



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN**

**Comparación de la secuencia nucleotídica del  
dominio carboxil transferasa (CT) entre dos  
biotipos de *Phalaris brachystachys***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERA AGRÍCOLA**

**P R E S E N T A**

**NUBIA MAYTE OLIVARES ROSAS**

**DIRECTORA DE TESIS: Dra. GLORIA DE LOS ÁNGELES ZITA PADILLA**

**Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES FES Cuautilán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Comparación de la secuencia nucleotídica del dominio carboxil transferasa de dos poblaciones de Phalaris brachytachys

Que presenta la pasante: NUBIA MAYTE OLIVARES ROSAS

Con número de cuenta: 41101288-9 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautilán Izcalli, Méx. a 23 de junio de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Gloria de los Angeles Zita Padilla	
<b>VOCAL</b>	Dra. María Elena Quintana Sierra	
<b>SECRETARIO</b>	M.C. Oscar Horacio Guillen Ayala	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Ing. Asunción Martínez Vazquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M.C. Selene Mariana Sánchez Mendoza	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm\*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a su personal académico de la carrera de ingeniería agrícola por la formación académica brindada.

Agradezco al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) “Resistencia de *Phalaris brachystachys* a herbicidas inhibidores de la ACCasa” con la clave IN218913 por el apoyo económico otorgado para la realización de esta tesis.

### **A mi asesora**

Dra. Gloria gracias por el apoyo, paciencia y facilidades brindadas para realizar esta tesis, por integrarme a su equipo de trabajo y ayudarme a crecer personal y profesionalmente.

### **Al jurado**

Dra. María Elena, M.C. Óscar, Ing. Asunción y M.C. Selene agradezco cada una de sus observaciones, comentarios y correcciones realizadas para enriquecer este trabajo. Le agradezco al biólogo Marcos Espadas Reséndiz por el apoyo y asesorías brindadas.

### **A mis padres**

Gracias por inculcarme principios y valores, en especial la idea de la superación personal teniendo como meta el éxito profesional. Por siempre creer en mí y ayudarme en cada momento que los he necesitado.

### **A mi abuela Florencia**

Gracias por el amor con el que me guías en cada paso de mi vida, por cada consejo aportado, abrazo brindado y por ser mi ejemplo de lucha y fortaleza.

### **M.C. Gilberto Mandujano Lázaro**

Gilberto, nunca me cansaré de agradecerte todo lo que has hecho en mi vida desde los consejos, conocimientos y amor que compartes conmigo. Siempre tendrás mi admiración y serás mi ejemplo a seguir, te amo esposo. Gracias por compartir tu conocimiento a este proyecto, tu colaboración es invaluable.

## DEDICATORIA

### **A mis hermanos:**

Oswaldo e Ismael, esta es una prueba fehaciente de superación, esfuerzo y perseverancia. Nunca olviden que toda meta se puede cumplir, que todo sueño se puede realizar si se tiene disciplina, coraje y empeño.

# ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN .....	xiv
I. INTRODUCCIÓN. ....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Trigo .....	4
2.1.1 Generalidades del cultivo.....	4
2.1.2 Origen, taxonomía, morfología, especies y usos. ....	4
2.1.3 Sistema de producción de trigo.....	7
2.1.4 Producción mundial.....	8
2.1.5 Producción nacional.....	8
2.2 Limitantes bióticas.....	12
2.2.1 Definición e importancia de la maleza.....	12
2.2.2 Malezas asociadas al cultivo de trigo en el estado de Guanajuato.....	13
2.2.3 Importancia del género <i>Phalaris</i> en la producción agrícola.....	14
2.2.4 Métodos de control de malezas en el cultivo de trigo.....	20
2.3 Malezas resistentes a herbicidas. ....	24
2.3.1 Situación mundial de malezas resistentes a herbicidas.....	24

2.3.2 Mecanismos de resistencia.....	26
2.3.3 Resistencia a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa). .....	27
2.3.4 La acetil coenzima A carboxilasa.....	29
2.3.5 Dominio carboxil transferasa (CT) de la ACCasa.....	32
2.3.6 Mutaciones puntuales en la ACCasa. ....	33
2.4 Detección y manejo de resistencia en malezas .....	36
III. OBJETIVOS .....	40
IV. HIPÓTESIS.....	40
V. METODOLOGÍA .....	41
5.1 Material vegetal.....	41
5.2 Condiciones de crecimiento.....	41
5.3 Extracción de ADN.....	42
5.4 Integridad del ADN.....	43
5.5 Diseño de <i>primers</i> . ....	43
5.6 Amplificación de las regiones A y B del dominio CT .....	44
5.7 Electroforesis en gel de agarosa para el ADN amplificado. ....	45
5.8 Purificación de los fragmentos obtenidos en la PCR. ....	46
5.9 Electroforesis en gel de agarosa para el ADN amplificado y purificado. ....	46
5.10 Secuenciación.....	46
VI. RESULTADOS.....	47
6.1 Material vegetal.....	47

6.2 Extracción de ADN.....	48
6.3 Amplificación de las regiones A y B del dominio CT .....	49
6.4. Secuenciación.....	51
VII. DISCUSIÓN.....	59
VIII. CONCLUSIONES.....	63
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	64



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del grano de trigo.....	5
Figura 2. Producción nacional de trigo de 2010 a 2015.....	10
Figura 3. Importación de trigo en México.....	10
Figura 4. Exportación de trigo en México.....	11
Figura 5. Distribución geográfica del género <i>Phalaris</i> . ....	16
Figura 6. Países que presentan biotipos resistentes de <i>Phalaris</i> a herbicidas inhibidores de la ACCasa. ....	19
Figura 7. Estructura de la acetil coenzima A carboxilasa.....	30
Figura 8. Compartimentación de las isoformas de la ACCasa en plantas. ....	31
Figura 9. Isoformas de la ACCasa en gramíneas y dicotiledóneas. ....	32
Figura 10. Programa de amplificación del dominio CT de la ACCasa. ....	45
Figura 11. Crecimiento de biotipos de <i>Phalaris brachystachys</i> .....	47
Figura 12. Gel de electroforesis de la extracción de ADN de biotipos de <i>Phalaris brachystachys</i> .....	48
Figura 13. Gel de electroforesis de la expresión de la región A del dominio CT de la ACCasa mediante PCR. ....	49
Figura 14. Gel de electroforesis de la expresión de la región B del dominio CT de la ACCasa mediante PCR .....	50
Figura 15. Gel de electroforesis de la purificación de los productos PCR. ....	50
Figura 16. Expresión del dominio CT de las regiones A (n600) y B (n591) en los biotipos sensible y resistente de <i>Phalaris brachystachys</i> .....	51

Figura 17. Análisis de las secuencias nucleotídicas de la región A del dominio CT de la ACCasa.....	52
Figura 18. Análisis de las secuencias nucleotídicas de la región B del dominio CT de la ACCasa.....	53
Figura 19. Análisis de las secuencias aminoacídicas de la región A del dominio CT de la ACCasa.....	54
Figura 20. Análisis de las secuencias aminoacídicas de la región B del dominio CT de la ACCasa.....	54
Figura 21. Estructura tridimensional de la ACCasa de <i>Phalaris minor</i> . ....	56
Figura 22. Posicionamiento de los aminoácidos Ile-2041, Gly-1947 y Trp-1948 en la estructura tridimensional de la ACCasa.....	56
Figura 23. Mutación puntual Gly-1947-Asp.....	57
Figura 24. Mutación puntual Trp-1948-Gly. ....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del trigo. ....	4
Tabla 2. Producción mundial de trigo en 2013.....	8
Tabla 3. Producción de trigo en México en 2015.....	9
Tabla 4. Producción de trigo en Guanajuato en 2015.....	12
Tabla 5. Principales malezas en el cultivo de trigo en Guanajuato.....	13
Tabla 6. Malezas resistentes a herbicidas en México.....	25
Tabla 7. Herbicidas inhibidores de la ACCasa.....	28
Tabla 8. Mutaciones que confieren resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa. ....	34
Tabla 9. Diseño de <i>primers</i> región A y B del dominio CT de la ACCasa. ....	44

## ABREVIATURAS

**ACCasa** Acetil coenzima A carboxilasa

**ADN** Ácido desoxirribonucleico

**ADP** Adenosín difosfato

**ALS** Acetolactato sintasa

**APP** Ariloxifenoxipropanoatos

**Asn** Asparagina

**Asp** Ácido aspártico

**ATP** Adenosín trifosfato

**BC** Biotina carboxilasa

**BCCP** Proteína portadora de biotina carboxilasa

**CESAVEG** Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato

**CHD** Ciclohexanodionas

**CO<sub>2</sub>** Dióxido de carbono

**coA** Coenzima A

**CT** Carboxil transferasa

**Cys** Cisteína

**dNTPs** Deoxinucleótidos trifosfato

**EDTA** Ácido etilendiaminotetraacético

**ELISA** Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas)

**EPSP** 5-enolpiruvil shikimato 3-fosfato sintetasa

**FAO** Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

**Glu** Ácido glutámico

**Gly** Glicina

**ha** Hectárea

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** Bicarbonato

**HRAC** Herbicide Resistance Action Committee (Comité de Acción de Resistencia a Herbicidas)

**INIFAP** Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

**Kg** Kilogramo

**Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>** Magnesio

**MgCl<sub>2</sub>** Cloruro de magnesio

**MIP** Manejo Integral de Plagas

**mL** Mililitro

**mm** Milímetro

**mM** Milimolar

**ng** Nanogramos

**ng/μL** Nanogramos/microlitro

**NTSR** Nontarget site resistance (Resistencia a sitio no blanco)

**P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** Pentaóxido de difósforo

**pb** Pares de bases

**PCR** Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)

**pH** Potencial de hidrógeno

**Pi** Pirofosfato

**ppm** Partes por millón (mg L<sup>-1</sup>)

**PPZ** Fenilpirazolinás

**rpm** Revoluciones por minuto

**SAGARPA** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

**Ser** Serina

**SIAP** Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

**spp** Varias especies del mismo género

**TAE** Tris Acetato EDTA

**Thr** Treonina

**Tn** Tonelada

**Trp** Triptófano

**TSR** Target site resistance (Resistencia a sitio blanco)

**U/μL** Unidad por microlitro

**Val** Valina

**μL** Microlitro

**°C** Grado Celsius

## RESUMEN

*Phalaris brachystachys* es una maleza que presenta biotipos resistentes a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) carácter que dificulta su control principalmente en el cultivo de trigo. En el estado de Guanajuato se localiza esta maleza, pese a que su distribución natural es en la zona del Mediterráneo lo cual la convierte en una maleza exótica en nuestro país.

Mundialmente se reportan 479 biotipos de malezas con resistencia a herbicidas, el 10% corresponde al grupo de herbicidas inhibidores de la ACCasa. Se han reportado biotipos resistentes de *Phalaris brachystachys* en cuatro países: Irán, Italia, Siria y Turquía. En México, existen siete biotipos de malezas resistentes: *Avena fatua*, *Bidens pilosa*, *Ixophorus unisetus*, *Leptochloa virgata*, *Phalaris minor*, *Phalaris paradoxa*, y *Sorghum halepense*.

El presente trabajo tuvo la finalidad de determinar y comparar las secuencias nucleotídicas del dominio carboxil transferasa (CT) de la ACCasa para dos biotipos de *Phalaris brachystachys*, un biotipo sensible y uno reportado como resistente, con el propósito de contrastar las diferencias en su secuencia nucleotídica e identificar posibles mutaciones puntuales que aporten el carácter de resistencia.

Los resultados mostraron diferencias significativas entre los biotipos, desde el crecimiento, la expresión del dominio CT de la ACCasa y en la secuencia nucleotídica; donde se encontraron mutaciones puntuales en Ser-1651-Glu, Thr-1652-Cys y Glu-1653-Ser tratándose de mutaciones neutras sin un cambio significativo estructural y funcional.

Otras mutaciones detectadas fueron Gly-1947-Asp y Trp-1948-Gly, la mutación Trp-1948-Gly es un mecanismo de resistencia a sitio blanco (TSR) ambas sustituciones se localizaron dentro del sitio activo de la ACCasa en la estructura tridimensional, el efecto de dicha mutación podría intervenir con la sensibilidad a herbicidas inhibidores de la ACCasa y/o interferir en la obstrucción de la cavidad del sitio activo, aunque esta mutación no se ha reportado.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Se define como maleza a aquella planta que crece en un momento y lugar no deseado, siendo una limitante biótica para el óptimo desarrollo de cultivos agrícolas. Dichas plantas crecen de forma natural, siendo en su mayoría nativas de la región, con esta característica tienen mayor adaptabilidad y vigor en su crecimiento y propagación. Los principales problemas que crean en una zona agrícola se deben a la competencia de nutrientes, agua y luz con el cultivar, pueden tener y/o esparcir patógenos que disminuyan la calidad del cultivo e interfieren en la cosecha.

Desde el contexto agroecológico, una maleza es el producto de una selección artificial interespecífica provocada por la acción del hombre con la agricultura, ocasionando una alteración en el hábitat de diversas especies.

Las malas hierbas son una problemática constante en la agricultura, se han buscado métodos para controlarlas y/o erradicarlas, ya que pueden mermar el rendimiento de un cultivo en altos porcentajes. Existe una gran división en los métodos de control empleado en malezas: químicos y no químicos; entre los métodos no químicos encontramos físicos, culturales, preventivos y biológicos. En cuanto al control químico este se refiere al uso de herbicidas, siendo este el método más empleado debido a su efectividad y rapidez.

El uso actual de los herbicidas ha originado cambios indeseables en la flora como es el caso de la resistencia, debido a que cada especie tiene diferente sensibilidad. Aunado a esto, el uso inadecuado de las dosis de los productos químicos ha impactado en el desarrollo de biotipos resistentes a herbicidas.

