

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *AMARANTHUS* SPP.
PARA EL HERBICIDA GLIFOSATO EN URUGUAY**

por

Juan Antonio CALISTRO MARTÍNEZ

**Trabajo final de grado
presentado como uno de los
requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO
URUGUAY**

2024

PAGINA DE APROBACION

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a:

Ing. Agr. PhD. Tiago Kaspariy

Tribunal:

Ing. Agr. Dra. Juana Villalba

Ing. Agr. MsC. Luciana Rey

Fecha:

17 de mayo de 2024

Estudiante:

Juan Antonio Calistro Martínez

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su gran apoyo, sin él no hubiera sido posible transitar la carrera.

A mi tutor Ing. Arg. PhD. Tiago Kaspary por darme la oportunidad de hacer este trabajo, por su paciencia y dedicación con el mismo.

A mis amigos, compañeros y docentes.

A todo el personal de malezas de INIA LE y a la Facultad de Agronomía por darme la oportunidad de estudiar.

MUCHAS GRACIAS

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 AMARANTHUS.....	12
2.1.1 <i>Amaranthus hybridus</i>	14
2.1.2 <i>Amaranthus tuberculatus</i>	15
2.1.3 <i>Amaranthus palmeri</i>	17
2.2 EL HERBICIDA GLIFOSATO	18
2.3 RESISTENCIA DE MALEZAS AL GLIFOSATO.....	22
2.3.1 Resistencia de sitio activo (TSR).....	24
2.3.2 Resistencia fuera de sitio activo (NTSR).....	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 ORIGEN DEL MATERIAL.....	27
3.2 CONFIRMACIÓN DE LA RESISTENCIA – CURVA DE DOSIS	29
3.3 HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA CONTROL DE <i>AMARANTHUS</i> SPP. RESISTENTE A GLIFOSATO.....	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	32
4.1 NIVEL DE RESISTENCIA A GLIFOSATO	32
4.1.1 Nivel de resistencia a glifosato en <i>Amaranthus hybridus</i>	32
4.1.2 Nivel de resistencia a glifosato en <i>Amaranthus tuberculatus</i>	36
4.1.3 Nivel de resistencia a glifosato en <i>Amaranthus palmeri</i>	40
5. CONCLUSIONES	51
6. BIBLIOGRAFÍA	52

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Figura No.	Página
Figura 1 Plántula (A); planta (B) e inflorescencia (C) de <i>Amaranthus hybridus</i>	15
Figura 2 Plántula (A), planta (B), inflorescencia femenina (C), inflorescencia masculina (D) de <i>Amaranthus tuberculatus</i>	16
Figura 3 Plántula (A), planta (B), inflorescencia femenina (C), inflorescencia masculina (D) de <i>Amaranthus palmeri</i>	18
Figura 4 Molécula de glifosato	19
Figura 5 Vía del shikimato.....	20
Figura 6 Vía del shikimato y sitio de inhibición de glifosato	21
Figura 7 Ubicación de los sitios de colecta de los biotipos utilizados.....	28
Figura 8 Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para <i>Amaranthus hybridus</i>	32
Figura 9 Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para <i>Amaranthus tuberculatus</i>	37
Figura 10 Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para <i>Amaranthus palmeri</i>	41
Tabla No.	Página
Tabla 1 Identificación de los biotipos de <i>Amaranthus spp.</i> utilizados para los ensayos.	29
Tabla 2 Ecuación ^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de <i>Amaranthus hybridus</i>	34
Tabla 3 Ecuación ^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de <i>Amaranthus tuberculatus</i>	39
Tabla 4 Ecuación ^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de <i>Amaranthus palmeri</i>	43
Tabla 5 Control (%) de <i>Amaranthus spp.</i> resistente a glifosato a los 21 DDT alternativos.	46
Tabla 6 Materia seca (g planta ⁻¹) de <i>Amaranthus spp.</i> resistente a glifosato a los 21 DDT alternativos.....	48

RESUMEN

Las especies *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus tuberculatus* y *Amaranthus palmeri* (yuyos colorados) forman el más importante complejo de malezas presentes en los sistemas agrícolas de Uruguay y en los últimos años no son controlados de forma eficaz con glifosato. El objetivo de este trabajo fue confirmar la ocurrencia y el nivel de resistencia a glifosato en tres especies de *Amaranthus*, así como evaluar distintas alternativas químicas para el manejo de los biotipos resistentes. Para confirmar la resistencia al glifosato, se realizaron ensayos de curva de dosis para cada especie, siguiendo un diseño factorial 5x8, siendo el factor A: 5 biotipos con distintos niveles de resistencia y B: 8 dosis de glifosato, con cuatro repeticiones. A los 7, 14, y 21 días después de la aplicación de los tratamientos (DDT) fueron determinadas la mortalidad de plantas (% de control) y a los 21 días DDT la materia seca de la parte aérea (Reducción de la MS). A partir de los datos obtenidos C_{50} y GR_{50} , se calcularon los factores de resistencia (FR). Para evaluar herbicidas alternativos al glifosato, se realizó un ensayo independiente para cada especie de *Amaranthus* con un delineamiento experimental completamente al azar y los tratamientos dispuestos en diseño factorial 5x6 donde el factor A correspondió a 5 biotipos de *Amaranthus* spp. con distinta susceptibilidad/resistencia y el factor B correspondió a cinco tratamientos herbicidas: diclosulam, imazetapir, 2,4-D, dicamba y fomesafen, y un testigo (sin aplicación), siendo utilizadas cuatro repeticiones. Se determinó el % de control y la reducción de la MS a los 21 DDT. Ambos conjuntos de ensayos fueron repetidos integralmente dos veces. Los biotipos estudiados presentaron elevado nivel de resistencia al herbicida glifosato, con FR variando entre 12 y 113; 1 y 47; 4 y 30 para *Amaranthus hybridus*, *A. tuberculatus*, y *A. palmeri* respectivamente, siendo confirmado formalmente este caso de resistencia en Uruguay. Por otra parte, los resultados obtenidos para los herbicidas alternativos demostraron evolución a la resistencia de distintas especies de *Amaranthus* a los inhibidores de la ALS y al fomesafen. Sin embargo, el 2,4-D y dicamba aún son alternativas viables para el manejo de los biotipos resistentes al glifosato. De esto modo, la utilización de otras herramientas químicas como los preemergentes y herbicidas con mecanismos de acción distintos, asociados a métodos no químicos de manejo de malezas, como es el caso de los cultivos de cobertura, deben ser estimulados, de manera de reducir la presión de selección y la ocurrencia de nuevos casos de resistencia a herbicidas en Uruguay.

Palabras clave: glifosato, resistencia, *Amaranthus*, dosis respuesta

SUMMARY

The species *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus tuberculatus*, and *Amaranthus palmeri* constitute the most significant weed complex in Uruguayan agricultural systems. In recent years, effective control of these species with glyphosate has proven not effectively. This study aimed to confirm the presence and level of glyphosate resistance in these three *Amaranthus* species, and to assess various chemical alternatives for managing resistant biotypes. To confirm glyphosate resistance, dose-response assays were conducted for each species, employing a 5x8 factorial design. Factor A encompassed 5 biotypes with varying resistance levels, while Factor B involved 8 glyphosate doses, each with four replications. Plant mortality (% control) was assessed at 7, 14, and 21 days after treatment (DAT), and aerial dry matter (Reduction in DM) was measured at 21 DAT. Resistance factors (RF) were calculated from the C₅₀ and GR₅₀ data obtained. To evaluate herbicides alternatives to glyphosate, an independent trial was conducted for each *Amaranthus* species with a completely randomized experimental design, and the treatments were arranged in a 5x6 factorial design where factor A corresponded to 5 biotypes of *Amaranthus* spp. with different susceptibility/resistance, and factor B corresponded to five herbicide treatments: diclosulam, imazethapyr, 2,4-D, dicamba, and fomesafen, along with a control (no application), with four replications utilized.. % Control and reduction in DM were determined at 21 DAT. Both sets of trials were fully replicated twice. The studied biotypes exhibited a high level of resistance to glyphosate, with RF ranging from 12 to 113 for *A. hybridus*, 1 to 47 for *A. tuberculatus*, and 4 to 30 for *A. palmeri*, thereby formally confirming glyphosate resistance in Uruguay. Additionally, results obtained for alternative herbicides indicated evolving resistance of different *Amaranthus* species to ALS inhibitors and fomesafen. However, 2,4-D and dicamba remain viable alternatives for managing glyphosate-resistant biotypes. Thus, the adoption of other chemical tools such as pre-emergent, along with herbicides featuring distinct mechanisms of action, combined with non-chemical weed management practices like cover crops, should be promoted to mitigate selection pressure and the emergence of new herbicide resistance cases in Uruguay.

Keywords: glyphosate, resistance, amaranthus, dose-response

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos 50 años la agricultura en Uruguay ha sufrido cambios, hasta mediados del siglo XX se basó en una agricultura continua con laboreo, sus características eran un bajo rendimiento y pérdidas de suelo por erosión, este sistema productivo sufrió cambios en las décadas del 70-80, cuando hubo una reducción del área sembrada con cultivos anuales, añadiendo una fase de pastura perenne que redujo las pérdidas por erosión y aumentó la productividad de los cultivos.

En las últimas décadas se ha dado una adopción de nuevos sistemas de producción agrícola incorporando la labranza cero y cultivos resistentes a herbicidas, una intensificación y expansión de la agricultura en Uruguay en conjunto con la expansión de la siembra directa. Esa intensificación es explicada principalmente por la expansión masiva del cultivo de soja (*Glycine max*), produciendo un cambio a una agricultura continua “veranizada” con cultivares RR, acompañada de una alta utilización del herbicida glifosato. Esto ha resultado en un cambio en la frecuencia de especies de malezas y selección de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas.

La alta frecuencia de uso de un único herbicida o de pocos herbicidas para el manejo de malezas llevó a una alta presión de selección sobre estas especies, generando numerosos relatos de ocurrencia de resistencia. Especies de malezas como el raigrás (*Lolium multiflorum*) y yerba carnícera (*Conyza* spp.) son reportados como no controlados por diferentes herbicidas en varios años. Sin embargo, en las últimas zafas se han intensificado los reportes que indican casos de resistencia a distintos herbicidas en yuyos colorados (*Amaranthus* spp.).

El conjunto de malezas conocidas como yuyos colorados está compuesto principalmente por las especies *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus palmeri* y *Amaranthus tuberculatus*, que actualmente forman el más importante complejo de malezas presentes en los sistemas agrícolas de Uruguay. Estas especies son extremadamente eficientes compitiendo por recursos como luz, agua y nutrientes, pudiendo ocasionar importantes pérdidas de productividad en cultivos. En los últimos años se han reportado a nivel de campo fallas recurrentes en el control de estas malezas con el herbicida glifosato.

En este contexto, el objetivo de este trabajo es confirmar la ocurrencia de resistencia a glifosato en estas tres especies de *Amaranthus* a través de curva de dosis respuesta y evaluar opciones herbicidas para su manejo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La agricultura uruguaya ha experimentado ciertos cambios en los últimos 50 años explicados por la adopción de nuevos sistemas de producción agrícola que incluyen cero laboreo y cultivos resistentes a herbicidas. Hasta mediados del siglo XX, la agricultura en Uruguay se basó en una agricultura continua con laboreo, sus características eran un bajo rendimiento y una alta pérdida de suelo por erosión, este esquema cambió en las décadas del 70-80, donde se dio una reducción del área sembrada, agregando una fase de pastura perenne que redujo las pérdidas por erosión y aumento la productividad de los cultivos (Ernst & Siri-Prieto, 2011).

Dos ciclos de cultivo de invierno eran seguidos de dos a tres años de pradera, la duración de la pradera estaba definida por el enmalezamiento de gramilla *Cynodon Dactylon*, una de las malezas más problemáticas de la época, no había un método eficaz para controlarla durante la fase de pastura. El cultivo principal era el trigo y una pequeña parte del área incluía cultivos de verano, como maíz, girasol y sorgo. No era normal la ocurrencia de dos cosechas anuales por el tiempo requerido para preparar el suelo, la preparación se basaba en el laboreo convencional el cual era el principal método de control de malezas previo a la siembra del cultivo o pastura. Hasta fines de los 90 no se registraban casos de resistencia a herbicidas en Uruguay, también había pocas especies de malezas en los campos agrícolas del país, que el control de malezas se realizara con laboreo acompañado de herbicida en una rotación cultivo-pastura ejercía un control exitoso sobre poblaciones de malezas. Sin embargo, había preocupación por las pérdidas de suelo por erosión (García et al., 2021).

A principios de los años noventa ingresa en Uruguay la tecnología de la siembra directa, siendo hoy en día la predominante en todo el país (Arbeletche et al., 2010). Esta nueva forma de siembra ha generado mejoras desde el punto de vista de la conservación de suelos, que en conjunto con la elevación de los precios internacionales de los granos permitió la intensificación y expansión hacia zonas no agrícolas de la agricultura en Uruguay (Ríos et al., 2012). La siembra directa permitió la sucesión de cultivos dejando rastrojos en superficie y eliminando la manipulación mecánica del suelo, reduciendo a un mínimo la erosión, produciendo un aumento en la materia orgánica, aumentando la vida microbiológica y la mesofauna, además de mejorar la estructura de este (Marchesi De León, 2000). Por

otra parte, la siembra directa también generó cambios en la dinámica de las malezas, favoreciendo la expansión de especies antes controladas por el manejo mixto mecánico en detrimento de otras especies que anteriormente estaban adaptadas a la manipulación del suelo por la labranza (García et al., 2021).

Por otra parte, la intensificación de la siembra directa puede ser explicada por el cultivo de soja (*Glycine max*) produciendo un cambio de un modelo mixto pastura-cultivos a una agricultura continua “veranizada” con cultivares RR Roundup Ready, aprobados en Uruguay en 1996 (Burger et al., 2017). Acompañada de una alta utilización del herbicida glifosato. Debido al precio, la facilidad de manejo y a los exitosos resultados obtenidos, este herbicida pasó a ser el único método de control de malezas en soja (Fernández et al., 2013). En este contexto, Ríos et al. (2012) afirma que la siembra directa asociada al uso de glifosato provocó cambios en las condiciones ambientales de las malezas (luz, temperatura, humedad), lo que determinó cambios en las comunidades de malezas que en principio se controlaban fácilmente y de forma económica con este herbicida. Sin embargo, la intensificación del uso del glifosato fue más intensa al finalizar el período de patente en el año 2000, lo que provocó una caída del precio del herbicida y posibilitó su uso varias veces por año en la misma área.

El uso repetitivo del glifosato como única herramienta de manejo de malezas llevó a una alta presión de selección, generando varios relatos de fallas de control o resistencia de malezas en Uruguay. Raigrás (*Lolium multiflorum*), yerba carnífera (*Conyza* spp.) y en los últimos años de yuyos colorados (*Amaranthus* spp.) son ejemplos de especies que presentaron evolución a la resistencia en función de uso masivo de glifosato (Kaspary et al., 2020). Además de la selección de biotipos autóctonos de malezas resistentes, otras especies fueron introducidas al país mediante equipos agrícolas importados, así como con el movimiento del polen y semillas desde zonas limítrofes (Gaines et al., 2021; García et al., 2021).

Las especies *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus palmeri* y *Amaranthus tuberculatus* forman el más importante complejo de malezas presentes en los sistemas agrícolas de Uruguay, se trata de especies extremadamente eficientes compitiendo por recursos como luz, agua y nutrientes, pudiendo ocasionar importantes pérdidas de productividad en cultivos. Una única planta de *A. hybridus* por m² puede reducir en promedio en 6,4 % el rendimiento de la soja (Barroso et

al., 2012; Zandoná et al., 2022). Sin embargo, a nivel de campo ocurre con frecuencia la convivencia mutua de *A. hybridus* con otras especies de difícil control de este género, especialmente *A. palmeri* y *A. tuberculatus* (Kaspary et al., 2020). Además, en los últimos años, a nivel nacional se han reportado fallas en el control de estas especies de malezas con el herbicida glifosato (Kaspary et al., 2020).

