	P.13 <i>C. bonariensis</i> P.14 <i>C. canadensis</i>
Estación	P.17 <i>C. bonariensis</i> P.18 <i>C. sumatrensis</i>

Fuente: Elaboración propia.

4.1.1. Evaluación visual de la fitotoxicidad

Como se ha comentado en el apartado 3 a los 15 ddt. y 30 ddt. se realizó un análisis visual utilizando la puntuación propuesta por la EWRS (Tabla 4). Se evaluó visualmente el conjunto de las 5 repeticiones. En las figuras 36, 37 y 38 se muestran las medias de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt..

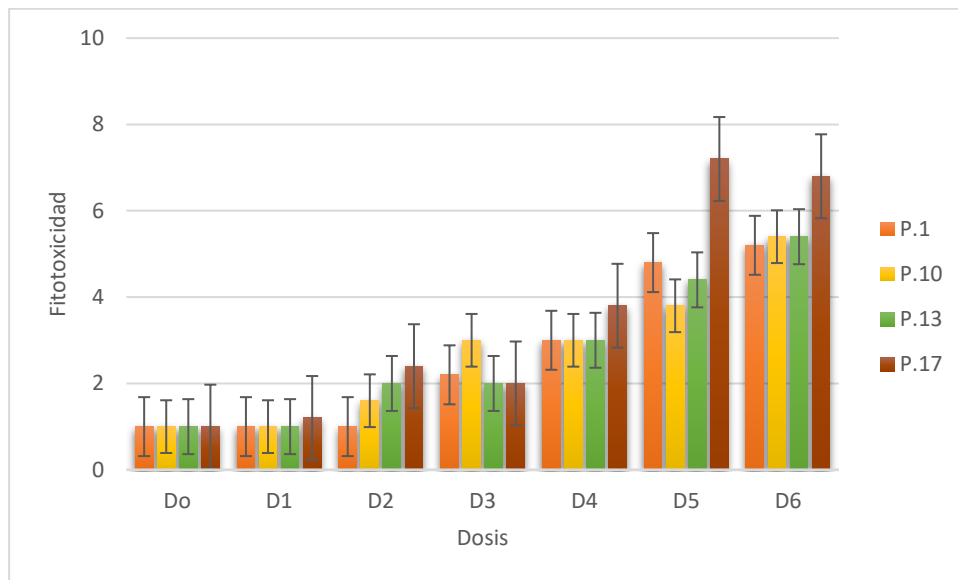


Figura 36. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de *C. bonariensis*.

Fuente: Elaboración propia.

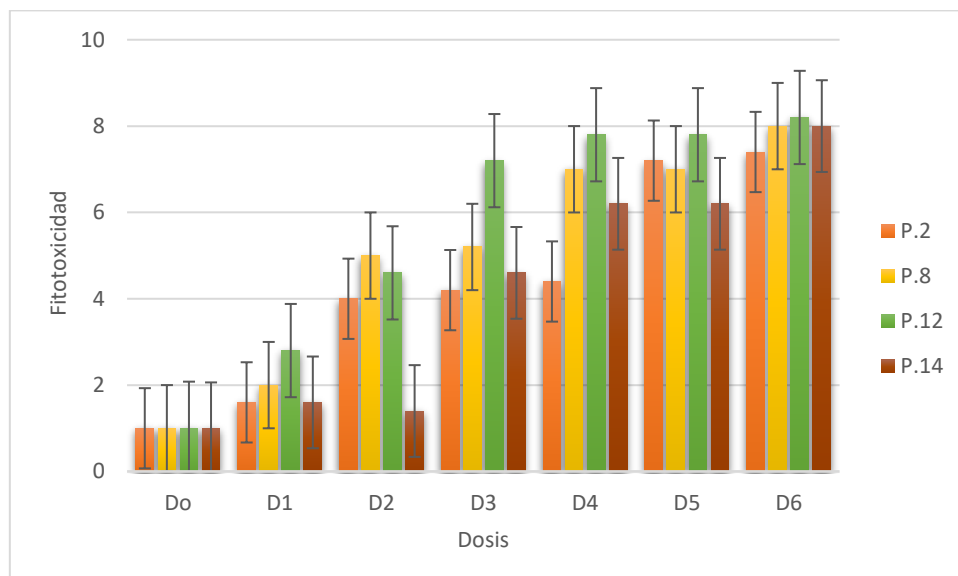


Figura 37. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de *C. canadensis*.

Fuente: Elaboración propia.

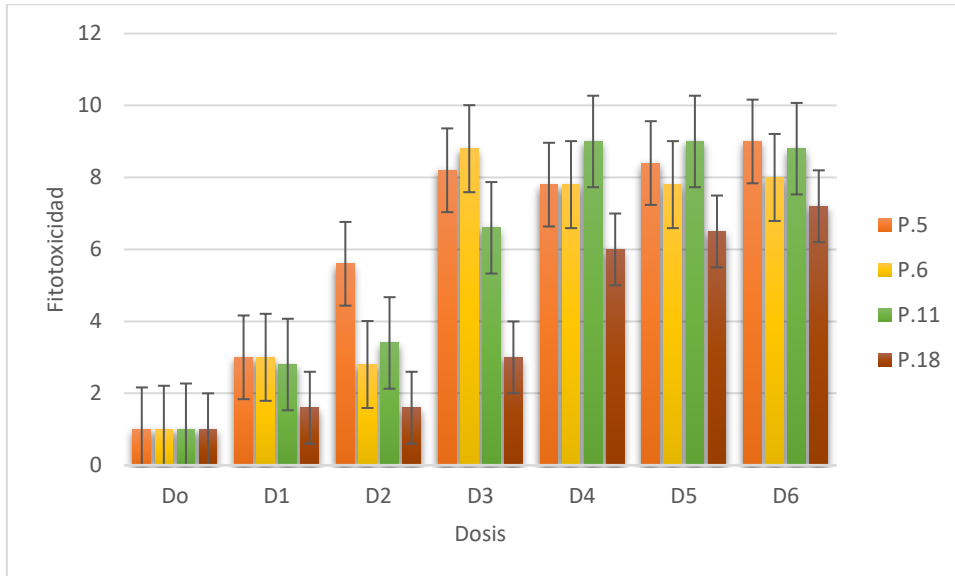


Figura 38. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de *C. sumatrensis*.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 39 muestra que el efecto del glifosato se aprecia desde la dosis 3.

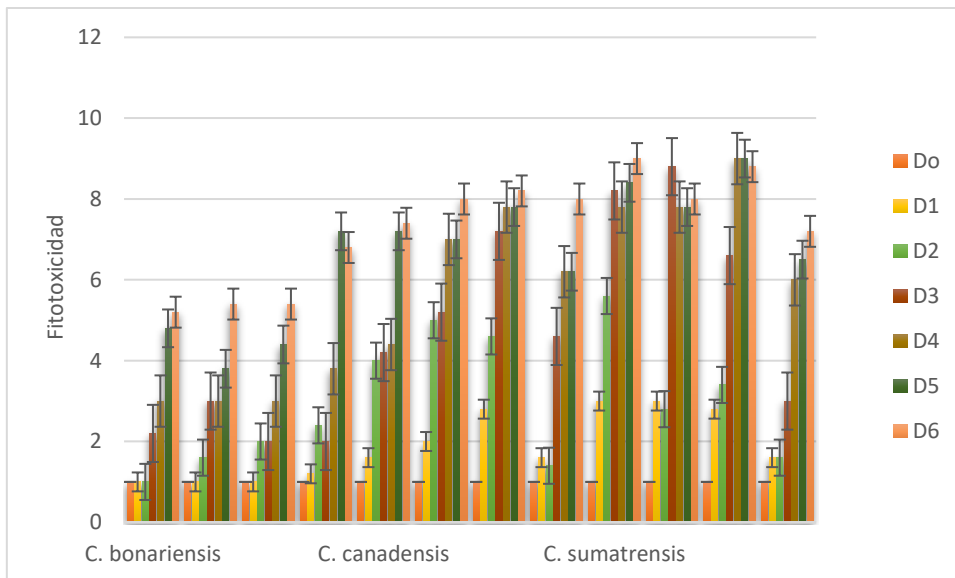


Figura 39. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

En las figuras 40, 41 y 42 se muestran las medias de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt..

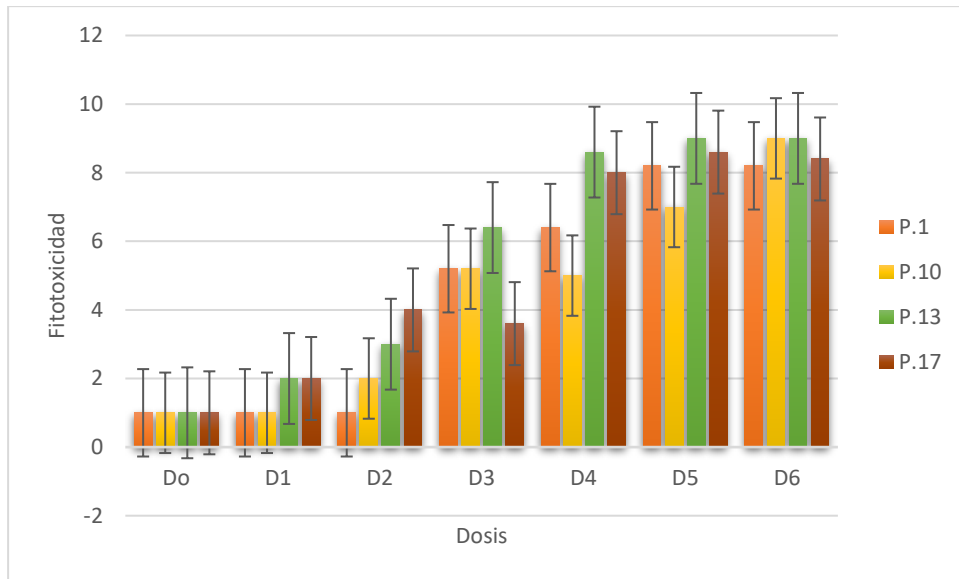


Figura 40. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt de *C. bonariensis*.

Fuente: Elaboración propia.

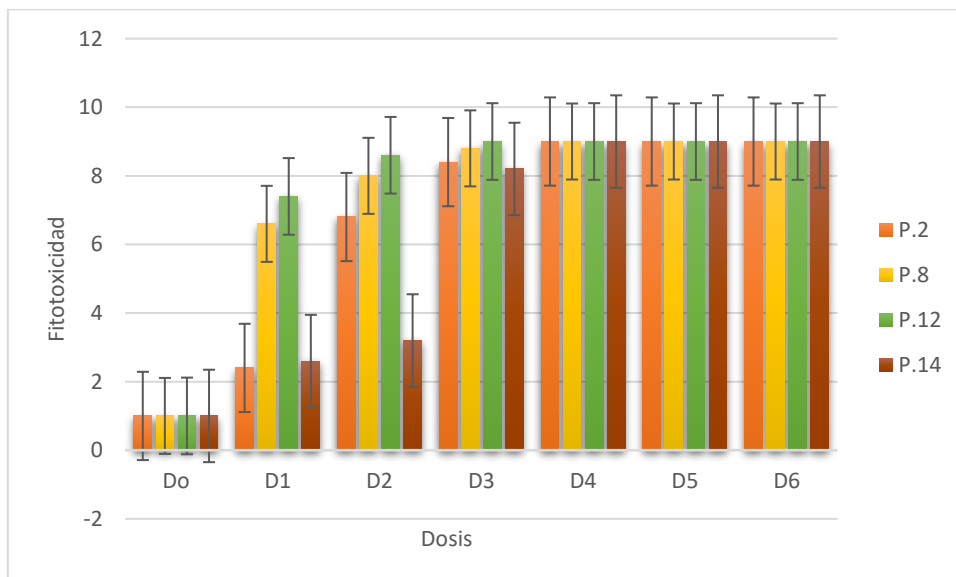


Figura 41. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. en *C. canadensis*.

Fuente: Elaboración propia.

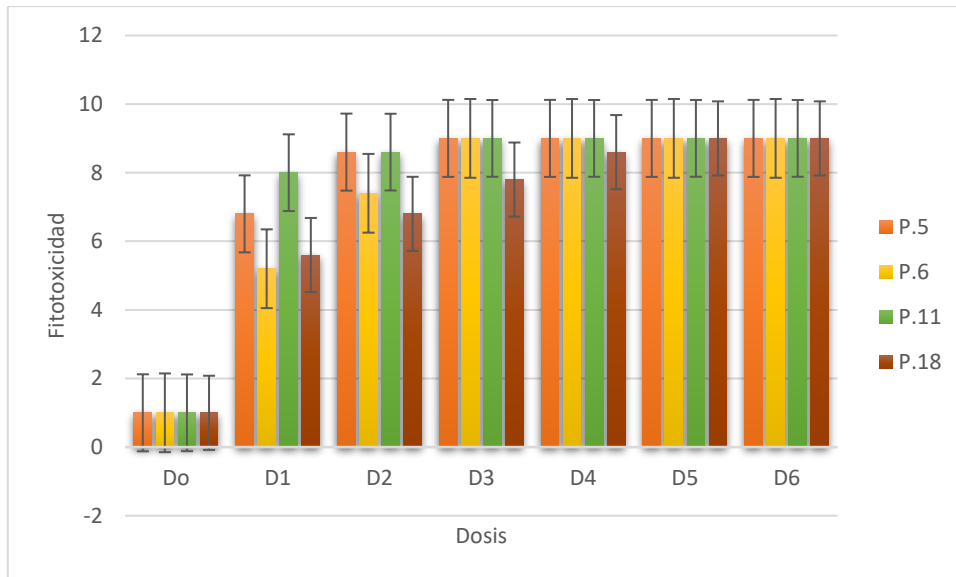


Figura 42. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de *C. sumatrensis*.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 43 muestra que el efecto del glifosato se aprecia desde la dosis 2.

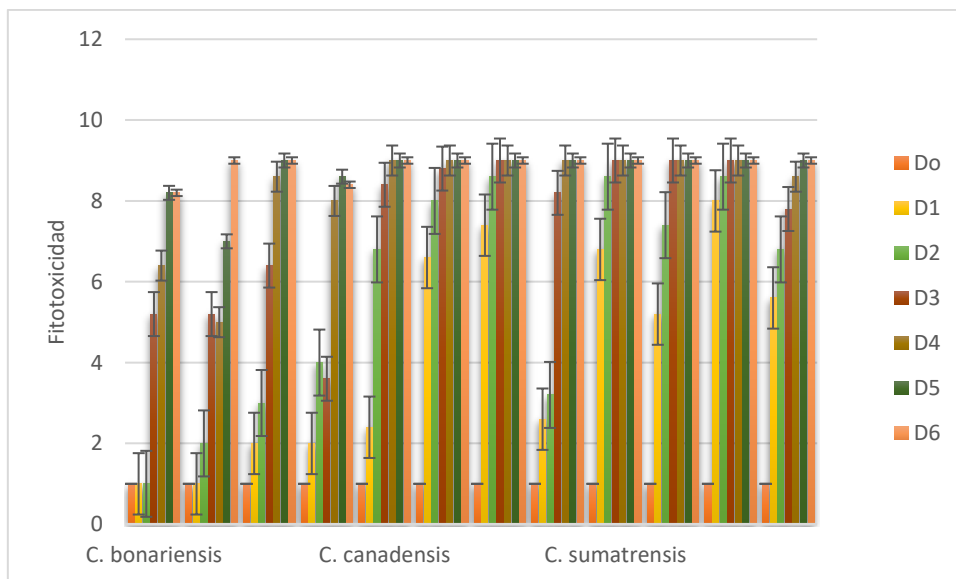


Figura 43. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.2. Supervivencia

Para analizar la supervivencia estadísticamente se calcula el % de supervivencia de la media de las 5 repeticiones a los 15 ddt. y a los 30 ddt.. La tabla 6 explica el dato asignado.

Tabla 6. Valores asignados al parámetro de supervivencia.

Supervivencia	Significado
100	5 repeticiones vivas
80	4 repeticiones vivas
60	3 repeticiones vivas
40	2 repeticiones vivas
20	1 repeticiones vivas
0	Muerte de todas repeticiones

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 44 muestra que en la mayoría de las poblaciones hay una supervivencia mayor del 50% por lo que no se puede realizar el análisis estadístico, por lo tanto, las únicas poblaciones posibles para analizar son las de *C. sumatrensis*.

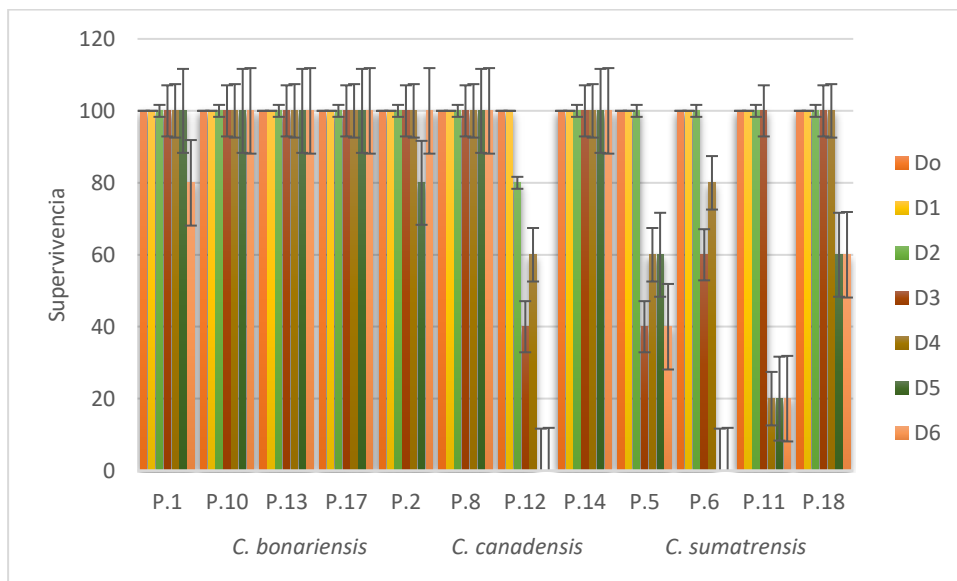


Figura 44. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 45 muestra que la población Pedro (P.5) presenta una menor supervivencia y la población Estación (P.18) una mayor supervivencia. La única población que no sobrevive es la población Álvaro (P.6) a partir de la dosis 5.

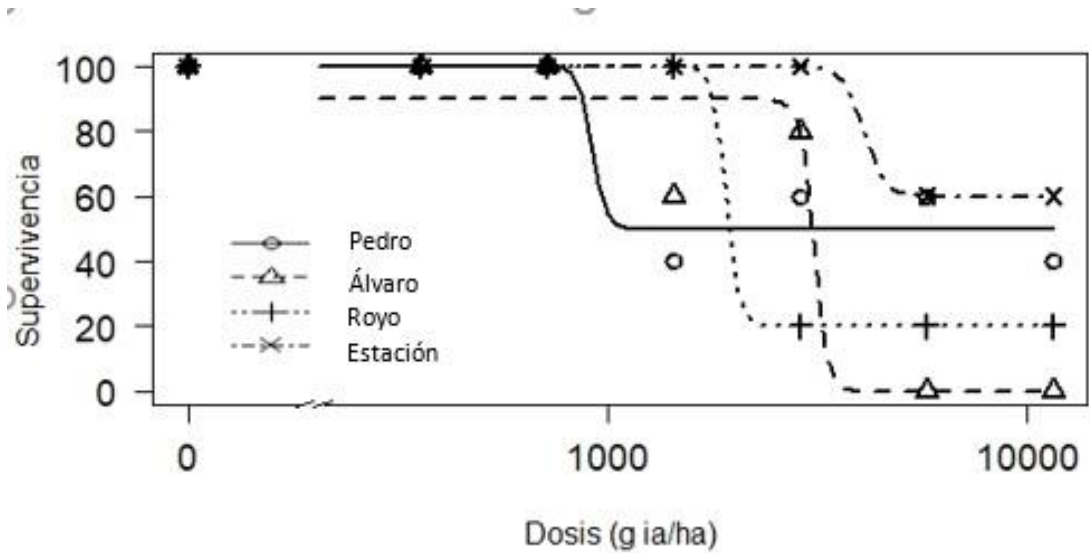


Figura 45. Supervivencia poblaciones *C. sumatrensis* a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 37 muestra que la única especie en la que se aprecia el efecto del glifosato es *C. sumatrensis*.

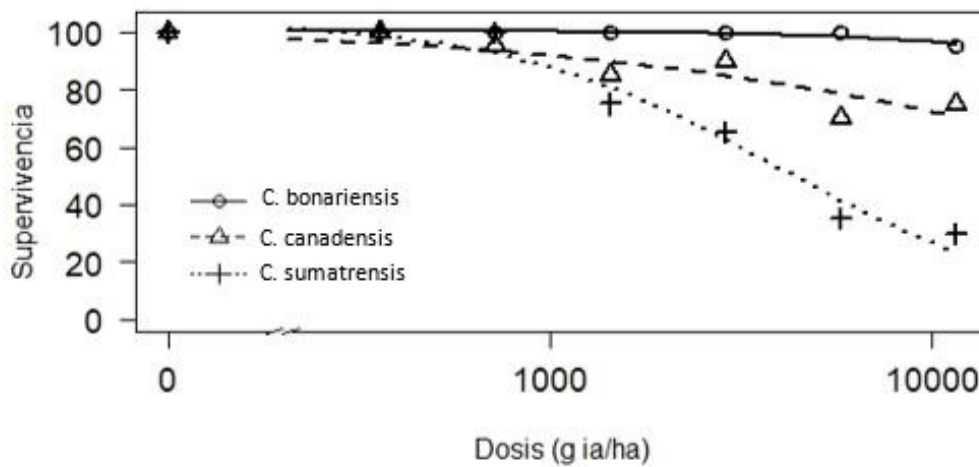


Figura 46. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

A los 30 ddt. se realizó otro análisis de supervivencia. La figura 47 muestra que a los 30 ddt. ya se tiene una mortalidad notable en la mayoría de las poblaciones por lo que se puede realizar el análisis estadístico. .

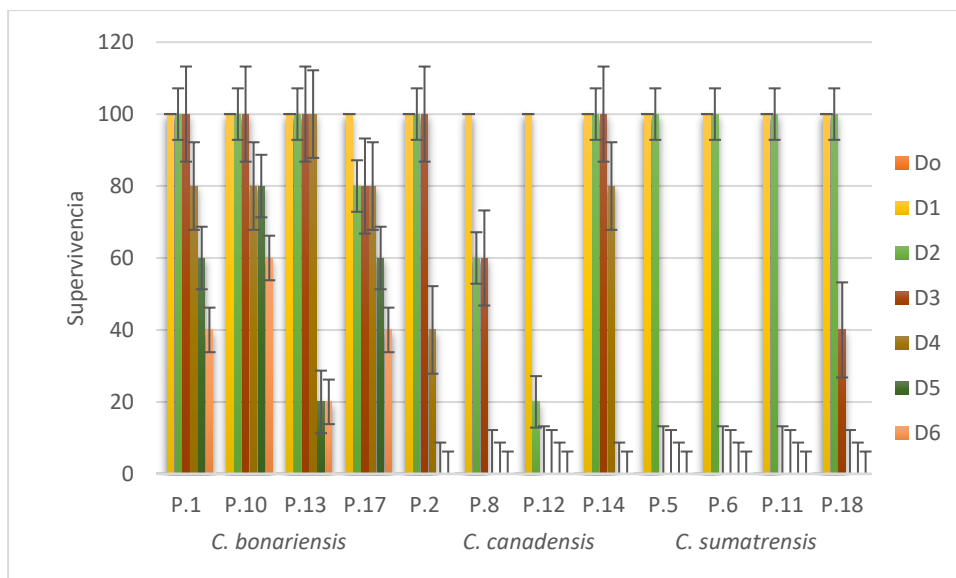


Figura 47. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 48 muestra que la población Ave (P. 13) presenta una menor supervivencia y la población Primi (P.1) una mayor supervivencia.