La resistencia a herbicidas se define como la habilidad heredada de una maleza para sobrevivir a una dosis de herbicida, con la cual normalmente se tendría un control efectivo. En este contexto, la resistencia es un proceso evolutivo, en el que una población cambia de ser susceptible a resistente (Zita, 2012). Este fenómeno



sucede a nivel poblacional y no individual, es decir, dentro de una población se incrementa progresivamente la proporción de fenotipos resistentes.

Mundialmente se reportan 479 biotipos con resistencia a herbicidas, correspondientes a 250 especies de malezas, que han desarrollado resistencia a 23 de los 26 sitios de acción. Existe resistencia a la mayoría de los grupos de herbicidas, pero los herbicidas inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS), del fotosistema II y de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase) son los que presentan un mayor número de casos en diversos países (Heap, 2017).

En México, existen siete biotipos de malezas resistentes: *Avena fatua*, *Bidens pilosa*, *Ixophorus unisetus*, *Leptochloa virgata*, *Phalaris minor*, *Phalaris paradoxa*, y *Sorghum halepense*, siendo de la familia *Poaceae* la mayor proporción. Dentro de la familia *Poaceae* la resistencia a herbicidas inhibidores de las enzimas ALS y ACCase es la que aumenta más rápidamente en la actualidad, ocupando más de un 30% del total de biotipos resistentes a estos herbicidas (Heap, 2017).

Dentro de la familia *Poaceae* se encuentra el género *Phalaris* originario de Euroasia y con especies nativas de América (Singh *et al.*, 1999) cuenta con *Phalaris canariensis* (Alpiste) como la única especie que se cultiva, en contraste existen diversas especies que se consideran maleza en cultivos de cereales, como son *Phalaris minor*, *Phalaris paradoxa* y *Phalaris brachystachys*. Estas malezas se controlan generalmente con la aplicación de herbicidas selectivos de uso postemergente, su modo de acción se basa en la inhibición de la biosíntesis de lípidos y su mecanismo o sitio de acción es a nivel de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase).

La función de los lípidos en las plantas es variada; son un almacén energético, forman parte de la membrana celular, actúan como precursores de metabolitos secundarios y son mensajeros en la señalización celular. La función primordial de la ACCase es catalizar la reacción de la carboxilación de acetil coenzima A a malonil coenzima A, siendo ésta reacción metabólica el blanco para diversos

herbicidas como los ariloxifenoxipropanoatos (APP), las ciclohexanodionas (CHD) y recientemente las fenilpirazolinás (PPZ) (Duke y Dayan, 2011).

Los herbicidas inhibidores de la ACCasa fueron introducidos a finales de la década de los setenta del siglo pasado, en México estos graminicidas son altamente empleados en cultivos de trigo, cebada y centeno, pero en 1996 se detectaron los primeros casos de resistencia en cultivos de trigo en la región de Guanajuato, en *Phalaris minor* (Zita, 2012). Oficialmente se reconocen como especies resistentes en México del género *Phalaris* a *Phalaris minor* y *Phalaris paradoxa*, pero una nueva especie detectada como resistente es *Phalaris brachystachys* una maleza exótica encontrada en cultivares de trigo guanajuatenses (CESAVEG., 2007).

*Phalaris brachystachys* se ha reportado como una maleza resistente en cuatro países: Irán, Italia, Siria y Turquía; el primer caso reportado fue en 2001 en Italia en el cultivo de trigo duro, en otros cultivos que se ha encontrado son: trigo de invierno y remolacha azucarera. En Turquía, se encontraron casos de resistencia múltiple a los herbicidas inhibidores de la ACCasa y ALS (Heap, 2017). Esta maleza al no ser una planta nativa de México es considerada una especie exótica, aunque no existen datos de su introducción al país, la apertura comercial en la importación de cereales puede ser una hipótesis atractiva. La importancia de esta especie radica en su fácil adaptación y la posible resistencia desarrollada a los herbicidas empleados en cultivos de trigo, complicando su control y posible erradicación.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 TRIGO

#### 2.1.1 Generalidades del cultivo

*Triticum spp* es el término que se designa al conjunto de cereales, tanto cultivados como silvestres, el trigo es uno de los tres cereales más producidos mundialmente. Las variedades del trigo actuales (*Triticum aestivum*) han evolucionado por diferenciación genómica y por cruzamiento con trigos silvestres. Las tres especies originales son los trigos antiguos espelta (*Triticum spelta*), farro (*Triticum diococcum*) y escanda (*Triticum monococcum*) (Juárez *et al.*, 2014).

#### 2.1.2 Origen, taxonomía, morfología, especies y usos

El cultivo de trigo surgió en Mesopotamia extendiéndose desde Palestina hasta el sur de Turquía. El trigo silvestre de la región mesopotámica mutó para dar como resultado una planta tetraploide con semillas más grandes que no se desprendían por la acción del viento. Tiempo después, la semilla de trigo fue introducida en la civilización del antiguo Egipto, posteriormente llegó a las civilizaciones griega y romana. Este cereal llegó al continente americano hasta la conquista española (Ramos, 2013).

Tabla 1. Taxonomía del trigo.

<b>Taxonomía</b>	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Liliopsida</i>
Orden:	<i>Poales</i>
Familia:	<i>Poaceae</i>
Subfamilia:	<i>Pooideae</i>
Tribu:	<i>Triticeae</i>
Género:	<i>Triticum L.</i>

Fuente: (Carver, 2009).

Es una planta anual que posee una raíz fasciculada alcanzando una profundidad de 25 cm. El tallo es una caña hueca con 6 nudos que alcanzan una altura de 0.5 a 2 metros de altura, es poco ramificado. Las hojas son de forma linear lanceolada (alargadas, rectas y terminadas en punta) con vaina, lígula y aurículas bien definidas. Su inflorescencia es una espiga compuesta por un raquis o tallo central de entrenudos cortos, sobre el cual van dispuestas 20 a 30 espiguillas en forma alterna y laxa o compacta, llevando cada una nueve flores. Los granos son carióspsides de forma ovalada (OEIDRUS Baja California, 2013).

El grano de trigo está formado por tres partes principales: endospermo, salvado y germen. El pericarpio que está formado por la epidermis constituye en mayor parte el salvado, el epicarpio y endocarpio contienen vitaminas, minerales y gran cantidad de proteínas. Entre el salvado y el endospermo se encuentra la capa de aleurona. El endospermo es el depósito de alimento para el embrión y constituye el 82% del peso del grano, está compuesto por almidón, proteínas y en menor proporción de celulosas (figura 1). Los carbohidratos totales constituyen del 77 al 87% de la materia seca total, de los cuales el 64% es almidón, el resto son carbohidratos solubles e insolubles que constituyen la fibra dietética. (Juárez *et al.*, 2014).

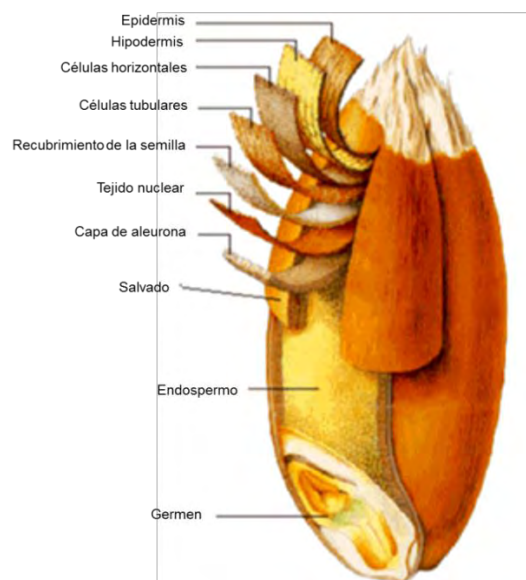


Figura 1. Morfología del grano de trigo. Fuente: (KMEC, 2016).

El trigo se clasifica de acuerdo a la estación de cultivo, color, dureza, textura del endospermo y contenido de gluten. Los trigos que se siembran en otoño y se cosechan al inicio de verano son conocidos como trigos de ciclo largo. Los trigos de ciclo corto se siembran en primavera y se cosechan a finales de verano; estos tienen rendimientos menores que los trigos de invierno pero presentan la ventaja de tener mayor contenido de gluten y fuerza proteica, confiriendo propiedades para la panificación. La dureza del trigo está relacionada con la forma en la que el endospermo se rompe y es lo que le otorga la calidad harinera, ya que, a mayor dureza es mayor el contenido proteico. Los trigos duros producen una harina con granulometría amplia, mientras que los trigos blandos producen harina muy fina. El trigo más duro es la especie *Triticum durum*, cuya harina se usa para fabricar pastas.

Tipos de trigo:

- **Durum o cristalino:** Son trigos tetraploides utilizados para la producción industrial de pastas.
- **Duro o panadero:** Utilizado para procesos de panificación, produce gluten tenaz y elástico.
- **Suave o galletero:** Tiene un bajo contenido de proteína, se utiliza para la elaboración de galletas, pasteles y productos afines.
- **Ceroso:** Utilizado para la elaboración de tallarines o fideos orientales.
- **Suelto:** Es considerado el trigo silvestre de Turquía.
- **Einkorn:** Es el trigo ancestral, dio origen al trigo común o *spelta*. (Ramos, 2013).

En México, los trigos se clasifican de acuerdo a su funcionalidad en fuertes, medio fuertes, suaves, tenaces y cristalinos. En la región noroeste del país, Sonora y norte de Sinaloa, se siembran los trigos panaderos y cristalinos, que corresponden a los trigos fuertes, medio fuertes, tenaces y cristalinos. Mientras que los trigos suaves se cultivan en Guanajuato y Chihuahua (Serna, 2009).

### 2.1.3 Sistema de producción de trigo

El trigo puede crecer en una gran diversidad de climas y suelos, pero se desarrolla mejor en zonas templadas, crece en una temperatura mínima de 3°C y una máxima de 33°C, siendo la temperatura óptima entre 10 y 25°C. Tiene bajos requerimientos de agua, ya que se puede cultivar en zonas donde caen precipitaciones entre 25 y 2800 mm anuales de agua, aunque un 75% del trigo crece entre los 375 y 800 mm. La cantidad óptima de agua es 400-500 mm/ciclo. Los mejores suelos para su crecimiento deben de ser profundos, permeables y fértiles y con un pH entre 6.0 y 7.5. Requiere una humedad relativa entre 40 y 70% desde el espigamiento hasta la cosecha, es la época que tiene mayores requerimientos en este aspecto, ya que exige una humedad relativa entre el 50 al 60% y un clima seco para su maduración (Juárez *et al.*, 2014).

La siembra se realiza en terreno plano y seco con sembradoras de granos finos colocándose las semillas en hileras aproximadamente a 17 cm. La densidad de siembra es de 150 Kg de semilla por hectárea. Los trigos suaves presentan un ciclo a madurez fisiológica de 120 a 140 días y los trigos fuertes y cristalinos varían su ciclo entre 130 y 150 días (De la Cruz, 2010).

La fertilización en trigo es clave para el aumento del rendimiento y la mejora en su calidad industrial y comercial. Es el cultivo extensivo más indicativo de las deficiencias de fertilidad de los suelos. En la fertilización nitrogenada los factores más importantes que condicionan su respuesta y deben tenerse en cuenta son: la fertilidad actual del terreno, cultivos antecesores y el agua procedente de lluvias. La dosis de nitrógeno puede variar desde 30 a 100 Kg/ha (Agrobit, 2014). Adicionalmente a la fertilización inicial se aplican 150 Kg de urea por hectárea en la fase de desarrollo (De la Cruz, 2010).

El fósforo, debido a su baja movilidad en el suelo debe aplicarse a la siembra lo más cerca posible de la línea para facilitar su aprovechamiento en el cultivo. La dosis promedio oscila entre 60 y 80 Kg/ha de fosfato diamónico  $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$  o 35 Kg/ha de anhídrido fosfórico ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) (Melgar, 2004). En cuanto al potasio se debe

considerar la fertilización en los suelos donde se verifiquen niveles inferiores de 300 ppm (mg L<sup>-1</sup>) de potasio intercambiable, La formula comúnmente utilizada es 150-90-00 NPK, en algunos casos se aplica alrededor de 80 Kg de potasio (Agrobit, 2014).

Se aplican cuatro riegos en todo el ciclo, el primer riego es llamado de nacencia y se aplica al momento de la siembra, los otros tres son de auxilio a los 45, 75 y 90 días respectivamente. En el primer riego de auxilio se aplica la fertilización adicional de nitrógeno, que comúnmente es urea (De la Cruz, 2010).

#### 2.1.4 Producción mundial

La producción mundial de trigo en 2013 fue de 696.01 millones de toneladas (tabla 2) (FAO, 2013), en 2015 la producción fue de 735.02 millones de toneladas y se estimó para 2016 una producción de 744.44 millones de toneladas, lo que significa un incremento del 1.28% en la producción alrededor del mundo (Anónimo, 2015).

Tabla 2. Producción mundial de trigo en 2013.

Número	País	Producción (Tn)
1	China	121,926,400.00
2	India	93,510,000.00
3	Estados Unidos	57,966,656.00
4	Federación de Rusia	52,090,796.00
5	Francia	38,613,900.00
6	Canadá	37,529,600.00
7	Alemania	25,019,100.00
8	Pakistán	24,211,400.00
9	Australia	22,855,576.00
10	Ucrania	22,279,300.00
31	México	3,357,307.00

Fuente: (FAO, 2013).

#### 2.1.5 Producción nacional

En 2015 la producción nacional de trigo en México fue de 3,710,706.27 toneladas (tabla 3). En los últimos 10 años se ha tenido una producción promedio de 3,653,959.74 toneladas, aunque la tendencia muestra que en los últimos 5 años la

producción ronda los 3 millones de toneladas, en los años 2012 y 2013 se observó una baja en la producción nacional de trigo (SIAP, 2015) (figura 2).