Además de confirmar la ocurrencia de resistencia es de gran importancia cuantificarla, es decir determinar el grado de resistencia de la maleza a determinado principio activo, esto es relevante porque permite establecer una relación entre la intensidad con que es utilizado el herbicida y las respuestas de las especies a este producto, además se puede inferir sobre la ocurrencia de determinados mecanismos de resistencia y posibilita diseñar una estrategia de manejo (Burgos et al., 2013). No se conocen trabajos que confirmen la ocurrencia y el nivel de resistencia de los biotipos de yuyos colorados que invaden los campos agrícolas de Uruguay, así como de herbicidas alternativos que puedan utilizarse en su manejo.

2.1 AMARANTHUS

El género *Amaranthus* pertenece a la subfamilia *Amaranthioideae* que se encuentra dentro de la familia *Amaranthaceae*. *Amaranthus* posee cerca de 70 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales del mundo. En América hay unas 40 especies nativas pertenecientes a los subgéneros *Acnida* (dioicas), *Albersia* y *Amaranthus* (monoicas), el resto está distribuida en Australia, Europa, Asia y África (Carmona Pinto & Orsini Velazquez, 2010).

Los amarantos estaban ampliamente distribuidos en zonas tropicales y templadas del mundo, incluso mucho tiempo antes de que el hombre las convirtiera en maleza, habitaban montañas, cañones desérticos, orillas de lagos y ríos, playas oceánicas, con altas producciones de semilla que eran dispersadas por aves, viento y agua (Sauer, 1967). Relatos históricos cuentan que diversas culturas le dieron uso a las semillas, hojas y brotes de *Amaranthus*, siendo ampliamente cultivados, así como aprovechados en su forma silvestre, históricamente el género estuvo ligado al ser humano (Sauer, 1967). Han tenido importancia principalmente en pueblos primitivos como condimento, comida, colorante, almidón presente en el grano, ornamentales y utilizadas en ceremonias y magia (Sauer, 1950).

Tres especies de *Amaranthus* producen granos comestibles: *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus* y *Amaranthus hypochondriacus*, en la época precolombina, en México, Guatemala y Perú, era un alimento básico junto con el maíz (*Zea mays*) (Bayón, 2022). Simpson y Orgozali (2014), como se cita en Bayón (2022), mencionan que los granos de estas tres especies son ricos en proteína y lisina. Además, las hojas de otras especies se utilizan como hortalizas (*A. blitum*, *A. dubius*, *A. graecizans*, *A. spinosus*, *A. viridis*, *A. tricolor*, *A. hybridus*), estas dos últimas especies también son ornamentales (Bayón, 2022).

Este género incluye plantas anuales, arbustivas con flores de distintos colores que van desde verde a púrpura, con flores masculinas y femeninas en la misma planta (monoica) o flores masculinas y femeninas en plantas diferentes (dioicas) (Mosyakin & Robertson, 1996). Del total de especies presentes en el género *Amaranthus* hay un grupo de 10 que son dioicas (subgénero *Acnida*), todas ellas son nativas de América del Norte, en contraste con las monoicas que son endémicas de todos los continentes (Steckel, 2007).

De la Fuente et al. (2006) mencionan que en las últimas décadas se han producido cambios en la agricultura de América del sur, aumentando la superficie sembrada de soja y realización de siembra directa, generando un cambio en la composición de las comunidades de malezas, siendo las especies del género *Amaranthus* bien adaptadas a estos sistemas encontrándose con alta frecuencia en los mismos. La gran capacidad competitiva que ejercen los *Amaranthus* sobre los cultivos de verano por recursos (luz, nutrientes y humedad) pueden estar explicados porque tienen el mecanismo fotosintético C4, por lo tanto, tienen la capacidad de crecer con temperaturas elevadas, altos niveles de radiación y tolerancia a la sequía, son aproximadamente 20 las especies del género que son consideradas malezas en cultivos de secano y bajo riego en el mundo, la mayoría de estas están presentes en América (Bayón, 2022). El primer caso reportado en el mundo sobre resistencia de *Amaranthus* a glifosato fue en Georgia en la especie *A. palmeri* donde se observó la ausencia de acumulación de shikimato en las hojas tratadas con glifosato que indicaba que la resistencia se daba por una alteración en el sitio objetivo (TSR), aunque en el momento faltaba investigación que confirme el tipo de resistencia (Culpepper et al., 2006).

En Uruguay se reportan 3 especies como las más problemáticas, los *A. hybridus*, *A. tuberculatus* y *A. palmeri*, ya que presentan resistencia confirmada al herbicida glifosato (Heap, 2024). Estas especies también cuentan con relatos de ocurrencia de resistencia para otros herbicidas, como el diclosulam. El *A. hybridus* es autóctona y las dos restantes ingresadas a Uruguay en maquinarias contaminadas que fueron importadas al país, se tratan de especies muy eficientes compitiendo por recursos como luz, agua y nutrientes, pudiendo ocasionar importantes pérdidas de productividad en los cultivos (Gaines et al., 2021; Kaspary et al., 2020).

2.1.1 *Amaranthus hybridus*

Su origen es en zonas Ribereñas húmedas desde el este de América del norte hasta México y América Central, incluso en toda América del sur (Sauer, 1967). Está naturalizada en Australia, Europa, y América del Sur (Bayón, 2022), se la considera autóctona de Uruguay.

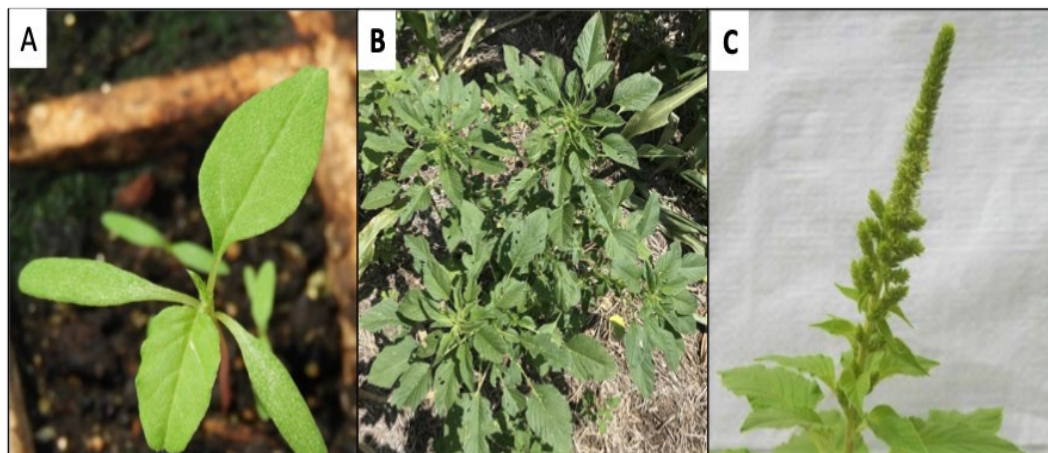
Especie anual, monoica, de porte erecto, que puede alcanzar los 2 metros de altura, glabra o ligeramente pubescente, hojas pecioladas y alternas, lámina lanceolada en forma de rombo u ovada de 3 a 15 cm de largo a veces con colores rojizos. Tallos erectos glabros, pubescentes en la parte superior de color verde a rojizo. Inflorescencia en panoja terminal de hasta 35 cm de longitud compuesta por numerosas flores. Flores estaminadas con 5 tépalos ovado-lanceolados, flores pistiladas con 5 tépalos desiguales, lanceolados u oblongos, brácteas de flores pistiladas de 2-4 mm de largo, rojizas a moradas. Fruto es un pixidio con dehiscencia transversal, surcado transversalmente, las semillas son lenticulares de color negro y brillosas, es su medio de propagación, produce una alta cantidad de semillas por planta, alrededor de 200000-600000. Compite muy bien por luz y nutrientes, tiene rápido crecimiento y la floración-fructificación se da desde primavera hasta otoño (Bayón, 2022; Costea et al., 2001; Iamónico, 2015; Lloret, 2016).

Hay 36 casos de resistencia, en distintos sitios de acción herbicidas, tanto individual como múltiple registrados para esta especie en el mundo, los sitios de acción son: inhibidores de ALS, inhibidores de la EPSPS (Glifosato), Auxinas sintéticas, inhibidores de la PPO, inhibidores del fotosistema II. Resistencia múltiple (2 sitios de acción): Glifosato y ALS, Glifosato y Auxinas sintéticas, ALS e Inhibidores del fotosistema II. En Brasil, además de resistencia a glifosato hay

registro de resistencia a inhibidores de ALS, en Argentina hay registro de resistencia a glifosato, inhibidores de ALS (imazetapir, chlorimuron-ethyl), Auxinas sintéticas (2,4-D y dicamba) e inhibidores de la PPO (fomesafen) (Heap, 2024).

Figura 1

Plántula (A); planta (B) e inflorescencia (C) de Amaranthus hybridus



Nota. Fotografía tomada en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria-La Estanzuela (INIA-LE), Uruguay, en el año 2020.

2.1.2 *Amaranthus tuberculatus*

Es una especie nativa del centro-oeste de los Estados Unidos, presente en playas y arroyos de Baja California, aunque pudo haber llegado por el sur de California donde se ha extendido como maleza desde el año 1900 (Sauer, 1967). Al igual que *A. palmeri* fue introducida a Uruguay por la importación de cosechadoras desde Estados Unidos (García et al., 2021).

Es una especie anual, dioica, con raíz pivotante, tallos erectos, glabros a menudo rojizos, ramificados. Hojas verdes a rojizas, ovadas a lanceoladas, con márgenes enteros, ápice obtuso, mucronado, base cuneada, glabra, pecíolo de 5 cm de largo. Inflorescencia terminal tipo espiga o panícula, erectas de hasta 50 cm de largo, las brácteas de las flores masculinas miden entre 1,5 y 2 mm de largo, las de las hembras tiene una nervadura central más prominente, flores masculinas tienen 5 tépalos desiguales (sépalos y pétalos no se diferencian), flores femeninas con uno o dos tépalos. Fruto marrón oscuro a rojizo, liso, dehiscente. Semilla lenticular de 1-1,2 mm de diámetro, negra o marrón rojiza (Costea et al., 2005; Iamónico, 2015).

A. tuberculatus tiene una extensa variación morfológica tanto a nivel individual como poblacional, al ser dioica tiene un nivel más alto de polimorfismo comparado con especies de *Amaranthus* monoicas, presenta atributos de una maleza invasora exitosa: plasticidad, rápido crecimiento y alta producción de semillas, a diferencia de los monoicos, solo las plantas hembra de *A. tuberculatus* producen semillas, por lo tanto la producción a nivel poblacional puede ser menor que en especies monoicas, pero individualmente, una planta hembra pueden tener mayor capacidad de producción por no tener que dividir recursos entre flores femeninas y masculinas (Costea et al., 2005). Stevens (1932), Sellers et al. (2003), Steckel et al. (2003) y Hartzler et al. (2004) como se cita en Costea et al. (2005) mencionan que una planta hembra de *A. tuberculatus* puede llegar a producir entre 35000 y 1200000 semillas.

Hay 66 casos de resistencia registrados para esta especie en el mundo, en distintos sitios de acción, tanto individuales como múltiples (en 2,3,4,5 y hasta en 6 sitios de acción), los sitios de acción son: inhibidores de la EPSPS, inhibidores de la ALS, inhibidores del fotosistema II, inhibidores de la PPO, inhibidores de la HPPD, inhibidores de la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y Auxinas sintéticas (Heap, 2024). Son 33 los casos registrados de resistencia a glifosato en el mundo, 32 en Estados Unidos y Canadá. En el año 2022 se confirmó la resistencia a glifosato de *A. tuberculatus* en Uruguay (Heap, 2024).

Figura 2

Plántula (A), planta (B), inflorescencia femenina (C), inflorescencia masculina (D) de Amaranthus tuberculatus



Nota. Fotografía tomada en INIA-LE, Uruguay, en el año 2020.

2.1.3 *Amaranthus palmeri*

Es originaria del desierto de Sonora al suroeste de Estados Unidos (California a Nuevo México y Texas) y el noroeste de México. En su lugar de origen, es normal verla en suelos húmedos, perturbados, en bordes de cursos de agua permanentes o temporarios, lugares sobre pastoreados en pastizales desérticos, bordes de caminos y vías de trenes, campos cultivados y pasturas bajo riego (Mosyakin & Robertson, 1996; Sauer, 1972).

En Uruguay, esta especie no es autóctona, sino que fue introducida como contaminante de maquinaria importada desde Estados Unidos entre 2012 y 2015 (García et al., 2021). *A. palmeri* se ha convertido en un problema en cultivos de verano en Uruguay con fallas en los controles de algunos biotipos con glifosato e inhibidores de ALS (Kaspary et al., 2020).

Es una especie anual, dioica, de porte erecto, 0,5-1 (3) m de altura se puede distinguir de otras especies por ausencia de pelos en el tallo (glabra), tallos erectos, hojas largamente pecioladas, tiene el peciolo más largo que la lámina de hoja, ovada, rómbica-ovada a casi elíptica usualmente con mucrón terminal, venación reticulada superficial, y cara abaxial blanquecina. Presenta espinas en la inflorescencia femenina que pinchan al tacto, inflorescencia masculina es suave al tacto, la inflorescencia puede llegar a medir 25 cm Raíz principal a veces rojiza, brácteas de flor pistilada de 4-6 mm de largo. Las flores poseen 5 tépalos distintos el más interno agudo, el más externo espatulado. El fruto es un pixidio, pericarpio liso o algo rugoso. Semilla lenticular 1-1,2 mm de largo de color rojizo oscuro a marrón (Bayón, 2022; Iamónico, 2015; Morichetti et al., 2013).

De todos los *Amaranthus* dioicos, *A. palmeri* fue la maleza invasora más exitosa (Sauer, 1972). Está presente en el este de América del Norte, Asia, Australia, Europa y América del sur (Bayón, 2022; Morichetti et al., 2013; Mosyakin & Robertson, 1996). En Argentina se identificó formalmente en las provincias de Córdoba y San Luis en 2013, aunque pudo estar presente antes, pero confundida con la especie autóctona *A. hybridus* (Morichetti et al., 2013).

El polen es distribuido por viento, cada planta hembra puede producir entre 200000 a 600000 semillas las cuales pueden ser transportadas por maquinaria o viento, ambos factores son responsables de la rápida diseminación de la resistencia

a herbicidas, semillas viables se pueden llegar a producir a las 2 o 3 semanas desde el inicio de la floración (Keeley et al., 1987; Montoya et al., 2015). El éxito de *A. palmeri* como maleza se debe a varios atributos, es una especie C4 con una alta tasa fotosintética y es muy eficiente en el uso de agua y nutrientes (Ehleringer, 1983).

Los casos de resistencia registrados en el mundo para esta especie son 77, en distintos sitios de acción herbicida tanto individuales como múltiples (hasta en 6 sitios de acción en simultáneo), los mismos son: inhibidores de la EPSPS, inhibidores de la ALS, inhibidores de la PPO, inhibidores del ensamblaje de microtúbulos, inhibidores de la síntesis de ácidos grasos de cadena larga, inhibidores de la Glutamina sintetasa, inhibidores de la HPPD, inhibidores del fotosistema II y Auxinas sintéticas (Heap, 2024). Son 50 los casos de resistencia a glifosato registrados en el mundo, en Brasil hay 2 casos de resistencia registrados en glifosato y resistencia múltiple en glifosato e inhibidores de la ALS, en Argentina hay 1 caso de resistencia registrado en glifosato, en Uruguay se registró en el año 2022 el primer caso de resistencia a glifosato en *A. palmeri* (Heap, 2024).

Figura 3

Plántula (A), planta (B), inflorescencia femenina (C), inflorescencia masculina (D) de Amaranthus palmeri



Nota. Fotografía tomada en INIA-LE, Uruguay, en el año 2020.