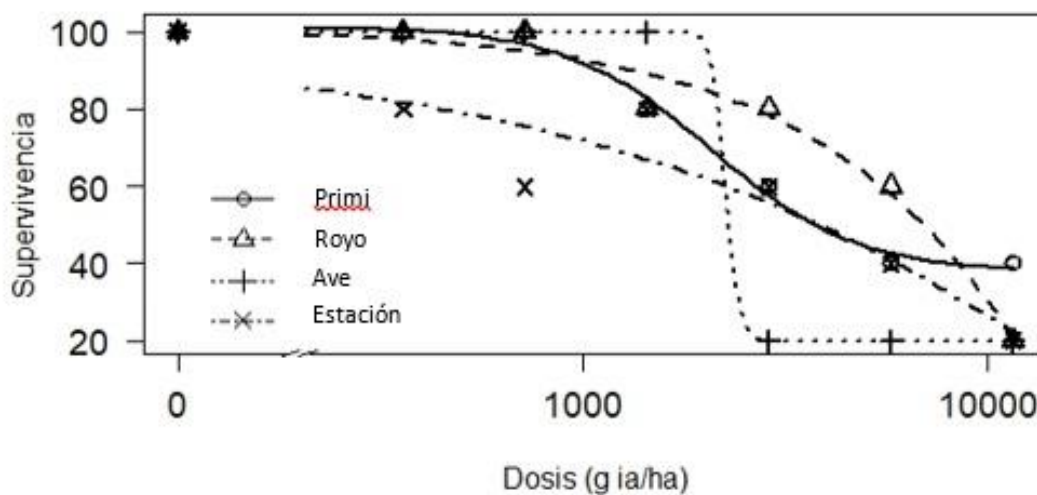


Figura 48. Supervivencia *C. bonariensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 49 muestra que la población de Royo (P.12) es la que tiene menor supervivencia y la de Ave (P.14) mayor supervivencia. A partir de la dosis 4 ninguna población sobrevive.

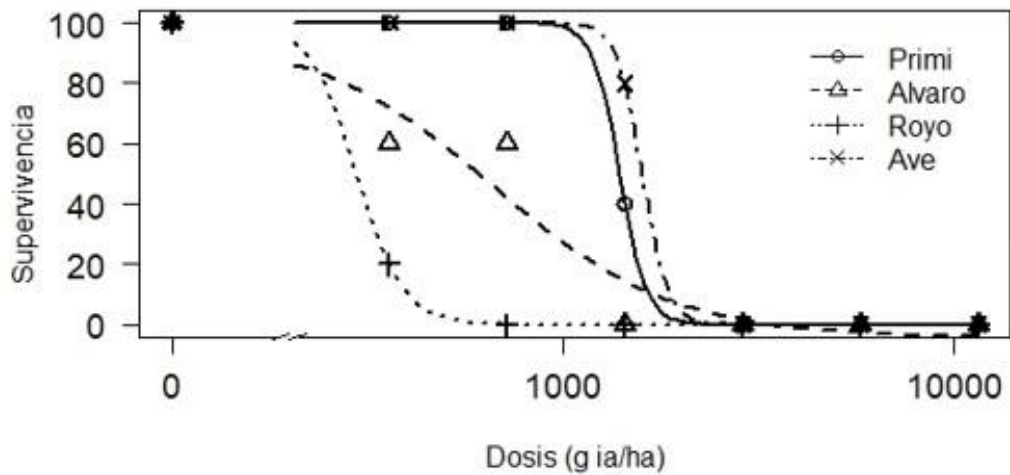


Figura 49. Supervivencia *C. canadensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 50 muestra que la población de Estación (P.17) es la que tiene mayor supervivencia. La demás poblaciones no sobreviven a partir de la dosis 2.

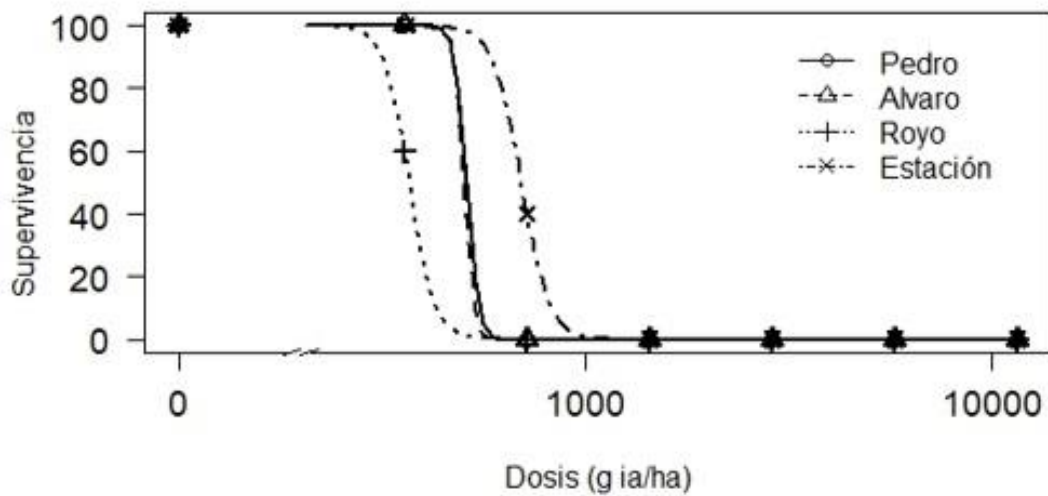


Figura 50. Supervivencia *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 51 muestra que la especie con menor supervivencia es *C. sumatrensis* y la de mayor supervivencia es *C. bonariensis*.

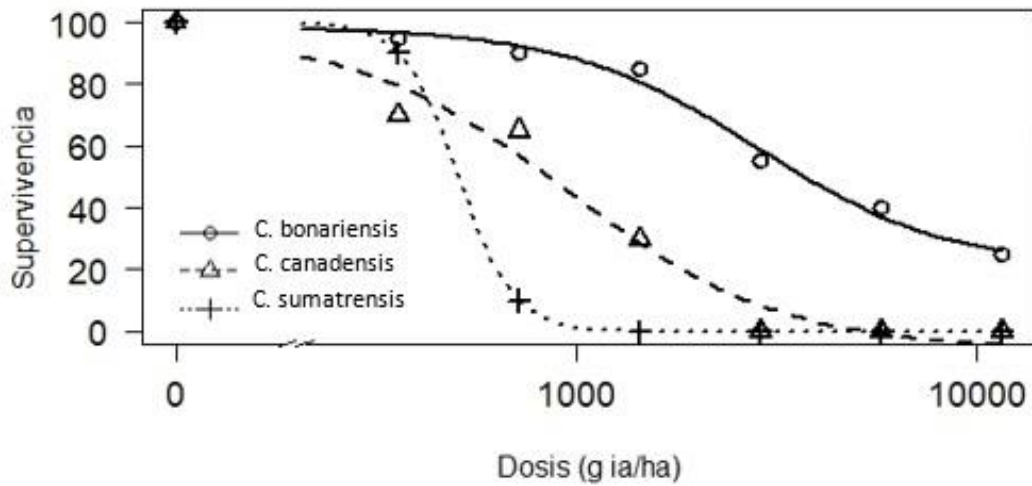


Figura 51. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

4.1.3. Biomasa según el peso fresco/seco

A los 30 ddt. se realizó el peso de la parte aérea y tras dos días en una estufa a 40°C se pesó su peso seco. Para realizar el análisis se calcula el % biomasa siendo el testigo el 100%. Las figuras 52 y 53 muestran poblaciones con datos anormales, estas poblaciones fueron eliminadas del análisis estadístico debido a que sus datos generaban problemas.

La Figura 52 muestra que *C. bonariensis* y *C. canadensis* presentan una evolución de la biomasa similar a excepción de la población 12.

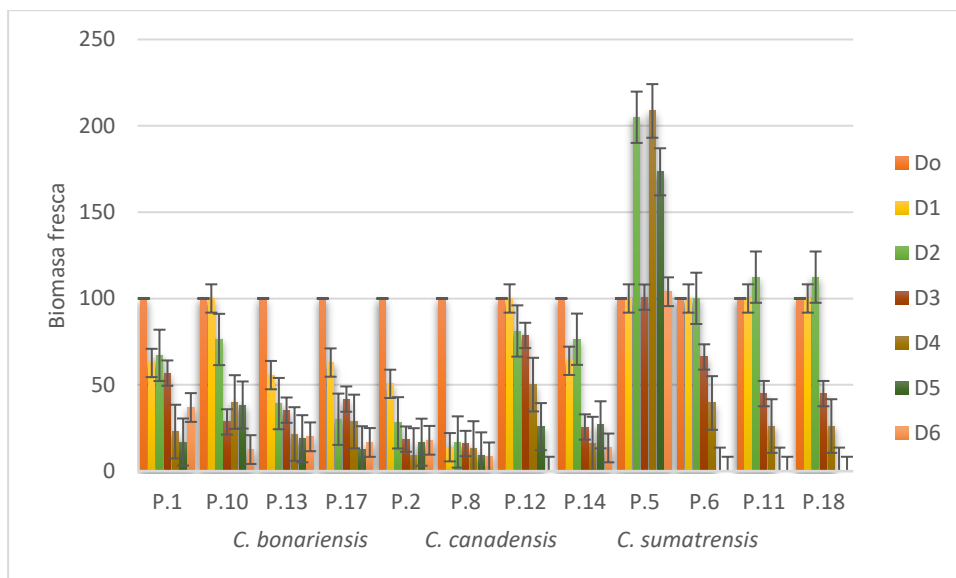


Figura 52. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La figura 53 muestra que las poblaciones de *C. sumatrensis* tienen unos pesos superiores a su testigo tras ser tratadas.

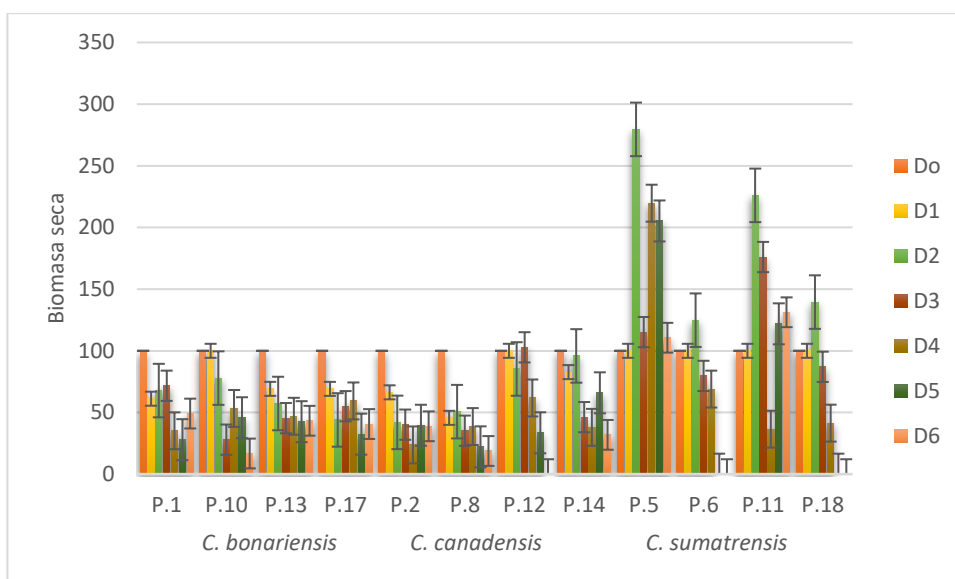


Figura 53. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

A continuación, se compara el análisis estadístico de la biomasa según el peso fresco y seco de cada especie:

La Figura 54 nos muestra que la población Royo (P.10) es la más afectada reduciéndose más de la mitad de la biomasa desde la dosis 3.

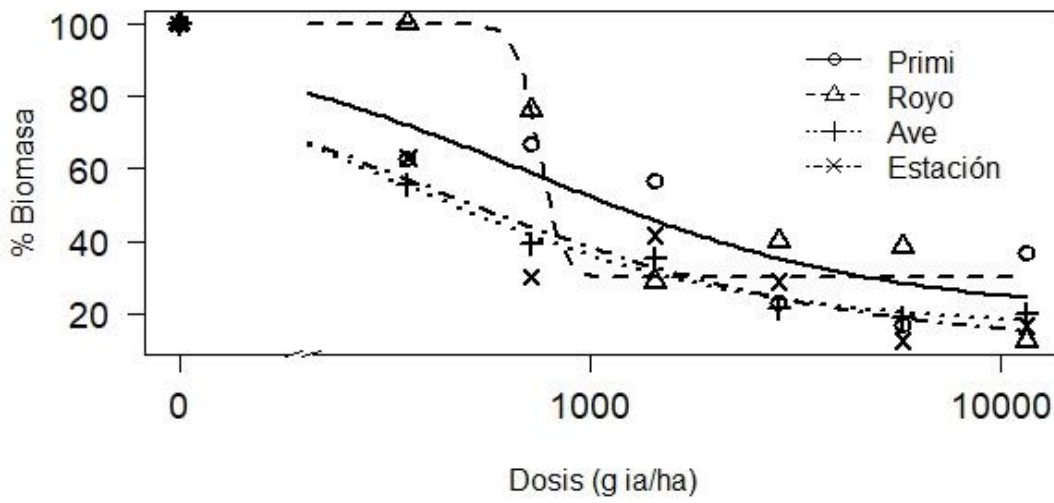


Figura 54. Peso fresco *C. bonariensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 55 muestra que la población de Royo (P.10) es la más afectada reduciéndose más de la mitad de la biomasa desde la dosis 3. Las demás poblaciones no se ven tan afectadas hasta la dosis 4.

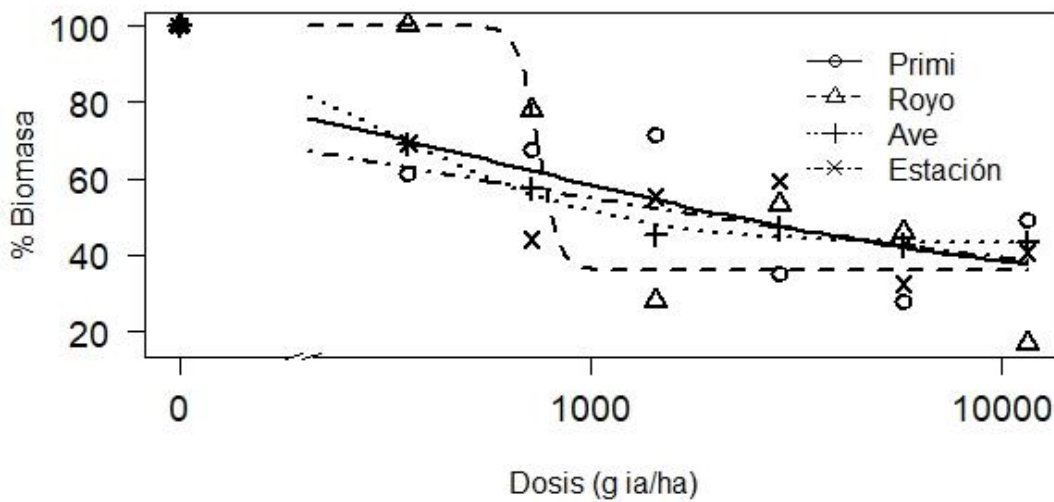


Figura 55. Peso seco *C. bonariensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 56 muestra que la población Primi (P.1) es la más afectada y la de Royo (P. 12) la que menos, pero es la única que se ve reducida totalmente en la dosis 6. En este análisis se tuvo que eliminar la población de Álvaro debido a que presentaba valores muy superiores en dosis mayores que en dosis menores generando un error a la hora de seguir el modelo log-logístico.

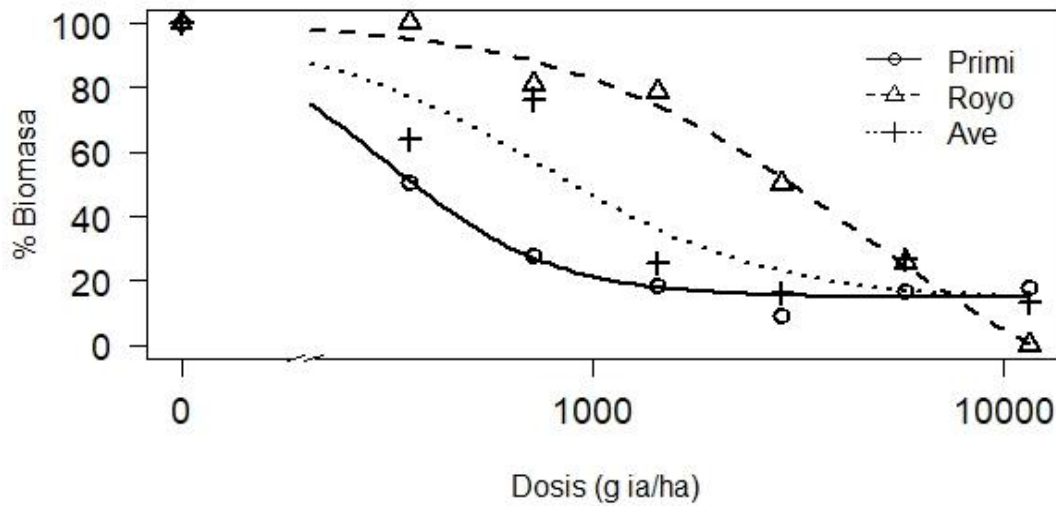


Figura 56. Peso fresco *C. canadensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 57 muestra que la población Álvaro (P.8) es la más afectada, desde la dosis dos ya se reduce a la mitad. La población de Royo (P. 12) es la menos afectada, pero en la dosis 6 se reduce totalmente siendo la única.

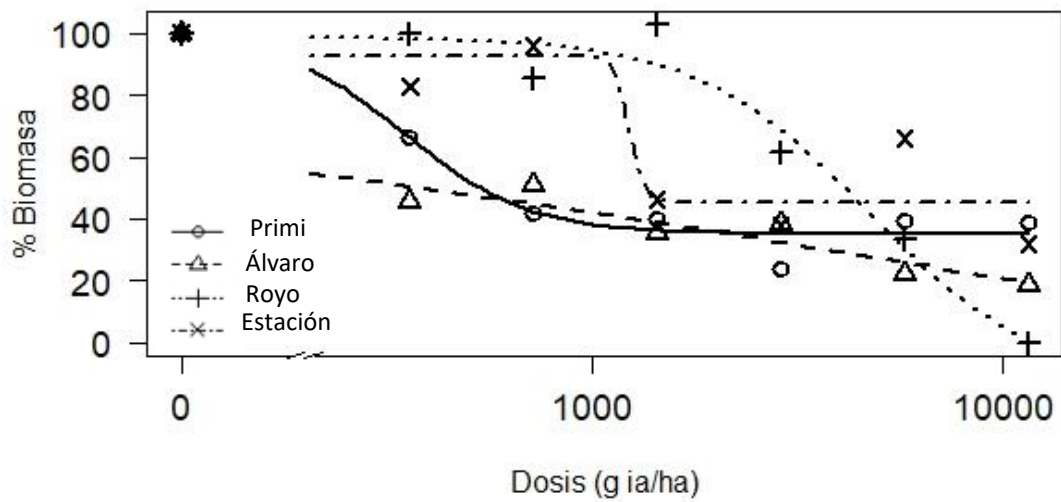


Figura 57. Peso seco *C. canadensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 58 muestra que la población de Álvaro (P.6) es la más afectada reduciéndose la mitad desde la dosis 3. Ambas poblaciones se ven reducidas totalmente a partir de la dosis 5. En este análisis se tuvo que eliminar la población de Pedro y Royo debido a datos anormales.

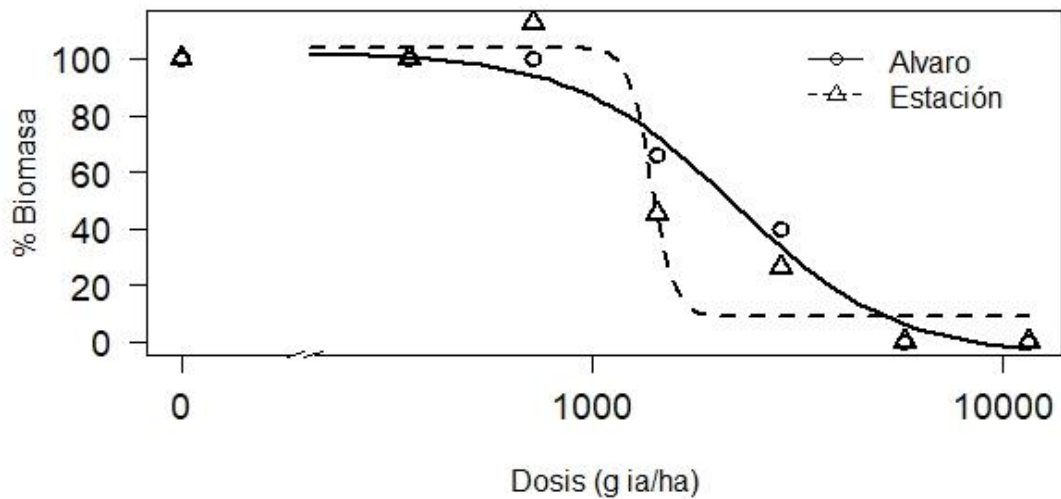


Figura 58. Peso fresco *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 59 muestra que las poblaciones de Álvaro (P.6) y Estación (P.16) se ven afectadas y reducidas totalmente a partir de la dosis 5. En este análisis se tuvo que eliminar la población de Pedro y Royo debido a datos anormales.

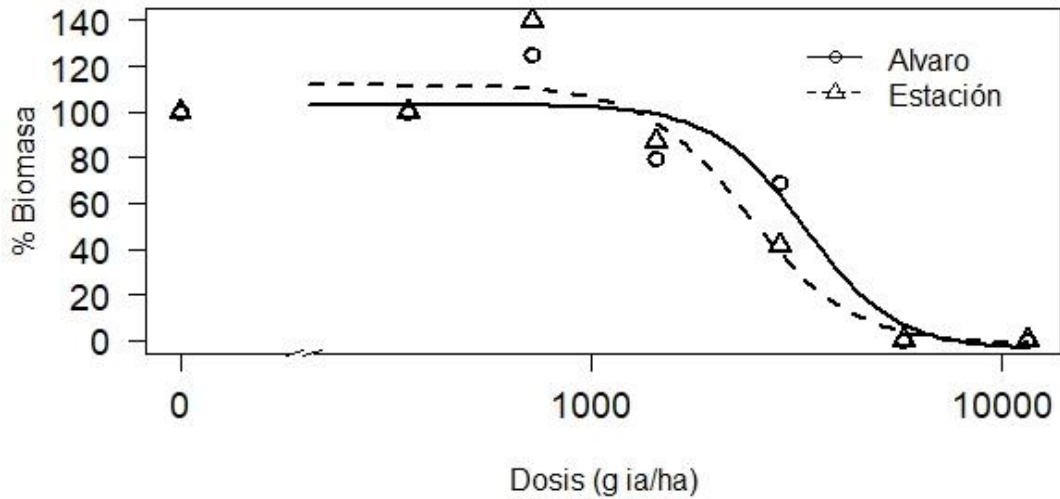


Figura 59. Peso seco *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 60 muestra que la especie menos afectada por el glifosato es *C. bonariensis*, seguida por *C. canadensis* y por último *C. sumatrensis*.

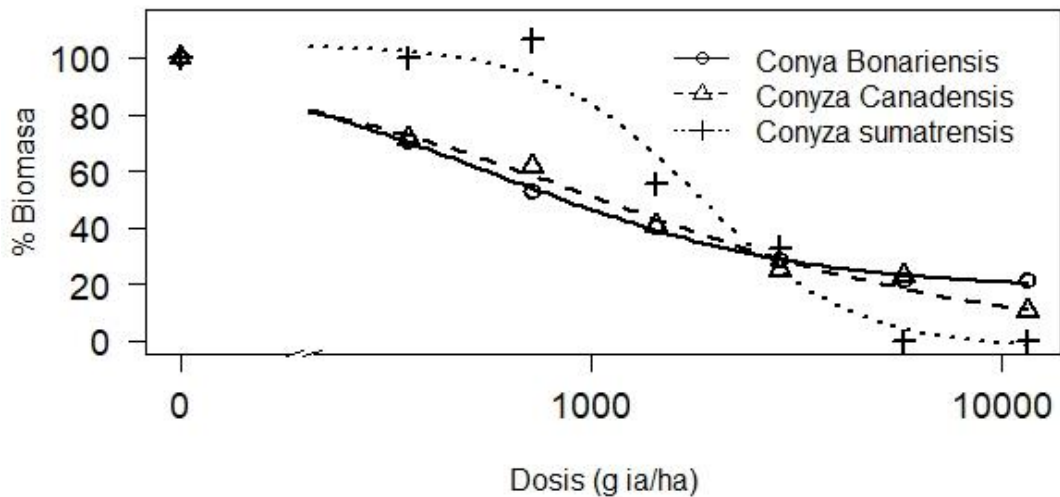


Figura 60. Peso fresco por especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 31 muestra que la especie menos afectada por el glifosato es *C. bonariensis*, seguida por *C. canadensis* y por último *C. sumatrensis*.