En 2013 México importó 4,167 toneladas y exportó 732,745 toneladas de trigo, México se encuentra en el decimotercer lugar de los países exportadores de trigo y décimo lugar entre los países importadores (FAOSTAT, 2017), en las figuras 3 y 4 se presenta el valor en dólares de importación y exportación de trigo en el período de 2010 a 2016. Los principales países de los que México importa trigo son: Albania, Azerbaiyán, España y Estados Unidos. Los principales países a los que exporta trigo México son: Argelia, Cuba, Estados Unidos, Guatemala y Venezuela (FIRA, 2016).

El trigo mexicano debe competir con el precio y la calidad industrial del trigo importado, y éste proviene principalmente de Estados Unidos y Canadá. El problema de la calidad del trigo mexicano deriva principalmente de la variabilidad de condiciones en que se produce, las cuales confieren una calidad industrial variable (Espitia *et al.*, 2003).

Tabla 3. Producción de trigo en México en 2015.

<b>Número</b>	<b>Estado</b>	<b>Producción (Tn)</b>
1	Sonora	1,605,959.93
2	Baja California	538,185.34
3	Guanajuato	357,874.77
4	Sinaloa	322,705.65
5	Chihuahua	231,008.42
6	Jalisco	182,804.98
7	Michoacán	181,044.75
8	Tlaxcala	80,185.30
9	Nuevo León	57,414.58
10	Durango	24,240.77

Fuente: (SIAP, 2015).





**Figura 2. Producción nacional de trigo de 2010 a 2015.** Fuente: Elaboración propia con datos de (SIAP, 2015).



**Figura 3. Importación de trigo en México.** Fuente: Elaboración propia con datos de (Banco de México, 2017). El valor de las importaciones se expresa en dólares en el período 2010 a 2016.



**Figura 4. Exportación de trigo en México.** Fuente: Elaboración propia con datos de (Banco de México, 2017). El valor de las importaciones se expresa en dólares en el período 2010 a 2016.

Uno de los principales estados productores de trigo en México es Guanajuato, esta región se caracteriza por la producción de granos suaves. En 2015 alcanzó una producción de 357,874.77 toneladas de trigo en 79,245 hectáreas (SIAP, 2015). Cuenta con 10 principales municipios productores de trigo que aportan el 84% de la producción estatal (tabla 4).

A lo largo de los últimos 10 años Guanajuato ha tenido una producción promedio de 447,165.11 toneladas, teniendo un máximo en el año 2008 con 809,153.99 toneladas y un mínimo en el año 2013 con 74,575.03 toneladas. En el ciclo agrícola Otoño-invierno 2015/2016 el trigo tuvo un rendimiento de 6.7 Tn/ha, teniendo un precio de \$3.793.65 por tonelada (SIAP, 2015).

Tabla 4. Producción de trigo en Guanajuato en 2015.

<b>Número</b>	<b>Municipio</b>	<b>Producción (Tn)</b>
1	Pénjamo	87,526.40
2	Abasolo	55,714.80
3	Irapuato	34,829.70
4	Huanímaro	25,463.00
5	Valle de Santiago	24,963.02
6	Cuerámaro	23,441.00
7	Villagrán	14,487.50
8	Jaral del Progreso	14,080.00
9	Salamanca	11,367.00
10	Manuel Doblado	9,057.70

Fuente: (SIAP, 2015).

## **2.2 LIMITANTES BIÓTICAS**

### **2.2.1 Definición e importancia de la maleza**

Maleza es aquella planta que crece en un momento y lugar no deseado, y el hecho de considerarla inoportuna significa que se requiere un esfuerzo para eliminarla. Dentro de este contexto existen dos definiciones subsecuentes, arvense y ruderal, siendo el primer término correspondiente a aquella maleza que crece dentro de un sistema agronómico, mientras que el segundo define a las malezas que crecen en caminos, cuerpos de agua y aquellas que obstruyen señalamientos, en sí toda maleza fuera de un sistema agrícola; siendo las malezas una problemática de importancia general. El daño causado por las malezas se da por distintas vías: competencia por nutrientes, agua y luz, liberación de sustancias tóxicas, se comportan como hospederas de plagas, interfieren en el proceso de cosecha y contaminan la producción obtenida; así, el daño que ocasionan las malezas es permanente, pero no tan espectacular como lo hacen los insectos y patógenos (FAO, 2010). A pesar de todos estos hechos, algunas plantas consideradas malezas tienen elementos de utilidad como especies alimenticias, forrajeras, medicinales, melíferas, de ornato y de protección para la erosión del suelo.

Las malezas tienen la capacidad de colonizar, competir y persistir en un ambiente intensamente modificado, tienen un crecimiento acelerado y gran producción de semillas con una elevada capacidad de germinación, tales características dotan a la planta de una eficiente reproducción. Desde la visión agroecológica las malezas provienen de selecciones interespecíficas que el mismo hombre creó con la actividad agrícola, alterando el hábitat y suelo (FAO, 2010) buscando consolidarse en un nicho ecológico difícil de erradicar, ya que la competencia y arraigo inicia desde el banco de semillas depositado en el suelo, siendo la germinación de las semillas un evento crítico para el establecimiento de malezas (Derakhshan *et al.*, 2014). La infestación de malas hierbas debe de ser evaluada con índices de abundancia y dominancia en campo ya que son uno de los principales factores que reducen el rendimiento (Saavedra *et al.*, 1989).

### 2.2.2 Malezas asociadas al cultivo de trigo en el Estado de Guanajuato

El cultivo del trigo se ve afectado por diferentes problemas fitosanitarios como son las malezas, determinando su severidad acorde al daño que causan directa o indirectamente al cultivo. Para un correcto Manejo Integral de Plagas (MIP) es necesario conocer las principales malezas presentes en la zona, en el caso del bajío guanajuatense se encuentran al menos 26 especies identificadas en los cultivos de cereales (tabla 5) y algunas de ellas cuentan con biotipos resistentes a herbicidas (CESAVEG., 2007).

Tabla 5. Principales malezas en el cultivo de trigo en Guanajuato.

<b>Familia</b>	<b>Especie</b>
<b>Poaceae</b>	Alpiste silvestre ( <i>Phalaris brachystachys</i> , <i>P. minor</i> y <i>P. paradoxa</i> )
	Avena silvestre ( <i>Avena fatua</i> )
	Cadillo ( <i>Cenchrus incertus</i> )
	Camalote ( <i>Echinochloa spp.</i> )
	Zacate azul ( <i>Poa annua</i> )
	Zacate cola de zorra ( <i>Setaria sp.</i> )
	Zacate criollo ( <i>Festuca L.</i> )
	Zacate Johnson ( <i>Sorghum halepense L.</i> )
	Zacate pinto ( <i>Echinochloa crusgalli L.</i> )

<b>Asteraceae</b>	Aceitilla ( <i>Bidens sp.</i> ) Borraja ( <i>Sonchus oleraceus</i> ) Chayotillo de mata ( <i>Xanthium strumarium L.</i> ) Gigantón ( <i>Tithonia tubaeformis L.</i> ) Lampote ( <i>Helianthus sp.</i> )
<b>Brassicaceae</b>	Mostaza o nabo ( <i>Brassica nigra</i> ) Mostaza silvestre ( <i>Brassica rapa</i> ) Saramao ( <i>Rhaphanus rapanistrum</i> )
<b>Amaranthaceae</b>	Quelite bleado ( <i>Amaranthus hybridus</i> )
<b>Chenopodiaceae</b>	Quelite cenizo ( <i>Chenopodium álbum</i> )
<b>Convolvulaceae</b>	Correhuela ( <i>Convolvulus arvensis L.</i> )
<b>Cucurbitaceae</b>	Chayotillo ( <i>Sicyos angulatus L.</i> )
<b>Cyperaceae</b>	Coquillo ( <i>Cyperus sp.</i> )
<b>Malvaceae</b>	Malva ( <i>Malva parviflora L.</i> )
<b>Papaveraceae</b>	Chicalote ( <i>Argemone mexicana L.</i> )

---

Fuente: (CESAVEG., 2007).

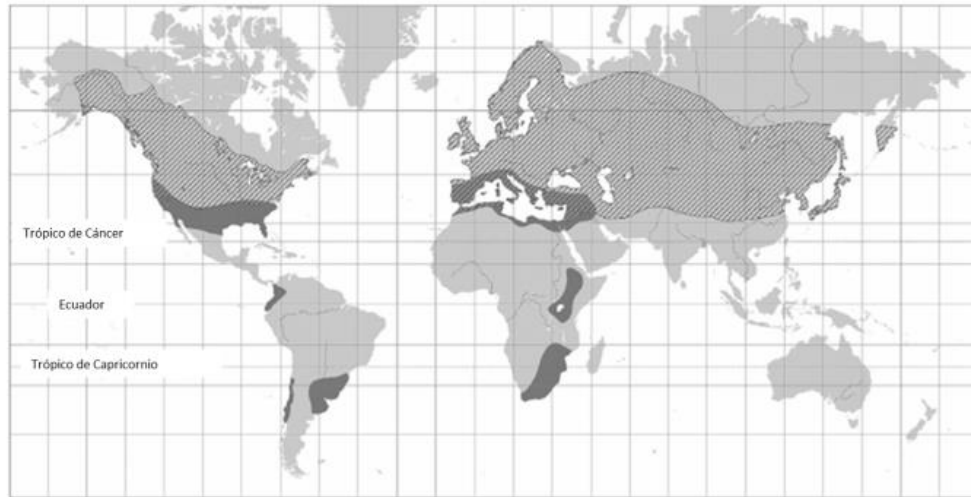
### 2.2.3 Importancia del género *Phalaris* en la producción agrícola

La familia de las gramíneas (*Poaceae*) es la cuarta familia más grande de angiospermas y ecológicamente la más dominante cubriendo alrededor del 20 al 40% de la superficie terrestre (Voshell y Hilu, 2014) Es una familia muy diversa con aproximadamente 700 géneros y 11000 especies a nivel mundial. En México existen 204 géneros y 1278 especies (Sánchez *et al.*, 2012). Son plantas anuales

o perennes con tallos herbáceos o con menor frecuencia, leñosas, previstos de nudos y entrenudos muy marcados. Las flores, frutos y semillas son de gran diversidad (Aedo, 2013).

La poliploidía es muy frecuente en la familia *Poaceae*, aproximadamente el 80% de las especies se consideran de origen poliploide, se ha demostrado una correlación entre la poliploidía, el hábito perenne y el aumento en el número de especies en los géneros de gramíneas (Voshell *et al.*, 2011). Debido a que las gramíneas se encuentran en una gran diversidad de hábitats, muestran una considerable adaptación ecológica, a pesar de todo ello la morfología descriptiva del hábito de crecimiento y de las etapas del ciclo vital de las gramíneas responde a un esquema fácilmente reconocible en todas ellas (Chapman y Peat, 1995).

Dentro de la familia de las gramíneas se encuentra el género *Phalaris*, este género es notable en su distribución geográfica, incluye plantas endémicas en varios continentes, así como plantas cosmopolitas que se desarrollan en diversos hábitats. *Phalaris* incluye 21 especies silvestres que se distribuyen en zonas templadas del hemisferio norte y sur, también se encuentra en montañas de África tropical y América del sur (figura 5) (Voshell *et al.*, 2011); se pueden distinguir dos centros de diversidad, la cuenca Mediterránea y el oeste de América del norte. La mayoría de las especies son anuales y dos especies es perennes, *Phalaris californica* y *Phalaris arundinacea*. Se cuenta con especies diploides, tetraploides y hexaploides, siendo esta característica clave para su diversidad y distribución mundial (Voshell y Hilu, 2014).



**Figura 5. Distribución geográfica del género *Phalaris*.** Fuente (Voshell *et al.*, 2011).

Este género surgió durante el Mioceno (20.6 a 8.4 millones de años atrás) en la cuenca Mediterránea, seguido de una dispersión por África, Asia y América. El ancestro diploide *Phalaris arundinacea* emigró a Norteamérica occidental a través del estrecho de Bering, constituyendo un segundo centro de diversidad. En el Viejo Mundo la evolución del género se debe a especies poliploides, mientras que en el Nuevo Mundo fue por especies diploides; estas características dotaron a las especies para ocupar hábitats templados, subtropicales, lacustres, arenosos y zonas húmedas (Voshell *et al.*, 2011).

*Phalaris angusta* y *Phalaris caroliniana* son las dos únicas especies que se extendieron por el continente americano, siendo los candidatos para una ascendencia común de las especies sudamericanas *Phalaris amethystina*, *Phalaris lindigii*, *Phalaris platensis* y posiblemente *Phalaris peruviana*. Existen especies morfológicamente intermedias entre *Phalaris caroliniana* y otras especies de América, lo que implica una posible hibridación interespecífica (Voshell y Hilu, 2014). Este género contiene especies sin rango taxonómico, como es el caso de *Phalaris appendiculata* que es considerado un extremo morfológico de *Phalaris paradoxa* o el caso de *Phalaris maderensis* que es una especie extraña que solo se encuentra en la isla de Madeira de la costa occidental de África, que se deriva de *Phalaris minor* (Voshell *et al.*, 2011).

La influencia humana en la distribución de este género ha sido relevante, desde ser llevado por el estrecho de Bering (Milne, 2006) hasta la crianza selectiva en especies forrajeras fuera de su distribución natural como *Phalaris canariensis* y *Phalaris aquatica*, el resto de las especies se han convertido en importantes malezas invasoras en el mundo; *Phalaris arundinacea* es una maleza invasora en los humedales de América del norte (Voshell y Hilu, 2014), *Phalaris paradoxa* y *Phalaris minor* son unas de las principales malezas problemáticas en los cultivos de cereales, ya que producen un gran número de semillas con diferentes formas de latencia causando reducciones en el rendimiento de hasta un 40% (Cruz-Hipólito *et al.*, 2012).