2.2 EL HERBICIDA GLIFOSATO

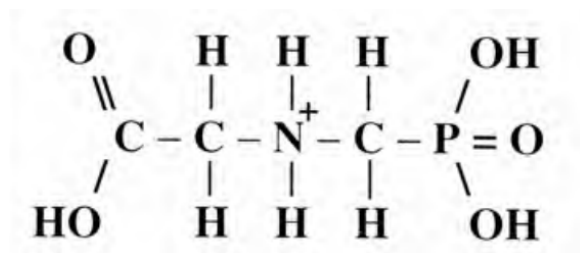
La primera síntesis de glifosato fue realizada en una industria farmacéutica suiza por Henri Martin. Fue probado como herbicida por primera vez en 1970 por un científico de MONSANTO llamado John E. Franz, poco tiempo después fue patentado como herbicida, se introdujo en el mercado en el año 1974 y se ha convertido en uno de los herbicidas más utilizados del mundo (Duke & Powles,

2008). Su descubrimiento por investigadores de MONSANTO es muy importante en la agricultura y explica la adopción de la siembra directa a nivel mundial (Martino, 1995).

El glifosato [N- (fosfonimetil) glicina] es un derivado del aminoácido glicina con ácido fosfónico unido al radical amino (Martino, 1995).

Figura 4

Molécula de glifosato



Nota. Tomado de Martino (1995).

Esta molécula se agrupa dentro de los herbicidas que actúan sobre el metabolismo celular y se clasifica dentro del grupo 9 según el comité de acción de resistencia a herbicidas (HRAC), tiene poca o nula actividad en suelo, por lo tanto, se usa sólo con aplicaciones foliares (Duke et al., 2012). La absorción por las plantas se da a través de la cutícula de forma rápida (Martino, 1995). La rapidez a la cual se absorbe es diferente en las diferentes especies de plantas, por lo tanto, la susceptibilidad es diferente según la especie, dentro de la planta el Glifosato se transloca por el floema acompañando el movimiento y sumideros de los azúcares. Provoca un efecto fitotóxico en cualquier tejido que esté en crecimiento activo (raíces jóvenes, meristemas, hojas nuevas) (Duke & Powles, 2008).

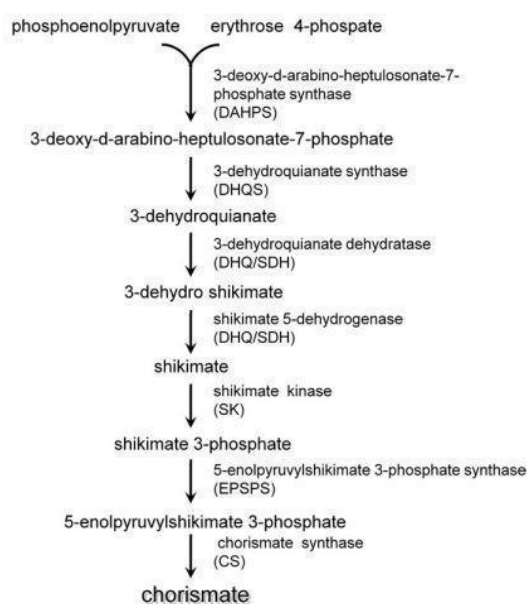
Por la sensibilidad de los cultivos y la no selectividad del herbicida, su uso era limitado, tras la incorporación de cultivos GR se expandió junto con la adopción generalizada de estos a nivel mundial (Duke et al., 2012). El uso de Glifosato se restringía a la eliminación de las malezas previo a la siembra de los cultivos, o la aplicación entre hileras de distintos árboles o viñedos (Duke & Powles, 2008). El control de malezas a un bajo costo por medio del glifosato en cultivos resistentes al mismo tuvo un efecto negativo en la rentabilidad de la introducción de nuevos herbicidas al mercado, durante más de 20 años no se han introducido nuevos modos

de acción, el uso de glifosato llevó a una disminución en los programas de investigación y descubrimiento de nuevos herbicidas (Duke, 2012).

El glifosato inhibe la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSP sintasa) o (EPSPS) por su sigla en inglés, enzima importante en la vía del shikimato en la cual se producen aminoácidos aromáticos (AA) esenciales para las plantas tales como fenilalanina, tirosina y triptófano (Duke et al., 2012; Gaines et al., 2019; Schönbrunn et al., 2001; Steinerücken & Amrhein, 1980). Estos aminoácidos son moléculas centrales en el metabolismo de las plantas. Los tres aminoácidos se sintetizan a través de un precursor en común, el corismato, originado en la vía del shikimato. Además de síntesis de proteínas, los AA fenilalanina, tirosina y triptófano son precursores de hormonas vegetales como auxinas y salicilato, y una amplia gama de metabolitos secundarios aromáticos (Tzin & Galili, 2010).

Figura 5

Vía del shikimato



Nota. Tomado de Tzin y Galili (2010).

La ruta o vía del shikimato se inicia a partir del fosfoenolpiruvato (PEP) y la estriosa 4-fosfato (E-4P) provenientes de la glucólisis y de la vía de las pentosas. Son 7 reacciones catalizadas por 6 enzimas para finalizar con la producción de corismato (Tzin & Galili, 2010). La enzima EPSPS está presente en el sexto paso

de la vía del shikimato, y es el único objetivo del herbicida Glifosato (Herrmann & Weaver, 1999).

El Glifosato es un análogo del shikimato 3-fosfato el cual es un estado de transición del PEP, el shikimato 3-fosfato es sustrato de la enzima EPSP sintasa presente en la vía del shikimato, al inhibir dicha enzima no se forma corismato y en consecuencia los aminoácidos aromáticos y disminuye la retroalimentación negativa que los mismos aminoácidos provocan sobre la vía de síntesis, esto provoca una acumulación de shikimato (Duke & Powles, 2008).

Figura 6

Vía del shikimato y sitio de inhibición de glifosato



Nota. Tomado de Duke y Powles (2008).

Glifosato es un herbicida de amplio espectro, usado en post-emergencia y muy seguro desde el punto de vista toxicológico y ambiental (Duke & Powles, 2008). Solo las plantas, algunos hongos y un bajo número de microorganismos tienen el sitio de acción (EPSPS) (Duke et al., 2012). La vía del shikimato no se encuentra en animales (Herrmann & Weaver, 1999). Duke y Powles (2008) afirman que no está claro cómo esa acumulación de shikimato logra que la planta muera. Por un lado, la reducción en la producción de aminoácidos aromáticos provoca una disminución en la síntesis de proteínas para la planta, lo cual explica la lenta aparición de los síntomas. Por otra parte, Fisher (2011) menciona que por dicha ruta pasa una alta proporción del carbono que es fijado en la fotosíntesis y origina la

síntesis de ácido indolacético, lignina y metabolitos secundarios para la defensa de agentes bióticos, al acumularse el shikimato se reduce el carbono disponible para esta y otras vías esenciales.

En cuanto a la toxicidad, el glifosato es menos tóxico que los químicos comunes como el cloruro de sodio o la aspirina, con LD50 (dosis letal para la mitad de los individuos) mayores de 5 gramos por kg en ratas, materiales de formulación del herbicida que acompañan el anión glifosato son más tóxicos que el glifosato en sí mismo (Duke & Powles, 2008). Es inmóvil en el suelo y posee alta velocidad de descomposición microbiana, estas características evitan residuos en aguas subterráneas, la porción de la molécula de glifosato que contiene fósforo, se combina con cationes, los cuales son adsorbidos en mayor o menor grado por los coloides del suelo (Martino, 1995).

Este herbicida se adsorbe principalmente en superficies de carga variable como óxidos de hierro y aluminio, silicatos de aluminio y en menor medida, en los recubrimientos de óxido de Fe de minerales de carga permanente (illita, esmectita y vermiculita) y materia orgánica. También puede formar quelatos o complejos con iones metálicos de micronutrientes en solución de suelo (Duke et al., 2012). La principal vía de degradación biológica del glifosato es mediante la enzima glifosato oxidoreductasa, formando glioxilato y el ácido aminometilfosfónico (AMPA). El AMPA se degrada a metilamina y fosfato inorgánico. Tanto el glioxilato como la metilamina favorecen el crecimiento microbiano (Duke et al., 2012). Según Duke y Powles (2008) el éxito del glifosato está explicado por la incorporación de cultivos transgénicos resistentes al mismo, ocupan casi el 90 % de los cultivos a nivel mundial y continúa en aumento. La aparición de malezas resistentes implica que se necesitarán nuevas prácticas de manejo para cuidar el uso futuro de esta tecnología.

2.3 RESISTENCIA DE MALEZAS AL GLIFOSATO

El uso de herbicidas sintéticos como método de control de malezas redujo el costo y aumentó la eficacia del control, previamente se desmalezaba manualmente o mediante laboreo, lo cual tenía implicancias sobre la erosión de suelo. Durante más de 70 años el control químico ha contribuido a los aumentos en rendimiento y eficiencia de la agricultura, sin embargo, ha ejercido una presión de

selección generalizada, lo que ha determinado una evolución de cientos de malezas hacia la resistencia (Gaines et al., 2020).

La resistencia es una evolución adaptativa, heredable, que se da por el uso reiterado de un mismo herbicida, o de varios herbicidas que tengan un mismo proceso, este proceso selecciona individuos de una misma especie que pueden sobrevivir y reproducirse luego de una aplicación de herbicida. La persistencia, evolución, y diseminación de estos biotipos resistentes provoca fallas en controles futuros con herbicidas (Fisher, 2011).

Los biotipos resistentes surgen por mutaciones espontáneas al azar que se dan con baja frecuencia en poblaciones de plantas, los herbicidas no provocan mutaciones, los individuos resistentes ya estaban presentes, el herbicida selecciona estos biotipos eliminando los susceptibles. Cuanto mayor sea la presencia de malezas y cuanto mayor capacidad de reproducción tengan, mayor probabilidad de que el herbicida seleccione los individuos mutantes. Conocer los mecanismos de resistencia es un aspecto clave para mitigar la evolución de esta en poblaciones de malezas (Fisher, 2011).

Los mecanismos de resistencia a herbicidas se pueden separar de forma amplia en dos tipos. Resistencia en el sitio activo, sitio de acción u objetivo, con su sigla en inglés (TSR: Target-site Resistance), y fuera del sitio activo (NTSR: Non Target-site Resistance). Dichos mecanismos han evolucionado para la mayoría de los herbicidas (Gaines et al., 2020). El sitio objetivo suele ser una proteína específica (enzima) fundamental en algún paso metabólico de la planta (Fisher, 2011).

La eficacia del control de malezas con el herbicida depende de la cantidad que logre ingresar a la célula vegetal y del tiempo que la forma activa del herbicida esté disponible dentro de la planta para unirse al sitio de acción. Los mecanismos NTSR, son todos aquellos que reducen la concentración de ingrediente activo que queda disponible para unirse al sitio de acción, y también mecanismos que permiten a la planta sobrevivir pese a la inhibición del sitio de acción. Estos mecanismos incluyen, absorción y translocación reducida, aumento del secuestro del herbicida a la vacuola, aumento de metabolismo o degradación a compuestos menos tóxicos. (Gaines et al., 2020).

Mecanismos TSR, alteran la secuencia de aminoácidos (mutación) y/o el nivel de expresión de la enzima blanco (sitio de acción), es decir sobreexpresión de la enzima. Esto reduce, por un lado, la capacidad del herbicida de poder unirse al sitio activo y poder inhibir la enzima, o en el segundo caso, que se requiera mayor cantidad de herbicida para lograr inhibirla. Bajo una intensa presión de selección por parte del herbicida, todos los mecanismos que le confieran al individuo mayor probabilidad de sobrevivir y reproducirse pueden ser seleccionados, pueden ocurrir más de un mecanismo, incluso combinaciones de mecanismos TSR y NTSR dentro de la especie, población e incluso dentro del mismo individuo (Gaines et al., 2020).

2.3.1 Resistencia de sitio activo (TSR)

La resistencia a glifosato puede involucrar una mutación en el sitio de acción, la enzima clave en este proceso es la 5-enolpiruvato shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) presente en la ruta del ácido shikímico, por donde pasa gran parte del carbono fijado por la fotosíntesis y culmina con la producción de aminoácidos aromáticos esenciales para la planta. La TSR a glifosato resulta por mutaciones puntuales en la enzima EPSPS (Fisher, 2011). El primer caso reportado de TSR en glifosato fue en la especie *Eleusine indica*, asociado a una mutación puntual de la EPSPS, provocando una sustitución de aminoácido prolina por serina en la posición 106 (Pro106-Ser) (Baerson et al., 2002).

En el caso de *Amaranthus*, la primera vez que se reportó una mutación de sitio objetivo en la posición P106 en una especie dicotiledónea resistente a glifosato fue en *Amaranthus tuberculatus*, donde se observaba un cambio de aminoácido (Pro106-Ser), además la población resistente tuvo una translocación reducida de glifosato, por lo que se determinó que el mecanismo de resistencia en esta población de *A. tuberculatus* se basa en una combinación de mecanismos TSR y NTSR (Nandula et al., 2013).

Esta mutación en la posición 106 (Pro106-Ser) fue identificada en *Amaranthus palmeri*, dicha mutación actuaba de forma aditiva con la sobreexpresión de la EPSPS la cual contribuía en menor medida a la resistencia, esta fue la primera evaluación en paralelo de los dos mecanismos TSR que confieren resistencia a glifosato (Kaundun et al., 2019). Se reportaron en distintas especies, nuevas sustituciones (Pro106-Tre, Pro106-Ala, Pro106-Leu) (Perotti et

al., 2019), más reciente en el tiempo se reportó una nueva sustitución doble aminoácido (TIPS), también en la posición 102 de la enzima EPSPS (T102I+P106S) en una población de *Eleusina indica* altamente resistente a glifosato (Yu et al., 2015).

Una sustitución triple aminoácido (TAP-IVS) fue descubierta en una población argentina de *Amaranthus hybridus* con niveles altos de resistencia al glifosato, sumándose una sustitución en la posición 103 de la EPSPS, (A103V+T102I+P106S) (Perotti et al., 2019).

En *Amaranthus*, se reporta un caso de sobreexpresión de la EPSPS en *Amaranthus palmeri*, en donde comparado con especies sensibles al glifosato la EPSPS era igualmente inhibida por el herbicida, lo que llevó a medir cual era el número de genes EPSPS presente en los biotipos resistentes, y se observó que había desde 5 a 160 veces más copias del gen EPSPS, el aumento del nivel de la EPSPS se correlacionó positivamente con el número de copias del gen EPSPS confiriendo mayor resistencia a glifosato, lo cual era heredable (Gaines et al., 2010).

2.3.2 Resistencia fuera de sitio activo (NTSR)

Diversos mecanismos están involucrados en este tipo de resistencia, al igual que distintas enzimas que detoxifican el herbicida, por ejemplo, citocromo P450 (P450), es una resistencia compleja y multifactorial (Fisher, 2011). Los mecanismos involucrados son, la absorción reducida del herbicida por parte de las hojas, atribuidas a características anatómicas de las hojas que impiden o reducen la llegada del herbicida a su sitio de acción. La translocación reducida y secuestro por parte de la vacuola, impide que el herbicida sea translocado hacia los puntos de crecimiento, ambos mecanismos pueden funcionar en conjunto (Gaines et al., 2020).

Aumento de la metabolización o alteraciones en el metabolismo que aumentan la capacidad de la planta de detoxificar el herbicida, algunas malezas han desarrollado vías de desintoxicación rápida similar a la de los cultivos (Gaines et al., 2020). Otro mecanismo conocido como fenómeno fénix donde hay una respuesta rápida a la aplicación de herbicida, se produce una necrosis rápida en la zona donde cae el herbicida, impidiendo su translocación a los puntos de

crecimiento, el crecimiento de la planta continúa a través de puntos de crecimiento donde el herbicida no llegó (Queiroz et al., 2020; Van Horn et al., 2018).