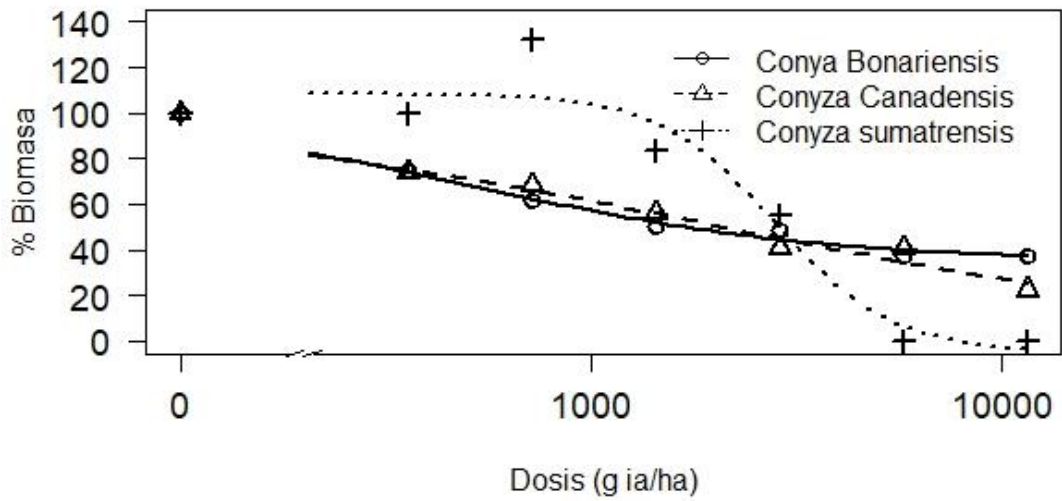


Figura 61. Peso seco por especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

A los 45 ddt. se realizó de nuevo la biomasa según el peso fresco (Figura 62) y seco (Figura 63):

La figura 62 muestra que a partir de la dosis 2 se reduce mucho la biomasa.

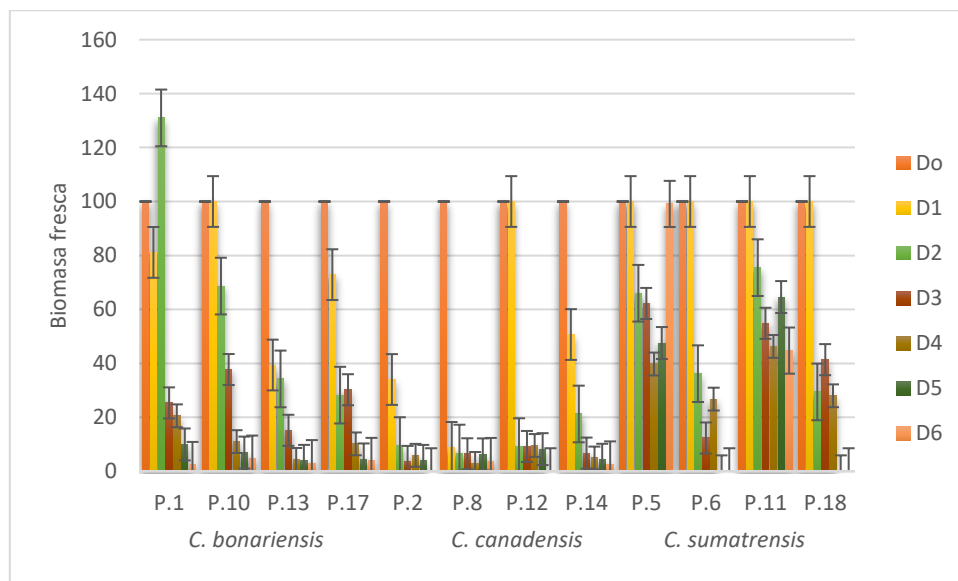


Figura 62. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 63 muestra que en las poblaciones de *C. sumatrensis* no se ve tan reducida su biomasa.

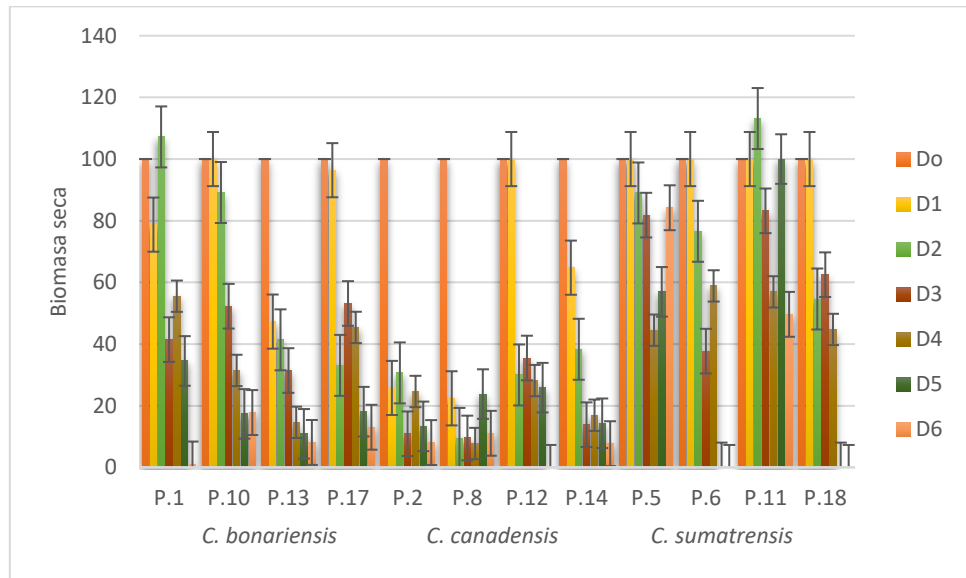


Figura 63. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 64 muestra que la población Ave (P.13) es la más afectada y la de Royo (P.10) la menos afectada. Ninguna población se ve reducida totalmente.

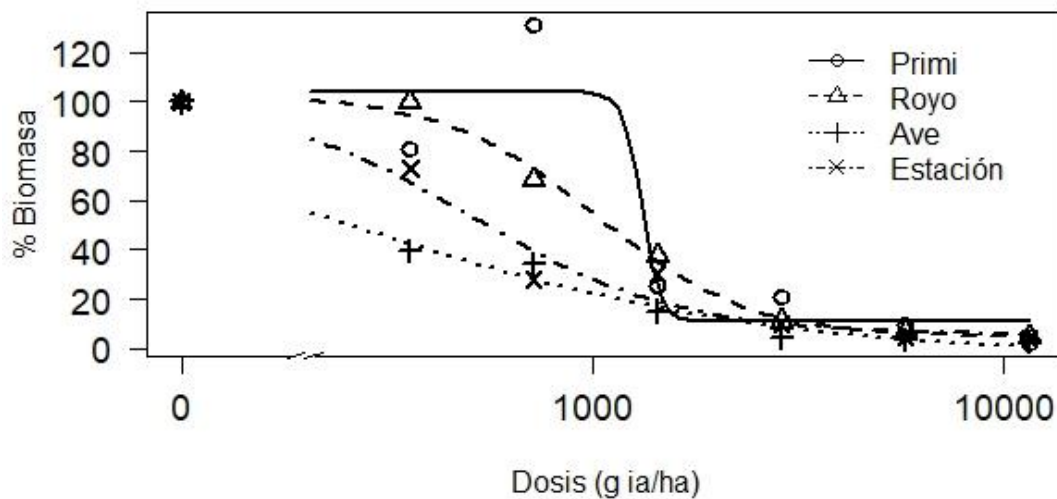


Figura 64. Peso fresco *C. bonariensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 65 muestra que la población de Ave (P.13) es la más afectada y la de Royo (P.10) la menos afectada. La única población que se reduce totalmente es la de Primi (P.1).

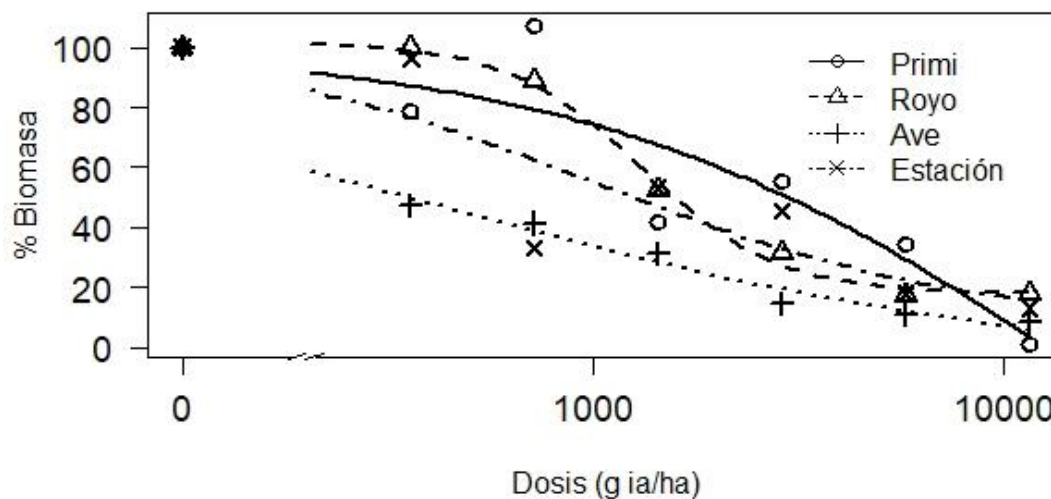


Figura 65. Peso seco *C. bonariensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 66 muestra que la población Álvaro (P.8) es la más afectada, desde la dosis 1 se ve casi reducida totalmente su biomasa. La población Ave (P.14) es la menos afectada. A partir de la dosis 3 se ve casi reducida toda la biomasa en las tres poblaciones. En este análisis se tuvo que eliminar la población Primi por datos anormales.

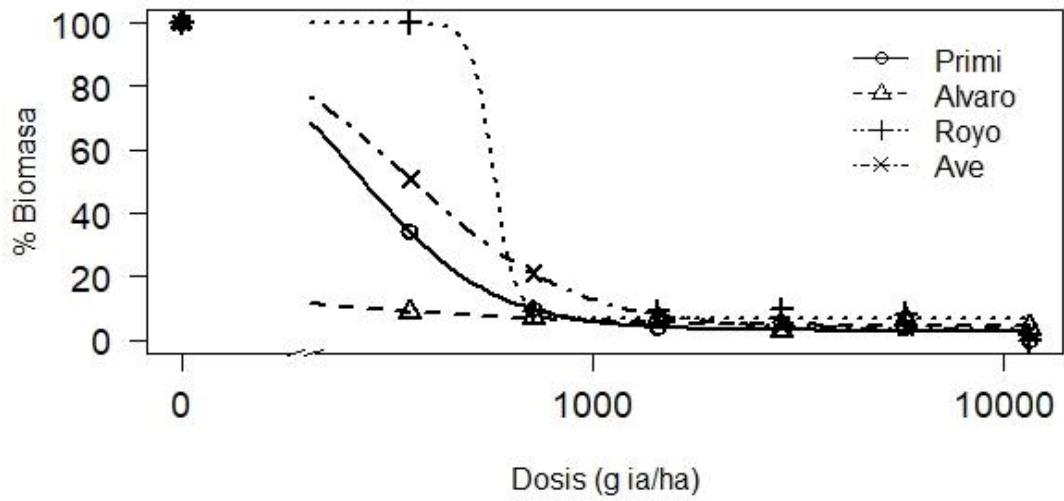


Figura 66. Peso fresco *C. canadensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 67 muestra que la población de Primi (P.2) es la más afectada y la de Ave (P.14) la menos afectada. La única población que se ve reducida su biomasa totalmente es la población de Royo (P.12) en la dosis 6. En este análisis se tuvo que eliminar la población Álvaro por datos anormales.

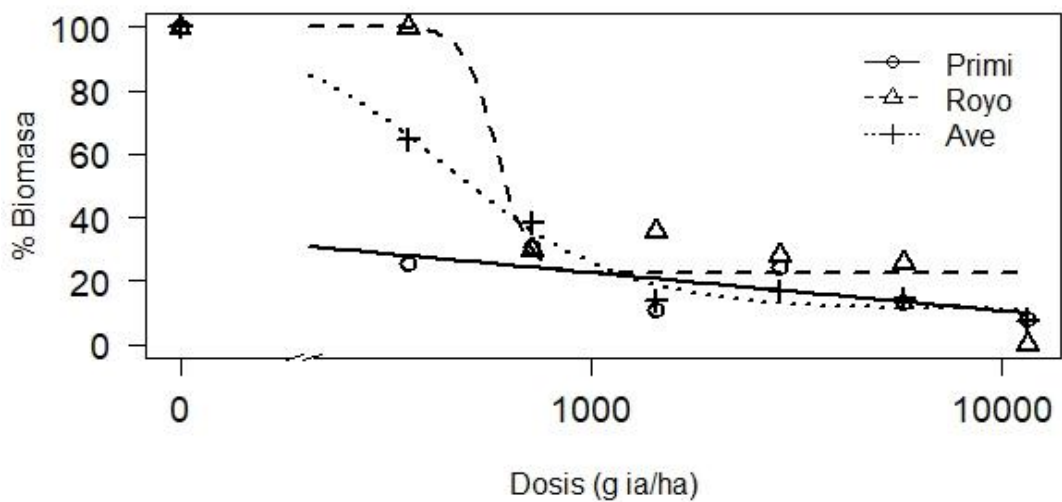


Figura 67. Peso seco *C. canadensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 68 muestra que la población de Álvaro (P.6) es la más afectada y la de Pedro (P.5) la menos afectada. Siendo la población de Álvaro (P.6) y Estación (P.18) las únicas que se reducen totalmente a partir de la dosis 5.

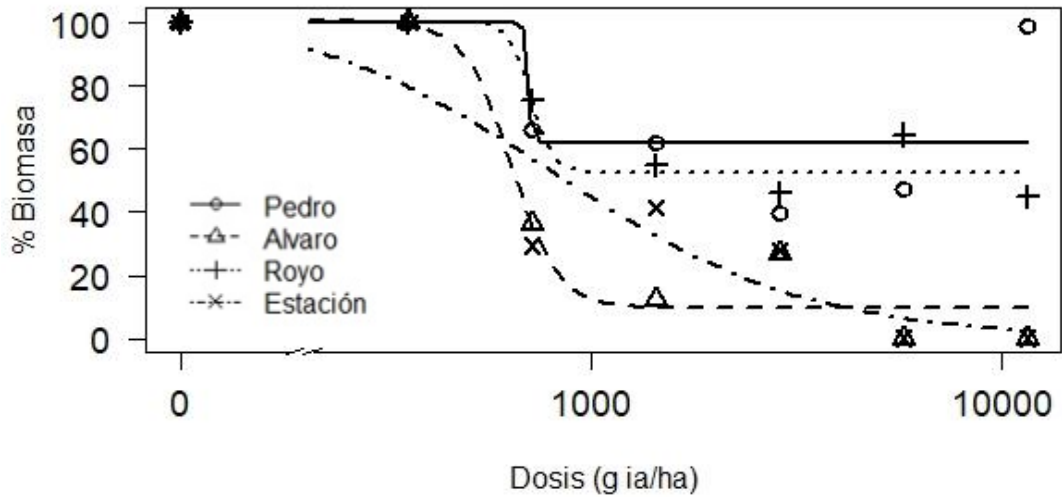


Figura 68. Peso fresco *C. sumatrensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 69 muestra que las poblaciones de Álvaro (P.6) y Estación (P.18) son las más afectadas por igual siendo reducidas totalmente a partir de la dosis 5. La población de Royo (P.11) es la menos afectada.

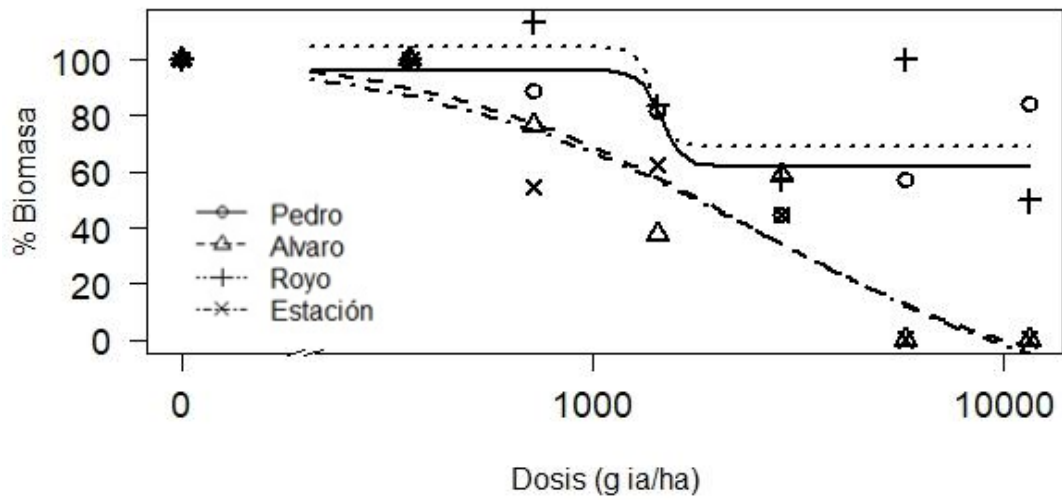


Figura 69. Peso seco *C. sumatrensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 70 muestra que la especie menos afectada es *C. bonariensis* y la más afectada es *C. canadensis*.

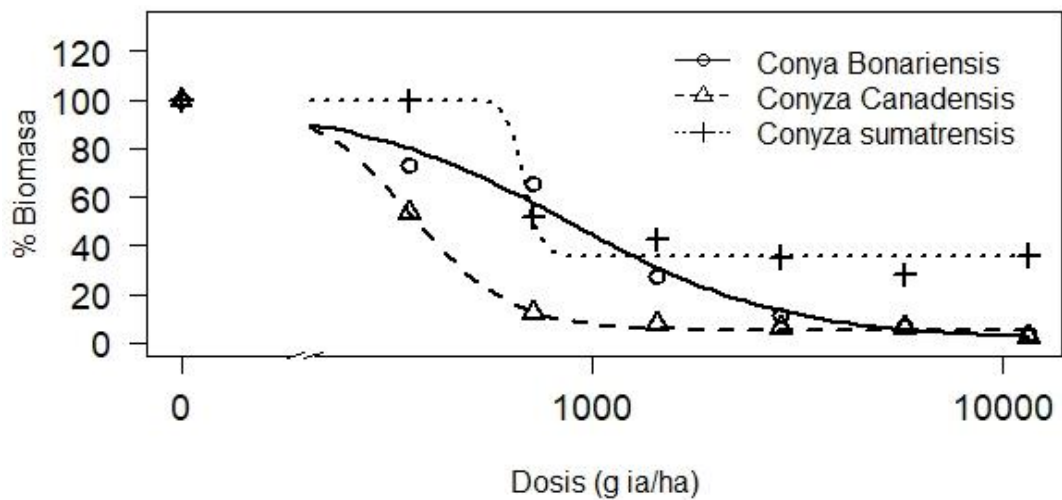


Figura 70. Peso fresco por especies a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 71 muestra que la especie menos afectada es *C. sumatrensis* y la más afectada es *C. canadensis*. Este dato

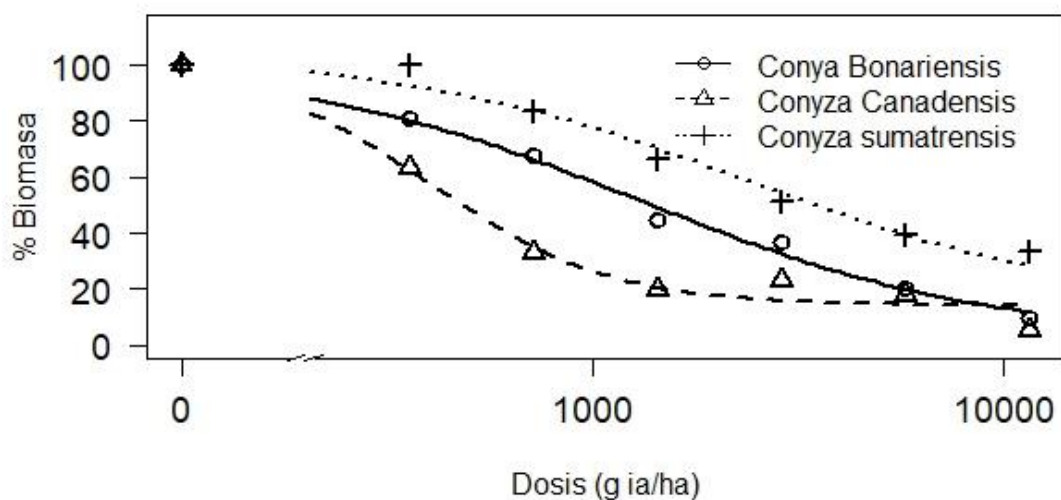


Figura 71. Peso seco por especies a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

4.1.4. Factor de resistencia

El factor de resistencia proporciona información sobre el número de veces que habría que aumentar la dosis de herbicida para conseguir el mismo efecto sobre el biotipo resistente. Según Heap (2005) si el valor de FR es superior a 10 hay resistencia.

4.1.4.1. Supervivencia

Se realiza el FR del parámetro supervivencia a los 15 ddt. y 30 ddt.

Las tablas 7, 9 y 10 no muestran resistencia.

Tabla 7. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *C. sumatrensis* a los 15 ddt..

Población	LD50	FR
Pedro	920,13	1
Álvaro	3111,08	3,38
Royo	1921,11	2,08
Estación	4085,57	4,44

Fuente: Elaboración propia

La tabla 8 muestra que en el caso de *C. bonariensis* si hay resistencia en las poblaciones de Royo y Estación. Esta resistencia es muy elevada comparada con las otras poblaciones.

Tabla 8. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *C. bonariensis* a los 30 ddt..

Población	LD50	FR
Primi	2080	1
Royo	161400	77
Ave	2258	1,08
Estación	143900	69,18

Fuente: Elaboración propia

Tabla 9. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *C. canadensis* a los 30 ddt..

Población	LD50	FR
Primi	1395	4,69
Álvaro	662,3	2,23
Royo	297,4	1
Ave	1598	5,37

Fuente: Elaboración propia

Tabla 10. LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *C. sumatrensis* a los 30 ddt..

Población	LD50	FR
Pedro	510,3	1,38
Álvaro	504,3	1,36
Royo	370,3	1
Estación	697,7	1,88

Fuente: Elaboración propia

4.1.4.2. Biomasa según el peso fresco/seco

Se realiza el FR de la biomasa según el peso fresco y seco a los 30 ddt. y 45 ddt.

Las tablas 11, 13 y 16 no muestran resistencia, las demás sí.

Tabla 11. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. bonariensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	709,36	2,24	636,28	1,91
Royo	750,66	2,38	746,04	2,25
Ave	314,44	1	331,52	1
Estación	390,52	1,24	528,22	1,59

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 12 muestra que hay resistencia en *C. canadensis* en la población de Álvaro y Royo, para el peso fresco se tuvo que eliminar la población de Álvaro por que no dejaba realizar el análisis estadístico. En el caso de la población de Royo la resistencia no es muy alta, pero para la población de Álvaro tiene una resistencia alta.

Tabla 12. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. canadensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	331,30	1	350,08	1
Álvaro			26666,19	76,17
Royo	4395,15	13,26	4699,88	13,42
Ave	765,42	2,31	1232,32	3,52

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 13. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. sumatrensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Álvaro	2224,51	1,59	3323,15	1,37
Estación	1394,55	1	2420,22	1

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 14 muestra que tras 45 ddt. *C. bonariensis* presenta una resistencia alta en la población de Primi en su peso seco.

Tabla 14. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. bonariensis* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	1316,81	4,78	16344,99	36,84

Royo	1022,40	3,71	1317,79	2,97
Ave	275,34	1	443,67	1
Estación	510,99	1,85	1013,50	2,28

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 15 muestra que tras 45 ddt. *C. canadensis* tiene resistencia también la población de Royo siendo esta elevada y la población de Ave.

Tabla 15.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. canadensis* los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	11,12	1	2958,05	6,53
Royo	595,61	53,56	588,73	1,30
Ave	354,69	31,88	452,43	1

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 16.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. sumatrensis* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	709,36	2,24	1468,42	1,03
Royo	750,66	2,38	2346,25	1,65
Ave	314,44	1	1413,90	1
Estación	390,52	1,24	2702,67	1,91

Fuente: Elaboración propia.

Fuente: Elaboración propia.

4.2. Ensayo 2

En el ensayo 2 germinaron todas las poblaciones, se puede consultar la tabla 2 para ayudar a la lectura de las Figuras.