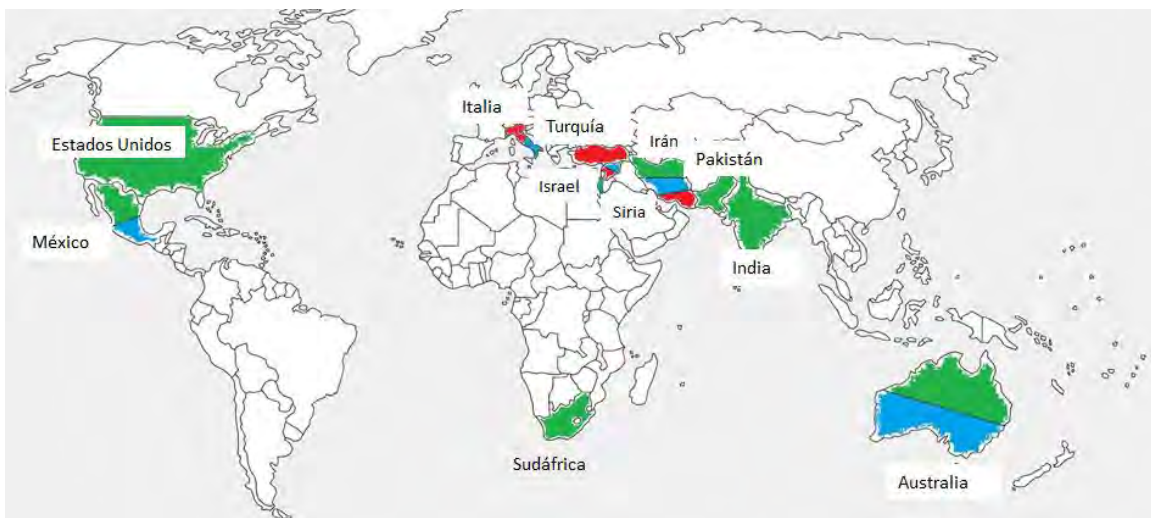
En cuanto a su descripción botánica este género incluye plantas principalmente plantas anuales, con rizomas ausentes o cortos, los tallos son decumbentes y la lígula es una membrana. La inflorescencia es una panícula subtendida con espiguillas deciduas agrupadas en clúster. Las espiguillas son elípticas ovadas, lateralmente comprimidas compuestas de un solo flósculo fértil por floretes estériles. Los floretes están subtendidos por dos glumas sin aristas. Las glumas exceden los apéndices florales y son más delgadas que la lema fértil, las diásporas derivan de floretes con lemas pubescentes estériles que sobresalen. Las especies de *Phalaris* con glabras muestran una distribución geográfica estrecha, mientras aquellas que son pubescentes tienen un área geográfica más amplia (Voshell y Hilu, 2014). La gluma inferior a menudo es una quilla alada, con tres venas, la gluma superior tiene el apéndice truncado, obtuso, agudo, acuminado o atenuado. Las flores tienen dos lodículas, tres anteras y un ovario glabro. El fruto es una cariósipide con hilum linear, de tamaño pequeño 3-6 mm siendo esta última característica favorecedora para la dispersión (Voshell *et al.*, 2011).

Una característica sobresaliente de las semillas de *Phalaris* es la latencia estival, se ha reportado en cinco especies anuales: *Phalaris aquatica*, *Phalaris brachystachys*, *Phalaris canariensis*, *Phalaris minor*, *Phalaris paradoxa* y en una especie perenne, *Phalaris arundinacea*. La lema y la palea son agentes de la



latencia y una práctica empleada para combatir este estado es el descascarado, ya que en el género *Phalaris* puede favorecer la germinación hasta en un 73%. Se ha demostrado que la temperatura es el factor determinante para romper el estado de latencia, por ejemplo, la temperatura óptima de germinación para *Phalaris canariensis* y *Phalaris paradoxa* es de 15 °C, en cambio para *Phalaris aquatica* es de 25 °C (Matus-Cádiz y Hucl, 2005).

*Phalaris canariensis* es la única especie cultivada del género, el grano se emplea como alimento para aves, su cultivo se favorece porque las semillas maduras se conservan en las panículas, ya que en el resto de las especies se desprenden de las glumas exteriores poco después de que maduran (Oram, 2004). Especies como *Phalaris arundinacea* y *Phalaris aquatica* se utilizan como forrajes en climas templado y mediterráneo respectivamente (Matus-Cádiz y Hucl, 2005). El resto de especies pertenecientes a *Phalaris* son consideradas malezas, mundialmente se reportan como malezas resistentes tres especies, *Phalaris brachystachys*, *Phalaris minor* y *Phalaris paradoxa*. Desde 1993 hasta 2015 se han reportado resistencia a estas tres especies en 11 países de 5 continentes (figura 6), afectando los siguientes cultivos: Cebada, cebolla, chícharo, haba, papa, pastos, remolacha azucarera y trigo (duro y de invierno) (Heap, 2017). En el estado de Guanajuato, México en el cultivo de trigo se han encontrado como malezas problemáticas a *Phalaris paradoxa*, *Phalaris minor* y *Phalaris brachystachys* (CESAVEG., 2007).



**Figura 6. Países que presentan biotipos resistentes de *Phalaris* a herbicidas inhibidores de la ACCasa. Rojo= *Phalaris brachystachys*, Verde= *Phalaris minor* y Azul= *Phalaris paradoxa*.**

Datos obtenidos de (Heap, 2017).

*Phalaris minor* es la especie más problemática en el cultivo de trigo, ya que es una maleza altamente competitiva y puede causar una reducción drástica del rendimiento bajo una fuerte infestación, la reducción del rendimiento puede ser de hasta de un 80% (Chhokar *et al.*, 2007).

*Phalaris brachystachys* es una especie endémica de los ecosistemas mediterráneos, donde hay una transición entre clima húmedo y árido. Una característica de esta maleza es que se encuentra en suelos con alto contenido de arcilla y en las zonas más cálidas, teniendo gran ausencia en zonas con mayor altitud y en suelos con baja fertilidad. (Saavedra *et al.*, 1989). Se han reportado casos de biotipos resistentes de *Phalaris brachystachys* en cuatro países, el primer caso fue en 2001 en Italia, el siguiente fue en 2008 en Turquía, 2014 en Irán y 2015 en Siria (Heap, 2017).

Fuera del clima mediterráneo, la expansión de *Phalaris brachystachys* como especie exótica constituye un serio problema ambiental, esta situación se ve favorecida tanto por el cambio climático como por el incremento de intercambio global de cereales, se sospecha que las semillas pueden llegar como acompañantes de impurezas en importaciones de granos. En Guanajuato se

cuenta con la presencia de biotipos de *Phalaris brachystachys* resistentes a los herbicidas inhibidores de la ACCasa (CESAVEG., 2007).

#### **2.2.4 Métodos de control de malezas en el cultivo de trigo**

El manejo de malezas debe de ir coherentemente relacionado con los problemas específicos que se presentan en el sitio de interés, para ello se deben de tener conocimientos de ecología y biología del cultivo y de las malezas presentes con la finalidad de predecir el impacto de la infestación sobre el rendimiento y su efecto a lo largo del tiempo como especies nocivas. A pesar, de que las malezas suelen ser frecuentemente olvidadas y no incluidas en los programas de protección vegetal, el manejo de estas debe de ser incluido de manera habitual para aplicar métodos idóneos en su control (FAO, 2010).

El control de malezas se dirige a la reducción de la real competencia y a prevenir los futuros problemas con malezas, el uso de herbicidas resuelve la mayoría de los problemas de malezas, pero enfoques experimentales indican que pequeñas infestaciones sobrevivientes no causan pérdidas de rendimiento, siempre y cuando algunas especies sean manipuladas cuidadosamente, y tampoco causen pérdida en la calidad de cosecha. Las evaluaciones económicas indican que en 20 a 50% de los casos la aplicación de los herbicidas no fue necesaria. Los umbrales económicos de malezas son un instrumento adecuado para mejorar el control en los cultivos, son una herramienta para la toma de decisiones siendo de importancia central para el desarrollo del Manejo Integral de Plagas (MIP) (Gerowitt, 2005).

El manejo integrado de las malezas está basado en el conocimiento de las características biológicas y ecológicas que orienten a integrar diversas tácticas de control, para ello se deben de conocer los métodos existentes para llevarlos a cabo, (Bárberi, 2004) dado el gran número de problemas encontrados en diversas regiones del mundo referente al manejo de malezas, un solo método no puede ser suficiente (Labrada, 2004). Existen diversas clasificaciones y divisiones de los

métodos empleados, de una manera general se pueden clasificar en cinco: biológico, cultural, físico, preventivo y químico.

### BIOLÓGICO

El control biológico consiste en el uso de organismos vivos, los enemigos naturales utilizados para el control biológico de malezas son aquellos que atacan a dichas plantas (ácaros, hongos, insectos y nematodos). Existen tres tipos de control biológico: clásico, aumentativo y natural. El control biológico clásico consiste en la introducción de enemigos exóticos naturales en áreas donde no se encontraban para así controlar una maleza específica. El control biológico aumentativo emplea enemigos naturales de la maleza que han sido reproducidos previamente a nivel de laboratorio y/o invernaderos especializados, para posteriormente ser liberados sobre la maleza objetivo. El control biológico natural se basa en la conservación o aumento de los enemigos naturales existentes para incrementar su impacto sobre las malezas objeto de control (Labrada *et al.*, 1996).

Algunos ejemplos de control son el combate a la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*) donde se emplearon larvas de *Chrysolina quadrigemina* y *Cordia curasavica* que se controló a través de la introducción del escarabajo defoliante *Metrogaleruca obscura*, y de la avispa *Eurytoma attiva* y en 1863 en la India se empleó la Cochinilla grana (*Dactylopius coccus*) para atacar al nopal (*Opuntia vulgaris*) (Badii *et al.*, 2004).

### CULTURAL

La elección de especies y variedades a sembrar puede hacerse en función de las plantas perjudiciales que infestan el terreno, utilizando las que mejor se adapten a un programa de control, las características edafoclimáticas y económicas. La época de siembra, la densidad y el espaciamiento entre plantas, cuidados culturales, rotación de cultivos, laboreo convencional, laboreo de precisión, uso de acolchado e inundación del terreno, son algunas de las medidas implementadas (Mársico, 1980). El manejo del agua es una importante práctica cultural que afecta

directamente al cultivo y a las malezas, el riego por goteo favorece al cultivo y no a las malezas alejadas de la zona irrigada (Labrada *et al.*, 1996).

El barbecho consiste en realizar labranzas periódicas del suelo, de modo que se evita el desarrollo de la parte aérea de las malezas y de esta forma se van agotando las semillas de malezas depositadas en el suelo. Las labranzas y ciertas labores hechas con implementos especiales extraen y dejan en la superficie del suelo los órganos vegetativos, exponiéndolos a temperaturas muy altas o bajas dependiendo de la época del año en que se realice (Mársico, 1980).

### FÍSICO

Entre los métodos físicos se incluyen las escardas mecánicas, manuales y térmicas y el laboreo convencional y de precisión (Taberner *et al.*, 2007). El arado y rastreo realizados con suficiente anticipación a la siembra o implantación del cultivo, permiten la germinación de muchas semillas de malezas y la destrucción de éstas se logra a través de maquinaria agrícola, evitándose así su posterior aparición (Mársico, 1980).

### PREVENTIVO

El manejo preventivo de malezas es por lo general el más barato, ya que es oportuno y no tiene como principal enemigo el tiempo. Estas prácticas rutinarias hacen al agroecosistema menos favorable para el crecimiento de malezas. Las actividades a desarrollar son:

- Uso de cultivos alelopáticos
- Uso de cultivos acompañantes y/o de cobertura
- Fertilización óptima para el cultivo, y
- Solarización (Domínguez, 2007).

También incluyen los procedimientos de cuarentena para prevenir la entrada de malezas exóticas en un país o territorio en particular (Labrada *et al.*, 1996).

## QUÍMICO

Se basa en el uso de herbicidas en aplicaciones preemergentes y/o aplicaciones postemergentes. Es el método más usado en la agricultura intensiva debido a las ventajas de la eficacia, rapidez, selectividad y costo (Zita, 2012). Si bien los herbicidas aplicados de forma correcta ofrecen una de las mayores ventajas en medidas de control se debe evitar la dependencia a ellos, ya que pueden dificultar el control de malezas debido a la selección de biotipos resistentes a los herbicidas (FAO, 2010).

## OTROS TIPOS DE CONTROL

Es importante ofrecer nuevas alternativas que resulten efectivas y además de bajo costo en el control de malezas; una de ellas es la esterilización del suelo con vapor de agua, con esta medida se ataca a las malezas desde el banco de semillas, evitando el uso de otras medidas de control, e ha demostrado que la viabilidad de las semillas de malezas se pierde con temperaturas superiores a los 60°C y existen casos donde la efectividad es del 100%, sin embargo esta metodología debe ser probada a nivel de campo (Castillo-Luna y Gómez-Gómez, 2016). Una alternativa más es el uso de bioplaguicidas ya que su principio es el proceso biológico de alelopatía, algunas especies de malezas se ven inhibidas en su germinación por el uso de extractos de plantas que ejercen este proceso; algunas plantas que han sido estudiadas son el girasol (*Helianthus annuus L.*) (Puente y García, 2008) y *Phyla strigulosa* (Torres *et al.*, 2006); este método es menos costoso, muy efectivo y los beneficios que ofrecen se reflejan en la restauración de la biota del suelo, el equilibrio entre plagas y enemigos naturales, pero no ha sido probado fuera de los campos experimentales.