En *Amaranthus*, Palma-Bautista et al. (2019) investigaron sobre los mecanismos de resistencia de *Amaranthus palmeri* en Argentina, obteniendo como resultado que en la población estudiada no estarían participando mecanismos TSR. Para este caso no hay mutación ni sobreexpresión de la EPSPS, sino todo contrario, la población resistente a glifosato presentó una baja absorción y translocación del herbicida. Este es el primer caso en el mundo de resistencia a glifosato únicamente por mecanismos NTSR.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ORIGEN DEL MATERIAL

Los biotipos de *Amaranthus* spp. utilizadas en el presente estudio forman parte del banco de germoplasma de malezas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria de Uruguay – INIA La Estanzuela, que cuenta con cerca de 110 accesos de estas malezas. Inicialmente los biotipos fueron clasificados por sus caracteres morfológicos, y de esta forma fueron obtenidos 48 biotipos de *A. hybridus*, 34 de *A. palmeri* y 13 *A. tuberculatus*, debido a que los demás no pudieron ser claramente clasificados en una de estas especies.

En un ensayo previo durante los años 2020 y 2021, fueron utilizados todos los biotipos de *Amaranthus* colectadas (Figura 7) y se realizó un *screening* para el herbicida glifosato. En este *screening* fueron utilizados para cada biotipo cuatro dosis del herbicida glifosato: 0; 0,5; 1 y 2x la dosis de etiqueta para este herbicida (720 g ia. ha⁻¹) y cuatro repeticiones por tratamiento. Los biotipos fueron divididos en tres grupos: a) susceptible (control superior al 80% con la dosis de 1x); b) Moderadamente resistente (entre un 20 y 80% de control con la dosis de 1x) y resistente (control menor al 20% con la dosis de 1x). A partir de este ensayo fueron seleccionados para este trabajo 5 biotipos de cada especie de *Amaranthus*: dos susceptibles (S); uno con resistencia moderada (MR) y dos resistentes (R) que se utilizaran en los ensayos de curva de dosis-respuesta y de herbicidas alternativos al glifosato (Tabla 1).

Figura 7

Ubicación de los sitios de colecta de los biotipos utilizados

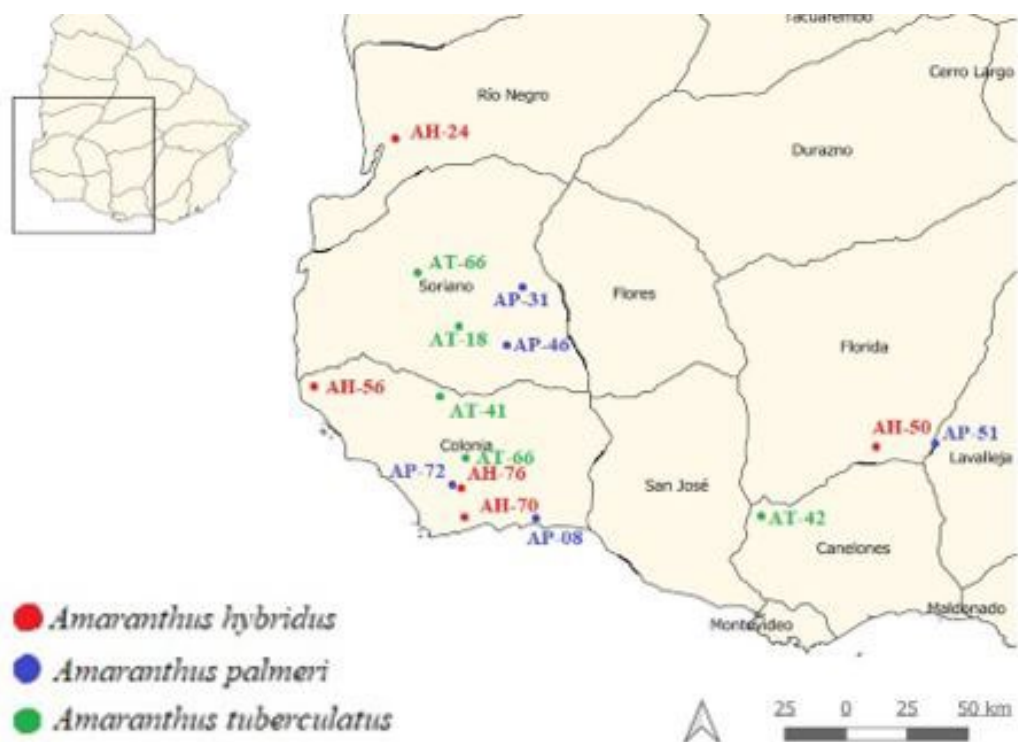


Tabla 1

Identificación de los biotipos de Amaranthus spp. utilizados para los ensayos

Biotipo	Especie	Estatus post Screening	Localidad	Departamento
AH-50	<i>A. hybridus</i>	S	Chamizo	Florida
AH-70	<i>A. hybridus</i>	S	Riachuelo	Colonia
AH-24	<i>A. hybridus</i>	MR	Nuevo Berlín	Rio Negro
AH-56	<i>A. hybridus</i>	R	Nueva Palmira	Soriano
AH-76	<i>A. hybridus</i>	R	La Estanzuela	Colonia
AP-72	<i>A. palmeri</i>	S	La Estanzuela	Colonia
AP-08	<i>A. palmeri</i>	S	Fomento	Colonia
AP-51	<i>A. palmeri</i>	MR	Piedritas	Lavalleja
AP-46	<i>A. palmeri</i>	R	Santa Catalina	Soriano
AP-31	<i>A. palmeri</i>	R	C. del perdido	Soriano
AT-18	<i>A. tuberculatus</i>	S	José. E Rodó	Soriano
AT-66	<i>A. tuberculatus</i>	S	Tarariras	Colonia
AT-42	<i>A. tuberculatus</i>	MR	Santa Lucía	Canelones
AT-41	<i>A. tuberculatus</i>	R	O. de Lavalle	Colonia
AT-66	<i>A. tuberculatus</i>	R	Palmitas	Soriano

3.2 CONFIRMACIÓN DE LA RESISTENCIA – CURVA DE DOSIS

Durante los meses de diciembre de 2021 y marzo de 2022 se realizaron tres estudios de curva de dosis respuesta para la confirmación de la resistencia a glifosato, los mismos fueron desarrollados de forma independiente para *A. hybridus*, *A. palmeri* y *A. tuberculatus*. Para cada especie de *Amaranthus* fue realizado un ensayo organizado en esquema factorial 5 x 8, donde el factor A correspondió a 5 biotipos (dos S, uno MR y dos R) y factor B correspondió a 8 dosis de glifosato con base a la dosis de etiqueta de 720 g ea ha⁻¹ (0; 0,062; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2 y 4 X para los biotipos S y MR y, 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8;16x para los biotipos R). Para cada tratamiento fueron realizadas 4 repeticiones. Los tres

experimentos se realizaron y repitieron integralmente (REP I y II) en invernáculos de INIA La Estanzuela, departamento de Colonia, Uruguay.

Las plantas de los 15 biotipos (Tabla 1) se sembraron en bandejas de germinación de espuma plast y a los 10 DDS (Días después de la siembra) las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 0,3 L de volumen con una mezcla de 3:2:1 de suelo, sustrato y vermiculita (V/V), respectivamente. Los tratamientos herbicidas fueron aplicados cuando las plantas presentaban entre 4 y 5 hojas verdaderas (10 - 12 cm de altura), en una cámara de aplicación equipada con boquillas XR8010 reguladas para aplicar 150 l ha⁻¹ de caldo con una presión constante de 250 kPa.

El nivel de control (%) se determinó a los 7, 14 y 21 días después de la aplicación de los tratamientos (DDT), a partir de una escala visual de síntomas donde 0 = ausencia de síntoma y 100 = muerte de las plantas (Kaspary, Waller Barcena et al., 2023). La evaluación de la materia seca fue realizada a los 21 DDT a partir del corte de las plantas al ras de suelo y posterior almacenamiento en bolsas de papel seguido de secado en estufa con temperatura constante de 70°C por 96 horas (hasta alcanzar peso constante) y posteriormente las muestras fueron pesadas en una balanza analítica. Los valores de materia seca se transformaron en porcentajes (%) comparando la materia seca obtenida por los tratamientos herbicidas con la materia seca del testigo, la cual es considerada 100%.

Los análisis estadísticos fueron realizados de forma separada para cada especie de *Amaranthus*, y las repeticiones de los ensayos (REP I y II) fueron sometidas a análisis de varianza utilizando Statistical Analysis System (SAS® OnDemand for Academics, 2022). Los datos de las REP I y II no presentaron diferencias significativas, agrupándose para un análisis adicional. Al observarse una interacción entre biotipos x dosis herbicidas, se realizó un ajuste a la ecuación sigmoideal de tres parámetros con ayuda del programa Sigma Plot en su versión 10.0:

$$Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})/b)) \text{ Ecuación 1}$$

donde Y = es la variable dependiente (% de Control o Materia Seca), X= es la variable independiente (Dosis herbicida (g ea ha⁻¹)); a= diferencia entre las asíntotas de máxima y de mínima; b=pendiente de la curva; X_{a50}= dosis herbicida (g ea ha⁻¹)

responsable de reducir la variable dependiente al nivel correspondiente de 50% del valor de la asíntota de máxima (a). A partir de la ecuación se calcularon los coeficientes: X_{50} = dosis que genera un 50% de control (C_{50}), o reduce en un 50% la materia seca de la parte aérea (MSPA) de los biotipos (GR_{50}), y el factor de resistencia (FR), calculado a través del C_{50R}/C_{50S} y GR_{50R}/GR_{50S} . La resistencia es confirmada cuando el $FR > 1,0$ (Saari et al., 1994).

3.3 HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA CONTROL DE *AMARANTHUS* SPP. RESISTENTE A GLIFOSATO

Para evaluar herbicidas alternativos al glifosato fue realizado un ensayo independiente para cada especie de *Amaranthus*, el cual fue repetido integralmente (REP I y II) durante los meses de febrero y marzo en invernáculos de INIA La Estanzuela, departamento de Colonia, Uruguay. El delineamiento experimental fue completamente al azar con los tratamientos dispuestos en diseño factorial 5 x 6 donde el factor A correspondió a 5 biotipos de *Amaranthus* spp. con distinta susceptibilidad/resistencia y el factor B correspondió a cinco tratamientos herbicidas alternativos (diclosulam (25,2 g ia ha⁻¹); imazetapir (70 g ia ha⁻¹); 2,4-D (720 g ea ha⁻¹); dicamba (96 g ea. ha⁻¹) y fomesafen (500 g ia ha⁻¹), además de un testigo no aplicado.

Tanto la obtención de las plantas de los distintos biotipos de *Amaranthus*, como los aspectos de la aplicación, evaluación y determinaciones finales seguirán los mismos criterios descritos anteriormente para los ensayos de curva de dosis respuesta (ítem 3.2). Los análisis estadísticos fueron realizados de forma independiente para cada especie de *Amaranthus*, comparando las respuestas de control y acumulación de materia seca de los diferentes biotipos frente a los herbicidas alternativos al glifosato. Las repeticiones del ensayo (REP I y II) fueron sometidas a análisis de varianza usando Statistical Analysis System (SAS® OnDemand for Academics 2022). Los datos de las REP I y II no presentaron diferencias significativas, agrupándose los mismos para un análisis adicional. Al observarse una interacción significativa entre los factores evaluados; Biotipos * herbicidas, los datos obtenidos fueron sometidos a una comparación de medias a través del test de Tukey (0,05).

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

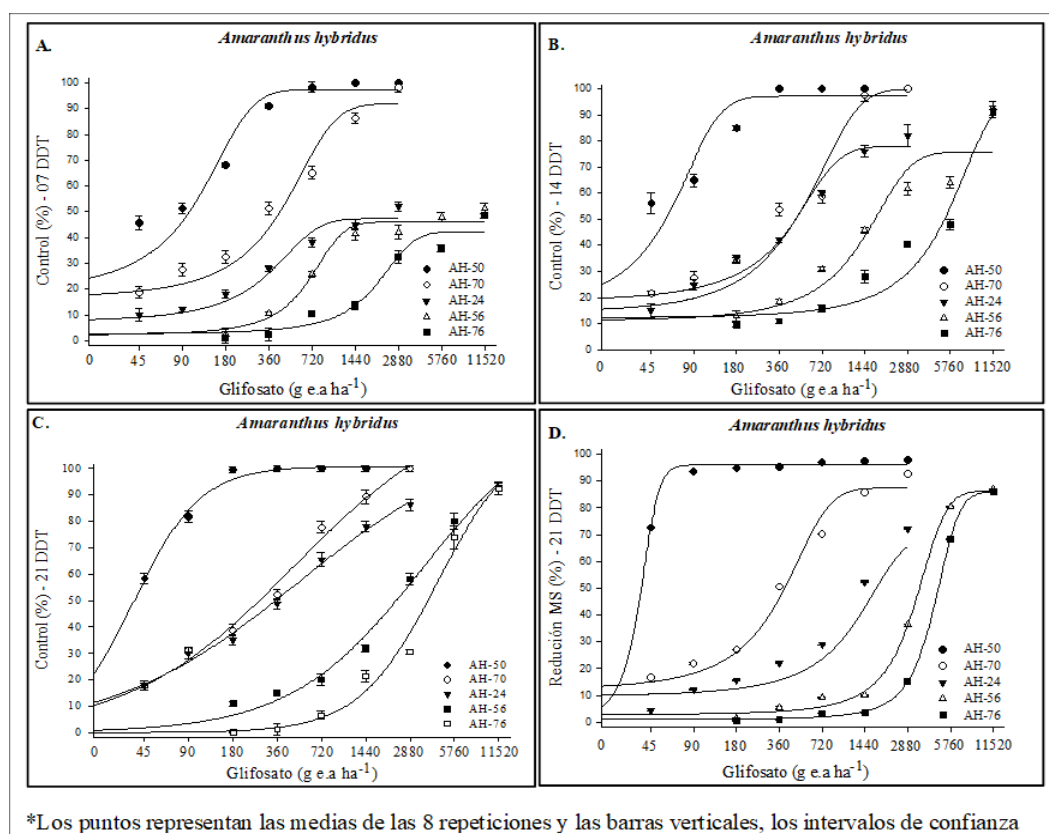
4.1 NIVEL DE RESISTENCIA A GLIFOSATO

4.1.1 Nivel de resistencia a glifosato en *Amaranthus hybridus*

Los resultados obtenidos para control de *A. hybridus* con el herbicida glifosato demostraron interacción significativa entre biotipos y dosis de herbicidas en todos los períodos de evaluación, así como para la reducción de la materia seca a los 21 días después de la aplicación de los tratamientos (DDT). Los datos fueron ajustados al modelo sigmoideal de tres parámetros (Figura 8).

Figura 8

Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para Amaranthus hybridus



Nota. Control (%) a los 07, 14 y 21 días después de los tratamientos (DDT) y Reducción de la Materia Seca (%) a los 21 DDT.

El biotipo susceptible AH-50 presentó un control total de 100% ya a los 7 DDT con la dosis recomendada de 720 g e.a ha⁻¹ de glifosato (Figura 8A). Sin

embargo, para el mismo período, el control obtenido con esta dosis para los biotipos resistentes AH-56 y AH-76 fue inferior a 20%. En la evaluación de los 14 DDT, la tendencia de control fue similar, con control total del biotipo AH-50 con 360 g ea ha⁻¹ de glifosato, la cual corresponde a 0,5x de la dosis recomendada, sin embargo, los biotipos resistentes no tuvieron control superior a 15% con esta dosis herbicida (Figura 8B).