4.2.1. Evaluación visual de la fitotoxicidad

El segundo ensayo se realizó igual que el primero, a los 15 ddt. se realizó el análisis visual utilizando la puntuación propuesta por la EWRS (Tabla 4). Se evaluó visualmente el conjunto de las 5 repeticiones. En las figuras 72, 73, 74 y 75 se muestran las medias de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt..

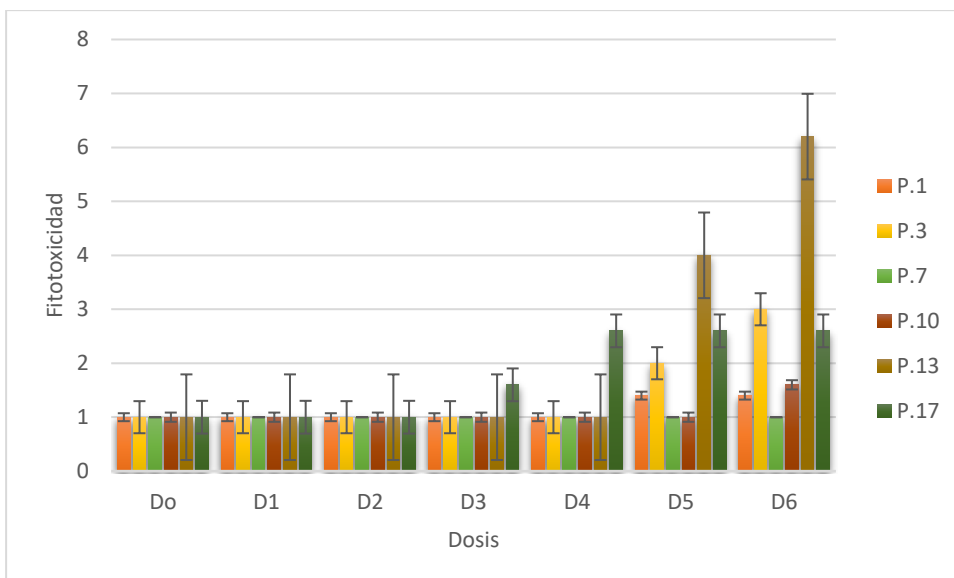


Figura 72. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de *C. bonariensis*

Fuente: Elaboración propia.

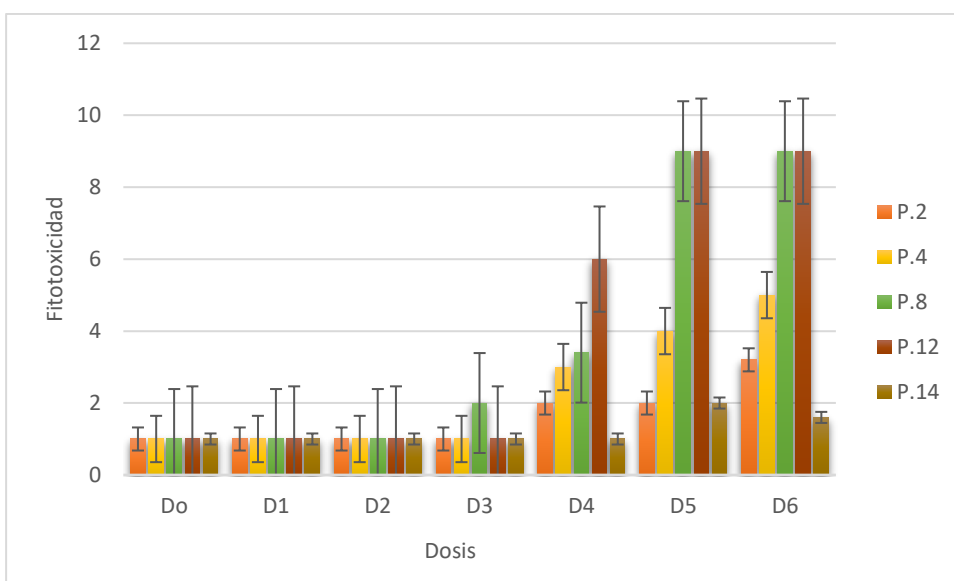


Figura 73. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 15 ddt. de *C. canadensis*.

Fuente: Elaboración propia.

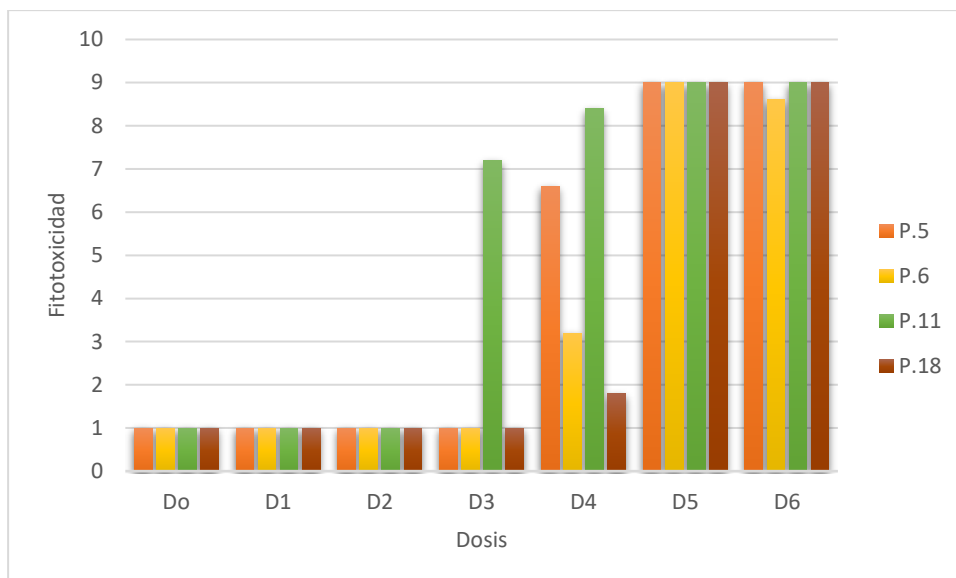


Figura 74. Evaluación visual de la fitotoxidad a los 15 ddt. de *C. sumatrensis*.

Fuente: Elaboración propia.

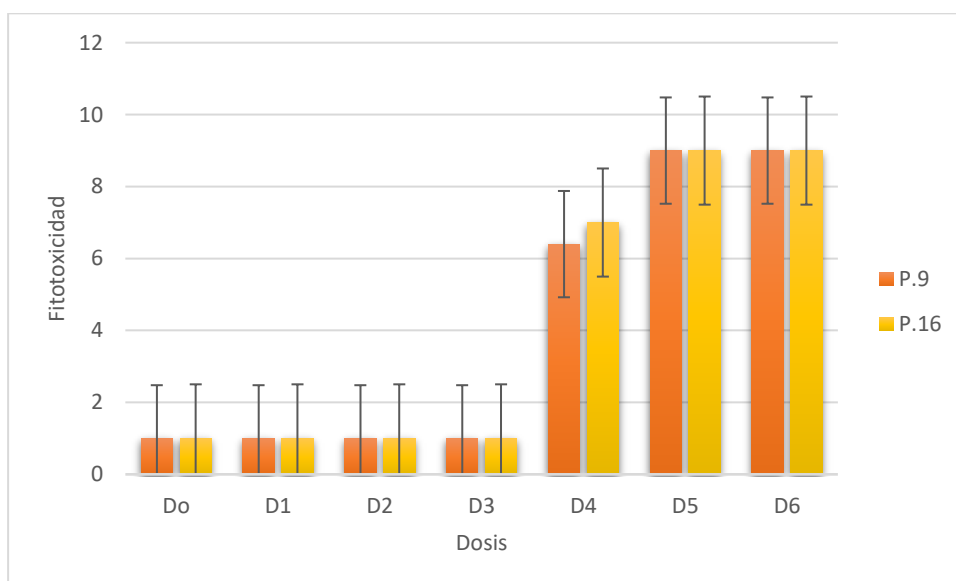


Figura 75. Evaluación visual de la fitotoxidad a los 15 ddt. de *A. squamatus*.

Fuente: Elaboración propia.

La Figura 76 muestra que *C. sumatrensis* y *A. squamatus* son las especies más afectadas por el glifosato.

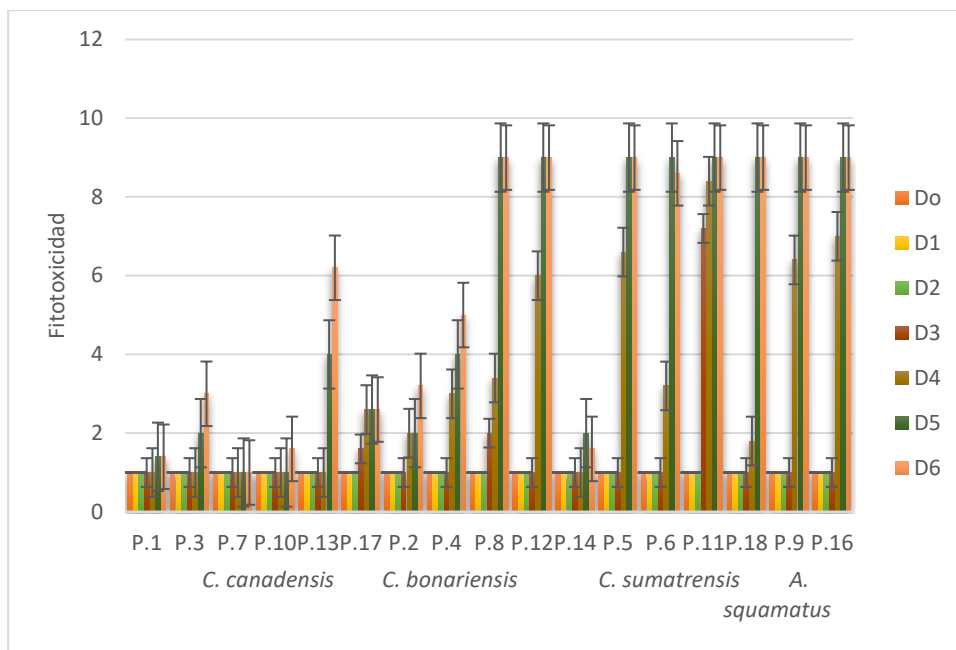


Figura 76. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

En las figuras 77, 78, 79 y 80 se muestran las medias de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt..

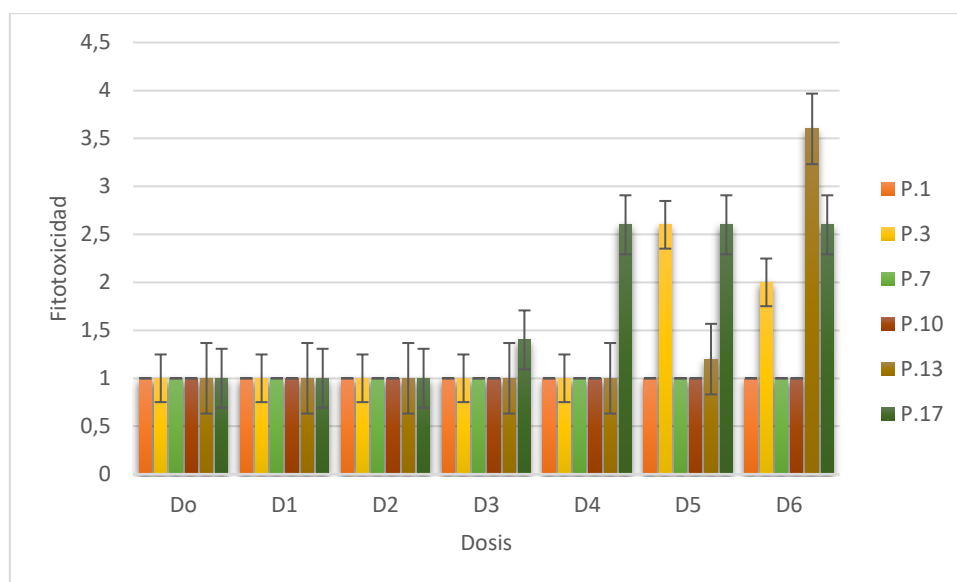


Figura 77. Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de *C. bonariensis*

Fuente: Elaboración propia

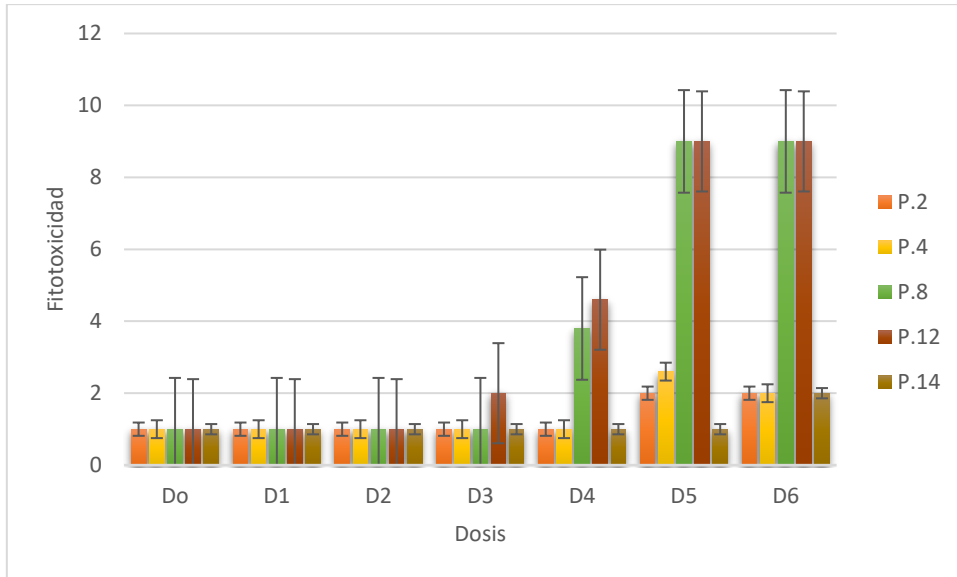


Figura 78..Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de *C. canadensis*

Fuente: Elaboración propia

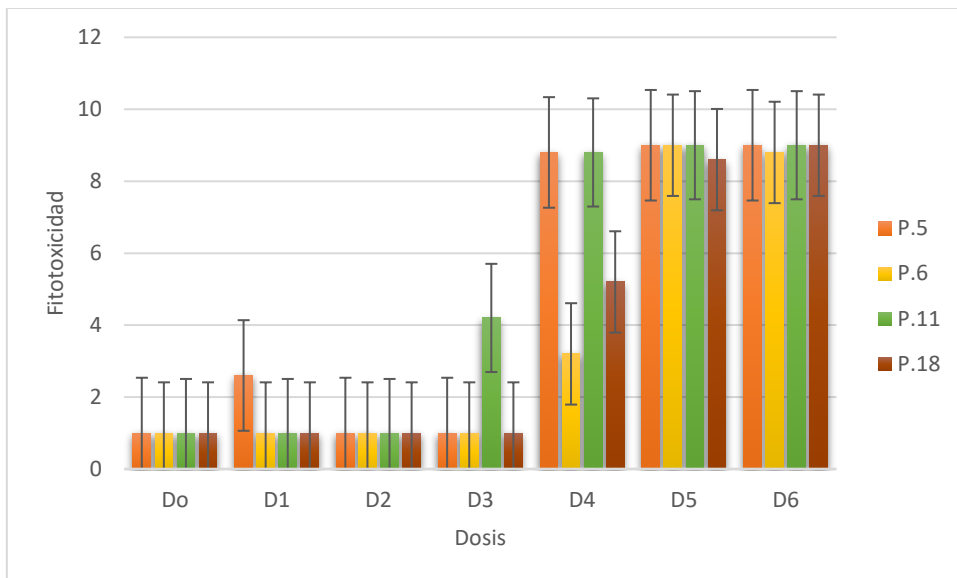


Figura 79..Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de *C. sumatrensis*

Fuente: Elaboración propia

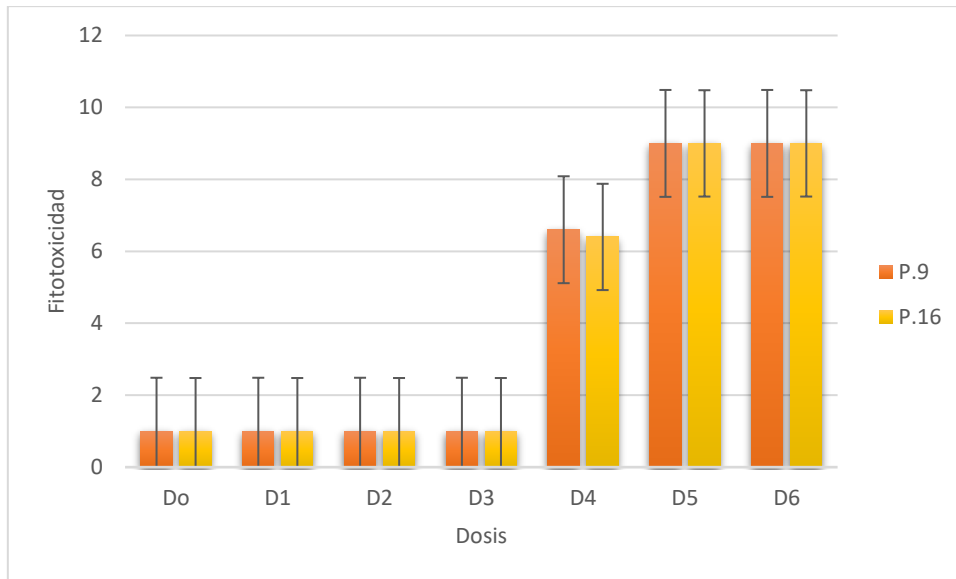


Figura 80 Evaluación visual de la fitotoxicidad a los 30 ddt. de *A. squamatus*

Fuente: Elaboración propia

La Figura 81 muestra que *C. sumatrensis*, *A. squamatus* y la mitad de las poblaciones de *C. canadensis* se ven afectadas por el glifosato en la dosis 4.

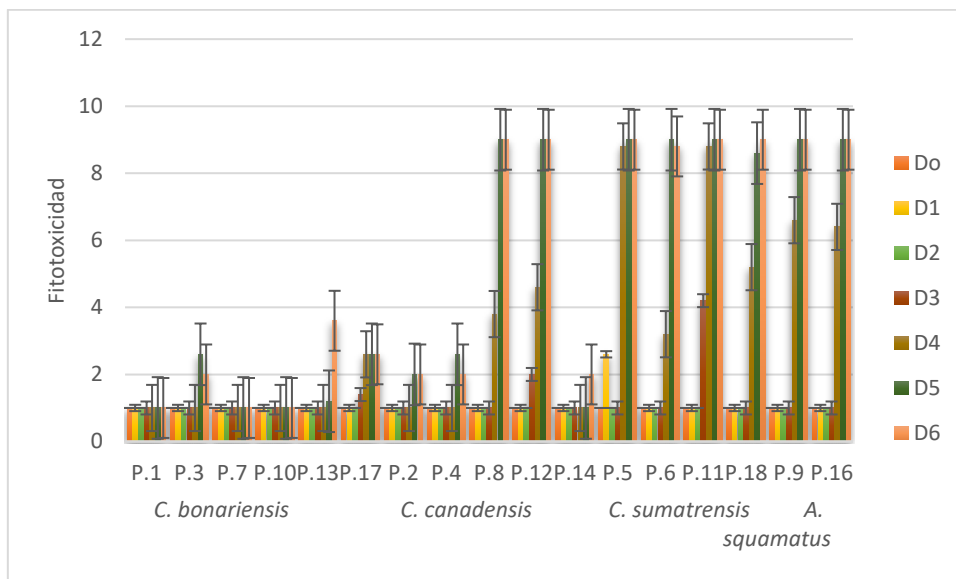


Figura 81. Evaluación visual de la fitotoxicidad de las especies a los 30 ddt..

Fuente: Elaboración propia

4.2.2. Supervivencia

Para analizar la supervivencia estadísticamente se calcula el % de supervivencia de la media de las 5 repeticiones a los 15 ddt. y a los 30 ddt.. La tabla 6 explica el dato asignado.

La Figura 82 muestra que las poblaciones que superen el 50% de supervivencia no se puede realizar su análisis estadístico, por lo que solo se puede representar gráficamente *C. sumatrensis* y *A. squamatus*.

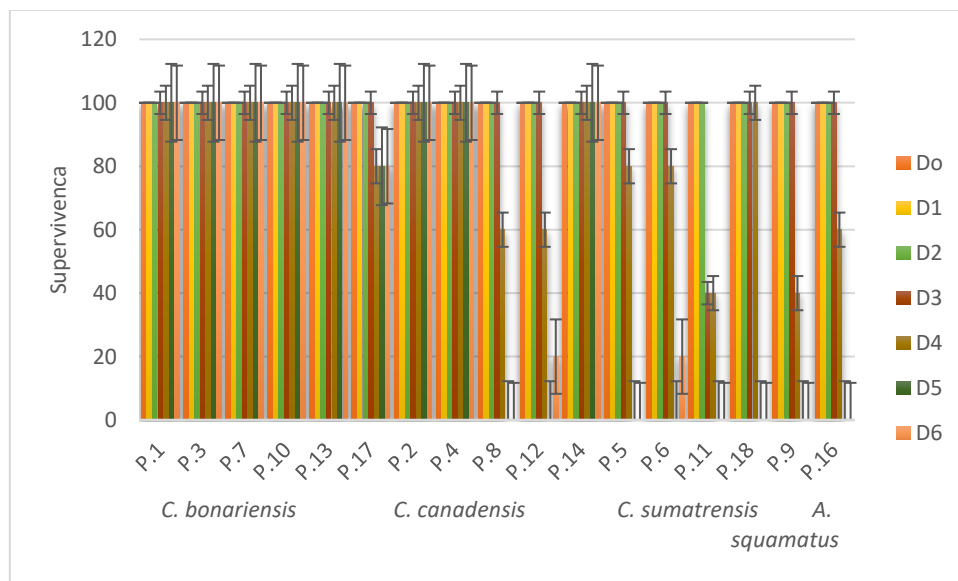


Figura 82. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 83 muestra que la población Rojo (P.11) presenta una menor supervivencia y la población Estación (P.18) una mayor supervivencia. A partir de la dosis 5 todas poblaciones no sobreviven.

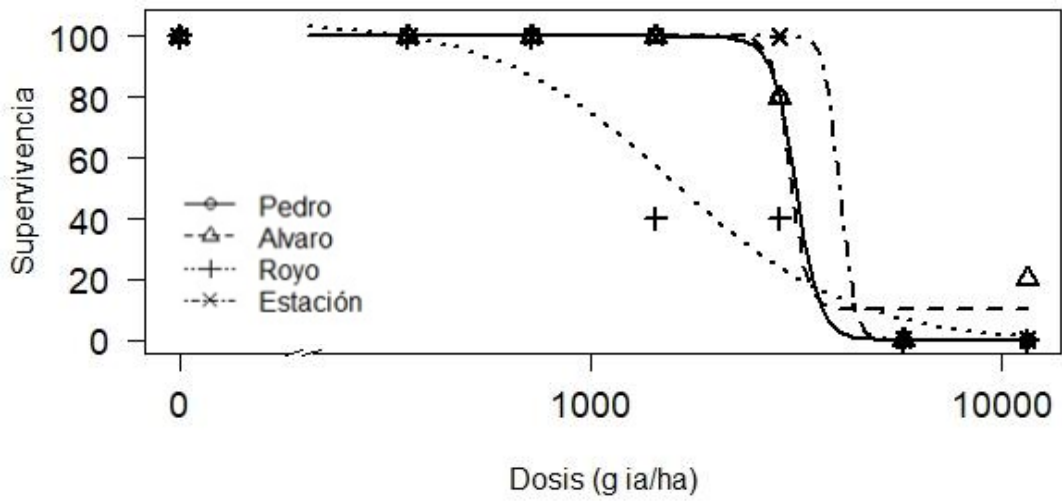


Figura 83. Supervivencia *C. sumatrensis* a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 84 muestra que la población de Royo (P.9) es la más afectada. A partir de la dosis 5 ambas poblaciones no sobreviven.