La mejor herramienta de manejo es cambiar de estrategia a menudo a mediano y largo plazo (Taberner *et al.*, 2007). La tendencia debe de ser la utilización de métodos integrados que permitan la reducción de la población de malezas y consecuentemente el banco de semillas en el suelo.

## 2.3 MALEZAS RESISTENTES A HERBICIDAS

La dependencia a herbicidas para el control de malezas ha dado lugar a cambios en la flora arvense y, más importante, en la selección de poblaciones de malezas resistentes a los herbicidas, como consecuencia se seleccionaron rápidamente y todavía siguen seleccionando plantas dentro de las especies. El desarrollo de la resistencia a herbicidas es un proceso evolutivo que implica mutaciones en genes, donde esos genes que favorecen la resistencia son sometidos a la presión de selección ejercida por el uso repetido de herbicidas (García-Franco *et al.*, 2014). La resistencia a los herbicidas se ha desarrollado menos rápido que la resistencia a los insecticidas y fungicidas pero, es preocupante el aumento exponencial de casos, este hecho puede corresponder a que muchos de los nuevos herbicidas afectan solo un sitio de acción (FAO, 2012).

En los sistemas de cultivos intensivos de todo el mundo, no se logra una gestión proactiva de malezas para prevenir o retrasar la selección para la resistencia a los herbicidas. Los agricultores suelen aumentar la adopción de prácticas de manejo integrado de malezas solo después de que la resistencia a los herbicidas ha evolucionado y es visible en los rendimientos. El mayor costo directo de la resistencia a los herbicidas puede ocurrir durante el primer año de un mal control de malezas y la consiguiente pérdida de rendimiento (Beckie, 2006).

La resistencia, sin embargo, también ha generado aspectos positivos, como un mejor conocimiento de la biología de las distintas especies de malezas, de los herbicidas y una adopción de métodos de control integrado de malezas (Taberner *et al.*, 2007).

### 2.3.1 Situación mundial de malezas resistentes a herbicidas

Las poblaciones de malezas independientemente de la aplicación de cualquier herbicida, contienen biotipos resistentes y por el uso repetido de estos se expone a la población a una presión de selección que puede conducir a un aumento en la proporción de individuos resistentes (HRAC, 2017). En 1968 se detectó el primer caso de resistencia en un biotipo de *Senecio vulgaris* hacia simazina, donde dicho

herbicida había sido utilizado consecutivamente por años en un vivero forestal (Ryan, 1970). Con base a Heap (2017) el número de malezas resistentes es de 479 casos a nivel mundial, con 250 especies (145 dicotiledóneas y 105 monocotiledóneas). Estas malezas han desarrollado resistencia a 23 de los 26 sitios de acción de los herbicidas y a 160 herbicidas diferentes. Se han reportado casos en 87 cultivos en 66 países.

La resistencia a los herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) se reportó por primera vez en 1982 para *Alopecurus myosuroides* en Reino Unido, en México se reportó resistencia a estos herbicidas por primera vez en 1996 en biotipos de *Phalaris minor* y *Phalaris paradoxa*. Actualmente se cuentan con 48 especies de malezas resistentes a estos herbicidas (Heap, 2017).

En México se reportan siete biotipos de malezas resistentes a herbicidas (tabla 6) (Heap, 2017), pero estos no son los únicos biotipos resistentes que se han encontrado en el país, otras especies que se han detectado como resistentes son *Echinochloa colona* (Valverde *et al.*, 2000) biotipos localizados en el Estado de México, resistentes para los herbicidas inhibidores del Fotosistema II (Propanil) y biotipos de *Phalaris brachystachys* resistentes a los herbicidas inhibidores de la ACCasa localizados en Guanajuato (CESAVEG., 2007). Desafortunadamente hasta la fecha no existe una fuente oficial que incluya todos los biotipos de malezas resistentes en México.

Tabla 6. Malezas resistentes a herbicidas en México.

<b>Número</b>	<b>Especie</b>	<b>Primer año en el que se reportó</b>	<b>Sitio de acción</b>
1	<i>Avena fatua</i>	1998	Inhibidores de la ACCasa
2	<i>Bidens pilosa</i>	2014	Inhibidores de EPSP sintasa
3	<i>Ixophorus unisetus</i>	2014	Inhibidores ALS
4	<i>Leptochloa virgata</i>	2010	Inhibidores de EPSP sintasa
5	<i>Phalaris minor</i>	1996	Inhibidores de la ACCasa
6	<i>Phalaris paradoxa</i>	1996	Inhibidores de la ACCasa
7	<i>Sorghum halapense</i>	2009	Inhibidores ALS

Fuente: Modificado de (Heap, 2017).



### 2.3.2 Mecanismos de resistencia

El modo de acción de un herbicida es un proceso de cuatro etapas, en primer lugar, el herbicida es interceptado por la maleza, quedando retenido durante un cierto tiempo en el exterior de la planta, posteriormente es absorbido al interior de la planta. Como tercera etapa se da un transporte hasta el sitio activo y por último ejerce su actividad fitotóxica inhibiendo la actividad de un proceso metabólico vital (FAO, 2012).

Al alterarse alguno de estas etapas se tiene como consecuencia la resistencia a herbicidas, siendo múltiples las maneras con que una maleza puede ser resistente. El más claro, es cuando se altera el sitio de acción del herbicida, frecuentemente se describe como efecto llave–cerradura. Sin embargo, cualquier cambio que impida la retención, absorción, transporte o metabolización del herbicida también generara individuos resistentes (Taberner *et al.*, 2007). La resistencia a herbicidas se debe a dos mecanismos, cada uno de los cuales confiere un diferente patrón de resistencia:

Resistencia a sitio blanco (Target site resistance TSR) Es causada por los cambios en la estructura tridimensional de la proteína blanco del herbicida, disminuyendo la unión, así el herbicida no se fija más al sitio activo. Es el mecanismo más común de resistencia y se relaciona con una mutación puntual en el sitio de acción (Délye *et al.*, 2015).

Esta resistencia también involucra elevados niveles de expresión o actividad de la enzima, debido al aumento de la actividad de la proteína blanco, aumento de la expresión o de la actividad intrínseca y/o un cambio en la regulación de la expresión de la proteína. Así, la sobreexpresión de la proteína blanco se deberá a efectos postranscripcionales, reguladores de la expresión o serán el resultado de duplicaciones y/o amplificaciones génicas (Fischer, 2008).

Resistencia a sitio no blanco (Nontarget site resistance NTSR) Es causada por cualquier mecanismo no perteneciente a TSR, es la mejora del metabolismo, la

reducción de la absorción del herbicida, la translocación en la planta o la desintoxicación del herbicida. Este mecanismo se puede diferenciar en dos fenómenos:

-Metabolismo aumentado: Degradación del herbicida hasta sustancias no fitotóxicas, siendo el mecanismo por el cual sobreviven algunos cultivares.

-Efecto de compartimentación/secuestación: El herbicida es removido de las partes sensibles de la planta a un sitio tolerante como la vacuola o las paredes celulares (Délye *et al.*, 2015).

### **2.3.3 Resistencia a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase)**

Los herbicidas inhibidores de la ACCase representan un mayor riesgo para la selección de biotipos resistentes a herbicidas comparado con otros, la resistencia a herbicidas selectivos se ha desarrollado en especies de alta autofecundación (Délye, 2005). Los herbicidas selectivos pueden imponer una presión de selección extremadamente alta, capaz de provocar la evolución de resistencia en unas cuantas generaciones, tal es el caso de los herbicidas inhibidores de la ACCase (Esqueda y Zita, 2007), los ariloxifenoxipropanoatos (APPs) y ciclohexanodionas (CHDs) son capaces de seleccionar biotipos resistentes en 1 a 5 ciclos, esto se debe a la elevada especificidad del sitio activo, la alta frecuencia de mutación del gen nuclear que codifica la enzima y la posibilidad de que distintas mutaciones semidominantes alteren el sitio de acoplamiento del herbicida en el sitio activo de la enzima, confiriendo resistencia a la maleza (Diez de Ulzurrun y Leaden, 2012).

Los herbicidas ariloxifenoxipropanoatos (APPs), ciclohexanodionas (CHDs) y fenilpirazolinás (PPZ) (tabla 7) se dirigen a la vía de biosíntesis de ácidos grasos en plantas mediante la inhibición de la enzima ACCase en la forma plastídica. Sin embargo, muchas poblaciones de malezas se han vuelto resistentes, incluidas algunas de las principales malezas gramíneas, tales como *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Avena sterilis*, *Lolium rigidum* y *Sterea viridis* L. (Liu, *et al.*, 2007).

Tabla 7. Herbicidas inhibidores de la ACCasa.

<b>ACTIVO</b>	<b>EMPRESA</b>
<b><i>Ariloxifenoxipropionatos</i></b>	
Clodinafop-propargil	Syngenta
Cyhalofop-butil	Dow AgroSciences
diclofop-metil	Bayer Crop Science
fenoxaprop-P-etil	Bayer Crop Science
fluazifop-P-butil	Syngenta
haloxifop-etotil	Dow AgroSciences
haloxifop-metil	Dow AgroSciences
haloxifop-P-metil	Dow AgroSciences
Metamifop	Syngenta
Propaquizafop	Syngenta
quizalofop-P-etil	DuPont
quizalofop-P-tefuril	Uniroyal Chemical
<b><i>Ciclohexanodionas</i></b>	
Aloxidim	BASF
Butroxidim	Syngenta
Cletodim	Valent
Cicloxidim	BASF
Profoxidim	BASF
Sethoxydim	BASF
Tepraloxidim	BASF
Tralkoxidim	Syngenta
<b><i>Fenilpirazolinás</i></b>	
Pinoxaden	Syngenta

Fuente: Elaborado con datos de (Heap, 2017).

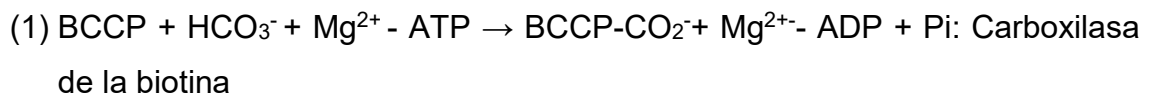
Los herbicidas inhibidores de la ACCasa son utilizados comúnmente en cultivos de cereales, por ejemplo, los mayores problemas encontrados en el cultivo de trigo están asociados con las malezas resistentes a los herbicidas, siendo *Phalaris minor* una de las malezas más problemáticas (Labrada, 2004). *Phalaris minor* es la primera maleza reportada como resistente a los herbicidas inhibidores de la ACCasa en México, otra maleza encontrada como resistente es *Phalaris paradoxa* que muestra resistencia cruzada a herbicidas arilfenoxipropionatos (APPs) y ciclohexanodionas (CHDs) (Cruz-Hipólito *et al.*, 2012). *Avena Fatua* es otra maleza problemática en el mundo, acentuándose su problema en México y Chile, ya que los biotipos presentan resistencia cruzada a herbicidas arilfenoxipropionatos (APPs), ciclohexanodionas (CHDs) y fenilpirazolinás (PPZ) (Cruz-Hipólito *et al.*, 2011).

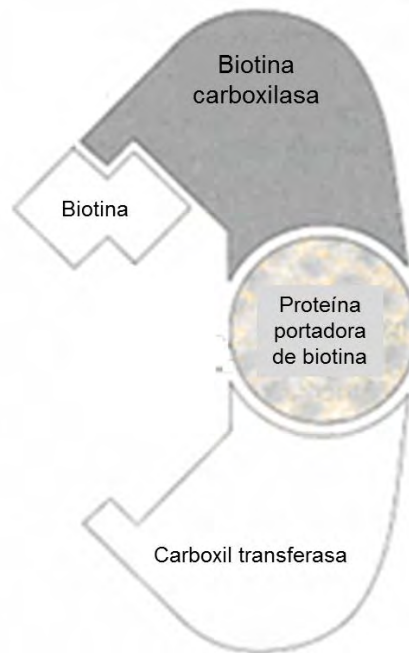
En 1993 se encontró el primer biotipo resistente de *Phalaris* (*Phalaris minor*) en la India, en 1996 un biotipo resistente de *Phalaris paradoxa* en México y en 2001 en Italia el primer biotipo resistente de *Phalaris brachystachys* (Heap, 2017). Cada año se han encontrado biotipos resistentes de alpistillo (*Phalaris sp.*) en sitios donde originalmente no existían, con lo cual se agravan los problemas de producción, situación que pone en riesgo el cultivo de trigo (García-Franco *et al.*, 2014).

#### **2.3.4 La acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa)**

La acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) es una enzima clave en la biosíntesis de ácidos grasos en organismos eucariotes y procariotes. Esta enzima fue descubierta en 1959 y se ha estudiado en una gran variedad de especies de procariotes, mamíferos y plantas. En todas las especies estudiadas, la ACCasa juega el mismo rol en la biosíntesis de ácidos grasos, a pesar de las grandes diferencias en proteínas y en la estructura de regulación. Una característica distintiva de la ACCasa es que tiene como cofactor la biotina (figura 7), siendo este cofactor identificado como un portador de CO<sub>2</sub> ligado a esta enzima. La biotina se encuentra en tres clases de enzimas: carboxilasas, descarboxilasas y transcarboxilasas (Inclendon y Hall, 1997).