En la evaluación final de control a los 21 DDT, el biotipo susceptible fue controlado con 0,25x de la dosis recomendada, sin embargo, para el biotipo con resistencia moderada AH-24 fueron necesarios 2880 g ea ha⁻¹ para obtener control de 80% (Figura 8C). Por otra parte, para los biotipos resistentes fueron necesarios 11520 g ea ha⁻¹ de glifosato para que el control fuera superior a 80%. Para la misma variable a los 21 DDT fue posible verificar una elevada variabilidad en cuanto a la dosis que controla 50% de la población (C₅₀), los valores C₅₀ fueron de 38,83; 470,90; y 502,61 g ea ha⁻¹ para los biotipos AH-50, AH-70 y AH-24 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2

Ecuación^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de Amaranthus hybridus

Biotipo	a	b	C₅₀ (g ea ha⁻¹)	R^{2b}	FR^c
07 DDT					
AH-50	97,33	69,16	96,63	0,92	-
AH-70	91,91	258,72	388,53	0,94	4,02
AH-24	47,33	191,20	320,68	0,95	3,31
AH-56	46,03	223,05	676,74	0,98	7,00
AH-76	42,27	733,14	1986,78	0,95	20,55
14 DDT					
AH-50	97,14	32,74	54,85	0,92	-
AH-70	99,84	322,85	470,01	0,93	8,57
AH-24	77,95	230,18	338,81	0,94	6,19
AH-56	75,77	705,09	1231,24	0,90	22,44
AH-76	98,04	2652,38	5134,00	0,93	93,60
21 DDT					
AH-50	100,77	-1,94	38,83	0,99	-
AH-70	126,20	-0,77	470,90	0,99	12,13
AH-24	113,87	-0,68	502,61	0,99	12,94
AH-56	123,92	-0,97	3483,61	0,99	89,71
AH-76	113,39	-1,63	4406,42	0,98	113,48
Biotipo	a	b	GR₅₀ (g ea ha⁻¹)	R²	FR
21 DDT					
AH-50	95,99	6,39	37,78	0,99	-
AH-70	87,38	187,92	340,55	0,97	9,01
AH-24	69,95	636,64	1150,74	0,93	30,36
AH-56	86,33	940,83	3191,98	0,99	84,49
AH-76	85,97	987,50	4408,59	0,99	116,69

Nota. ^a $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})/b))$ donde: $X_{a50}=GR_{50}$ ($p < 0,05$) o $X_{a50}=C_{50}$ ($p < 0,05$).
^bCoefficiente de determinación; ^c Factor de Resistencia= $C_{50}R/C_{50}S$ o $GR_{50}R/GR_{50}S$, donde S=AH-50.

C50: dosis necesaria para obtener 50% de control, GR50: dosis necesaria para obtener una reducción de 50% de la materia seca.

Estos valores son menores a la dosis recomendada de glifosato para *A. hybridus* (720 g ea ha⁻¹). Mientras que para los biotipos AH-56 y AH-76, previamente agrupados como resistentes post ensayo de screening, la C₅₀ fue de 3484 y 4406 g ea ha⁻¹ respectivamente, es decir casi 5x y 6x la dosis de etiqueta. De la misma manera, los datos de reducción de la materia seca, evaluado a los 21DDT, seguirán la misma tendencia de lo observado para el control, con reducción de más de 90% de la materia seca del biotipo AH-50 con dosis de apenas 90 g ea ha⁻¹ de glifosato, en comparación al tratamiento testigo del mismo biotipo (Figura 8D). Sin embargo, para el biotipo AH-76 con la dosis más elevada del herbicida la reducción de la MS no fue superior a 85%, cuando es comparado al tratamiento sin aplicación del mismo biotipo. De este modo, los experimentos de dosis respuesta mostraron que no solo es observada una diferencia en el control de los distintos biotipos en respuesta a la aplicación de glifosato, sino que también hay una diferencia en el desarrollo y acumulación de la biomasa. La dosis de glifosato que reduce en un 50% la materia seca (GR₅₀) a los 21 DDT fue de 38 g ea ha⁻¹ en el biotipo más susceptible y de 4408 g ea ha⁻¹ en el biotipo más resistente, es decir, 116 veces mayor. De esta forma, el factor de resistencia calculado en base a GR₅₀ mostró valores de dosis que van desde 9 a 116 veces mayores a la GR₅₀ del biotipo más susceptible.

La ocurrencia de resistencia de *A. hybridus* (ex *quitensis*) al herbicida glifosato en América del Sur fue previamente reportado en Argentina (2013), Brasil (2018), Uruguay (2022) y Paraguay (2022) (Heap, 2024). Los niveles de resistencia reportados para esta especie son superiores a 100 veces la dosis que controla los biotipos susceptibles, esto es resultado especialmente de la presencia de una triple mutación en el enzima blanco de este herbicida (EPSPS) (Perotti et al., 2019). Los resultados obtenidos en este trabajo corroboran lo observado en dicho estudio donde los factores de resistencia (FR) variaron a los 21 DDT entre 9 y 116 (Tabla 2).

En estudios recientemente realizados con el biotipo AH-76, también fue identificado la presencia de la mutación triple en la EPSPS, indicando que este mecanismo de resistencia al glifosato ya está presente en los biotipos uruguayos (Kaspary, Kavanova et al., 2023). Por otra parte, en un trabajo realizado en Brasil con biotipos resistente a glifosato, fue relatado además de la triple mutación en la EPSPS, el aumento del número de copias del gen que codifica a esta enzima,

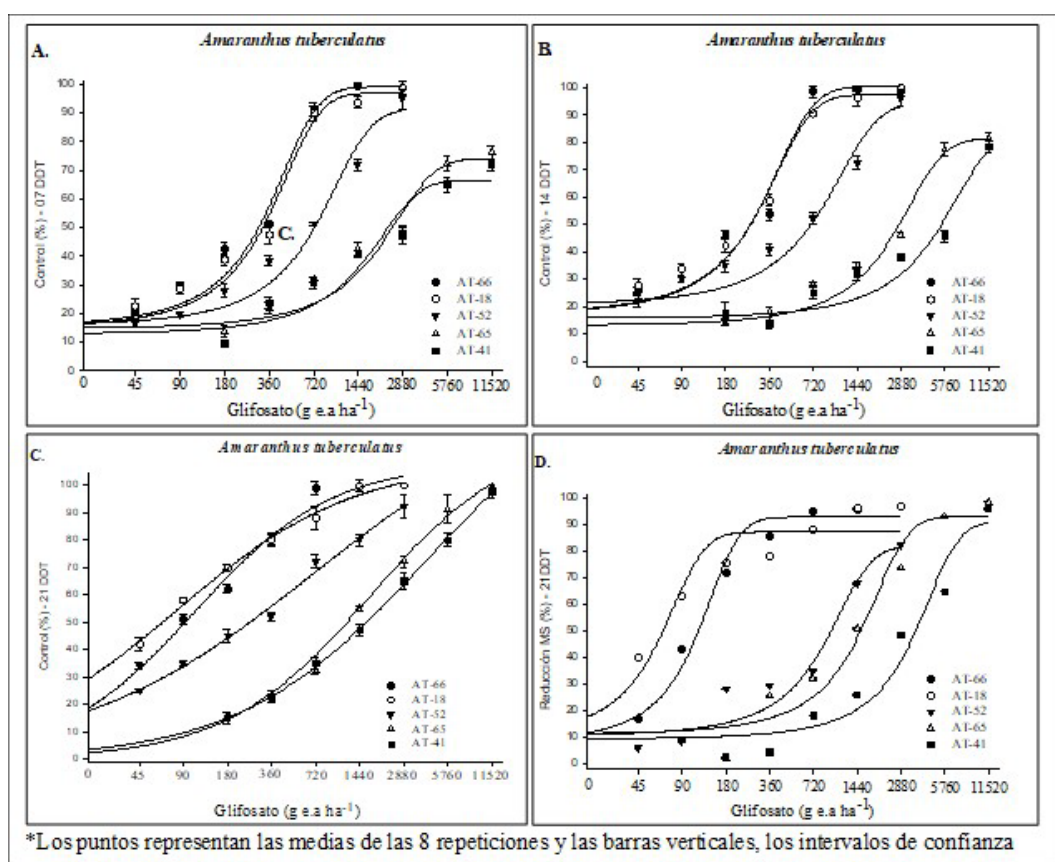
revelando la actuación de un otro mecanismo de resistencia a este herbicida (Sulzbach et al., 2024). En este mismo contexto, otro factor importante para considerar en el escenario de la resistencia de *A. hybridus* a glifosato es que esta es una especie nativa de la zona y está ampliamente distribuida, generando daños a los diferentes sistemas productivos de la región. Esta maleza, además de presentar resistencia a herbicidas posee gran capacidad competitiva con un rápido crecimiento y desarrollo, además de elevada producción y viabilidad de semillas (Bayón, 2022; Larran et al., 2018). En este escenario una única planta de *A. hybridus* por m² puede reducir en promedio en 6,4% el rendimiento de la soja (Barroso et al., 2012; Zandoná et al., 2022).

4.1.2 Nivel de resistencia a glifosato en *Amaranthus tuberculatus*

Los resultados obtenidos para los distintos biotipos de *A. tuberculatus*, tuvieron interacción significativa biotipo x dosis de glifosato en los distintos períodos de evaluación visual y también para la reducción de materia seca a los 21 DDT. Los datos se ajustan al modelo sigmoideal de tres parámetros (Figura 9).

Figura 9

Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para *Amaranthus tuberculatus*



Nota. Control (%) a los 07, 14 y 21 días después de la aplicación de los tratamientos (DDT) y Reducción de la Materia Seca (%) a los 21 DDT.

En este contexto, los biotipos susceptibles AT-66 y AT-18 presentaron un control total de 100% ya a los 7 DDT con la dosis recomendada de 720 g ea ha⁻¹ de glifosato (Figura 9A). Sin embargo, para el mismo período, el control obtenido con esta dosis para los biotipos resistentes AT-65 y AT-41 fue cercano al 20%. A los 14DDT se ve una misma tendencia con control total en biotipos susceptibles y controles del 20% en biotipos resistentes con la dosis de etiqueta del glifosato (Figura 9B).

A los 21DDT se observa que para el biotipo susceptible AT-66 se obtuvo un 100% de control con dosis de 720 g ea ha⁻¹ de glifosato (Figura 9C); En el mismo período el biotipo MR AT-52 tuvo un control de aproximadamente 65% con la misma dosis, mientras que los biotipos R (AT-65 y AT-41) tuvieron niveles de control cercanos al 35% cuando fueron aplicados con esta dosis herbicida (Figura 9C). Por otro lado, los biotipos AT-65 y AT-41 solamente tuvieron un control

superior a 90% cuando fueron utilizadas dosis de 11520 g ea ha⁻¹ de glifosato, esta cantidad de herbicida corresponde a 16 veces la dosis recomendada o de etiqueta para este producto. La utilización de glifosato en dosis inferiores a la recomendada en etiqueta no resultó en el control total de ninguno de los biotipos evaluados. Sin embargo, con la dosis de etiqueta (720 g ea ha⁻¹) o superiores a esta, si se obtuvo un 100% de control en biotipos susceptibles (AT-66 y AT-18) a los 7, 14, y 21 DDT (Figura 9). Igualmente, los datos de reducción de la materia seca, evaluado a los 21DDT, siguen la misma tendencia de lo observado para el control, con una reducción cercana al 90% de la MS de los biotipos susceptibles AT-66 y AT-18 con dosis de 180 g ea ha⁻¹ de glifosato (0.25x la dosis recomendada), cuando es comparado con el tratamiento testigo del mismo biotipo (Figura 9D). Sin embargo, para los biotipos AT-65 y AT-41 se necesitaron dosis de 2880 y 5760 g ea ha⁻¹ respectivamente para lograr los mismos niveles de reducción de la MS cercanos al 90%, cuando es comparado al tratamiento sin aplicación del mismo biotipo.

Se visualiza una elevada variabilidad en los distintos biotipos de *A. tuberculatus* en cuanto a la dosis que controla 50% de la población, a los 21 DDT la C₅₀ es de 108, 80 y 709 g ea ha⁻¹ para los biotipos AT-66, AT-18 y AT-52 respectivamente, esta dosis es menor a la dosis de etiqueta recomendada para el glifosato. Mientras que para los biotipos AT-65 y AT-41, previamente agrupados como resistentes post ensayo de screening, la C₅₀ es 1692 y 3854 g ea ha⁻¹ respectivamente, es decir de aproximadamente 2x y 5x la dosis de etiqueta. A través de los datos de C₅₀ y GR₅₀ fue posible calcular los factores de resistencia (FR) y determinar el nivel de resistencia a glifosato para cada biotipo de *A. tuberculatus* (Tabla 3).

Tabla 3

Ecuación^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de Amaranthus tuberculatus

Biotipo	a	b	C₅₀ (g ea ha⁻¹)	R^{2b}	FR^c
07 DDT					
AT-66	99,15	180,63	303,41	0,96	0,96
AT-18	96,94	185,85	315,39	0,96	-
AT-52	91,19	419,37	648,65	0,94	2,05
AT-65	74,14	1166,37	1615,68	0,91	5,13
AT-41	66,59	909,76	1294,17	0,91	4,10
14 DDT					
AT-66	100,33	171,95	269,43	0,94	1,04
AT-18	97,41	170,10	257,97	0,95	-
AT-52	94,32	504,29	634,92	0,90	2,46
AT-65	81,40	1331,34	2189,10	0,95	8,49
AT-41	83,73	2951,45	4303,59	0,90	16,68
21 DDT					
AT-66	108,18	-0,93	108,57	0,99	1,34
AT-18	108,73	-0,72	80,93	0,99	-
AT-52	136,33	-0,54	709,06	0,99	8,76
AT-65	119,19	-0,88	1692,87	0,99	20,92
AT-41	142,43	-0,69	3854,97	0,99	47,63
Biotipo	a	b	GR₅₀ (g ea ha⁻¹)	R²	FR
21 DDT					
AT-66	92,72	45,98	109,48	0,98	1,88
AT-18	87,11	27,88	58,30	0,93	-
AT-52	81,76	403,27	771,07	0,93	13,22
AT-65	93,01	717,23	1427,72	0,95	33,99
AT-41	91,01	1547,85	3358,53	0,94	66,77

Nota. ^a $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})/b))$ donde: $X_{a50}= GR_{50}$ ($p < 0,05$) o $X_{a50}= C_{50}$ ($p < 0,05$).

^bCoefficiente de determinación; ^c Factor de Resistencia= C_{50R}/C_{50S} o GR_{50R}/GR_{50S} , donde S=AT-18.

C50: dosis necesaria para obtener 50% de control, GR50: dosis necesaria para obtener una reducción de 50% de la materia seca.

Se puede visualizar cuantas veces más elevada es la C_{50} , de los biotipos MR y R evaluados con respecto a la C_{50} del biotipo susceptible (AT-18). A los 21DDT, los valores del FR varían entre 1,34 y 47 veces lo cual confirma la ocurrencia de resistencia en distintos niveles para esta misma especie. Para el caso más contrastante de control, el biotipo más resistente (AT-41) cuando es comparado con en el biotipo más susceptible (AT-18), la C_{50} para el AT-41 fue 4, 16, y 47 veces mayor a los 7, 14 y 21 días DDT respectivamente (Tabla 3).

Mediante la reducción de MS a los 21DDT se observan las diferencias en el desarrollo y la biomasa acumulada que entre los distintos biotipos. La GR_{50} fue de 58 g ea ha⁻¹ para el biotipo más susceptible y de 3358 g ea ha⁻¹ en el biotipo más resistente, es decir, 67 veces mayor. El factor de resistencia calculado en base a GR_{50} mostró valores entre 1,88 a 66 veces mayores en comparación al biotipo susceptible, estos valores de FR obtenidos son mayores a los vistos, tanto en un estudio realizado en Mississippi, Estados Unidos, donde los biotipos de resistentes de *A. tuberculatus* eran 5 veces más resistentes que los biotipos susceptibles de esta especie, atribuidos a una mutación de sitio objetivo en la posición P106 (Pro106-Ser), y una translocación reducida de glifosato, (mecanismos TSR y NTSR respectivamente) (Nandula et al., 2013), como en otro trabajo realizado en Missouri donde los niveles de resistencia a glifosato en biotipos de *A. rudis*, (especie sinónima a *A. tuberculatus*) fueron de 9 a 19 (Legleiter & Bradley, 2008).