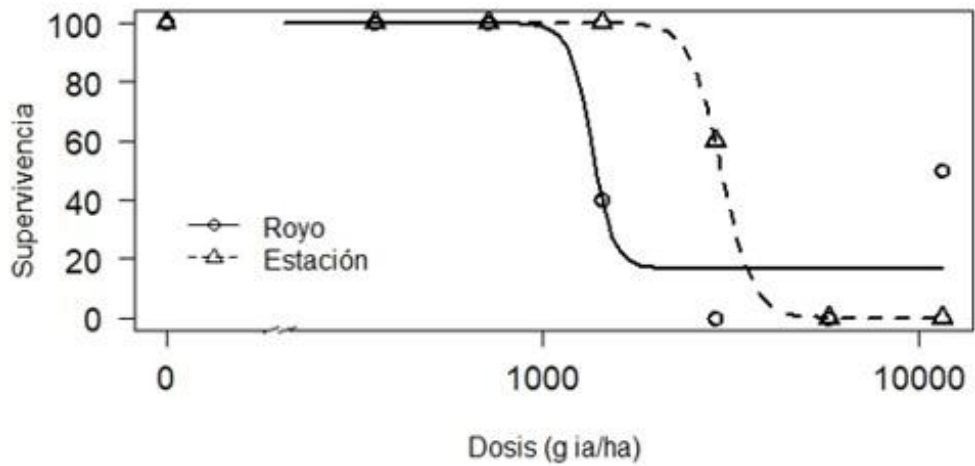


Figura 84. Supervivencia *A. squamatus* a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 85 muestra que *C. bonariensis* apenas se ve afectada por el glifosato y *A. squamatus* es la más afectada.

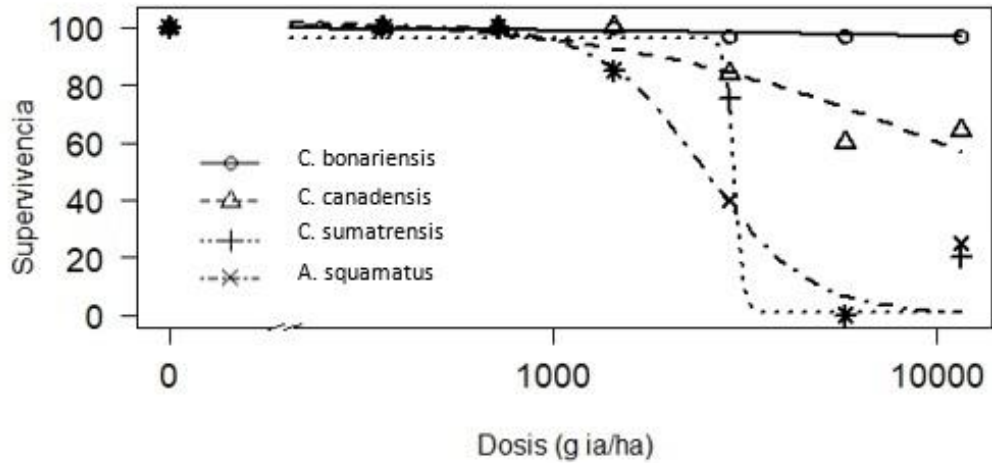


Figura 85. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.

Fuente: Elaboración propia

A los 30 ddt. se realizó otro análisis de supervivencia.

La Figura 86 muestra que las poblaciones que superen el 50% de supervivencia no se puede realizar su análisis estadístico, por lo que solo se puede representar gráficamente *C. sumatrensis* y *A. squamatus*.

A los 30 ddt. se realizó otro análisis de supervivencia.

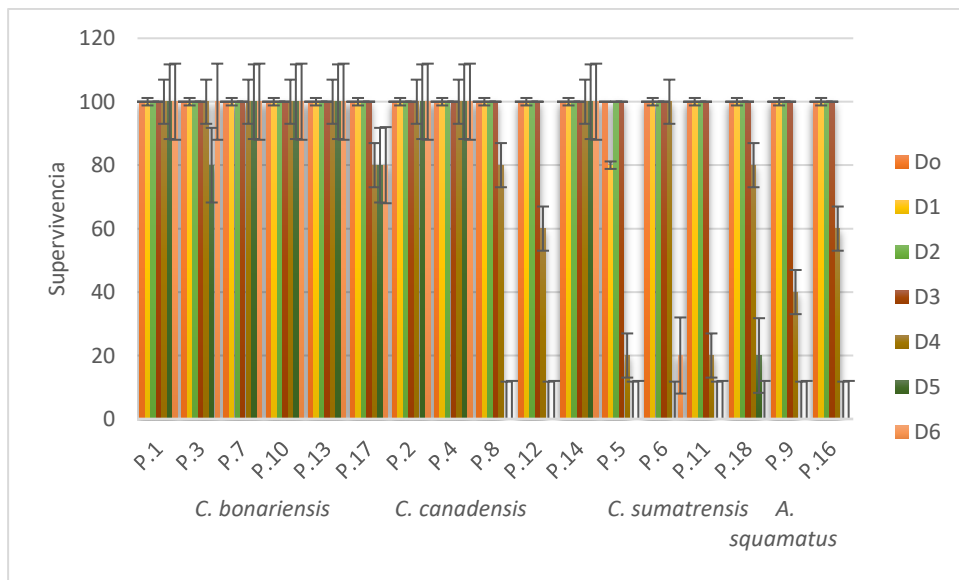


Figura 86. Supervivencia media de las 5 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia.

Como muestra la Figura 87 las poblaciones de Pedro (P.5) y Royo (P.11) son las más afectadas y población Estación (P.18) la menos afectada. A partir de la dosis en la mayoría de las poblaciones no sobreviven.

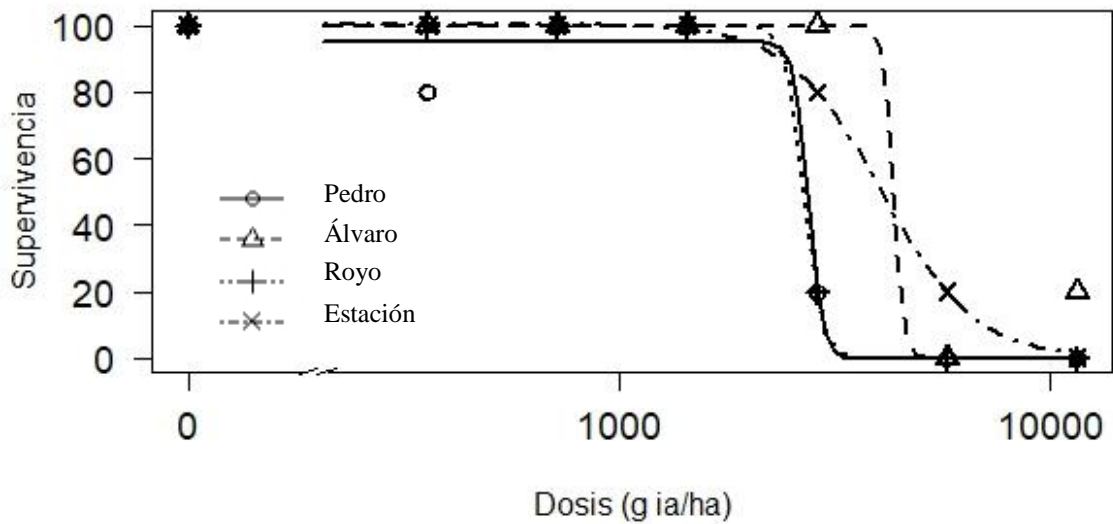


Figura 87. Supervivencia *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

Como muestra la Figura 88 la población de Royo (P.9) y Estación (P.16) no sobreviven a partir de la dosis 5.

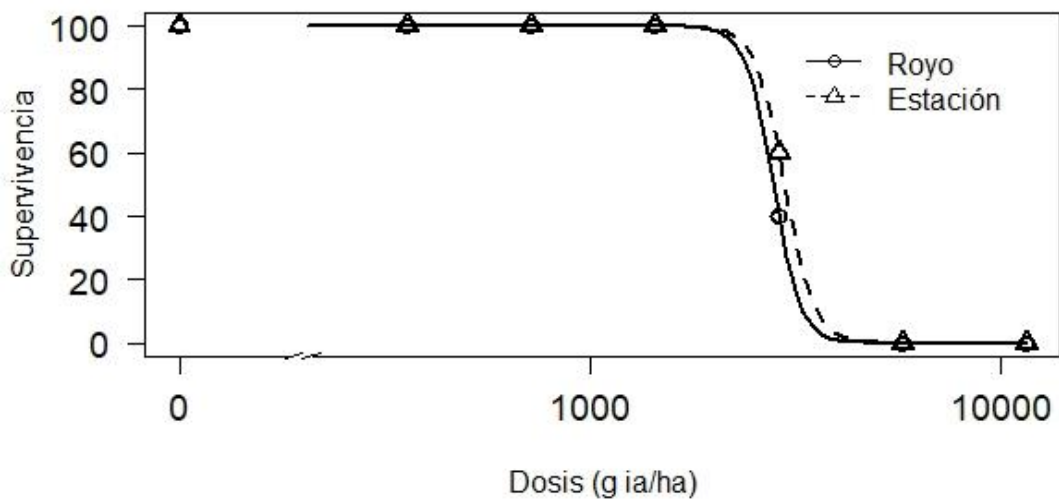


Figura 88. Supervivencia *A. squamatus* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 89 muestra que la especie menos afectada por el glifosato es *C. bonariensis* y la más afectada es *A. squamatus*.

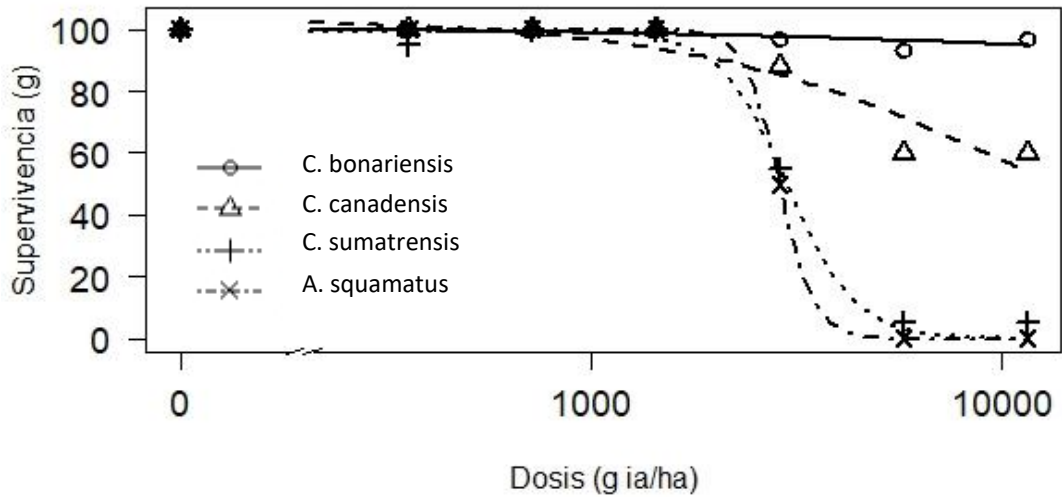


Figura 89. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

4.2.3. Biomasa según el peso fresco/seco

A los 30 ddt. se realizó el peso de la parte aérea y tras dos días en una estufa a 40°C se pesó su peso seco. Para realizar el análisis se calcula el % biomasa siendo el testigo el 100%. Las figuras 90 y 91 muestran poblaciones con datos anormales, estas poblaciones fueron eliminadas del análisis estadístico debido a que sus datos generaban problemas.

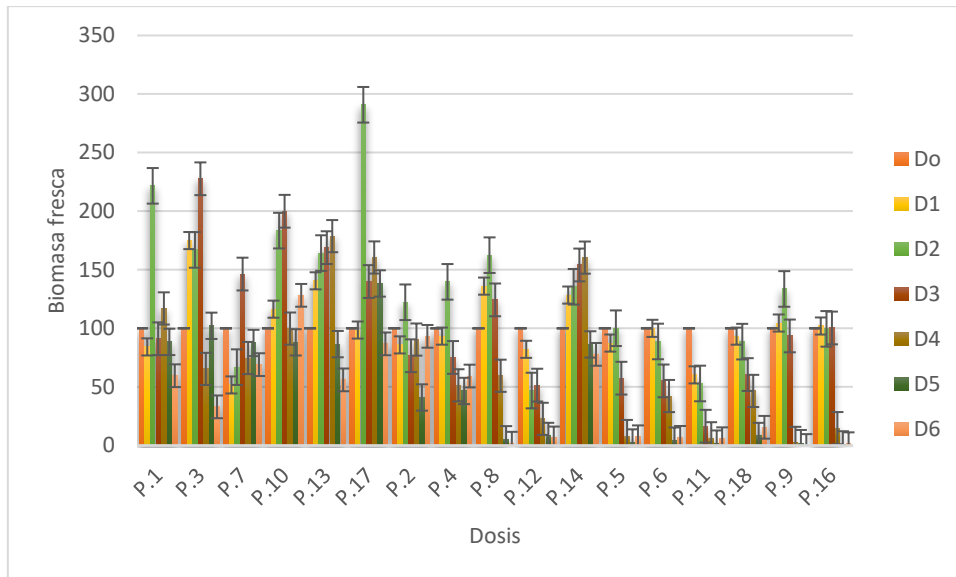


Figura 90. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

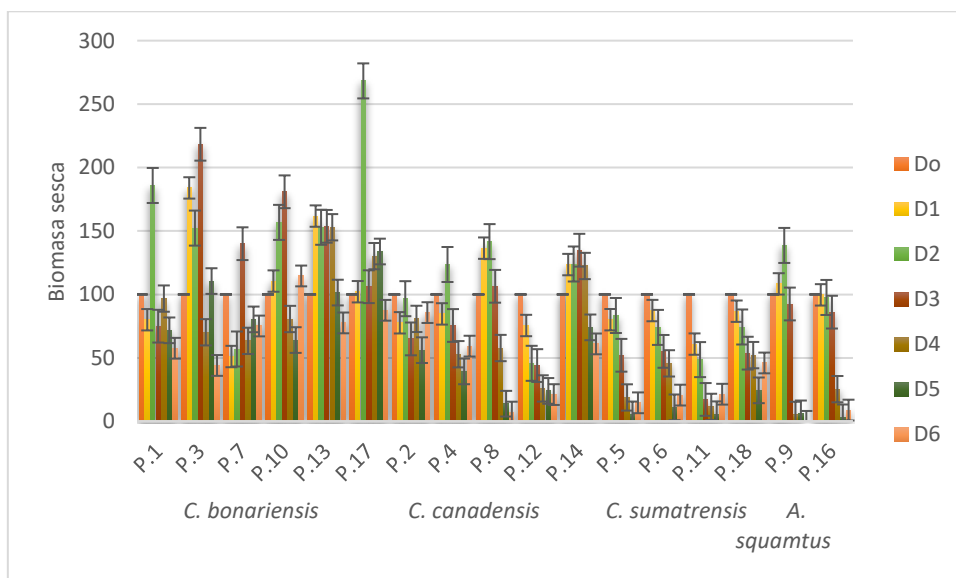


Figura 91. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 92 muestra que la población de Álvaro (P.7) es la más afectada y la población de Estación (P.17) la menos afectada. A excepción de la población de Álvaro las demás hasta la dosis 6 no ven reducidas la biomasa hasta la mitad.

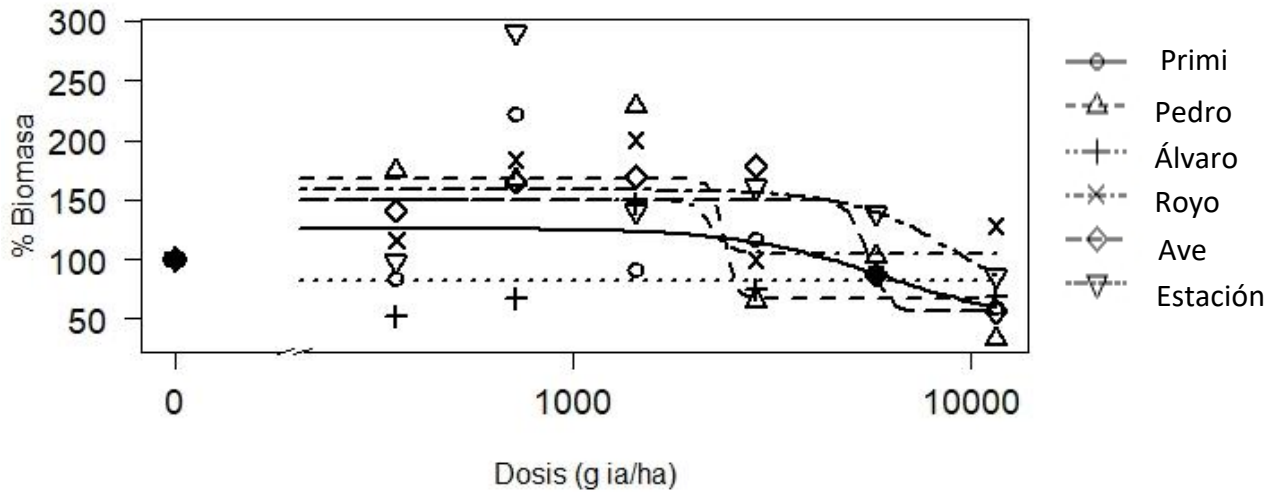


Figura 92. Peso fresco *C. bonariensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 93 muestra que la población de Álvaro (P.7) es la más afectada y la población de Estación (P.17) la menos afectada. Hasta la dosis 6 no se ve el mayor efecto del glifosato.

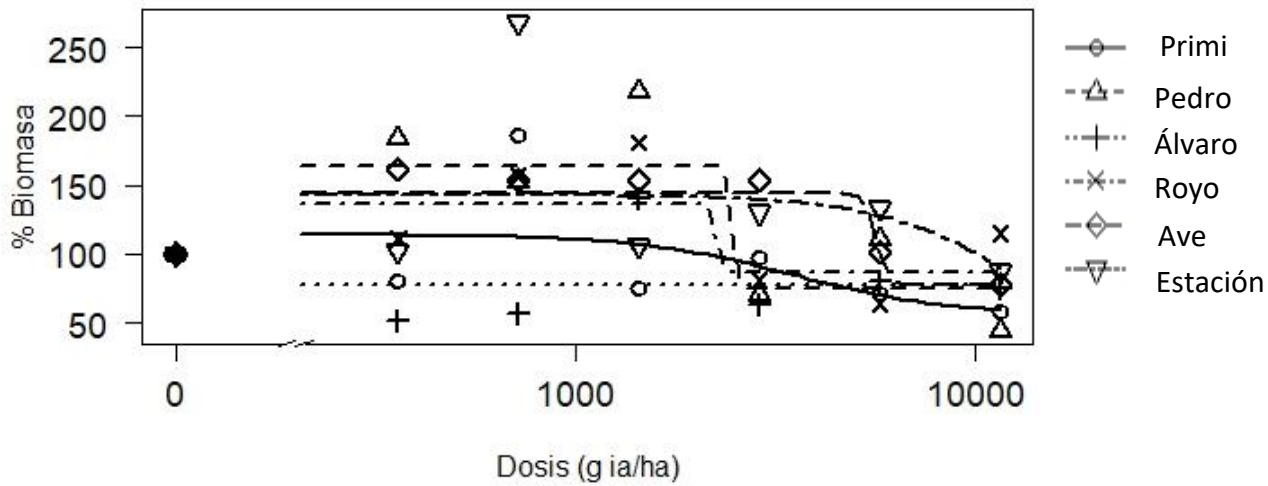


Figura 93. Peso seco *C. bonariensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 94 muestra que la población Royo (P.12) es la más afectada y la población de Ave (P.14) la menos afectada. Las únicas poblaciones que reducen casi totalmente son la de Álvaro (P.8) y la de Royo (P.12) a partir de la dosis 5.

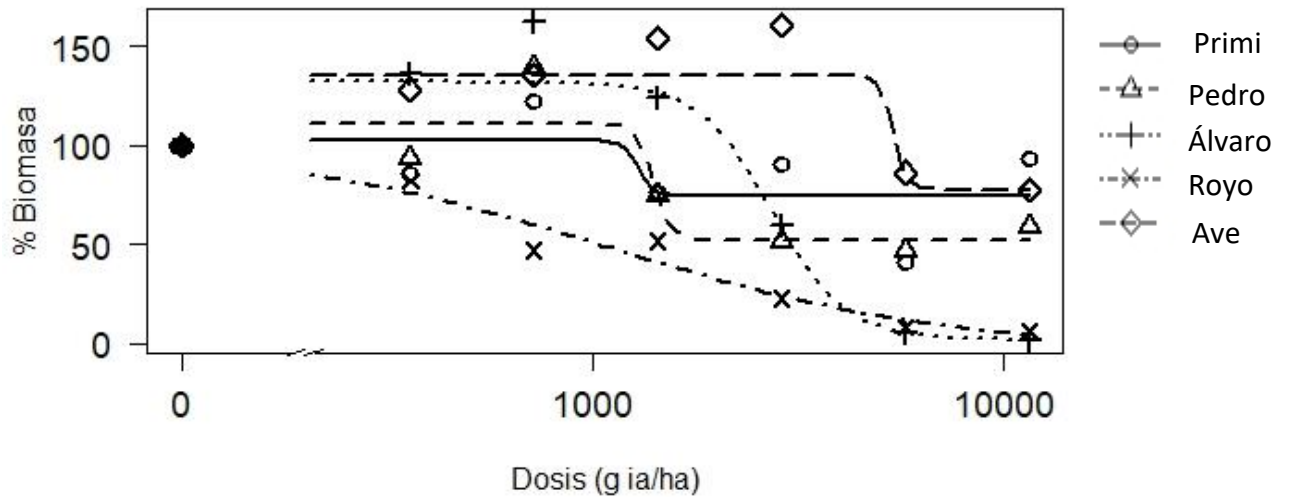


Figura 94. Peso seco *C. canadensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 95 muestra que la población Royo (P.12) es la más afectada y la población de Ave (P.14) la menos afectada. La única población que se reduce casi totalmente es la de Álvaro (P.8) a partir de la dosis 5.

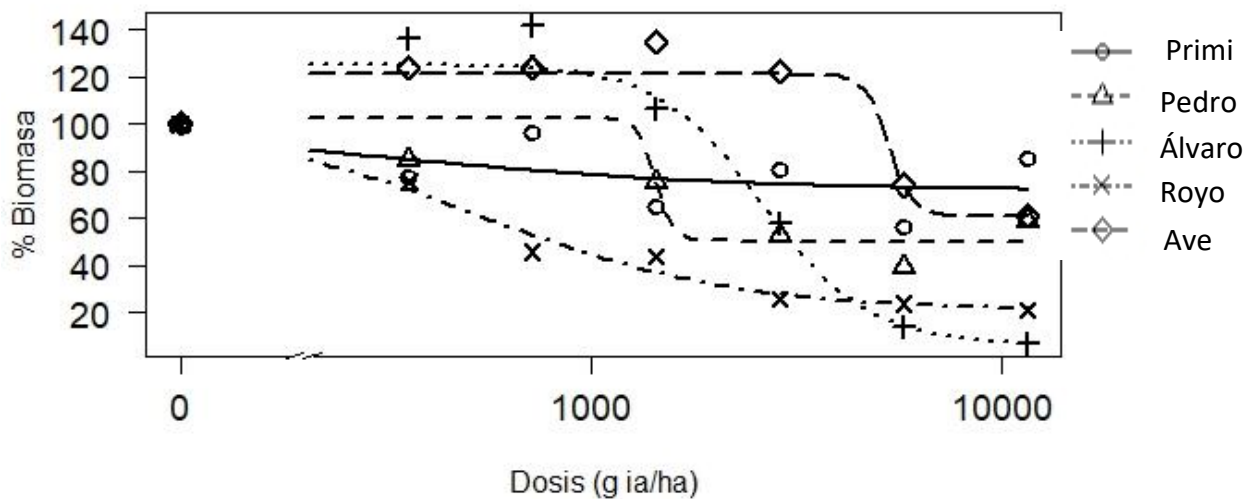


Figura 95. Peso seco *C. canadensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 96 muestra que la población de Royo (P.11) es la más afectada y la de Estación (P.18) la menos afectada. A partir de la dosis 5 todas poblaciones se reducen casi totalmente.

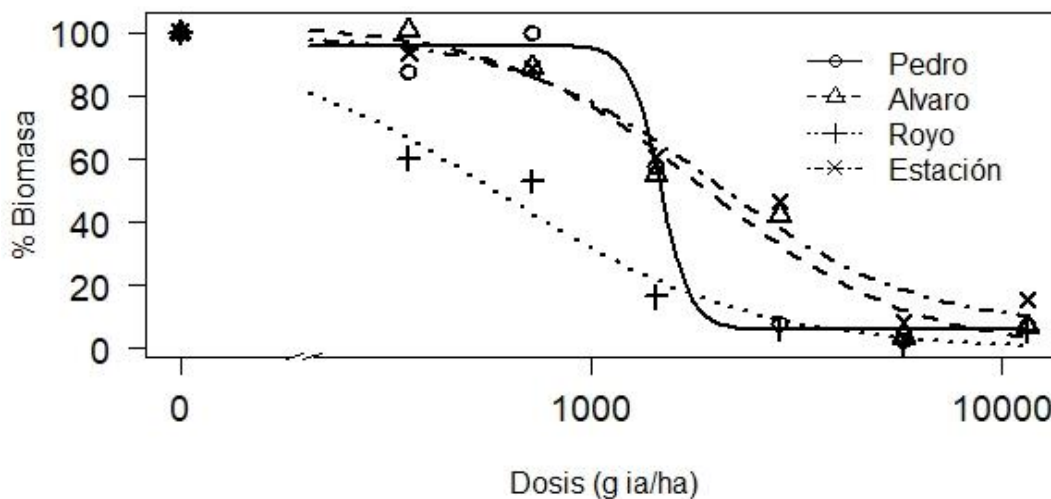


Figura 96. Peso fresco *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 97 muestra que la población de Royo (P.11) es la más afectada y la de Estación (P.18) la menos afectada. A partir de la dosis 5 todas poblaciones se reducen casi totalmente.