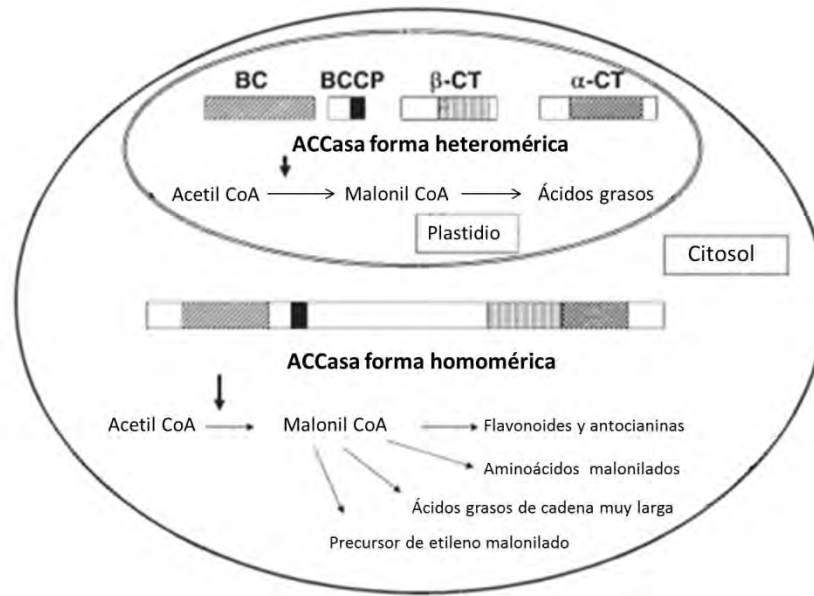
La ACCasa interviene en la primera etapa comprometida en la carboxilación de acetil coenzima A a malonil coenzima A, catalizando las siguientes reacciones medias:





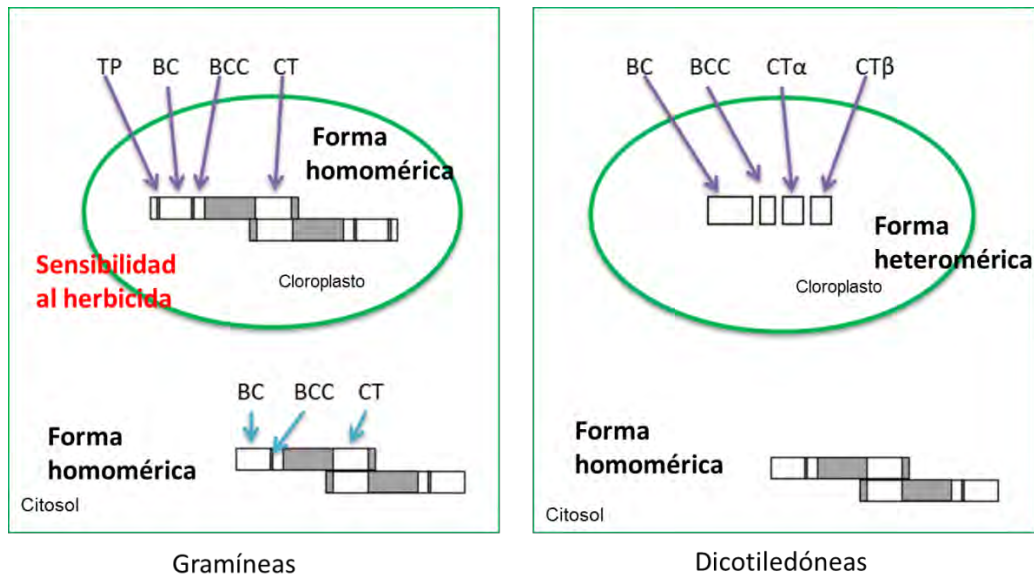
**Figura 7. Estructura de la acetil coenzima A carboxilasa.** Fuente: (Cobb, 1992).

Existen dos isoformas de esta enzima, ACCasa homomérica y ACCasa heteromérica. La forma homomérica se compone de un gran polipéptido y la forma heteromérica se compone de cuatro subunidades: Proteína portadora de biotina carboxilasa (BCCP), Biotina carboxilasa (BC) y las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  de Carboxil transferasa (CT) (figura 8). En los plástidos, malonil-CoA se utiliza principalmente en la síntesis de ácidos grasos *de novo*, mientras que en el citosol, se utiliza en diversas reacciones como la síntesis de flavonoides y antocianinas, la síntesis de ácidos grasos de cadena muy larga, la malonilación de D aminoácidos, la malonilación del precursor de etileno 1-aminociclopropano-1-carboxílico (Sasaki y Nagano, 2004).



**Figura 8. Compartimentación de las dos isoformas de la ACCasa en plantas.**  
 Fuente: (Sasaki y Nagano, 2004).

En las plantas cada célula debe de sintetizar los ácidos grasos que requiere, por lo tanto, una cantidad apropiada de malonil-CoA debe de estar siempre a tiempo en respuesta a la demanda de la célula. Debido a que la cubierta plastídica no es permeable a malonil CoA, es necesario que la ACCasa este presente en los plástidos y el citosol. Las plantas dicotiledóneas contienen la forma heteromérica en los en los cloroplastos y la forma homomérica en el citosol, pero en las gramíneas la forma homomérica se encuentra en los cloroplastos y el citosol (figura 9) siendo esta característica determinante para la sensibilidad a los herbicidas inhibidores de la ACCasa (Délye, 2005).



**Figura 9. Isoformas de la ACCasa en gramíneas y dicotiledóneas.** TP: péptido acarreador, BC: biotina carboxilasa, BCC: acarreador de la biotina carboxilasa, CT: carboxil transferasa. Fuente: (Délye, 2005).

Los herbicidas inhibidores de la ACCasa impiden la actividad de la forma homomérica de la enzima, pero no de la forma heteromérica, así en las gramíneas el ataque es a la ACCasa cloroplástica (homomérica) teniendo como consecuencia el bloqueo de la síntesis de ácidos grasos (Sasaki y Nagano, 2004). La selectividad en los cultivos de gramíneas (trigo, maíz y arroz) se basa en la capacidad de metabolización del herbicida en productos inactivos, ya que contienen la isoforma homomérica en los cloroplastos sensible a los herbicidas y no la forma heteromérica insensible presente en dicotiledóneas (Délye, 2005).

### 2.3.5 Dominio carboxil transferasa (CT) de la ACCasa

El dominio Carboxil transferasa (CT) lleva a cabo la reacción de transcarboxilación a partir de la biotina, se encarga de transferir el grupo carboxilo al sustrato receptor, es decir, al acetil coenzima A. Se encarga de catalizar el segundo eslabón de la reacción global. El resto de la biotina de la subunidad proteína portadora de biotina carboxilasa (BCCP) de la ACCasa sirve como brazo oscilante para la transferencia del ion bicarbonato de la subunidad biotina carboxilasa (BC) hasta el acetil coenzima A ligado al centro activo de la subunidad CT (Nikolskaya *et al.*, 1999).

La región que comprende el dominio CT de la ACCasa plástica posee las principales determinantes de sensibilidad a herbicidas APPs, CHDs y PPZ (Galdames *et al.*, 2009). Los estudios actuales han indicado varias mutaciones puntuales en el gen que codifica el dominio CT de la ACCasa plástica que es responsable de la falta de sensibilidad de la enzima a herbicidas inhibidores de ACCasa en varias malezas gramíneas (Cruz-Hipólito *et al.*, 2012).

### **2.3.6 Mutaciones puntuales en la ACCasa**

La resistencia en el sitio diana es causada esencialmente por un solo cambio de un aminoácido en el dominio carboxil transferasa (CT), lo que afecta la unión inhibidora de la molécula herbicida en el sitio activo de la ACCasa. Estas mutaciones podrían explicar la pérdida de afinidad de dicha enzima por los herbicidas inhibidores de la ACCasa. Ciertas mutaciones puntuales localizadas en el gen que codifica la ACCasa plástica confieren insensibilidad a herbicidas en varias malezas (tabla 8); estas mutaciones se producen en el dominio responsable de la especificidad de la enzima. Se han reportado siete posiciones diferentes como responsables de la resistencia descrita en malezas: 1781, 1999, 2027, 2041, 2078, 2088 y 2096 (Cruz-Hipólito *et al.*, 2015). Las mutaciones que dotan la resistencia a herbicidas pueden clasificarse en dos tipos:

**Estructural:** Son los cambios en una secuencia de ADN que sintetizan una proteína que conducirán a una disminución de la eficacia de un herbicida. Las mutaciones confieren una sustitución de aminoácidos en el sitio de la proteína objetivo, causando la disminución de la afinidad en la unión de la partícula herbicida y la proteína [*Resistencia a sitio blanco (Target site resistance TSR)*].

**Regulación:** Se debe a una variación en la expresión de la enzima a los herbicidas o metabolización de las proteínas de transporte que darán lugar a un aumento de la degradación del herbicida o la secuestro desde su sitio de acción hasta un sitio inactivo. [*Resistencia a sitio no blanco (Nontarget site resistance NTSR)*] (Délye *et al.*, 2015).



Tabla 8. Mutaciones que confieren resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa.

<b>Sustitución de aminoácidos</b>	<b>Especie</b>	<b>Referencias</b>
	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Délye <i>et al.</i> , 2002a) (Petit <i>et al.</i> , 2010) (Délye <i>et al.</i> , 2005) (Price <i>et al.</i> , 2004)
	<i>Avena fatua</i>	(Cruz-Hipólito <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Eleusine indica</i>	(Leach <i>et al.</i> , 1995)
Asp-2078-Gly	<i>Lolium rigidum</i>	(Powles y Yu, 2010) (Tardif <i>et al.</i> , 1993)
	<i>Lolium spp.</i>	(Scarabel <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Phalaris minor</i>	(Jang <i>et al.</i> , 2013) (Cruz-Hipólito <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Phalaris paradoxa</i>	(Hochberg <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Setaria viridis</i>	(Marles <i>et al.</i> , 1993)
Cys-2088-Arg	<i>Lolium rigidum</i>	(Yu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Petit <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Délye <i>et al.</i> , 2005) (Cocker <i>et al.</i> , 2000)
	<i>Digitaria ischeamum</i>	(Kuk <i>et al.</i> , 1999)
Gly-2096-Ala	<i>Lolium multiflorum</i>	(Gronwald <i>et al.</i> , 1992) (De Prado <i>et al.</i> , 2000)
	<i>Lolium rigidum</i>	(Preston <i>et al.</i> , 1996)
	<i>Lolium temulentum L.</i>	(Kuk <i>et al.</i> , 2000)
Gly-2096-Ser	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Petit <i>et al.</i> , 2010)

Tabla 8. Mutaciones que confieren la resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa (Continuación).

Sustitución de aminoácidos	Especie	Referencias
Gly-2096-Ser	<i>Phalaris paradoxa</i>	(Cruz-Hipólito <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Christoffers y Pederson, 2007) (Moss <i>et al.</i> , 2003) (Petit <i>et al.</i> , 2010) (Brown <i>et al.</i> , 2002) (Délye <i>et al.</i> , 2002c) (Délye <i>et al.</i> , 2002b)
	<i>Avena fatua</i>	(Christoffers y Pederson, 2007) (Christoffers <i>et al.</i> , 2002) (Shukla <i>et al.</i> , 1997a)
	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Digitaria sanguinalis</i>	(Volenberg y Stoltenberg, 2002)
Ile-1781-Leu	<i>Lolium rigidum</i>	(Powles y Yu, 2010) (Zagnitko <i>et al.</i> , 2001) (Zhang y Powles, 2006) (Yu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Lolium multiflorum</i>	(Kaundun, 2010) (White <i>et al.</i> , 2005)
	<i>Phalaris minor</i>	(Jang <i>et al.</i> , 2013) (Cruz Hipólito <i>et al.</i> , 2015)
	<i>Phalaris paradoxa</i>	(Hochberg <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Setaria faberi</i>	(Shukla <i>et al.</i> , 1997b)
	<i>Setaria viridis</i>	(Délye <i>et al.</i> , 2002b) (Shukla <i>et al.</i> , 1997b) (De Prado <i>et al.</i> , 2004) (Délye <i>et al.</i> , 2002a)
Ile-2041-Asn	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Petit <i>et al.</i> , 2010) (Délye <i>et al.</i> , 2003)

Tabla 8. Mutaciones que confieren la resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCasa (Continuación).

<b>Sustitución de aminoácidos</b>	<b>Especie</b>	<b>Referencias</b>
Ile-2041-Asn	<i>Avena fatua</i>	(Cruz-Hipólito <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Lolium rigidum</i>	(Yu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Lolium spp.</i>	(Scarabel <i>et al.</i> , 2011) (Délye <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Phalaris paradoxa</i>	(Hochberg <i>et al.</i> , 2009)
Trp-1999-Cys	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Alopecurus myosuroides</i>	(Petit <i>et al.</i> , 2010) (Délye <i>et al.</i> , 2005)
	<i>Lolium multiflorum</i>	(Kaundun, 2010)
	<i>Lolium rigidum</i>	(Yu <i>et al.</i> , 2007)
Trp-2027-Cys	<i>Avena sterilis spp. ludoviciana</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Phalaris paradoxa</i>	(Hochberg <i>et al.</i> , 2009)

## 2.4 DETECCIÓN Y MANEJO DE RESISTENCIA EN MALEZAS

La sospecha inicial de resistencia está relacionada con un control deficiente de la maleza después de una aplicación herbicida. La resistencia a herbicidas no es un problema que se presente de forma súbita en un terreno en particular, ni es la falta de control de maleza es un solo año. Puede ocurrir primero en pequeñas áreas, especialmente en donde se han utilizado herbicidas con el mismo modo de acción por varios años consecutivos (García-Franco *et al.*, 2014). Existen indicadores clave de la resistencia en el campo, los cuales son:

- Plantas no afectadas entre grupos de plantas muertas de la misma especie, que fueron tratadas al mismo tiempo.
- Manchones de malezas no controladas que se están expandiendo.
- No hay evidencia de escapes o problemas de aplicación.
- Poco o ningún daño en las malezas.
- El mismo herbicida se ha utilizado año con año.
- Se ha confirmado la resistencia en terrenos cercanos (Esqueda y Zita, 2007).