Por otro lado, en otro trabajo, se vio que el 91% de los biotipos resistentes a glifosato de *A. tuberculatus* de Illinois tuvieron una amplificación de la enzima EPSPS (Chatham et al., 2015) *A. tuberculatus* es la principal maleza en los estados de Illinois y Misouri (Chatham et al., 2015; Legleiter & Bradley, 2008), la misma presenta una rápida germinación, y durante largos períodos, alta tasa de crecimiento y producción de semillas, pudiendo ocasionar pérdidas de hasta 43% en el cultivo de soja (Hager et al., 2002). La ocurrencia de resistencia a glifosato *A. tuberculatus* en América del Sur fue reportado únicamente en Uruguay (2022) (Heap, 2024).

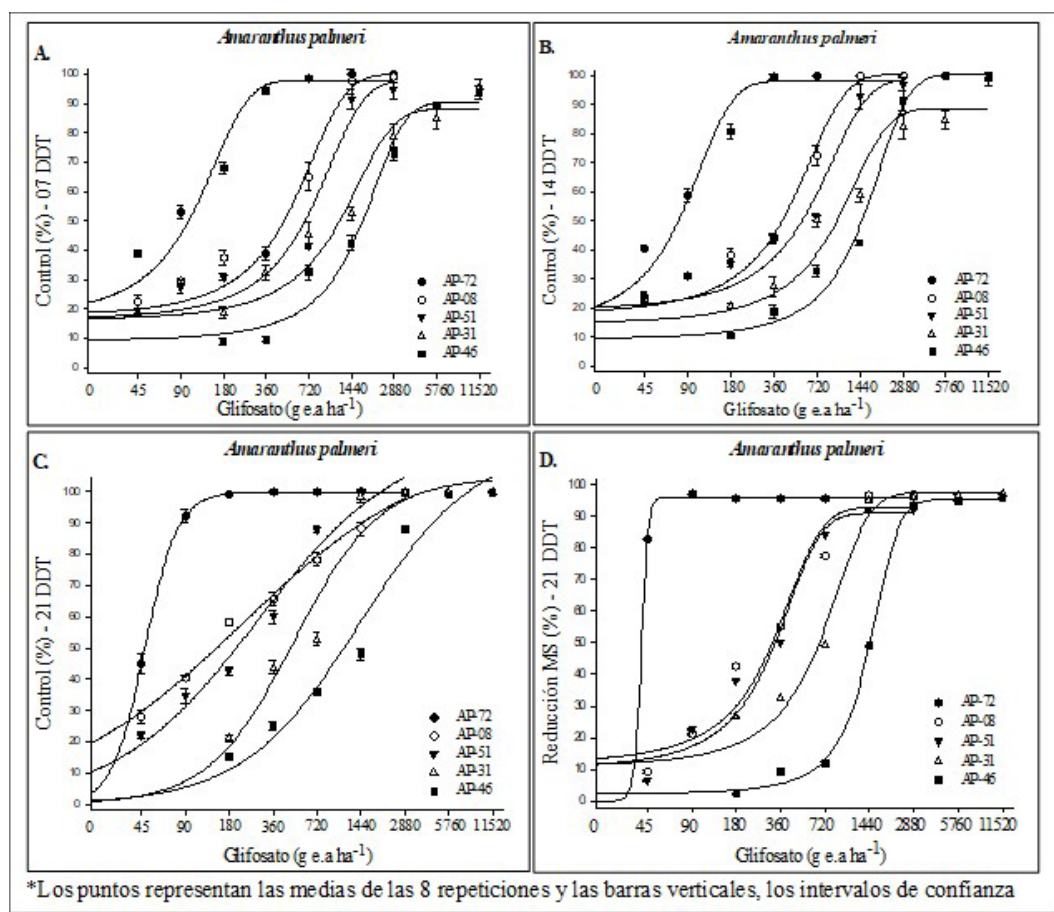
4.1.3 Nivel de resistencia a glifosato en *Amaranthus palmeri*

La evaluación del nivel de resistencia en diferentes biotipos de *A. palmeri* demostró interacción significativa entre biotipos y dosis de glifosato, tanto para los valores de control evaluados a los 7, 14 y 21 DDT, como para para la reducción de

la materia seca a los 21 DDT. De esta forma, los datos fueron ajustados a un modelo sigmoïdal de tres parámetros (Figura 10).

Figura 10

Control (%) y Reducción de la Materia Seca (%) para Amaranthus palmeri



Nota. Control (%) a los 07, 14 y 21 días después de la aplicación de los tratamientos (DDT) y Reducción de la Materia Seca (%) a los 21 DDT.

Mediante evaluación visual, ya a los 7 DDT se observa que el biotipo susceptible AP-72 fue controlado totalmente con la dosis de 360 g e.a ha⁻¹ lo cual corresponde a 0,5x la dosis recomendada de glifosato. Sin embargo, esta dosis no llego a controlar un 40 % en los demás biotipos de *A. palmeri* evaluados. En el mismo período de evaluación, con la dosis de 720 g e.a ha⁻¹ (recomendada para esta especie) se obtiene un control menor al 50 % en biotipos MR y R (Figura 10A).

A los 14DDT fue observada una tendencia similar, con control del 100 % y 70% en biotipos susceptibles AP-72 y AP-08 respectivamente con la dosis recomendada de glifosato (Figura 10B). Sin embargo, con esta misma dosis se obtuvieron controles

menores al 50 % en biotipos AP-51, AP-31 y AP-46. Por otro lado, a los 21DDT (Figura 10C) se observa que en biotipos MR (AP-51) y R (AP-31) fueron controlados con dosis de 2880 g ea ha⁻¹ de glifosato, lo que equivale a 4x la dosis de etiqueta recomendada, en el mismo período, el biotipo R (AP-46) tuvo niveles de control cercanos al 70 % para esta misma dosis herbicida. Para alcanzar un control del 100 % del biotipo AP-46 fueron necesarias dosis superiores a 5760 g ea ha⁻¹ (Mas de 8x la dosis recomendada). De este modo, con la dosis recomendada en la etiqueta se logra un 100 % de control solo para el biotipo AP-72 a los 7,14 y 21 DDT, indicando que para este biotipo el glifosato aún es eficaz en el control. Sin embargo, con esta dosis apenas se logra controlar un 20 % del biotipo más resistente (AP-46).

Con respecto a los datos de reducción de la materia seca, evaluado a los 21DDT, es observada una reducción mayor al 90 % de la MS del biotipo susceptible AP-72 con dosis de 45 g ea ha⁻¹ de glifosato (0.0625x la dosis recomendada), cuando es comparado con el tratamiento testigo del mismo biotipo (Figura 10D). Para los biotipos AP-08 y AP-51 con la dosis de etiqueta de 720 g ea ha⁻¹ se obtuvieron niveles de reducción de la MS cercanos al 90 %, cuando es comparado al tratamiento sin aplicación del mismo biotipo. Sin embargo, las dosis que lograron reducir la MS en más del 90 % en biotipos R, AP-31 y AP-46 fueron de 1440 y 2880 g ea ha⁻¹ respectivamente. En este contexto, teniendo en cuenta la dosis recomendada, es posible obtener reducciones de la MS del 80-90 % en los biotipos AP-08 y AP-51, de 50 % para el AP-31 y del 10 % en AP-46. Por lo tanto, a los 21 DDT fue observado elevada variabilidad en la C₅₀ en los distintos biotipos de *A. Palmeri*, donde las dosis de glifosato fueron de 47, 220, 281 y 502 g ea ha⁻¹ para los biotipos AP-72, AP-08, AP-51 y AP-31 respectivamente. Mientras que para el biotipo AP-46, previamente agrupado como resistentes post ensayo de screening, la C₅₀ es 1407 g ea ha⁻¹, es decir de aproximadamente 2x la dosis recomendada (Tabla 4).

Tabla 4

Ecuación^a utilizada para determinar la C50 o GR50 de biotipos de Amaranthus palmeri

Biotipo	a	b	C₅₀ (g ea ha⁻¹)	R²	FR
07 DDT					
AP-72	97,92	64,57	99,62	0,94	-
AP-08	99,97	315,83	482,01	0,94	4,84
AP-51	97,80	416,50	416,50	0,92	4,18
AP-31	88,05	682,70	1006,89	0,93	10,11
AP-46	90,34	726,47	1572,78	0,97	15,79
14 DDT					
AP-72	98,13	42,08	76,25	0,96	-
AP-08	100,43	273,58	414,38	0,95	5,43
AP-51	98,70	399,49	558,60	0,92	7,33
AP-31	88,73	537,79	862,74	0,94	11,31
AP-46	100,34	661,76	1499,39	0,98	19,66
21 DDT					
AP-72	99,84	-3,88	47,35	0,99	-
AP-08	115,54	-0,67	220,62	0,99	4,65
AP-51	117,79	-0,89	281,92	0,98	5,95
AP-31	104,57	-1,49	502,50	0,97	10,61
AP-46	115,46	-1,09	1407,72	0,98	29,73
Biotipo	a	b	GR₅₀ (g ea ha⁻¹)	R²	FR
21 DDT					
AP-72	95,89	2,17	41,02	0,99	-
AP-08	92,72	154,36	293,25	0,95	7,14
AP-51	90,91	146,95	302,07	0,97	7,36
AP-31	97,35	312,39	641,83	0,97	15,65
AP-46	95,2	380,45	1417,88	0,99	34,57

Nota. ^a $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})/b))$ donde: $X_{a50}=GR_{50}$ ($p < 0,05$) o $X_{a50}=C_{50}$ ($p < 0,05$).

^bCoefficiente de determinación; ^c Factor de Resistencia= C_{50R}/C_{50S} o GR_{50R}/GR_{50S} , donde S= AP-72.

C50: dosis necesaria para obtener 50% de control, GR50: dosis necesaria para obtener una reducción de 50% de la materia seca.

Los factores de resistencia (FR) calculados a partir de los datos de C₅₀, determinaron cuantas veces superior es la C₅₀, de los biotipos MR y R en relación

con la C_{50} del biotipo susceptible (AP-72), a los 21DDT, los valores varían entre 4,65 y 30 veces, confirmando la ocurrencia de resistencia a glifosato en distintos niveles para la especie de *A. palmeri*. (Tabla 4). En cuanto a la GR_{50} a los 21DDT, fue de 41 g ea ha⁻¹ en el biotipo susceptible (AP-72) y de 1417 g ea ha⁻¹ en el biotipo más resistente (AP-46), es decir, 34 veces superior.

En América del Sur, la ocurrencia de resistencia al herbicida glifosato en *A. palmeri* fue reportada previamente en Argentina (2015), Brasil (2015) y Uruguay (2022) (Heap, 2024). Los FR obtenidos en este trabajo son similares a lo reportado en estudios realizados en Argentina, donde los FR calculados en base a las GR_{50} fueron de 24,5 a 47,2 (Larran et al., 2021). Estos valores de FR fueron asociados a la presencia de la sustitución P106S en el gen de la enzima EPSPS, la cual estuvo presente en todas las plantas resistentes analizadas, además, algunas plantas presentaron un leve incremento en la amplificación del gen EPSPS (Larran et al., 2021).

Por otro lado en un trabajo realizado en México, se obtuvieron valores de FR calculados en base a la GR_{50} que van de 12 a 83, más altos que los obtenidos en esta investigación (7 a 34), la explicación de estos mayores niveles de resistencia se podría deber a que algunos biotipos de *A. palmeri* colectados en campos de algodón en el norte de México presentaron además de una mutación P106S, una baja absorción y translocación de glifosato, lo que indica la participación en conjunto de mecanismos TSR y NTSR en esta especie (Dominguez-Valenzuela et al., 2017). En otro trabajo, con biotipos resistentes de *A. palmeri* provenientes del estado de Georgia, Estados Unidos se vio en su genoma que contenían 5 a 160 veces más copias del gen EPSPS que las plantas susceptibles, lo que confirmaría por primera vez la amplificación de la enzima EPSPS como mecanismos de resistencia de esta especie a glifosato (Gaines et al., 2010).

En Argentina, ensayos revelaron que biotipos resistentes de *A. palmeri*, fueron 34,6 veces más resistentes que biotipos susceptibles basados en la GR_{50} , mismos valores se obtuvieron en esta investigación, donde el FR en base a la GR_{50} fue de 34,6 para el caso del biotipo AP-46 (34,6 veces más resistente en comparación al biotipo susceptible AP-72) (Tabla 4). Los biotipos resistentes a glifosato colectados en campos de Córdoba no presentaron mutaciones en EPSPS ni diferencias en la actividad de esta enzima en comparación a biotipos susceptibles,

sino que mostraron una menor absorción y translocación del herbicida en comparación a las susceptibles, siendo el primer caso de resistencia *A. palmeri* basado únicamente en mecanismos NTSR en el mundo (Palma-Bautista et al., 2019).

4.2 Herbicidas alternativos para el control de *Amaranthus* spp. resistentes a glifosato

Se evaluaron distintas alternativas herbicidas para el control de *Amaranthus* spp. resistentes al glifosato. Los tratamientos ensayados fueron seis: diclosulam (25,2 g ia ha⁻¹); imazetapir (70 g ia ha⁻¹); 2,4-D (720 g ea ha⁻¹); dicamba (96 g ea. ha⁻¹) y fomesafen (500 g ia ha⁻¹), además de un testigo sin aplicación. En lo que respecta al % de control a los 21 DDT (Tabla 5) se destacan dos herbicidas hormonales como el 2,4-D y dicamba, dos auxinas sintéticas, los cuales presentaron un excelente control de los distintos biotipos de *Amaranthus* evaluados, pudiendo ser considerados como una buena alternativa al glifosato, y que por el momento no presentan resistencia en Uruguay.

Tabla 5*Control (%) de Amaranthus spp. resistente a glifosato a los 21 DDT alternativos*

Tratamiento	Testigo	Diclosulam	Imazetapir	2,4-D	Dicamba	Fomesafen
Biotipo		<i>Amaranthus hybridus</i>				
AH-50	0,00 Ae*	38,90 Bd	50,75 Ac	100,0 Aa	92,50 Aab	85,25 Bb
AH-70	0,00 Ad	20,75 Cc	30,50 Cb	98,4 Aa	100,0 Aa	100,00 Aa
AH-24	0,00 Ac	50,75 Ab	45,30 Bb	100,0 Aa	95,00 Aa	95,12 Aa
AH-56	0,00 Ac	20,00 Cb	25,90 Cb	100,0 Aa	96,75 Aa	100,00 Aa
AH-76	0,00 Ac	0,00 Dc	15,00 Db	100,0 Aa	98,50 Aa	100,00 Aa
CV (%)	14,28					
Biotipo		<i>Amaranthus tuberculatus</i>				
AT-66	0,00 Ab	5,00 Cb	8,40 Bb	100,0 Aa	91,50 Aa	100,00 Aa
AT-18	0,00 Ac	25,60 Ab	20,50 Ab	100,0 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
AT-52	0,00 Ad	15,25 Bc	14,75B	100,0 Aa	93,00 Aa	50,80 Bb
AT-65	0,00 Ac	0,00 Cc	0,00 Cc	100,0 Aa	92,15 Aa	43,75 Bb
AT-41	0,00 Ac	0,00 Cc	0,00 Cc	95,12 Aa	91,45 Aa	20,00 Cb
Biotipo		<i>Amaranthus palmeri</i>				
CV (%)	11,91					
AP-72	0,00Ac	25,00Bb	32,75Bb	100,0 Aa	100,00 Aa	25,70 Bb
AP-08	0,00 Ac	12,50 Cb	20,25 Cb	100,0 Aa	100,00 Aa	90,00 Aa
AP-51	0,00 Ac	40,25 Ab	45,50 Ab	100,0 Aa	91,40 Aa	100,00 Aa
AP-31	0,00 Ac	15,75 Cb	0,00 Dc	92,30 Aa	94,80 Aa	100,00 Aa
AP-46	0,00 Ac	12,25 Cb	14,00 Cb	90,60 Aa	98,30 Aa	100,00 Aa
CV (%)	12,23					

Nota. *Letras mayúsculas en la columna comparan el efecto del herbicida sobre diferentes biotipos de una misma especie de *Amaranthus*, y letras minúsculas en la línea comparan el comportamiento de un biotipo frente a diferentes herbicidas por test de Tukey (0.05).