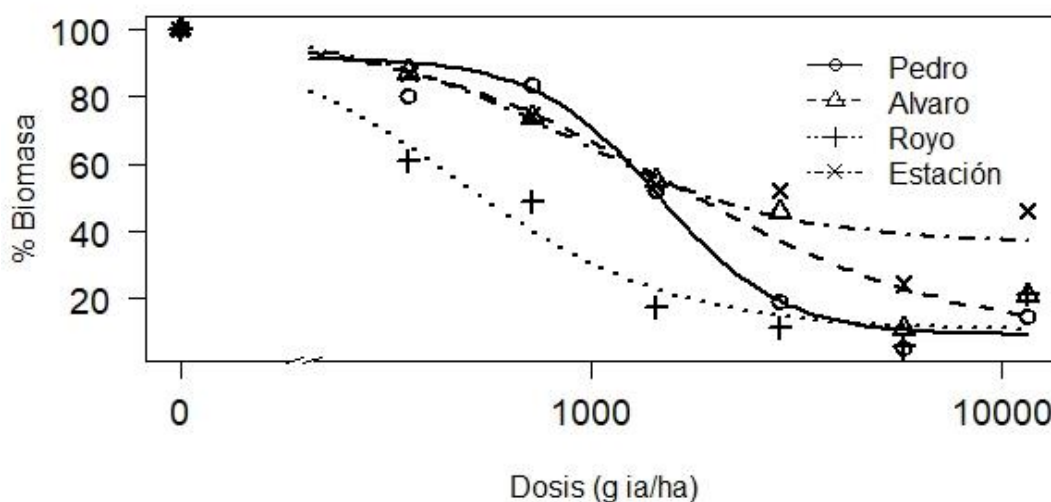


Figura 97. Peso seco *C. sumatrensis* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 98 muestra que la población de Royo (P.9) es la más afectada. A partir de la dosis 5 se reduce casi totalmente la biomasa en ambas poblaciones.

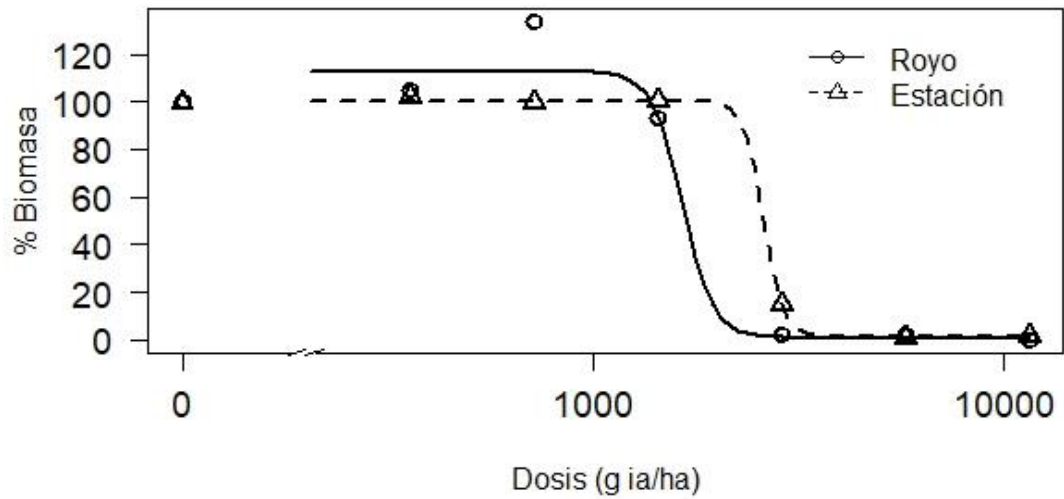


Figura 98. Peso fresco *A. squamatus* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 99 muestra que la población de Royo (P.9) es la más afectada. A partir de la dosis 5 se reduce casi totalmente la biomasa en ambas poblaciones.

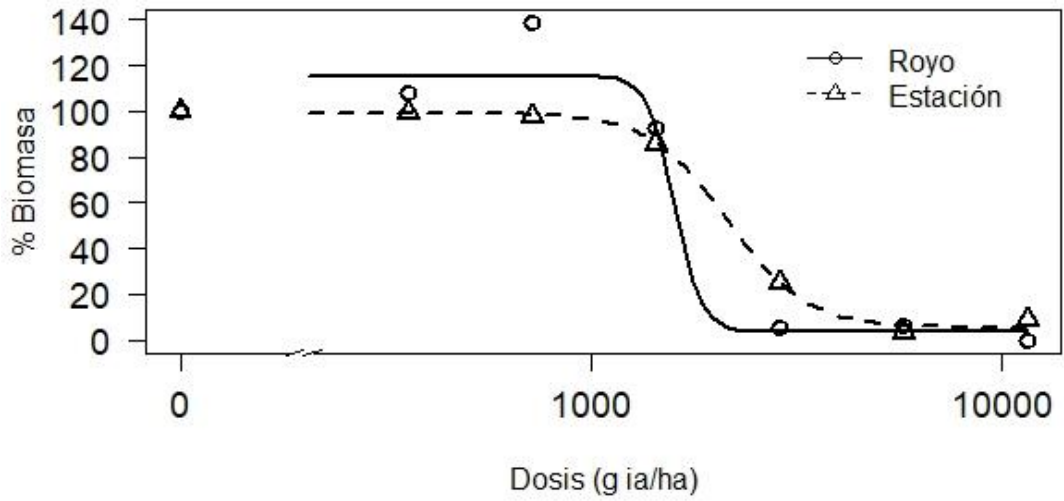


Figura 99. Peso seco *A. squamatus* a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 100 muestra que *C. bonariensis* es la menos afectada por el glifosato y *A. squamatus* la más afectada.

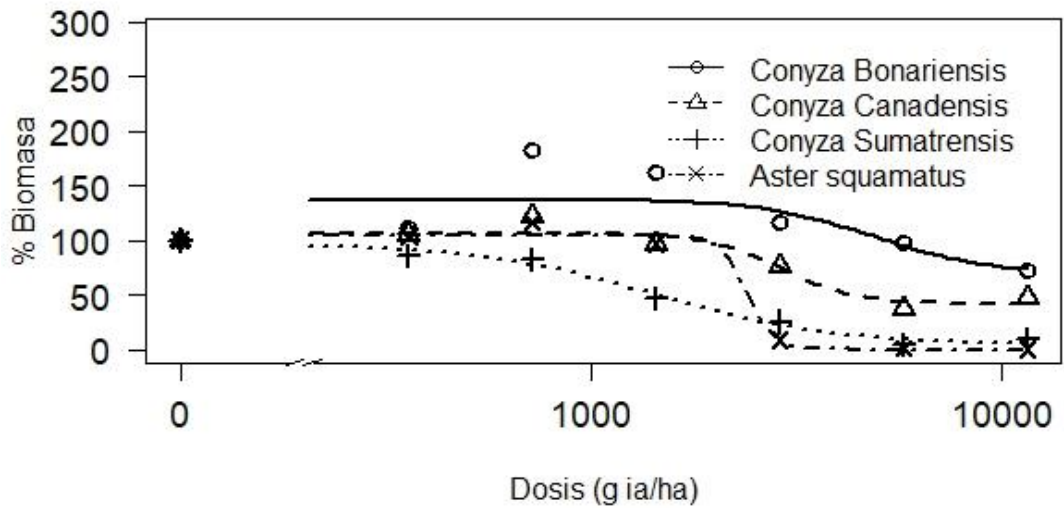


Figura 100. Peso fresco por especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 101 muestra que *C. bonariensis* es la menos afectada por el glifosato y *A. squamatus* la más afectada.

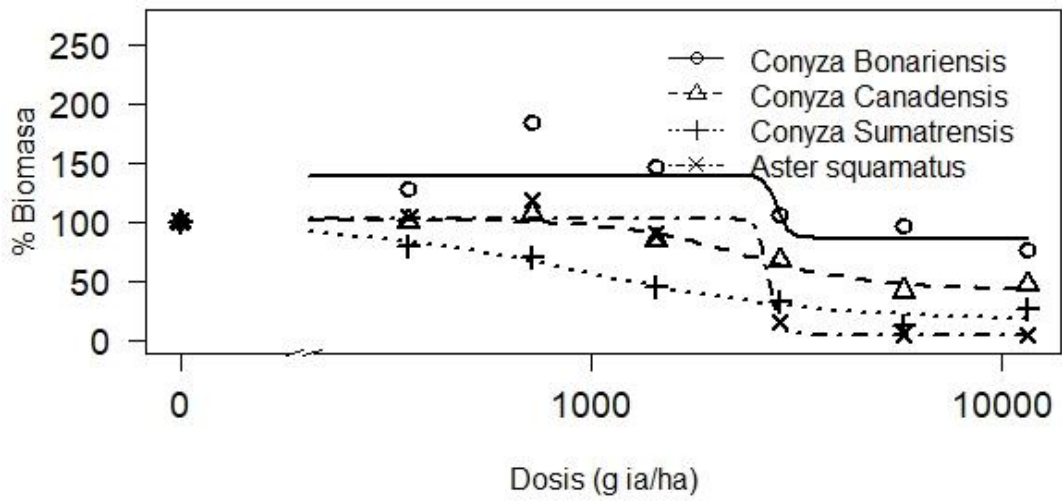


Figura 101. Peso seco por especies a los 30 ddt.

Fuente: Elaboración propia

A los 45 ddt. se realizó de nuevo la biomasa según el peso fresco (Figura 102) y seco (Figura 103):

Las Figura 102 y 103 muestran que la biomasa aumenta en la dosis 3 y luego en la dosis 5 decrece bastante.

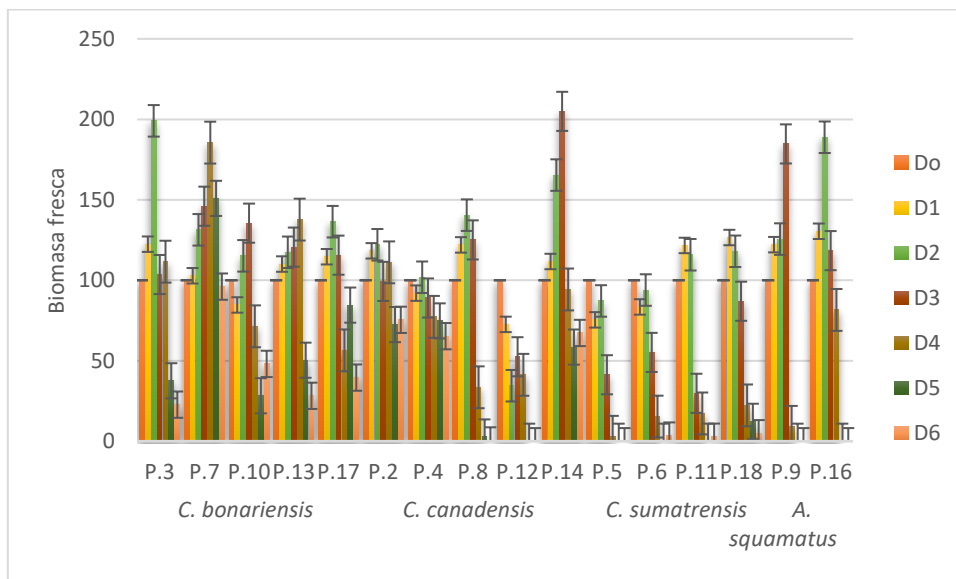


Figura 102. Biomasa según el peso fresco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

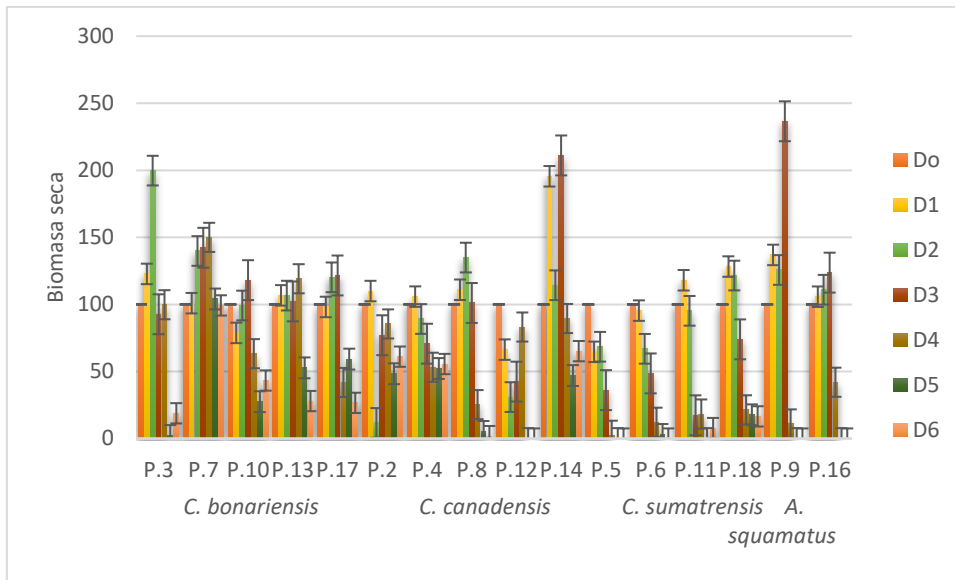


Figura 103. Biomasa según el peso seco medio de las 2 repeticiones para dosis/especie y población a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 104 muestra que la población Estación (P.17) es la más afectada y la población de Álvaro (P.7) apenas tiene efectos, incluso se ve un aumento de la biomasa. Las únicas poblaciones que se ven reducidas casi totalmente son la de Pedro (P.3) y Ave (P.12) en la dosis 6.

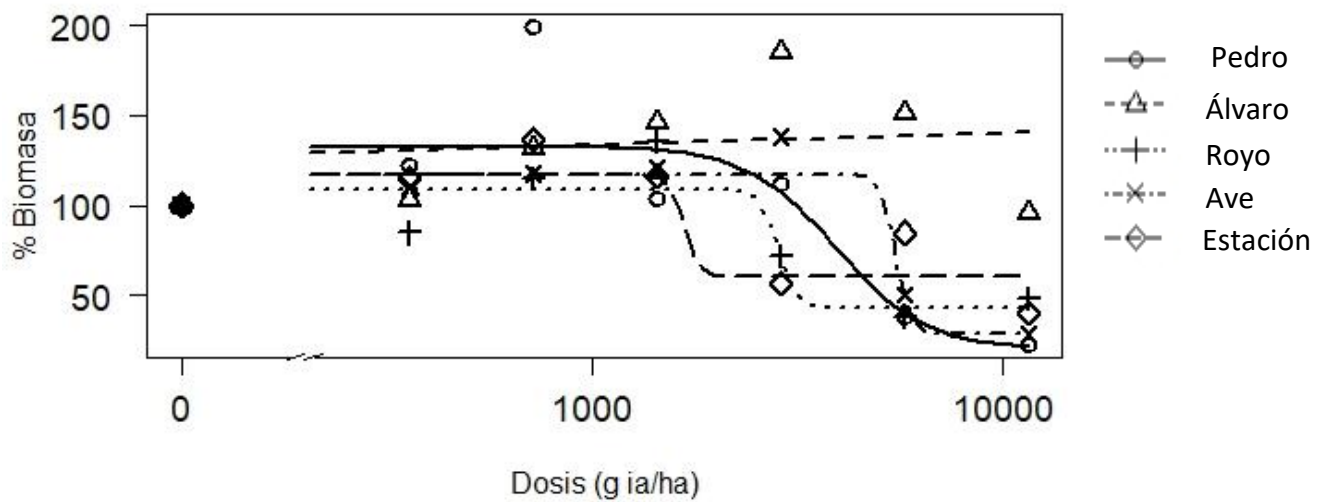


Figura 104. Peso fresco *C. bonariensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 105 muestra que la población Estación (P.17) es la más afectada y la población de Álvaro (P.7) apenas tiene efectos.

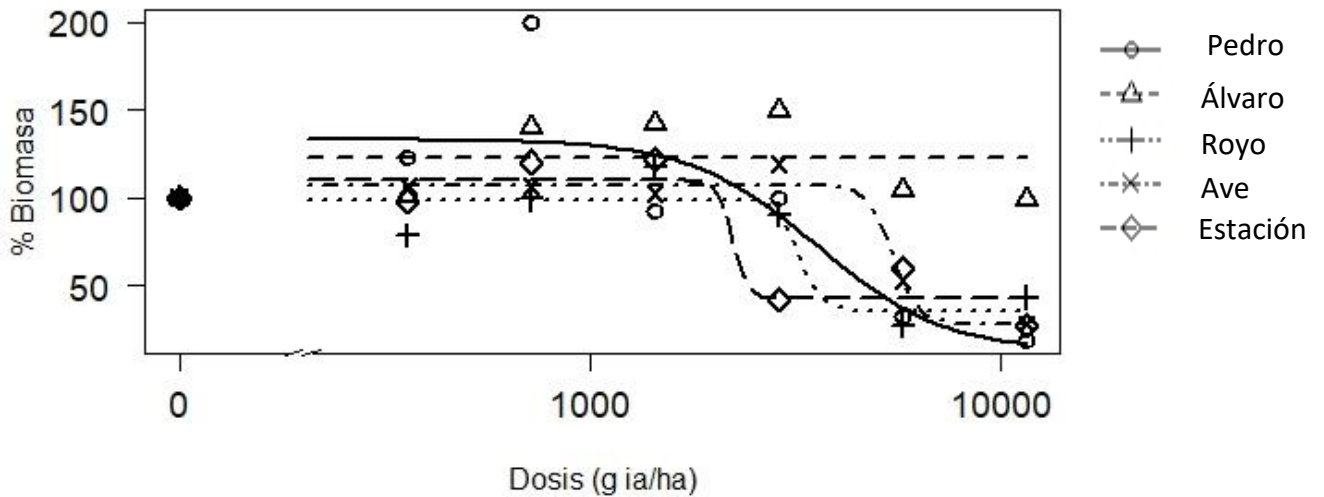


Figura 105. Peso seco *C. bonariensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 106 muestra que la población de Royo (P.12) es la más afectada y la de Primi (P.2) la menos afectada. Las únicas poblaciones que tienen una reducción total de la biomasa son la de Álvaro (P.8) y Royo (P.12) a partir de la dosis 5.

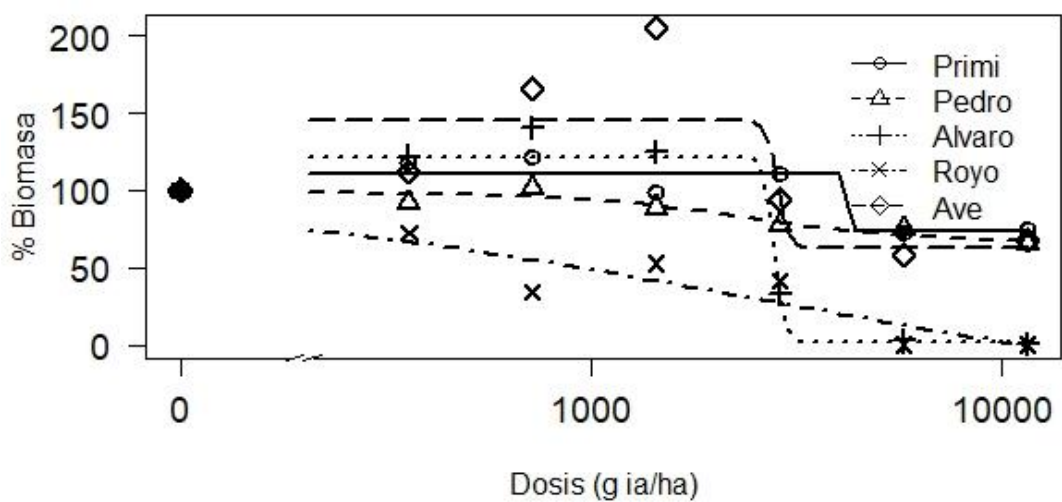


Figura 106. Peso fresco *C. canadensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 107 muestra que la población de Royo (P.12) es la más afectada y la de Primi (P.2) la menos afectada. Las únicas poblaciones que tienen una reducción casi total de la biomasa son la de Álvaro (P.8) y Royo (P.12) a partir de la dosis 5.

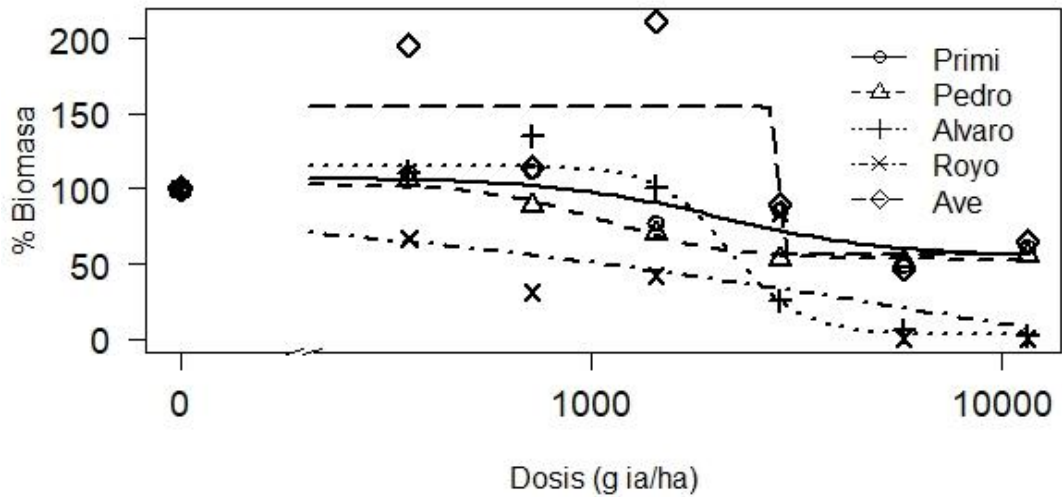


Figura 107. Peso seco *C. canadensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 108 muestra que la población de Pedro (P.5) es la más afectada y la población Estación (P.18) la menos afectada. A partir de la dosis 5 las poblaciones se reducen completamente.

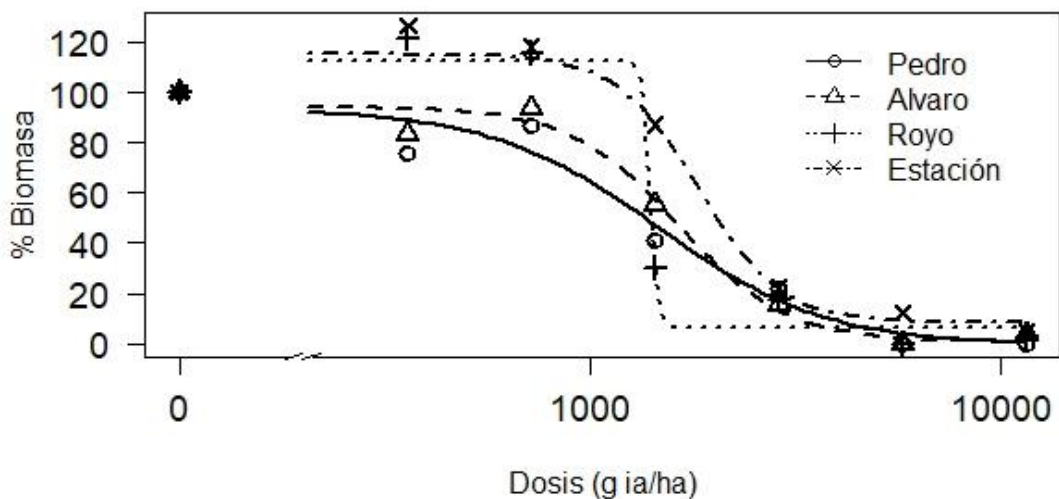


Figura 108. Peso fresco *C. sumatrensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 109 muestra que la población de Pedro (P.5) es la más afectada y la población Estación (P.18) la menos afectada. A partir de la dosis 5 las poblaciones de Pedro (P.5) y Álvaro (P.6) se reducen completamente.