Cuando un herbicida parece no funcionar como se espera, el primer paso es identificar el problema. Hay muchas causas de los problemas del funcionamiento del herbicida que son diferentes a la resistencia, estos incluyen una pobre cobertura de aplicación, uso de una dosis incorrecta, mala identificación de la maleza, condiciones ambientales adversas, incorrecto momento de aplicación entre otros. Si al analizar estos tópicos todo parece haberse hecho de manera correcta y eficiente, lo consiguiente es hacer pruebas para determinar la posible resistencia y esas pruebas son:

*Prueba de dosis de discriminación:* Determinará el estatus de la susceptibilidad de la población y su cambio. Los datos pueden generarse de bioensayos con los sobrevivientes en el área que fue tratada.

*Prueba de respuesta de dosis:* La población en cuestión (resistente) y la población conocida como susceptible deben ser probadas con el herbicida que se ha usado frecuentemente en campo (FAO, 2012).

El objetivo del manejo de la resistencia es prevenir o al menos retardar la acumulación de individuos resistentes en las poblaciones de malezas, de manera que preserve la efectividad de los herbicidas disponibles. Un principio clave del Manejo Integral de Plagas (MIP) es usar los herbicidas solamente cuando sean absolutamente necesarios y usar técnicas alternativas de manejo de malezas siempre que sea posible. EL MIP, por lo tanto, constituye un enfoque fundamental

para el manejo de la resistencia al minimizar la presión de selección que provoca el herbicida (FAO, 2012).

La prevención de la resistencia es una opción más fácil y barata que el manejo de una resistencia confirmada, un simple cambio de herbicidas no es suficiente para vencer la resistencia a mediano y largo plazo, por ello se necesita el desarrollo de un sistema integrado y sostenible para cada predio en particular (FAO, 2010). Las tres áreas clave para el manejo de malezas son: Agronomía del cultivo, técnicas culturales y el uso de herbicidas, cuando se emplean de forma integrada y alternante sirven para reducir la presión de selección sobre cualquier especie de malezas y disminuyen sustancialmente la probabilidad de supervivencia de individuos resistentes (HRAC, 2017). Los problemas de riesgo económico, la disponibilidad de mano de obra y gestión del tiempo afecta la adopción de otras prácticas culturales o mecánicas para la gestión de malezas resistentes a herbicidas.

Los herbicidas deben de ser vistos como un recurso no renovable, no se pueden esperar muchos compuestos con nuevos sitios de acción para ser comercializados en un futuro cercano (Beckie, 2006). A pesar de que se dispone de un elevado número de sustancias activas herbicidas y que el número de mecanismos de acción es relativamente grande, para controlar una determinada especie en un cultivo en concreto se dispone de pocas opciones (FAO, 2012).

Otro aspecto a cuidar es el efectuar programas de prevención y manejo de resistencia cuando se introduzcan nuevos herbicidas, estos programas deben de implementarse antes de que la resistencia se convierta en un problema y aplicarse uniformemente en grandes áreas a fin de obtener su beneficio biológico completo. La realización de estudios de resistencia de malezas a herbicidas se deberá promover en aquellas regiones con alto consumo de herbicidas, por lo cual será necesario llevar un programa que permita determinar los biotipos resistentes, estructurar esquemas de rotación de grupos herbicidas, rotación de otras prácticas de control y del manejo de cultivos (FAO, 2010).

Desafortunadamente el modelo individualista del combate de malezas ignora su capacidad evolutiva, sus efectos y las medidas de control fuera de las unidades productivas, olvidando el hecho de que las malezas no conocen límites de predios ni fronteras. No hay ninguna norma que obligue a los dueños de predios a controlar las malezas para evitar que éstas se propaguen y diseminen fuera de su propiedad, no se encuentran regulaciones para la detección temprana, erradicación o control de alguna especie o mitigación de los daños que causan las malezas, no hay referencia al combate de plagas invasoras. Contamos con leyes y normas que regulan en el país la producción, importación, transporte, venta, algunos usos y la prohibición de herbicidas, no obstante no se ha impedido el mal uso de los herbicidas, no se han estudiado los efectos que producen en especies que no son el blanco y sus efectos nocivos en animales y humanos. No se aprecia que las malezas son un factor limitante para la agricultura y sus costos económicos son equiparables con plagas y enfermedades directas en el cultivo (Espinosa-García y Vibrans, 2009).

### **III. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar y comparar las secuencias nucleotídicas del dominio carboxil transferasa (CT) de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) de dos biotipos de *Phalaris brachystachys*.

#### **Objetivos particulares**

Analizar la expresión del dominio CT de la ACCasa en *Phalaris brachystachys* en los biotipos sensible y resistente a herbicidas inhibidores de la ACCasa.

Determinar las bases moleculares de *Phalaris brachystachys* en el biotipo resistente a herbicidas inhibidores de la ACCasa.

### **IV. HIPÓTESIS**

Si *Phalaris brachystachys* presenta resistencia a los herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) se expresará una mutación puntual en el dominio carboxil transferasa (CT) de la ACCasa.

## **V. METODOLOGÍA**

### **5.1 Material vegetal**

Las cariósides de *Phalaris brachystachys* fueron colectadas durante 2008 en diversas localidades del estado de Guanajuato (Medina *et al.*, 2007), entre ellas se identificaron plantas resistentes y sensibles a los herbicidas inhibidores de la ACCasa aplicados en los últimos 10 años. Posteriormente en la FES Cuautitlán, UNAM se sembró dicho material vegetal en varios bioensayos para la producción de semillas. De las ocho colectas de esta especie, se emplearon dos para el presente trabajo; la colecta correspondiente al biotipo sensible a los herbicidas inhibidores de la ACCasa se identificó como Pb-INIFAP(S), Irapuato. La colecta correspondiente al biotipo resistente a herbicidas inhibidores de la ACCasa se identificó como I-Pb-4 (R) colecta invernadero Molino de Santa Ana, Irapuato.

### **5.2 Condiciones de crecimiento**

Las cariósides fueron sembradas en charolas de germinación, para ello se utilizó el sustrato *Peat moss* y agrolita en una proporción 1:1, previamente esterilizado en autoclave. Para el proceso de desinfección, las cariósides fueron sumergidas en *Tween 20*® al 0.1% en agitación por 2 minutos, posteriormente se realizó un lavado sumergiéndolas en agua destilada por 30 segundos, después fueron depositadas en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 4 minutos, se realizó un segundo lavado sumergiéndolas en agua destilada por 30 segundos y un tercer lavado sumergiéndolas en agua destilada por 5 minutos. Terminando el tiempo de lavado las semillas fueron depositadas en una cámara húmeda creada dentro de una caja de petri. Posterior a esto se llenaron las cavidades de los semilleros hasta un 90% de su capacidad con el sustrato húmedo por agua destilada estéril para continuar con la siembra. Los semilleros se dejaron en un invernadero de las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM (FES-C).



Un mes después de la siembra se realizó el trasplante correspondiente a macetas redondas de un diámetro de 12.5 cm, empleando como sustrato tierra negra Nutrigarden® y agrolita en un proporción 2:1. Las macetas se mantuvieron en condiciones de invernadero dentro de la FES-C y el riego fue de lunes a viernes a capacidad de campo.

### **5.3 Extracción de ADN**

Se realizó la extracción de ADN de los biotipos de *Phalaris brachystachys* sensible y resistente con el método de Plant DNAzol Reagent®, utilizando material vegetal fresco de hojas jóvenes de cada planta. Se tomaron muestras de material vegetal de 100 mg para cada una de las muestras (sensible y resistente), cada trozo de hoja fue limpiado con papel impregnado con alcohol al 70%, el material biológico se colocó en un mortero frío donde se le agregaron 300 µL de Plant DNAzol Reagent® para macerar durante 15 minutos aproximadamente. El producto resultante se pasó a un tubo eppendorf® de 1.5 mL para incubarlo a temperatura ambiente con agitación por 5 minutos, se agregaron 300 µL de cloroformo y se mezcló vigorosamente. Nuevamente se incubó a temperatura ambiente con agitación por 5 minutos, posteriormente se centrifugó a 10300 rpm por 10 minutos y se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo eppendorf® de 1.5 mL.

Para el proceso de precipitación del ADN a ese nuevo tubo eppendorf® de 1.5 mL se le agregaron 225 µL de etanol absoluto frío, se mezcló por inversión (10 veces) y se mantuvo a temperatura ambiente por 5 minutos, pasado el tiempo se centrifugó a 6700 rpm por 4 minutos, después se decantó el sobrenadante y se obtuvo “una pastilla” en el fondo del tubo.

Para el lavado del ADN en el tubo eppendorf® de 1.5 mL donde se encontraba “la pastilla” se adicionaron 300 µL de la mezcla de lavado (1 mL de Plant DNAzol Reagent® + 750 µL de etanol absoluto) se agitó el tubo en vórtex por unos segundos y se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 minutos, posteriormente se centrifugó a 6700 rpm por 4 minutos, después se decantó el sobrenadante y a

la nueva “pastilla” depositada en el fondo del tubo se le adicionaron 300  $\mu$ L de etanol al 70% y se mezcló en vórtex. Por último se centrifugó a 6700 rpm por 4 minutos.

Para la solubilización del ADN del tubo previamente centrifugado se decantó el sobrenadante y se invirtió el tubo sobre un trozo de papel hasta evaporarse el etanol dentro del mismo sin que “la pastilla” depositada en el fondo se desprendiera, se adicionaron 50  $\mu$ L de agua inyectable precalentada a 65°C para resuspender la pastilla por pipeteo hasta disolverla y obtener la muestra de ADN.

Para determinar la calidad y cantidad del ADN extraído se utilizó un equipo nanodrop 2000 Thermo Scientific®.

#### **5.4 Integridad del ADN**

La integridad del ADN fue determinada por el método de electroforesis en gel de agarosa al 0.8% disuelta en 40 mL del tampón TAE 1X (40 mM Trisacetato; 10 mM EDTA) y 4 $\mu$ L de bromuro de etidio, se utilizó una cámara de electroforesis horizontal Consort® modelo EV243. Para cargar las muestras se mezclaron 10  $\mu$ L de ADN + 2  $\mu$ L de buffer de carga Thermo Scientific® 6x DNA loading y en un pozo adicional se colocaron 3  $\mu$ L de marcador Thermo Scientific® gene Ruler + 1  $\mu$ L de buffer de carga. La corrida del gel se realizó a 90 voltios durante 45 minutos. Posteriormente el gel se transfirió a un transiluminador Everich® modelo JY02S para visualizar el ADN por luz ultravioleta (254 nm).

#### **5.5 Diseño de *primers***

Se diseñaron dos pares de *primers* para amplificar por PCR dos fragmentos del gen correspondiente a la ACCasa denominados como región A (Up n600/Low n600) y B (Up n591/Low n591) del dominio carboxil transferasa (CT) de la ACCasa (tabla 9). Los *primers* fueron sintetizados por IDT® (Integrated DNA Technologies).

Tabla 9. Diseño de *primers* región A y B del dominio CT de la ACCasa.

Región	Oligonucleótido	Secuencia (5' - 3')
A	Up n600	GCGTGCTGCTGGGCTCAAT
	Low n600	CCAGTTAAGATAATGGGCTGGTC
B	Up n591	AAGGATGGGCGAAGACAGTAGTTA
	Low n591	CTCCATCAGATAGGCTTCCATTT

Fuente: (Zita, 2012).

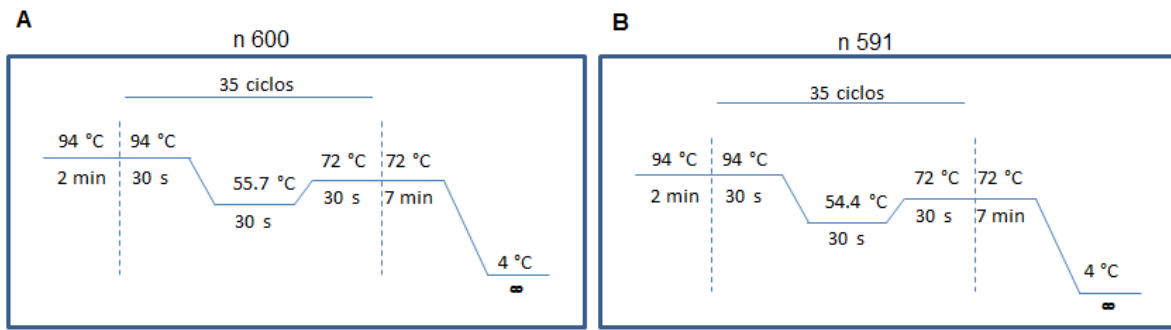
## 5.6 Amplificación de las regiones A y B del dominio CT

Para la reacción de PCR se utilizaron 600 ng de ADN genómico extraído de *Phalaris brachystachys* de cada biotipo, sensible y resistente. Para amplificar las regiones de interés del gen ACCasa se utilizó el kit para PCR Thermo Scientific® Taq DNA Polymerase (Recombinant), la mezcla de reacción se realizó adicionando 5 µL de buffer KCl a una concentración final 1X, 5 µL de dNTP mix a una concentración final de 0.2 mM, 2 µL de cada *primer* (*forward* y *reverse*) a una concentración final de 0.4 µM, 5 µL de MgCl<sub>2</sub> a una concentración final de 2.5 mM, 2 µL de DNA templado a una concentración de 600 ng, 1 µL de Taq polymerase a una concentración final de 1.25 U/µL y por último el volumen necesario de agua inyectable para llevar cada muestra a un volumen total de reacción de 50 µL (28 µL para las muestras de ADN de *Phalaris brachystachys* sensible y resistente y para el blanco negativo 30 µL de agua inyectable). Las muestras se hicieron por duplicado, excepto el blanco negativo.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador Sure Cyclyer 8800 de Agilent Technologies®. Para los *primers* n600 se ejecutó el siguiente programa: 1 ciclo para la desnaturalización inicial de 94°C por 2 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineamiento a 55.7°C por 30

segundos y extensión a 72°C por 30 segundos. Por último un ciclo de extensión final de 72°C por 7 minutos y el paso de enfriamiento a 4°C (figura 10 A).