Resultados similares a los de este experimento se vieron en un trabajo realizado en Arkansas donde se obtuvieron controles mediante evaluación visual del 99-100% con los herbicidas 2,4-D y dicamba en un biotipo de *A. palmeri* resistente a glifosato (Norsworthy et al., 2008). Sin embargo, trabajos realizados en Argentina ya relataran la ocurrencia de resistencia a de *A. hybridus*. a 2,4-D y dicamba (Dellafrera et al., 2018). De esta manera, a pesar de que estos productos todavía siguen siendo efectivos en el manejo de los biotipos de Uruguay, es importante que estos herbicidas no sean la única herramienta de manejo de estas malezas para evitar o atrasar la selección a la resistencia.

Por otro lado, fomesafen, herbicida inhibidor de la protoporfirinogeno oxidasa (PPO), comúnmente utilizado como herramienta de post-emergencia en el cultivo de soja, puede ser una alternativa para el control de *A. hybridus* ya que no se vieron diferencias significativas en los biotipos de esta especie con los controles obtenidos para 2,4-D y dicamba, es importante considerar que la aplicación se realizó cuando las plantas tenían entre 4-5 hojas verdaderas, puede que las plantas hayan tenido un tamaño superior al momento de la aplicación con respecto a lo recomendado en la etiqueta para este herbicida (2-4 hojas). similares resultados se vieron en un biotipo de *A. palmeri* resistente a glifosato en Arkansas donde se obtuvo un control de 100% con fomesafen (Norsworthy et al., 2008). Sin embargo, fueron observadas algunas fallas en el control de biotipos pertenecientes a las especies *A. tuberculatus* y *A. palmeri*. En este sentido para *A. palmeri* fue observado un bajo control del biotipo AP-72, susceptible a glifosato. En *A. tuberculatus* los biotipos AT-52, AT-65 y AT-41 presentaron controles menores al 50 %, indicando que este herbicida presenta menor eficacia en esta especie. Es importante considerar que estas dos últimas especies llegaron importadas al país proveniente de Estados Unidos y probablemente ya presentaban baja susceptibilidad a este herbicida antes de ingresar a Uruguay, ya que son varios los casos de resistencia a este herbicida reportados en dicho país en estas dos especies (Heap, 2024). Actualmente en Argentina, vecino agrícola de Uruguay, ya son reportadas biotipos de *A. hybridus* resistentes a fomesafen, revelando una tendencia de selección también para esta especie (Heap, 2024).

Herbicidas como diclosulam e imazetapir ambos inhibidores de la ALS, tuvieron controles insuficientes en todos los biotipos de *Amaranthus* spp., en ningún caso supera el 50 % de control e incluso llega a presentar controles de 0 % en algunos biotipos (Tabla 5). A partir de estos resultados se puede inferir la ocurrencia de resistencia múltiple, para los inhibidores de la ALS y glifosato en todas las especies de *Amaranthus* estudiadas, en este contexto, trabajos realizados con *A. hybridus* colectados en distintas zonas productivas de Uruguay ya demuestran la ocurrencia de resistencia múltiple a estos herbicidas en nuestro país (Kaspary et al., 2022). En este sentido, es importante destacar que casos de resistencia de *Amaranthus* spp. a inhibidores de la ALS son comúnmente reportados desde hace varios años en diferentes zonas productivas de Estados Unidos, Argentina y Brasil,

el primer caso de resistencia en Estados Unidos se confirmó en 1992 y en Argentina en el año 1996 (Heap, 2024). Por otra parte, a pesar de no haber una confirmación oficial de la ocurrencia de resistencia de *A. palmeri* y *A. tuberculatus* a los inhibidores de la ALS en Uruguay, los relatos de campo y los datos obtenidos en el presente trabajo, tornan prácticamente inviable la utilización de estos herbicidas para el manejo de *Amaranthus* spp. en nuestros sistemas productivos. Los datos obtenidos en la evaluación del peso de la materia seca a los 21 DDT corroboran lo observado para el nivel de control (Tabla 6).

Tabla 6

Materia seca (g planta⁻¹) de Amaranthus spp. resistente a glifosato a los 21 DDT alternativos

Tratamiento	Testigo	Diclosulam	Imazetapir	2,4-D	Dicamba	Fomesafen
Biotipo		<i>Amaranthus hybridus</i>				
AH-50	2,149 Aa*	1,523 Bb	1,034 Cc	0,527 ABd	0,621 Ad	0,812 Bcd
AH-70	2,092 Aa	1,843 Aa	1,692 Ba	0,090 Bb	0,422 Ab	0,374 Cb
AH-24	2,247 Aa	1,138 Cb	1,090 Cb	0,332 Bc	0,587 Ac	0,369 Cc
AH-56	1,983 Aa	1,812 ABa	1,801 ABa	0,467 ABb	0,391 Ab	0,151 Cb
AH-76	2,332 Aa	2,257 Aa	2,043 Aa	0,552 ABb	0,439 Ab	0,081 Cb
CV (%)	10,34					
Biotipo		<i>Amaranthus tuberculatus</i>				
AT-66	2,166 Aa	2,025 Aa	2,348 Aa	0,257 Bb	0,526 Ab	0,182 Cb
AT-18	2,329 Aa	2,244 Aa	2,206 Aa	0,118 Bb	0,322 Ab	0,094 Cb
AT-52	1,803 Aa	1,574 Ba	1,703 Ba	0,086 Bb	0,618 Ab	1,668 Aa
AT-65	2,042 Aa	2,122 Aa	2,105 Aa	0,135 Bc	0,594 Ac	1,127 Ab
AT-41	1,953 Aa	2,029 Aa	1,974 ABa	0,448 ABb	0,539 Ab	1,682 Aa
CV (%)	15,03					
Biotipo		<i>Amaranthus palmeri</i>				
AP-72	1,752 Aa	1,749 ABa	1,523 Ba	0,155 Bc	0,579 Ac	1,131 ABb
AP-08	2,175 Aa	1,910 Aa	2,002 Aa	0,387 Bb	0,485 Ab	0,302 Cb
AP-51	2,064 Aa	1,298 BCb	1,120 Cb	0,523 ABc	0,509 Ac	0,214 Cc
AP-31	2,286 Aa	2,209 Aa	2,374 Aa	0,345 Bb	0,642 Ab	0,228 Cb
AP-46	2,391 Aa	2,127 Aa	2,096 Aa	0,842 Ab	0,441 Ab	0,082 Cb
CV (%)	12,14					

Nota. *Letras mayúsculas en la columna comparan el efecto del herbicida sobre diferentes biotipos de una misma especie de *Amaranthus*, y letras minúsculas en la línea comparan el comportamiento de un biotipo frente a diferentes herbicidas, a partir del test de Tukey (0.05).

En este contexto, los herbicidas 2,4-D y dicamba fueron los que redujeron significativamente la biomasa de todos los biotipos evaluados, confirmando que al

momento son una buena herramienta química alternativa al glifosato para el control de estas especies. Por otra parte, el Fomesafen, presentó reducciones significativas de biomasa en todos los biotipos de *A. hybridus*, donde no fueron observadas diferencias significativas con los valores obtenidos para los herbicidas 2,4-D y dicamba. Sin embargo, para la especie *A. palmeri* se observó una menor reducción de materia seca en el biotipo AP-72 en comparación a los demás biotipos de esta especie, de forma similar a los resultados obtenidos en % de control a los 21DDT. En el caso de los biotipos AT-52, AT-65 y AT-41 los mismos tuvieron una reducción significativamente inferior en la materia seca en comparación a los biotipos AT-66 y AT-18 (Tabla 6). En un trabajo realizado en Brasil se vieron controles del 100% con fomesafen en biotipos *A. palmeri* colectados en Ipiranga do Norte cuando el mismo fue aplicado con un tamaño de la maleza de 2 a 4 hojas, pero presentando controles deficientes cuando la maleza tenía un tamaño de 6 a 8 hojas, herbicidas PPO son comúnmente utilizados en biotipos de *Amaranthus* resistentes a glifosato y ALS, estos herbicidas tienen poca o nula movilidad en planta por lo que especies con un rápido crecimiento vegetativo como las *Amaranthus* pueden recuperar en poco tiempo el área foliar afectada por el herbicida, debido a esto cobra importancia la aplicación cuando la planta es pequeña y joven para lograr una mayor eficiencia de control (Gonçalves Netto et al., 2019). Fomesafen puede ser una buena herramienta para el manejo de las resistencias si es usado racionalmente, son más de 21 los casos de resistencia a este herbicida en distintas especies de *Amaranthus* a nivel mundial, un caso de resistencia reciente se encontró en una población de *A. palmeri* de Georgia donde la máxima reducción en la acumulación de materia seca fue de un 85% con dosis de hasta 40X la dosis de etiqueta (420 g ia ha⁻¹) dando un FR de 238 (Randell-Singleton et al., 2024).

Para los herbicidas inhibidores de la ALS, diclosulam e imazetapir, la evaluación de la materia seca tuvo comportamiento similar a lo observado para el nivel de control, donde en *A. hybridus* la reducción fue de aproximadamente un 50 % en el biotipo AH-24 (Tabla 6). Sin embargo, los demás biotipos AH-76 y AH-56 no presentaron diferencia en la acumulación de materia seca entre los tratamientos diclosulam, imazetapir y testigo. El efecto de estos dos herbicidas sobre la acumulación de materia seca de los biotipos de *A. tuberculatus* no fue significativo, en comparación a los respectivos testigos (Tabla 6). En este mismo sentido, para

los biotipos de *A. palmeri* los herbicidas imazetapir y diclosulam no fueron capaz de generar grandes reducciones en la materia seca, excepto para el biotipo AP-51 que presento una reducción de aproximadamente 45% para esta variable en comparación con su respectivo testigo, en un trabajo realizado en Argentina se vio que biotipos de *A. palmeri* presentaron resistencia cruzada tanto a imazapic (imidazolinona) como a diclosulam (triazolpirimidinas) (Berger et al., 2016) en otro trabajo realizado en el mismo país, un biotipo de *A. hybridus* presento resistencia a imazetapir, ya que la biomasa se redujo solo un 54 % con dosis de 20X la dosis de etiqueta para este producto (100 g ia ha⁻¹) (Tuesca & Nisensohn, 2001).

5. CONCLUSIONES

Las distintas especies de *Amaranthus* spp. demostraron gran variabilidad en sus biotipos en cuanto a la ocurrencia y el nivel de resistencia al herbicida glifosato. Para la especie *A. hybridus*, autóctona de Uruguay, fue determinada la ocurrencia de biotipos resistentes al glifosato y presentaron FR entre 12 y 113, demostrando la gran variabilidad de respuestas de estas malezas al herbicida evaluado. La resistencia también fue confirmada para las otras dos especies de *Amaranthus* evaluadas, ambas originarias de América del Norte, con FR variando entre 8 y 47 para el *A. tuberculatus* y 4 y 29 para el *A. palmeri*. De esta forma, es confirmada formalmente la ocurrencia en alto nivel de resistencia al glifosato de las tres especies de *Amaranthus* presentes y con mayor relevancia en los sistemas productivos de Uruguay.

Por otra parte, la búsqueda de alternativas herbicidas para manejar los biotipos de *Amaranthus* spp. resistentes al glifosato, demostró que contamos con una posible evolución de estas especies de malezas a la resistencia de los herbicidas inhibidores de la ALS y también al fomesafen en algún caso específico. Esta evolución a la resistencia de los diferentes herbicidas debe servir de alerta para preservar moléculas como el 2,4-D y dicamba que todavía son eficaces en el manejo de distintas especies de *Amaranthus*. De esta forma la utilización de otras herramientas químicas como los preemergentes y herbicidas con mecanismos de acción distintos, asociados a métodos no químicos de manejo de malezas, como es el caso de los cultivos de cobertura, rotación de cultivos, fecha de siembra, arreglo espacial, el manejo de la fertilización, entre otras, deben ser estimulados con el objetivo de reducir la presión de selección y la ocurrencia de nuevos casos de resistencia a herbicidas en Uruguay.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Arbeletche, P., Ernst, O., & Hoffman, E. (2010). La Agricultura en Uruguay y su Evolución. En F. García Préchac, O. Ernst, P. Arbeletche, M. Pérez Bidegain, C. Pritsch, A. Ferenczi, & M. Rivas (Eds.), *Intensificación agrícola: Oportunidades y amenazas para un país productivo y natural* (pp. 13-27). Universidad de la República.
- Baerson, S. R., Rodriguez, D. J., Tran, M., Feng, Y., Biest, N. A., & Dill, G. M. (2002). Glyphosate-Resistant Goosegrass. Identification of a Mutation in the Target Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase. *Plant Physiology*, 129(3), 1265-1275. <https://doi.org/10.1104/pp.001560>
- Barroso, A. A. M., Yamauti, M. S., Nepomuceno, M. P., & Alves, P. L. C. A. (2012). Efeito da densidade e da distância de caruru-de-mancha e amendoim-bravo na cultura do feijoeiro. *Planta Daninha*, 30(1), 47-53. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582012000100006>
- Bayón, N. D. (2022). Identifying the weedy amaranths (*Amaranthus*, Amaranthaceae) of South America. *Advances in Weed Science*, 40(spe2), Artículo e0202200013. <https://doi.org/10.51694/AdvWeedSci/2022;40:Amaranthus007>
- Berger, S., Madeira, P. T., Ferrell, J., Gettys, L., Morichetti, S., Cantero, J. J., & Nuñez, C. (2016). Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) Identification and Documentation of ALS-Resistance in Argentina. *Weed Science*, 64(2), 312-320. <https://doi.org/10.1614/WS-D-15-00125.1>
- Burger, M., Bajsa, N., Evia, V., Artía, P., Bandeira, E., Taroco, L., Rosano, L., Rama, P., Franco Fraguas, L., Toledo, S., Galeano, P., Galván, G., Cauci, A., Martínez Debat, C., Oyhantçabal, G., & Barcia, M. (2017). *Cultivos transgénicos en Uruguay: Aportes para la comprensión de un tema complejo*. CSIC. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/32798>
- Burgos, N., Tranel, P., Streibig, J., Davis, V., Shaner, D., Norsworthy, J., & Ritz, C. (2013). Review: Confirmation of Resistance to Herbicides and Evaluation of Resistance Levels. *Weed Science*, 61(1), 4-20. <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00032.1>