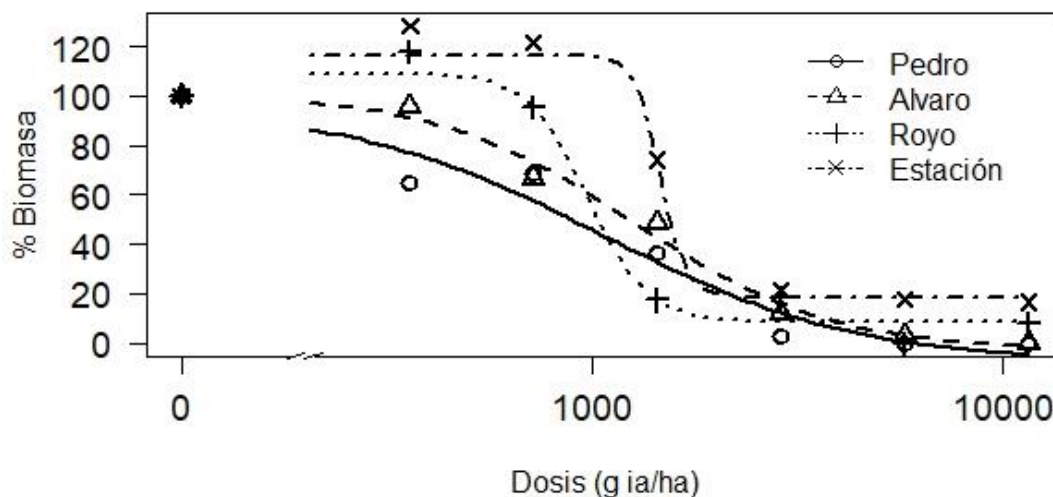


Figura 109. Peso seco *C. sumatrensis* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 110 muestra que ambas poblaciones se reducen totalmente a partir de la dosis 5.

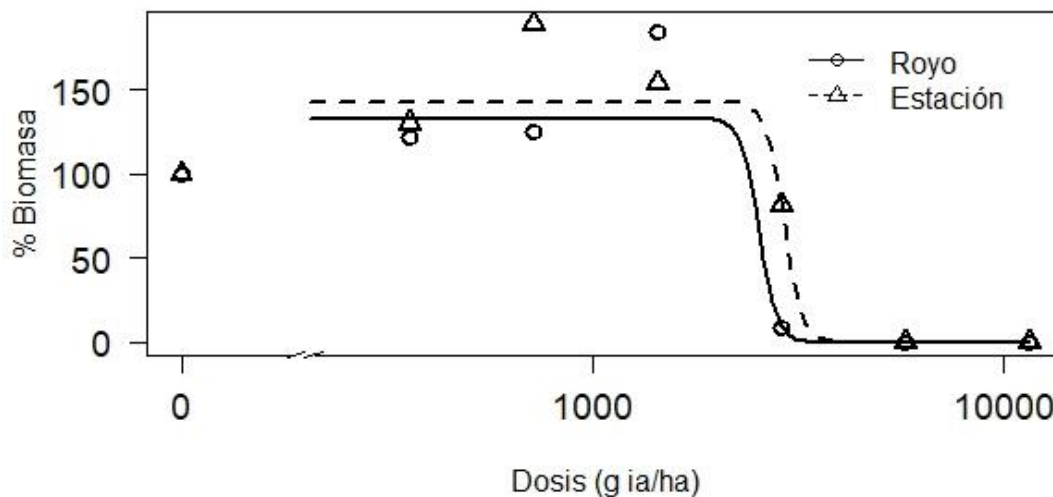


Figura 110. Peso fresco *A. squamatus* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 111 muestra que ambas poblaciones se reducen totalmente a partir de la dosis 5. Afectando más a la Población Estación (P.16).

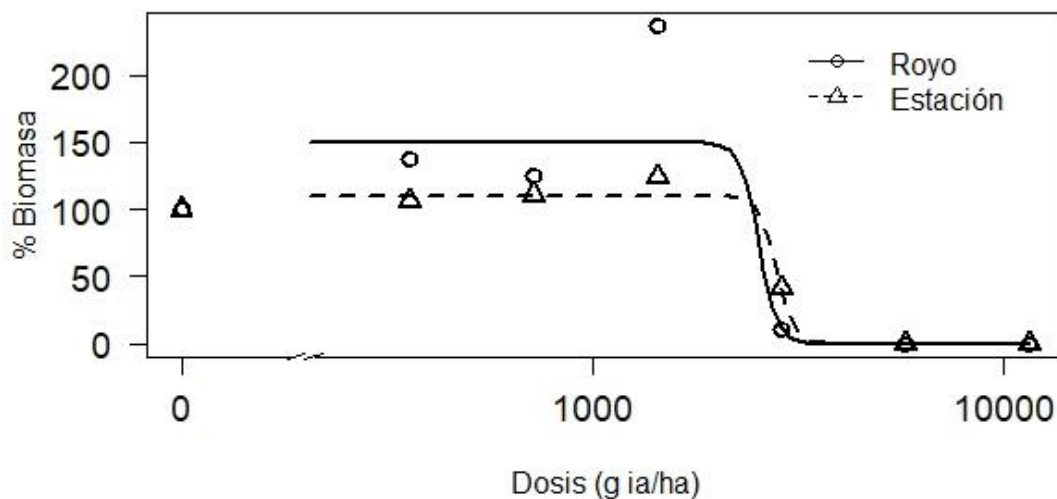


Figura 111. Peso seco *A. squamatus* a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 112 muestra que la especie menos afectada es *C. canadensis* y la más afectada *C. sumatrensis*.

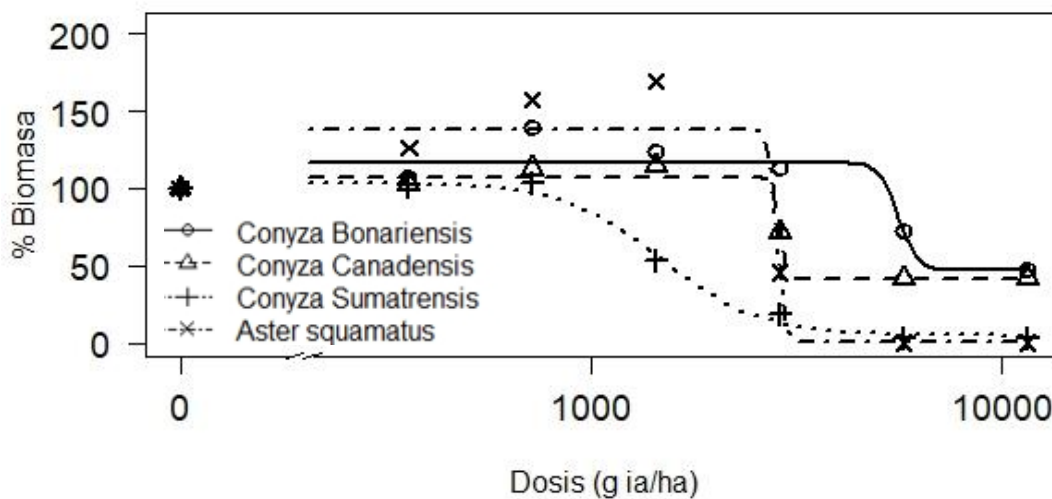


Figura 112. Peso fresco por especie a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

La Figura 113 La Figura 82 muestra que la especie menos afectada es *C. canadensis* y la más afectada *C. sumatrensis*.

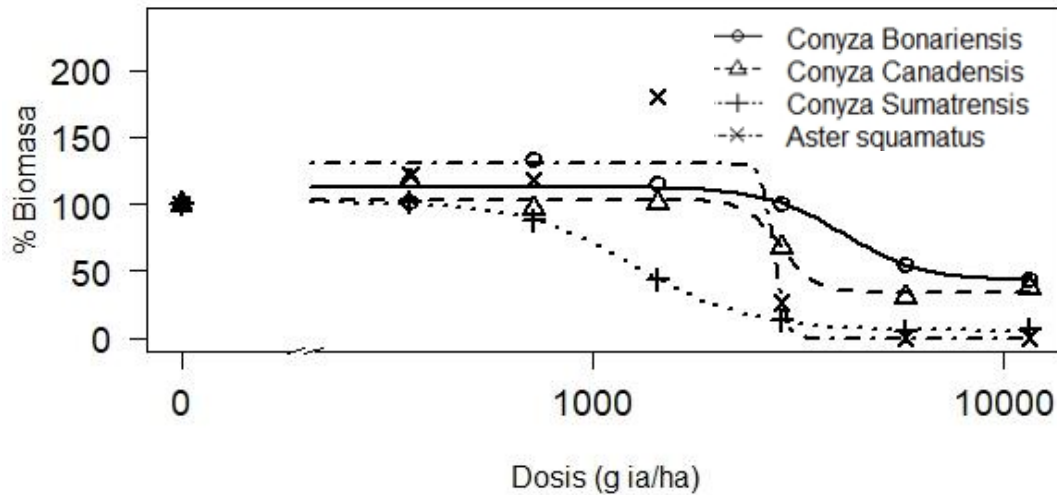


Figura 113. Peso seco por especies a los 45 ddt.

Fuente: Elaboración propia

4.2.4. Factor de resistencia

El factor de resistencia proporciona información sobre el número de veces que habría que aumentar la dosis de herbicida para conseguir el mismo efecto sobre el biotipo resistente. Según Heap (2005) si el valor de FR es superior a 10 hay resistencia.

4.2.4.1. Supervivencia

Se realiza el FR del parámetro supervivencia a los 15 ddt. y 30 ddt.

Las tablas 17 y 18 no muestran ninguna resistencia.

Tabla 17.LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *C. sumatrensis* a los 15 ddt. y 30 ddt..

Población	LD50	FR	LD50	FR
	15 ddt		30 ddt.	

Pedro	3201,05	2,03	2741,66	1,02
Álvaro	6599,25	4,19	4321,63	1,60
Royo	1573,06	1	2689,83	1
Estación	4054,13	2,58	4064,05	1,51

Fuente: Elaboración propia

Tabla 18.LD50 y FR según el parámetro de Supervivencia de *A. squamatus* a los 15 ddt. y 30 ddt..

Población	LD50	FR	LD50	FR
	15 ddt		30 ddt.	
Royo	1483,18	1	2792	1
Estación	2976,61	2	2977	1,07

Fuente: Elaboración propia

4.2.4.2. Biomasa según el peso fresco/seco

Se realiza el FR de la biomasa fresca y seca a los 30 ddt. y 45 ddt.

Las tablas 19, 22, 23, 24, 25 y 26 no presentan resistencia.

Tabla 19.LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. bonariensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	6024	2,70	3547	2,06
Pedro	2402	1,07	2466	1,09
Álvaro	7306	3,28	8780	5,11
Royo	2225	1	2250	1,30
Ave	5513	2,47	5675	3,30
Estación	9356	4,20	1718	1

Fuente: Elaboración propia

La tabla 20 muestra que *C. canadensis* tiene resistencia en la población de Ave.

Tabla 20. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. canadensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	1288,25	1,16	324,52	1
Pedro	1404,44	1,26	1434,80	4,42
Álvaro	2742,50	2,47	2622,85	8,08

Royo	1108,98	1	545,05	1,67
Ave	5383,72	4,85	5304,25	16,34

Fuente: Elaboración propia

La tabla 21 muestra que *C. sumatrensis* tienen resistencia en la población de Álvaro.

Tabla 21. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. sumatrensis* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Pedro	1476,03	2,46	1465,15	3,06
Álvaro	18763,77	31,36	1584,95	3,31
Royo	598,27	1	478,12	1
Estación	1986,53	3,32	883,22	1,84

Fuente: Elaboración propia

Tabla 22. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *A. squamatus* a los 30 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Royo	1651,70	1	1593	1
Estación	2601,18	1,57	2146	1,34

Fuente: Elaboración propia

Tabla 23. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. bonariensis* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Pedro	3932,29	2,73	3578	1,85
Álvaro	1437,89	1	1925	1
Royo	2838,90	1,97	3233	1,67
Ave	5492,07	3,81	5457	2,83
Estación	1675,93	1,16	2226	1,15

Fuente: Elaboración propia

Tabla 24. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. canadensis* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Primi	4203,01	1,75	2100,90	1
Pedro	2390,64	1	1103,80	1,90

Álvaro	2799,96	1,17	2171,97	1,96
Royo	2568,03	1,07	10332,58	9,36
Ave	2837,95	2,93	2857,30	2,58

Fuente: Elaboración propia

Tabla 25. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *C. sumatrensis* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Pedro	1466,67	1,04	1059	1,08
Álvaro	1637,71	1,16	1265,21	1,29
Royo	1402,57	1	978,40	1
Estación	1839,22	1,31	1467,80	1,50

Fuente: Elaboración propia

Tabla 26. LD50 y FR según el parámetro de biomasa de *A. squamatus* a los 45 ddt..

	Biomasa según peso fresco		Biomasa según peso seco	
	LD50	FR	LD50	FR
Royo	2539,37	1	2536,39	1
Estación	2923,30	1,15	2812,20	1,10

Fuente: Elaboración propia

4.3. Comparación de ensayos

4.3.2. Evaluación visual de la fitotoxicidad

A los 15 ddt. las Figuras 39 y 76 muestran que a dosis bajas las plantas a penas se ven afectadas, pero a partir de la dosis 4 ya se muestran daños graves.

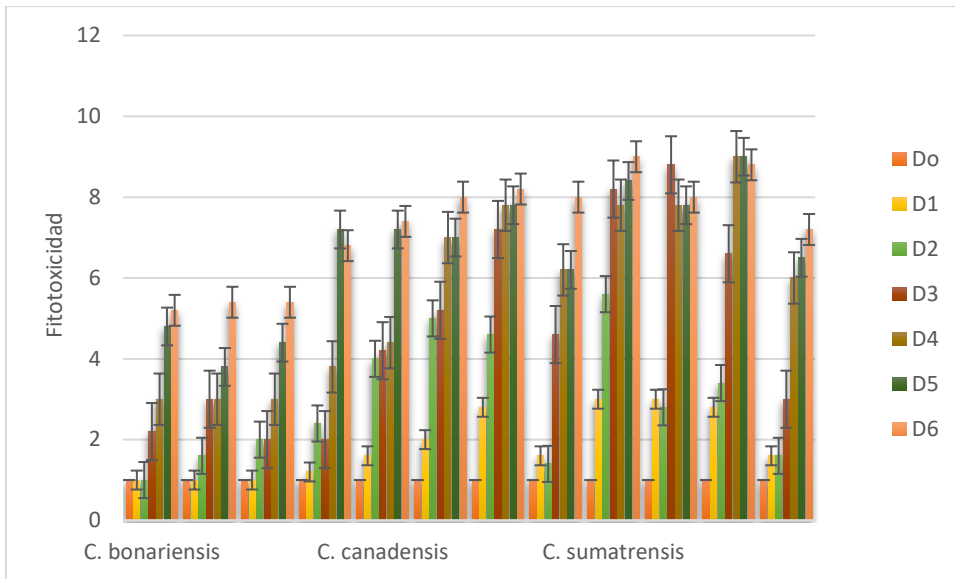


Figura 39. Evaluación visual fitotoxicidad a los 15 ddt.

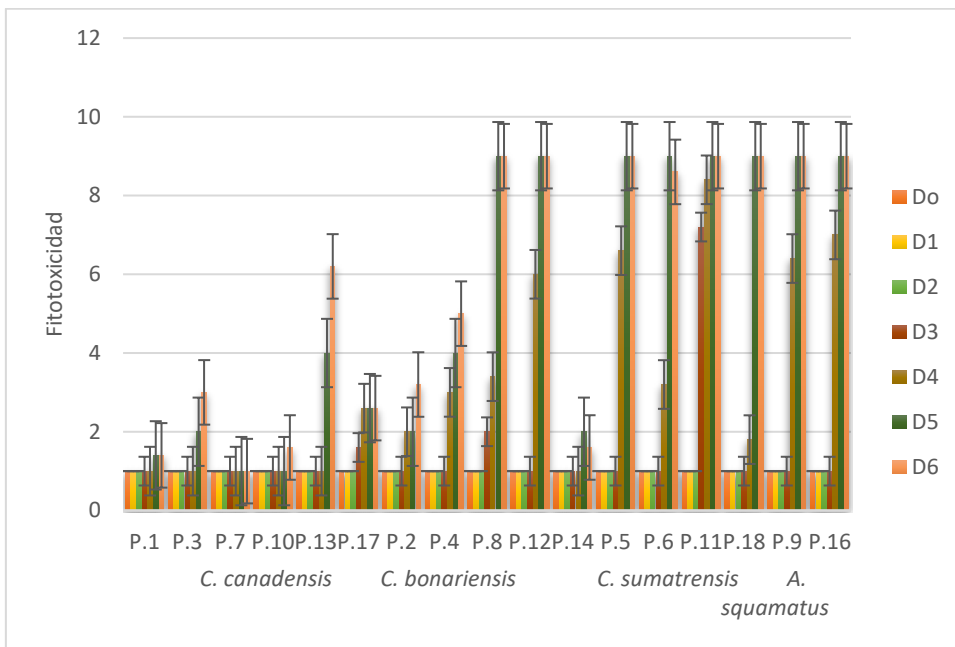


Figura 76. Evaluación visual fitotoxicidad a los 15 ddt.

A los 30 ddt. las Figura 43 del ensayo 1 presenta una mayor fitotoxicidad en dosis más tempranas que en la Figura 81 del ensayo 2. Por lo tanto, las poblaciones del ensayo 2 están más sanas.

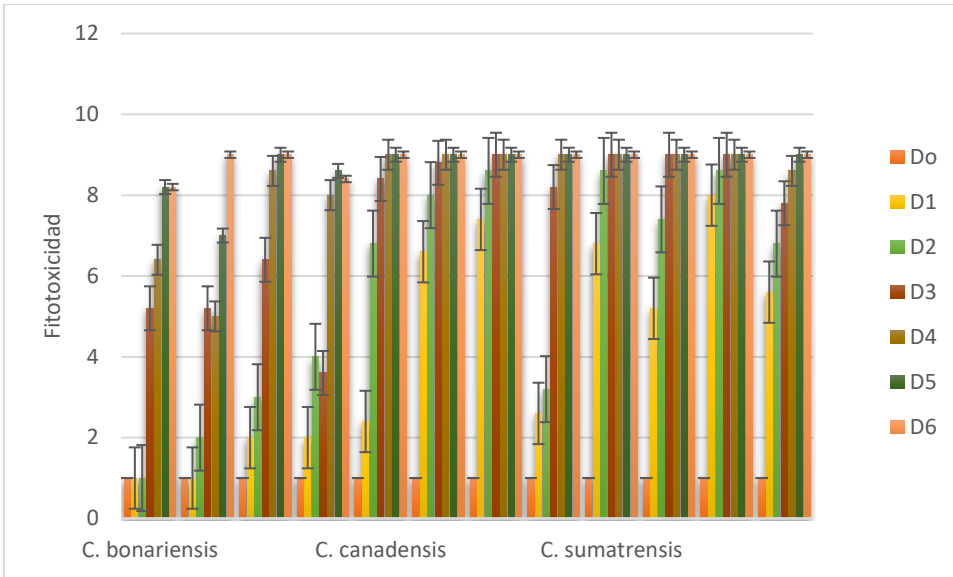


Figura 43. Evaluación visual fitotoxicidad a los 30 ddt.

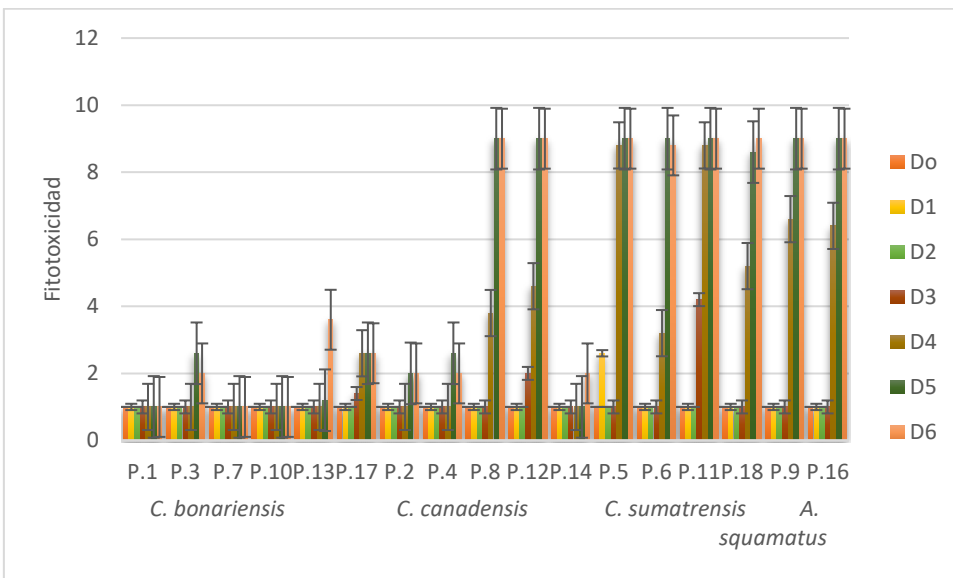


Figura 81. Evaluación visual fitotoxicidad a los 30 ddt.

El ensayo 2 muestra una menor fitotoxicidad que el ensayo 1 por lo que las poblaciones del ensayo 2 muestran más resistencia que las del ensayo 1.

4.3.1. Supervivencia

A los 15 ddt. las Figuras 44 y 82 muestran que *C. bonariensis* y mitad de las poblaciones de *C. canadensis* tienen una supervivencia total.

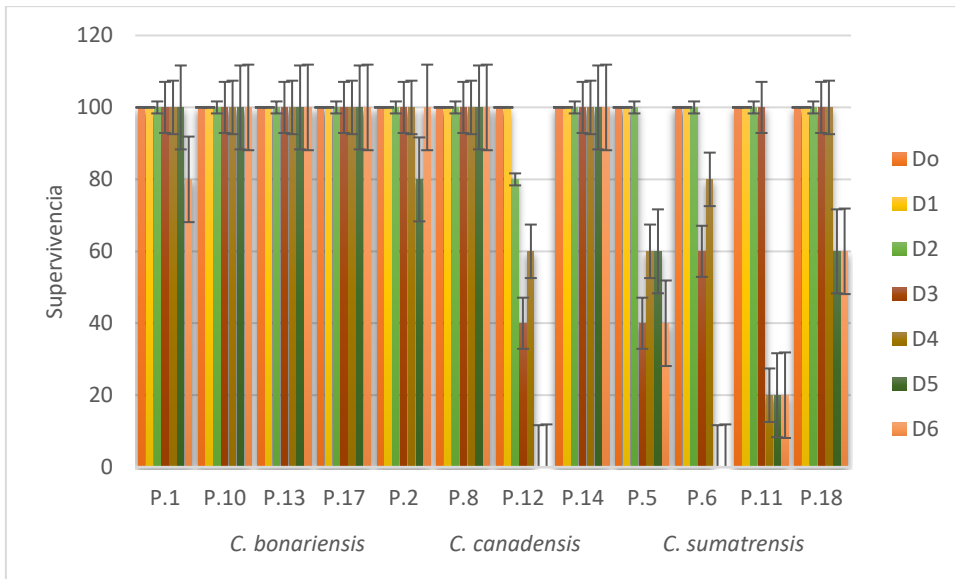


Figura 44. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.

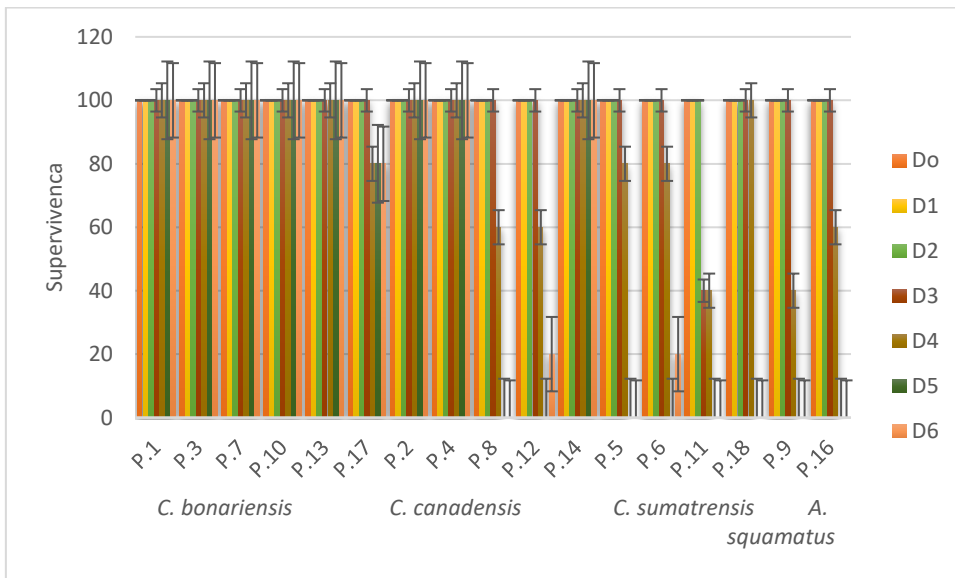


Figura 82. Supervivencia de las especies a los 15 ddt.

A los 30 ddt. la Figura 47 perteneciente al ensayo 1 muestra que aumenta la mortalidad en todas las especies, sobre todo en *C. sumatrensis*, en cambio, la Figura 86 muestra que *C. bonariensis* y la mitad de la población de *C. canadensis* apenas tienen mortalidad y en las demás especies hay mortalidad, pero no tan abrupta como en el ensayo 1.

El ensayo 2 muestra una mayor supervivencia de las especies que el ensayo 1.

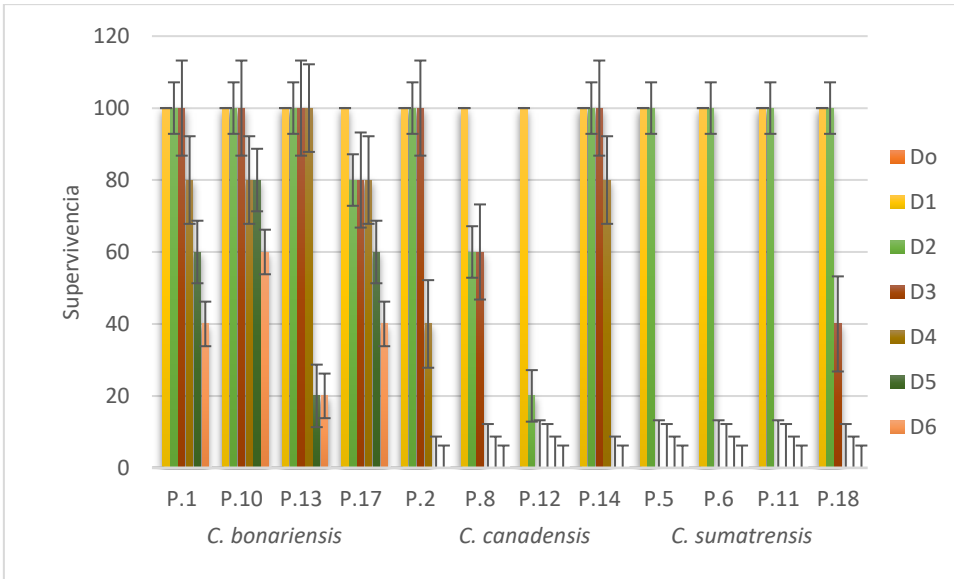


Figura 47. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.

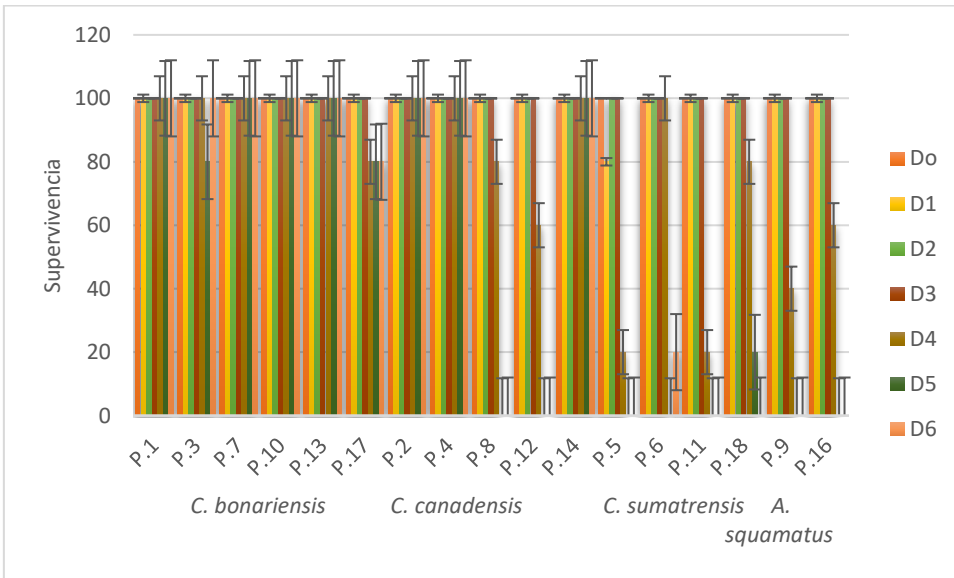


Figura 86. Supervivencia de las especies a los 30 ddt.

4.3.3. Factor de resistencia respecto a la supervivencia

En este caso solo se puede comparar *C. sumatrensis* porque es la única especie que coincide en ambos ensayos. Debido a que por la alta supervivencia del ensayo 2 no se puede hacer la supervivencia estadísticamente.

Como muestran las Figuras 114 y 115 la LD50 del ensayo 2 es bastante superior al ensayo 1 sobre todo a los 30 ddt. En el ensayo 1 *C. bonariensis* presenta una resistencia muy alta en dos poblaciones, pero en el ensayo 2 no se puede realizar por la alta supervivencia, por lo que si se hubiera podido realizar tendría que haber salido resistencia también en el ensayo 2.

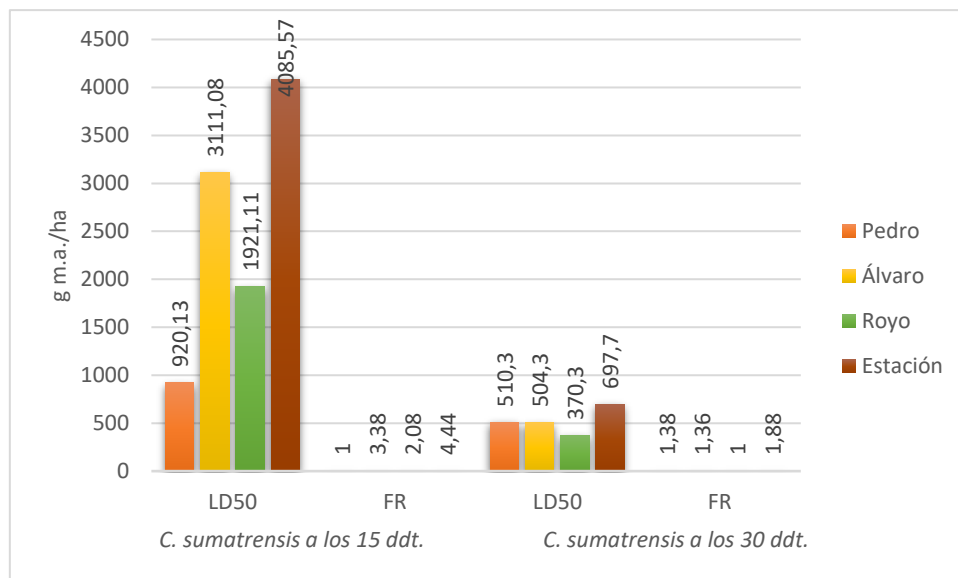


Figura 114. LD50 y FR de *C.sumatrensis* a los 15 y 30 ddt.

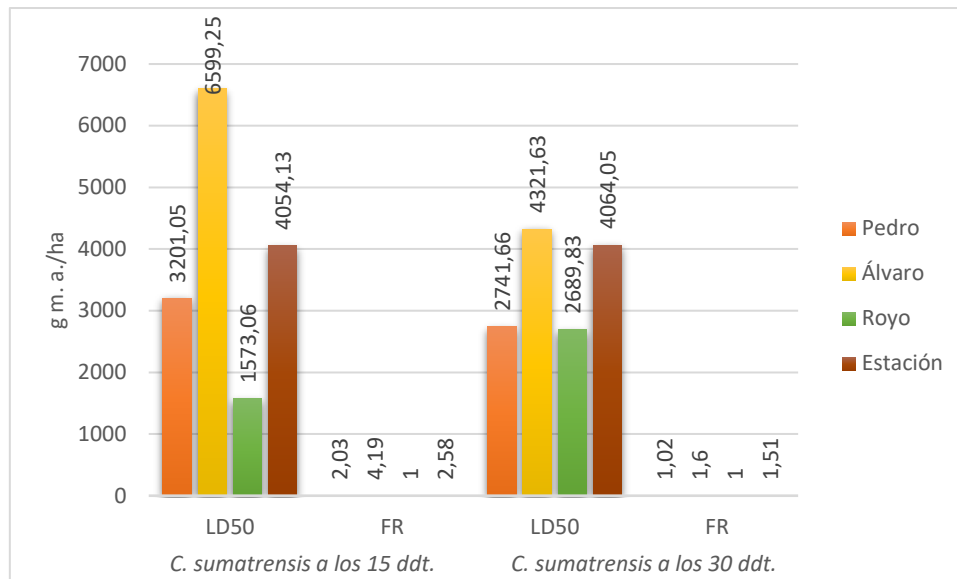


Figura 115. LD50 y FR de *C. sumatrensis* a los 15y 30 ddt.

4.3.4. Factor de resistencia respecto a la biomasa fresca/seca

El ensayo 1 presenta resistencia a *C. bonariensis* y *C. candensis*, el ensayo 2 muestra resistencia a *C. canadensis* y *C. sumatrensis*, pero los valores de resistencia son mucho más bajos que el ensayo 1. Aquí nos encontramos contradicciones, *C. sumatrensis* es la población más sensible de todas, si ella tiene resistencia, *C. bonariensis* debería tenerla también, además en los demás parámetros se ve que el ensayo 2 es más resistente que el 1 debido a la alta supervivencia, baja fitotoxicidad, pero como se ha comentado en el apartado anterior, el ensayo 2 presenta valores LD50 altos y muy igualados entre sí por lo que no hay tanta diferencia entre la población sensible y la resistente obteniéndose valores de FR bajos que no se ajustan con los datos obtenidos de las otras pruebas.

5. CONCLUSIONES

Se ha mostrado que en la zona de Valdejalón concretamente el pueblo de Ricla y sus alrededores hay un problema de resistencia con las especies de *Conyza* spp. pero se tienen que realizar medidas para su prevención y control para evitar su aparición en los próximos años.

Respecto al análisis visual de fitotoxicidad el ensayo 1 muestra un valor más alto a partir de las dosis 3, en cambio, el ensayo 2 muestra los valores más altos a partir de la dosis 5, por lo que el ensayo 1 se ve más afectado por el glifosato.

Respecto a la supervivencia se demuestra que tras 15 ddt. y 30 ddt. *C. bonariensis* sobrevive, *C. canadensis*, *C. sumatrensis* y *A. squamatus* se consigue su mortalidad con la dosis 5 (5760 g i.a./ha). El ensayo 2 tiene una supervivencia mayor que el ensayo 1 por lo que muestra una mayor resistencia.

Respecto a la biomasa se demuestra que tras 30 ddt. *C. bonariensis* y *C. canadensis* se reduce su biomasa a la mitad con la dosis 5 pero no se reduce completamente, *C. sumatrensis* y *A. squamatus* se consigue una reducción total y por lo tanto su control a partir de la dosis 5. A los 45 ddt. casi todas las poblaciones se controlan con la dosis 5, destaca del ensayo 2 que en la dosis 3 ocurre un aumento de la biomasa que luego en la dosis 4 decrece. Esto nos muestra que el ensayo 2 es más resistente que el ensayo 1 debido a que ha conseguido rebrotar y seguir creciendo, en el ensayo 1 no se visualiza esta característica.

Respecto al factor de resistencia en la supervivencia y biomasa se muestra resistencia en varias poblaciones de las especies *C. bonariensis* (Estación y Primi) y *C. canadensis* (Álvaro, Royo y Ave) en el ensayo 1 con resistencias muy altas, pero en el ensayo 2 solo muestran resistencias bajas una población de *C. canadensis* (Ave) y *C. sumatrensis* (Álvaro). Los datos del ensayo 2 se contradicen con las anteriores pruebas debido a que presenta una mayor supervivencia, menor reducción de la biomasa y menor efecto del glifosato que el ensayo 1 por lo que se esperaba obtener resistencias.

El bajo valor de FR del ensayo 2 se puede asociar a que el ensayo 1 tiene valores LD50 desde 275,34 hasta 26666,19 g m.a./ha y el ensayo 2 valores LD50 desde 324 hasta 10332,58 g m.a./ha, el valor mínimo es similar, pero el máximo es mucho más mayor en

el ensayo 1 por lo que por eso muestra mayor resistencia el ensayo 1 que el 2 cuando debería ser, al contrario. En el caso del estudio de Langa, R. (2015) obtuvo unos valores de LD50 mínimos similares a este estudio, pero en el caso de la población resistente sus valores máximos son muy superiores obteniendo resistencia muy alta en *C. canadensis*. En el estudio de por González-Torralva *et al.* (2013) se confirmó la resistencia de *Conyza sumatrensis*, pero sus valores de LD50 de la población sensible eran 23,8 g m.a./ha. Por lo que en el ensayo 2 el principal problema surgido es que la población sensible “no era tan sensible”.

Cabe destacar que *A. squamatus* en el estudio de Osuna *et al.* (2013) se controló sin problemas con glifosato, pero en este estudio se ha visto que con las dosis utilizadas por el agricultor no se controla, siendo una especie con potencial problemático y que posiblemente en el futuro presente resistencia.

Las dosis utilizadas de glifosato en este estudio son muchos más superiores que las usadas en el campo, lo habitual en el campo es usar aproximadamente unos 2,5 l/ha (900 g i. a./ha) y como se ha visto demostrado se necesita la dosis 5 que equivale a 16 l/ha para controlar la mayoría de las poblaciones.

Los resultados de FR muestran que el aparente problema de resistencia no es grave, pero eso no significa que no se tengan que llevar a cabo medidas, se tienen que realizar buenas prácticas agrícolas y métodos de prevención de resistencias.

6. BIBLIOGRAFIA

- Amaro-Blanco, I., Fernández-Moreno, P. T., Osuna-Ruiz, M^a. D., Bastida, F. y De Prado, R. (2018). Mechanisms of glyphosate resistance and response to alternative herbicide-base management in populations of the three *Conyza* species introduced in southern Spain. *Pest. Manag. Sci*, 74 (8): pp. 1925-1037 doi: 10.1002 / ps.4896
- Anzalone, A. (2007). *Herbicidas: modos y mecanismos de acción en plantas*. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. [Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/259175751_Herbicidas_Modos_y_mecanismos_de_accion_en_plantas]
- Caseley, J. C. (1989). Variations in foliar pesticide performance attributable to humidity, dew and rain effect. *Aspect appl. Biol.* 21: pp. 215-225

- Dauer, J. T., Mortensen, D. A. y Vangessel, M. J. (2007). Temporal and spatial dynamics of long-distance *Conyza canadensis* seed dispersal. *Journal of Applied Ecology*, 44: pp. 105-114 doi: 10.1111/j.1365-2664.2006.01256.x
- Dèlye, C. (2013). Unravelling the genetic bases of non-target-site based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. *Pest Manag Sci*, 69: pp. 176–187 doi: 10.1002 / ps.3318
- Dèlye, C., Duhoux, A., Pernin, F., Riggins, C. W. y Tranel, P. J. (2015). Molecular mechanism of herbicide resistance. *Weed Science Special Issue*, 63: pp. 91–115 doi: 10.1614 / WS-D-13-00096.1
- De Prado, R. (2007). *Agronomic, biological and molecular bases of Lolium spp. and Conyza spp. biotype resistant to glyphosate in Spain*. Project collaboration between University of Córdoba and Monsanto.
- De Ruiter, H. y Meinen, E. (1998). Influence of water stress and surfactant on the efficacy, absorption and translocation of glyphosate. *Weed Science* 46: pp. 289-296
- Discoverlife, (2018). *Global Map C. bonariensis, C. canadensis, C. sumatrensis y A. squamatus*. [Recuperado https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map , consultado el 20 de agosto de 2018]
- Duke, S. y Dayan, F. (2001). Clasificación and mode of action of the herbicides (Capítulo 3) En: De Padro R. y Jorrín J. *Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI*. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. 31-44 pp.
- Duke, S. O. y Powles, S. B. (2008). Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64: pp. 319-325 doi: 10.1002 / ps.1518
- Dyer W. E. (2018). *Plant and Soil Sciences eLibrary*. Discovery and selection of herbicides. [Recuperado de <https://passel.unl.edu/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=1130447135&topicorder=1&maxto=10&mintto=1>]
- Esqueda, V. A., Zita, G. A. y Rosales, E. (2011). Resistencia a herbicidas. En: Bojórquez B., G., Vargas T., V., Zita P., G., Rosales R., E. y Esqueda E., V. A. (coords.). *Manejo de malezas en México. Vol. 1. Maleza terrestre*. Mexico: Universidad Autónoma de Sinaloa. 219-243 pp.
- EWRS (2018). Análisis visual de la supervivencia siguiendo la escala de puntuación propuesta por la Sociedad Europea de Investigación en Malas hierbas [Recuperado de <http://www.ewrs.org/>]
- Flint, J. F. y Barrett, M. (1989) Antagonism of glyphosate toxicity to Johnsongrass (*Sorghum halepense*) by 2,4-D and Dicamba. *Weed Science* 37: 700-705

- Funk, V. A., Bayer, R. J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, J. L., Baldwin, B. G., Garcia-Jacas, N., Susanna, A.; Jansen, R. K. (2005). Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.* 55: pp. 343-374
- Gauvrit, C. (1996). *Efficacité et sélectivité des herbicides*. Paris: INRA editions.
- Goldblatt, P. (1985). Index to plant chromosome numbers: 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany of the Missouri Botanical Garden*, 13: 1-224
- González, M^a. I. (2003). *Apuestas por una agricultura sostenible: laboreo de conservación*. Valladolid: Diputación de Valladolid. [Recuperado en <http://lan.inea.org:8010/web/materiales/laboreo.pdf>]
- Gonzalez, R. (2006). *Métodos para el control de malas hierbas*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación [Recuperado en https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_2006_2119-2120.pdf]
- González-Torralva, F., Gil-Humanes, J., Barro, F., Domínguez-Valenzuela, J. A., De Prado, R. (2013). First Evidence for a Target Site Mutation in the EPSPS2 Gene in Glyphosate-Resistant Sumatran Fleabane from Citrus Orchards. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, (2): pp. 553 – 560
- Green, T. D. (2010). The ecology of Fleabane (*Conyza spp.*). [Doctoral Thesis]. School of Environmental and Rural Science, Faculty of Arts and Sciences, University of New England, New South Wales, Australia. [Recuperado de <http://www.insidecotton.com/jspui/bitstream/1/4108/1/CRC138%20Thesis.pdf>]
- Heap, I. (2005). Criteria for Confirmation of Herbicide Resistant Weeds - with specific emphasis on confirming low level resistance. [Recuperado de <http://www.weedscience.org/Documents/ResistanceCriterion.pdf>]
- Heap, I. (2018). *The International Survey of Herbicide Resistant Weeds*. [Disponible en <http://www.weedscience.org/> , consultado el 22 de Junio de 2018]
- Holm, L. G., Doll, J., Holm, E., Pancho, J. V. y Herberger, J. P. (1997). *World weeds: natural histories and distribution*. John Wiley & Sons Inc.
- Jasieniuk, M., Brûle-Babel, A. L. y Morrison, I. N. (1996). The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Sci*, 44: 176-193
- Kichen, L. M., Witt, W. W. y Rieck, C. E. (1981). Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. *Weed Sci*, 29: pp. 354-359
- Labrada, R. (2004). *Manejo de malezas para países en desarrollo: addendum I*. Roma: Food & Agriculture Org.

- Osuna, M. D., Fischer, A. J. y De Prado, R. (2003). Herbicide resistance in *Aster squamatus* conferred by a less sensitive form of acetolactate synthase. *Pest Manag. Sci* 59: pp. 1210–1216 doi: 0.1002/ps.757
- Powles, S. B. (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science* 64 (4): pp. 360-365 doi: 10.1002 / ps.1525
- Rao, V. (2002). *Principles of Weed Science. Second edition reprinted*. U.S.A.:Taylor & Francis.
- Recasens, J. y Conesa, J. A. (2009). *Malas hierbas en plántula: Guía de identificación*. Lleida: Universidad de Lleida.
- Ritz, C., Streibig, J. C. (2005). Bioassay Analysis using R. *Journal of Statistical Software*. Vol 12. Issue 5. [Recuperado de <http://bioassay.dk/>]
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D. (2015). Dose-Response analysis using R. *Plos ONE*, 10 (12). Doi: 10.1371/journal.pone.0146021
- Royuela, M. (2014). Los mecanismos de resistencias de las malas hierbas a los herbicidas. Implicaciones para el manejo de las resistencias. *Phytoma*, 262
- Salas, M. (2001). Resistencia a herbicidas. Detección en campo y laboratorio. En: *Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI*. Editado por De prado R. y Jorrín, J.. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. 251-260 pp.
- Sansom, M., Saborido, A. A. y Dubois, M. (2013). Control of *Conyza spp.* With glyphosate- a review of the situation in Europe. *Plant Protect Sci*, 49: pp. 44-53
- Scalla, R. (1991). *Les herbicides: mode d'action et principes d'utilisation*. Paris: INRA editions
- Selleck, G. W. y Baird, B. B. (1981). Antagonism with glyphosate and residual herbicide combinations. *Weed Science*, 29: pp. 185-190 doi: 10.1017 / S0043174500061774
- Seefeldt, S. S., Jensen, J. E., y Fuerst, E. P. (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technol.* 9: pp. 218-227.
- Shrestha, A., Hembree, K. y Wright, S. (2008). Biology and Management of Horseweed and Hairy Fleabane in California. *University of California, Division of Agricultural and Natural Resources* vol. 8314
- Steinrucken, H. C. y Amrhein, N. (1980). The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphahte synthase. *Biochem. Biophys. Res. Commn.*, 94: pp: 1207-1212
- Streibig, J. C. (1988). Herbicide bioassay. *Weed Res.* 28: pp. 479-484

- Thébaud, C. y Abbott, R. (1995). Characterisation of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: Quantitative trait and isozyme analysis. *American Journal of Botany*, 82: pp. 360-368 doi: 10.2307 / 2445581
- Tranel, P. J. (2014). Non-target-site mechanisms of herbicide resistance- changes for weed management. Department of Crop Sciences, University of Illinois [Recuperado en <https://nomato.files.wordpress.com/2014/09/non-target-site-mechanisms-of-herbicide-resistance.pdf>]
- Trezzi, M., Kruse, N. y Vidal, R. (2001). Inhibidores de EPSP (Capítulo 5). En: Herbicidología. Primera edición. Editado Vidal A. y Merotto A.. Biblioteca de Facultad de Agronomía da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. 152 pp.
- Universidad Pública de Navarra (2018). Flora arvense de Navarra. [Recuperado en <http://www.unavarra.es/herbario/htm/control.htm>, consultado el 11 Septiembre 2018].
- Urbano, J.M. (2008). Resistencia a glifosato en *Conyza* spp. en España. Seminario Internacional Viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables. Nov 4–5, 2008. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay: 132–136
- Urbano, J. M. (2005). Manejo de poblaciones de *Conyza bonariensis* resistentes a glifosato. *Phytoma España*, 173: pp. 114-118
- VanGessel, M. J. (2001). Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49: pp. 703-705
- Wada, K. C. y Takeno, K. (2010). Stress-induced flowering. *Plant Signal Behaviour* 5 (8): pp. 944-947 doi: 10.4161 / psb.5.8.11826
- Weaver, S. E. (2001). The biology of Canadian weeds. *Conyza canadensis*. *Can J. Plant Sci*, 81 (4): pp. 867-875 doi: 10.4141/P00-196
- Widderick, M., Walker, S. y Cook, T. (2012). Flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis*) strategic solutions using best management practice. *Pak J Wedd Sci Res* 18: pp. 687-693
- Wu, H., Walker, S., Rollin, M.J., Tan, D.K.Y., Robinson, G. y Werth, J. (2007). Germination, persistence and emergence of flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis* [L.] Conquist). *Weed Biol Manage* 7: pp. 192-199 doi: 10.1111/j.1445-6664.2007.00256.x
- Yuan, J. S., Tranel, P. J. y Stewart, C. N. Jr. (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends Plant Sci* 12 (1): pp. 6–13 doi: 10.1016/j.tplants.2006.11.001