- Carmona Pinto, W., & Orsini Velazquez, G. (2010). Sinopsis del subgénero *amaranthus* (*amaranthus*, *amaranthaceae*) en Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 33(2), 329-355.
- Chatham, L. A., Wu, C., Riggins, C. W., Hager, A. G., Young, B. G., Roskamp, G. K., & Tranel, P. J. (2015). EPSPS Gene Amplification is Present in the Majority of Glyphosate-Resistant Illinois Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) Populations. *Weed Technology*, 29(1), 48-55.
<https://doi.org/10.1614/WT-D-14-00064.1>
- Costea, M., Sanders, A., & Waines, G. (2001). Preliminary results toward a revision of the *amaranthus hybridus* species complex (*amaranthaceae*). *SIDA, Contributions to Botany*, 19(4), 931-974.
<http://www.jstor.org/stable/41967947>
- Costea, M., Weaver, S. E., & Tardif, F. J. (2005). The Biology of Invasive Alien Plants in Canada. 3. *Amaranthus tuberculatus* (Moq.) Sauer var. *Rudis* (Sauer) Costea & Tardif. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(2), 507-522. <https://doi.org/10.4141/P04-101>
- Culpepper, A. S., Grey, T. L., Vencill, W. K., Kichler, J. M., Webster, T. M., Brown, S. M., York, A. C., Davis, J. W., & Hanna, W. W. (2006). Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. *Weed Science*, 54(4), 620-626. <https://doi.org/10.1614/WS-06-001R.1>
- De la Fuente, E. B., Suárez, S. A., & Ghersa, C. M. (2006). Soybean weed community composition and richness between 1995 and 2003 in the Rolling Pampas (Argentina). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 115(1-4), 229-236. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.01.009>
- Dellafrera, I., Cortés, E., Panigo, E., De Prado, R., Christoffoleti, P., & Perreta, M. (2018). First Report of *Amaranthus hybridus* with Multiple Resistance to 2,4-D, Dicamba, and Glyphosate. *Agronomy*, 8(8), Artículo e140.
<https://doi.org/10.3390/agronomy8080140>

- Dominguez-Valenzuela, J. A., Gherekhloo, J., Fernández-Moreno, P. T., Cruz-Hipolito, H. E., Alcántara-de La Cruz, R., Sánchez-González, E., & De Prado, R. (2017). First confirmation and characterization of target and non-target site resistance to glyphosate in Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) from Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry*, *115*, 212-218. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.03.022>
- Duke, S. O. (2012). Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? *Pest Management Science*, *68*(4), 505-512. <https://doi.org/10.1002/ps.2333>
- Duke, S. O., Lydon, J., Koskinen, W. C., Moorman, T. B., Chaney, R. L., & Hammerschmidt, R. (2012). Glyphosate Effects on Plant Mineral Nutrition, Crop Rhizosphere Microbiota, and Plant Disease in Glyphosate-Resistant Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(42), 10375-10397. <https://doi.org/10.1021/jf302436u>
- Duke, S. O., & Powles, S. B. (2008). Glyphosate: A once in a century herbicide. *Pest Management Science*, *64*(4), 319-325. <https://doi.org/10.1002/ps.1518>
- Ehleringer, J. (1983). Ecophysiology of *Amaranthus palmeri*, a sonoran desert summer annual. *Oecologia*, *57*(1-2), 107-112. <https://doi.org/10.1007/bf00379568>
- Ernst, O., & Siri-Prieto, G. (2011). La agricultura en Uruguay: Su trayectoria y consecuencias. En Facultad de Agronomía (Ed.), *II Simposio Nacional de Agricultura: No se llega, si no se sabe a dónde ir: El abordaje necesario para que el proceso de expansión agrícola madure en Uruguay* (pp. 149-163).
- Fernández, G., Villalba, J., & Scaglia, L. (2013). El manejo de herbicidas y la situación actual de malezas. En Facultad de Agronomía (Ed.), *3º Simposio Nacional de Agricultura* (pp. 125-133).
- Fisher, A. (2011). Mecanismos y mitigación de la resistencia a herbicidas. En J. R. Arévalo, S. Fernández, F. López, J. Recasens, & E. Sobrino (Eds.), *XXIII Congreso de la Sociedad Española de Malherbología* (pp. 101-111). Universidad de La Laguna; SEMh.

- Gaines, T. A., Duke, S. O., Morran, S., Rigon, C. A. G., Tranel, P. J., Küpper, A., & Dayan, F. E. (2020). Mechanisms of evolved herbicide resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 295(30), 10307-10330. <https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.013572>
- Gaines, T. A., Patterson, E. L., & Neve, P. (2019). Molecular mechanisms of adaptive evolution revealed by global selection for glyphosate resistance. *New Phytologist*, 223(4), 1770-1775. <https://doi.org/10.1111/nph.15858>
- Gaines, T. A., Slavov, G. T., Hughes, D., Küpper, A., Sparks, C. D., Oliva, J., Vila-Aiub, M. M., García, M. A., Merotto, A., Jr, & Neve, P. (2021). Investigating the origins and evolution of a glyphosate-resistant weed invasion in South America. *Molecular ecology*, 30(21), 5360-537. <https://doi.org/10.1111/mec.16221>
- Gaines, T. A., Zhang, W., Wang, D., Bukun, B., Chisholm, S. T., Shaner, D. L., Nissen, S. J., Patzoldt, W. L., Tranel, P. J., Culpepper, A. S., Grey, T. L., Webster, T. M., Vencill, W. K., Sammons, R. D., Jiang, J., Preston, C., Leach, J. E., & Westra, P. (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(3), 1029-1034. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906649107>
- García, M. A., Meneses, L. V., & Kaspary, T. E. (2021). Weed Problems in Uruguayan Agriculture: Evolution and Current Situation. *Outlooks on Pest Management*, 32(5), 203-207. https://doi.org/10.1564/v32_oct_05
- Gonçalves Netto, A., Nicolai, M., Carvalho, S. J. P., Malardo, M. R., López-Ovejero, R. F., & Christoffoleti, P. J. (2019). Control of ALS- and EPSPS-Resistant *Amaranthus palmeri* by Alternative Herbicides Applied in PRE- and POST-Emergence. *Planta Daninha*, 37, Artículo e019212505. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100109>
- Hager, A. G., Wax, L. M., Stoller, E. W., & Bollero, G. A. (2002). Common waterhemp (*Amaranthus rudis*) interference in soybean. *Weed Science*, 50(5), 607-610. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0607:CWARII\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0607:CWARII]2.0.CO;2)
- Heap, I. (2024, 5 de abril). *The International Herbicide-Resistant Weed Database*. Weedsience. www.weedsience.org

- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 473-503.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.473>
- Iamónico, D. (2015). Taxonomic revision of the genus *Amaranthus* (Amaranthaceae) in Italy. *Phytotaxa*, 199(1), 1-84.
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.199.1.1>
- Kaspary, T. E., García, M. A., Marques, S., & Cabrera, M. (2020). Identificación de ocurrencia y manejo de yuyos colorados (*Amaranthus* spp.) resistentes a herbicidas en Uruguay. *Revista INIA*, (62), 50-54.
- Kaspary, T. E., García, M. A., Marques, S., & Calistro, J. A. (2022, 25-28 de julio). *Resistência múltipla de caruru ao glifosato e diclosulam identificado no Uruguai* [Contribución]. XXXII Congresso brasileiro da ciencia das plantas daninhas, Rio Verde.
- Kaspary, T. E., Kavanova, M., Cabrera, M., & García, M. A. (2023, 14-15 de setiembre). *Amaranthus hybridus en Uruguay: Elevado nivel de resistencia a glifosato y presencia de la mutación TAP-IVS* [Contribución]. IV Congreso Argentino de Malezas - ASACIM: Ciencia, producción y sociedad: Hacia un manejo sustentable, Mar del Plata.
- Kaspary, T. E., Waller Barcena, M. E., García, M. A., Cabrera, M., & Hill, S. M. (2023). *Conyza bonariensis*' Resistance to Glyphosate, Diclosulam, and Chlorimuron: Confirmation and Alternative Control for the First Case of Multiple and Cross-Resistance in Uruguay. *Agronomy*, 14(1), Artículo e79.
<https://doi.org/10.3390/agronomy14010079>
- Kaundun, S. S., Jackson, L. V., Hutchings, S. J., Galloway, J., Marchegiani, E., Howell, A., Carlin, R., McIndoe, E., Tuesca, D., & Moreno, R. (2019). Evolution of Target-Site Resistance to Glyphosate in an *Amaranthus palmeri* Population from Argentina and Its Expression at Different Plant Growth Temperatures. *Plants*, 8(11), Artículo e512.
<https://doi.org/10.3390/plants8110512>
- Keeley, P. E., Carter, C. H., & Thullen, R. J. (1987). Influence of Planting Date on Growth of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Weed Science*, 35(2), 199-204. <https://doi.org/10.1017/S0043174500079054>

- Larran, A. S., Lorenzetti, F., Tuesca, D., Perotti, V. E., & Permingeat, H. R. (2018). Molecular Mechanisms Endowing Cross-resistance to ALS-Inhibiting Herbicides in *Amaranthus hybridus* from Argentina. *Plant Molecular Biology Reporter*, 36(5-6), 907-912. <http://dx.doi.org/10.1007/s11105-018-1122-y>
- Larran, A. S., Palmieri, V. E., Tuesca, D., Permingeat, H. R., & Perotti, V. E. (2021). Coexistence of target-site and non-target-site mechanisms of glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri* populations from Argentina. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 44(1), Artículo e55183. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.55183>
- Legleiter, T. R., & Bradley, K. W. (2008). Glyphosate and Multiple Herbicide Resistance in Common Waterhemp (*Amaranthus rudis*) Populations from Missouri. *Weed Science*, 56(4), 582-587. <https://www.jstor.org/stable/25148566>
- Lloret, F. J. (2016). *Resistencia a herbicidas y manejo de yuyo colorado (Amaranthus hybridus L.) en la región centro y sud-este de Córdoba* [Trabajo final de grado, Universidad Nacional de Córdoba]. RDU. <http://hdl.handle.net/11086/4848>
- Marchesi De León, E. (2000). Conceptos generales sobre siembra directa. En Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (Ed.), *Tecnologías para siembra sin laboreo* (pp. 1-30).
- Martino, D. (1995). *El herbicida glifosato: Su manejo más allá de la dosis por hectárea*. INIA.
- Montoya, J., Garay, J. A., & Cervellini, J. M. (2015). *Amarantáceas en la Región Semiárida Central Argentina: La Pampa y San Luis*. INTA.
- Morichetti, S., Cantero, J. J., Núñez, C., Barboza, G. E., Amuchastegui, A., & Ferrell, J. (2013). Sobre la presencia de *Amaranthus palmeri* (Amaranthaceae) en Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 48(2), 347-353. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v48.n2.6269>

- Mosyakin, S. L., & Robertson, K. R. (1996). New infrageneric taxa and combinations in *Amaranthus* (Amaranthaceae). *Annales Botanici Fennici*, 33(4), 275-281. <https://www.jstor.org/stable/23726306>
- Nandula, V. K., Ray, J. D., Ribeiro, D. N., Pan, Z., & Reddy, K. N. (2013). Glyphosate Resistance in Tall Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both Altered Target-Site and Nontarget-Site Mechanisms. *Weed Science*, 61(3), 374-383. <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00155.1>
- Norsworthy, J. K., Griffith, G. M., Scott, R. C., Smith, K. L., & Oliver, L. R. (2008). Confirmation and Control of Glyphosate-Resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Arkansas. *Weed Technology*, 22(1), 108-113. <https://doi.org/10.1614/WT-07-128.1>
- Palma-Bautista, C., Torra, J., García, M. J., Bracamonte, E., Rojano-Delgado, A. M., Alcántara-de la Cruz, R., & De Prado, R. (2019). Reduced Absorption and Impaired Translocation Endows Glyphosate Resistance in *Amaranthus palmeri* Harvested in Glyphosate-Resistant Soybean from Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(4), 1052-1060. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06105>
- Perotti, V. E., Larran, A. S., Palmieri, V. E., Martinatto, A. K., Alvarez, C. E., Tuesca, D., & Permingeat, H. R. (2019). A novel triple amino acid substitution in the EPSPS found in a high-level glyphosate-resistant *Amaranthus hybridus* population from Argentina. *Pest Management Science*, 75(5), 1242-1251. <https://doi.org/10.1002/ps.5303>
- Queiroz, A. R. S. de, Delatorre, C. A., Lucio, F. R., Rossi, C. V. S., Zobiolo, L. H. S., & Merotto, A. (2020). Rapid necrosis: A novel plant resistance mechanism to 2,4-D. *Weed Science*, 68(1), 6-18 <https://doi.org/10.1017/wsc.2019.65>
- Randell-Singleton, T., Hand, L. C., Vance, J. C., Wright-Smith, H. E., & Culpepper, A. S. (2024). Confirming resistance to PPO-inhibiting herbicides applied preemergence and postemergence in a Georgia Palmer amaranth population. *Weed Technology*, 38, Artículo e23. <https://doi.org/10.1017/wet.2024.12>

- Ríos, A., García, A., Belgeri, A. (2012). Comunidades florísticas asociadas a los sistemas de siembra directa en Uruguay. En Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (Ed.), *Uso de la biodiversidad para la evaluación del impacto de la intensificación agrícola y el diseño de agroecosistemas sustentables* (pp. 20-31).
- Saari, L. L., Cotterman, J. C., Thill, D. C. (1994). Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. En S. B. Powles & J. A. M. Holtum (Eds.), *Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry* (pp. 83-140). CRC Press.
- Sauer, J. D. (1950). The Grain Amaranths: A Survey of Their History and Classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 37(4), 561-632. <https://doi.org/10.2307/2394403>
- Sauer, J. D. (1967). The Grain Amaranths and Their Relatives: A Revised Taxonomic and Geographic Survey. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 54(2), 103-137. <https://doi.org/10.2307/2394998>
- Sauer, J. D. (1972). The dioecious amaranths: A new species name and major range extensions. *Madroño*, 21(6), 426-434. <http://www.jstor.org/stable/41423815>
- Schönbrunn, E., Eschenburg, S., Shuttleworth, W. A., Schloss, J. V., Amrhein, N., Evans, J. N. S., & Kabsch, W. (2001). Interaction of the Herbicide Glyphosate with Its Target Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate 3-Phosphate Synthase in Atomic Detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(4), 1376-1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1376>
- Steckel, L. E. (2007). The Dioecious *Amaranthus* spp.: Here to Stay. *Weed Technology*, 21(2), 567-570. <http://www.jstor.org/stable/4495895>
- Steinrücken, H. C., & Amrhein, N. (1980). The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 94(4), 1207-1212. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(80\)90547-1](https://doi.org/10.1016/0006-291x(80)90547-1)

- Sulzbach, E., Turra, G. M., Cutti, L., Kroth, L. V. E., Tranel, P. J., Merotto, A., & Markus, C. (2024). Smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) and unresolved *Amaranthus* spp. from Brazil resistant to glyphosate exhibit the EPSPS TAP-IVS substitution. *Weed Science*, 72(1), 48-58.
<https://doi.org/10.1017/wsc.2023.70>
- Tuesca, D., & Nisensohn, L. (2001). Resistencia de *Amaranthus quitensis* a imazetapir y clorimurón-etil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(4), 601-606. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000400002>
- Tzin, V., & Galili, G. (2010). New Insights into the Shikimate and Aromatic Amino Acids Biosynthesis Pathways in Plants. *Molecular Plant*, 3(6), 956-972. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq048>
- Van Horn, C. R., Moretti, M. L., Robertson, R. R., Segobye, K., Weller, S. C., Young, B. G., Johnson, W. G., Schulz, B., Green, A. C., Jeffery, T., Lespérance, M. A., Tardif, F. J., Sikkema, P. H., Hall, J. C., McLean, M. D., Lawton, M. B., Sammons, R. D., Wang, D., Westra, P., & Gaines, T. A. (2018). Glyphosate resistance in *Ambrosia trifida*: Part 1. Novel rapid cell death response to glyphosate: Novel rapid cell death response to glyphosate. *Pest Management Science*, 74(5), 1071-1078.
<https://doi.org/10.1002/ps.4567>
- Yu, Q., Jalaludin, A., Han, H., Chen, M., Sammons, R. D., & Powles, S. B. (2015). Evolution of a Double Amino Acid Substitution in the 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase in *Eleusine indica* Conferring High-Level Glyphosate Resistance. *Plant Physiology*, 167(4), 1440-1447.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.00146>
- Zandoná, R. R., Barbieri, G. F., Schmitz, M. F., Do Amarante, A. A., Göebel, J. G. S., & Agostinetto, D. (2022). Economic threshold of smooth pigweed escaped from a herbicide program in roundup ready® soybean. *Advances in Weed Science*, 40(spe2), Artículo e20210011.
<https://doi.org/10.51694/AdvWeedSci/2022;40:amarathus002>