Para la amplificación de los *primers* n591 se ejecutó el siguiente programa: 1 ciclo para la desnaturalización inicial de 94°C por 2 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineamiento a 54.4°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos. Por último un ciclo de extensión final de 72°C por 7 minutos y el paso de enfriamiento a 4°C (figura 10 B).



**Figura 10. Programa de amplificación del dominio CT de la ACCasa.** A=Programa de amplificación para la región n600 y B= Programa de amplificación para la región n591.

## 5.7 Electroforesis en gel de agarosa para el ADN amplificado

Se hizo un gel de agarosa al 1.5% disuelto en 40 mL del tampón TAE 1X (40 mM Trisacetato; 10 mM EDTA) y 4µL de bromuro de etidio, se utilizó una cámara de electroforesis horizontal Consort® modelo EV243. Para cargar las muestras se mezclaron 20 µL de ADN + 4 µL de buffer de carga Thermo Scientific® 6x DNA loading y para el marcador se tomó 1 µL de buffer de carga + 3 µL de marcador Thermo Scientific® gene Ruler. La corrida del gel se realizó con un voltaje de 90 voltios durante 45 minutos. Posteriormente el gel se transfirió a un transiluminador Everich® modelo JY02S para visualizar el ADN por luz ultravioleta (254 nm).

## **5.8 Purificación de los fragmentos obtenidos en la PCR**

Con el propósito de eliminar las impurezas de la mezcla de reacción de PCR, como reactivos remanentes se empleó el kit de purificación Montage PCR de Millipore®. Para realizar la purificación se insertó la columna morada dentro de un tubo colector, donde se adicionaron 350  $\mu\text{L}$  de agua inyectable sin tocar la membrana de la columna con la punta de la pipeta, posteriormente se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  del producto PCR de cada muestra (el volumen final dentro de la columna debe de ser de 400  $\mu\text{L}$ ). Tapado el tubo se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos, se removió la columna colocándola en un nuevo tubo colector adicionando 20  $\mu\text{L}$  de agua inyectable, sin tocar la membrana con la punta de la pipeta. Se invirtió la columna y se insertó en esa posición dentro del tubo colector, se centrifugó a 3000 rpm por 2 minutos. Por último se retiró la columna y el volumen contenido en el tubo es el producto PCR purificado.

## **5.9 Electroforesis en gel de agarosa para el ADN amplificado y purificado**

Se hizo un gel de agarosa al 1.5% disuelto en 40 mL del tampón TAE 1X (40 mM Trisacetato; 10 mM EDTA) y 4 $\mu\text{L}$  de bromuro de etidio, se utilizó una cámara de electroforesis horizontal Consort® modelo EV243. Para cargar las muestras se mezclaron 5  $\mu\text{L}$  de ADN producto PCR + 1  $\mu\text{L}$  de buffer de carga Thermo Scientific® 6x DNA loading y para el marcador se adicionó 1  $\mu\text{L}$  de buffer de carga + 3  $\mu\text{L}$  de marcador Thermo Scientific® gene Ruler. La corrida del gel se realizó con un voltaje de 90 voltios durante 45 minutos. Posteriormente el gel se transfirió a un transiluminador Everich® modelo JY02S para visualizar el ADN por luz ultravioleta (254 nm).

## **5.10 Secuenciación**

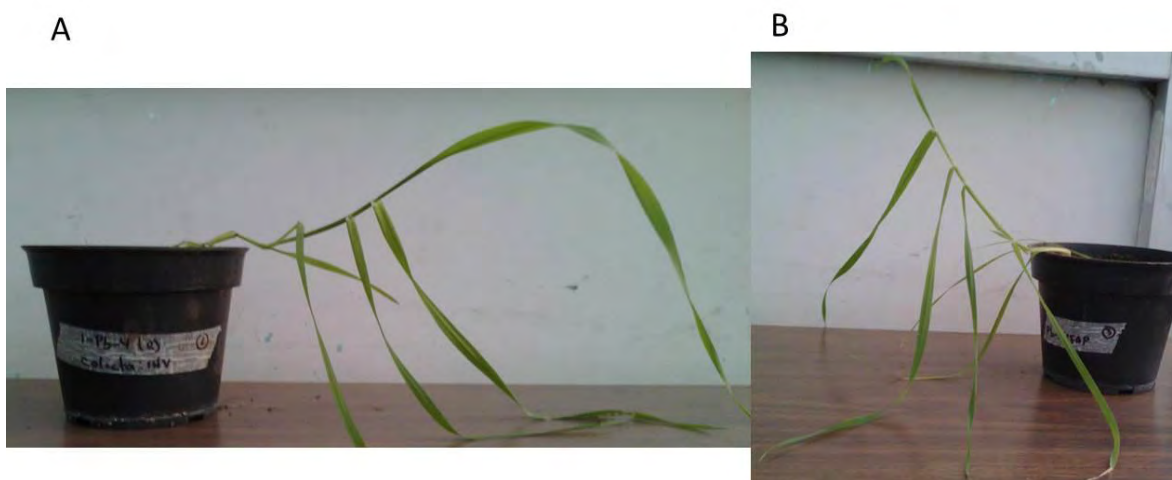
La secuenciación de las muestras de ADN genómico purificado se realizó en el Laboratorio Nacional en Salud: Diagnóstico molecular y efecto ambiental en enfermedades crónico-degenerativas de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Material vegetal

Las cariópsides de la colecta Pb-INIFAP (sensible) que fueron sembradas en charolas tuvieron un 19.05% de germinación, teniendo una altura promedio de 13.12 cm en el momento del trasplante. En cuanto a las cariópsides de la colecta I-Pb-4 (resistente) se obtuvo un 14.28% de germinación teniendo una altura promedio de 8.00 cm al momento del trasplante.

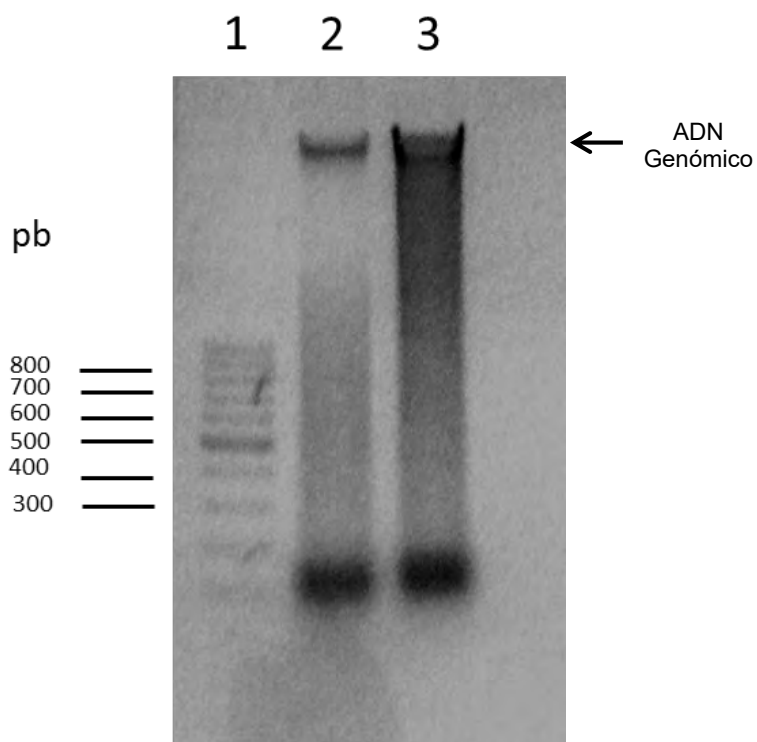
Cuatro meses después de la siembra se llevó a cabo la extracción de ADN, la colecta Pb-INIFAP (sensible) tenía una altura promedio de 43.93 cm y la colecta I-Pb-4 (resistente) 23.85 cm. Se observó que el hábito de crecimiento de los biotipos era distinto, ya que las plantas del biotipo resistente tienden a crecer de manera horizontal, teniendo hojas más anchas, pero con una textura muy delicada ya que al tener contacto con las hojas estas tienden a dañarse. En cuanto al biotipo sensible se observó una ligera tendencia a un crecimiento vertical, teniendo hojas delgadas, pero más largas y en promedio con dos hojas más en cada planta (7 hojas) comparado con el biotipo resistente (figura 11).



**Figura 11. Crecimiento de biotipos de *Phalaris brachystachys*.** [A] Biotipo resistente I-Pb-4 (R) y [B] Biotipo sensible Pb-INIFAP (S).

## 6.2 Extracción de ADN

Se obtuvo ADN de los biotipos de *Phalaris brachystachys* resistente y sensible, se cuantificó y determinó la calidad del ADN extraído. La integridad fue evaluada por visualización en un gel de agarosa al 0.8% (figura 12). El biotipo resistente I-Pb-4 (R) obtuvo una concentración de 411.6 ng/ $\mu$ L y un radio de 1.93 y para el biotipo sensible Pb-INIFAP (S) se obtuvo una concentración de 504.0 ng/ $\mu$ L y un radio de 1.86, ambos radios se encuentran en el rango de 1.8 a 2.0 lo que se traduce en una alta pureza de extracción lo que determina que el ADN es de una óptima calidad para la reacción de PCR.

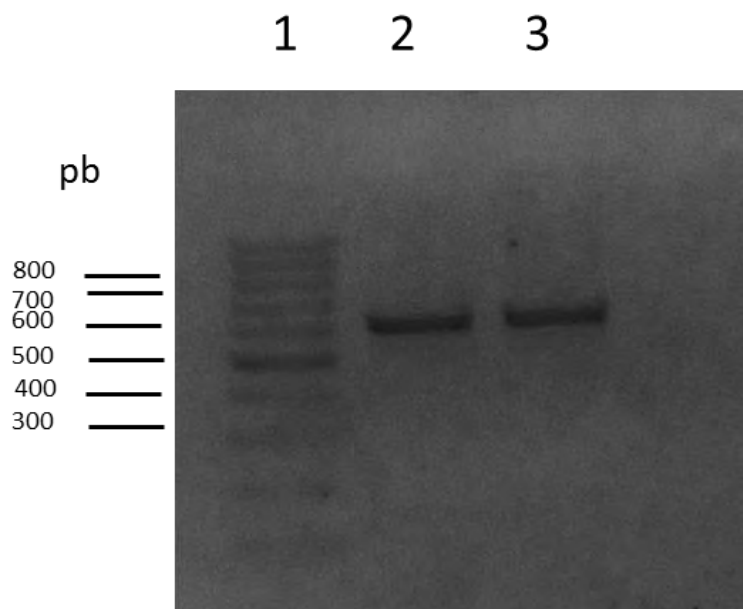


**Figura 12. Gel de electroforesis de la extracción de ADN de biotipos de *Phalaris brachystachys*.** 1: Marcador 100 pb [300 ng]. 2: Biotipo resistente, I-Pb-4 (R) 10  $\mu$ L [4.11  $\mu$ g] y 3: Biotipo sensible, Pb-INIFAP (S) 10  $\mu$ L [5.04  $\mu$ g], la flecha indica el ADN genómico. Gel de agarosa al 0.8%.

### 6.3 Amplificación de las regiones A y B del dominio CT

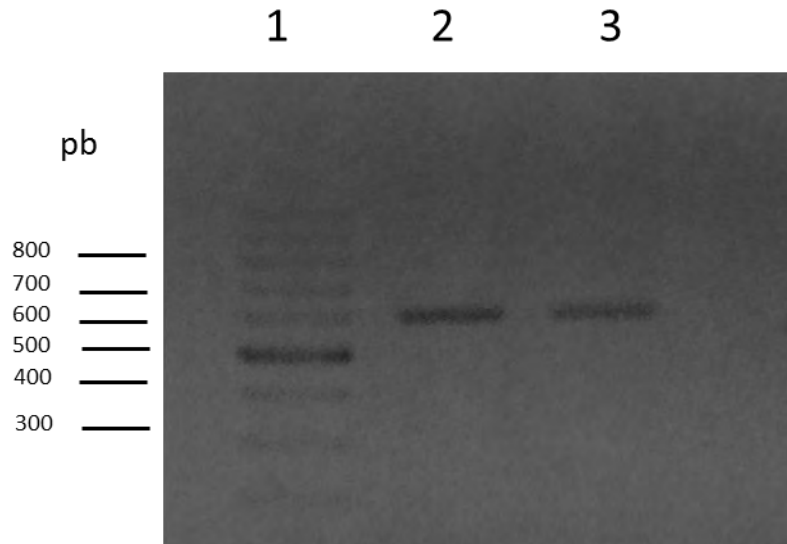
Para determinar la expresión del dominio carboxil transferasa (CT) de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase) en los biotipos de *Phalaris brachystachys* resistente y sensible se realizó una PCR punto final utilizando como templado el ADN genómico extraído. Se utilizaron dos pares de *primers* para amplificar dos regiones distintas del dominio CT pertenecientes al gen de la ACCase. En estas regiones se han encontrado las mutaciones más importantes asociadas con la resistencia a herbicidas inhibidores de la ACCase, la región A tiene un peso de 600 pb (figura 13) y la región B tiene un peso de 591 pb (figura 14).

Posterior a la amplificación se purificaron los productos de PCR para la secuenciación de los fragmentos obtenidos (figura 15).

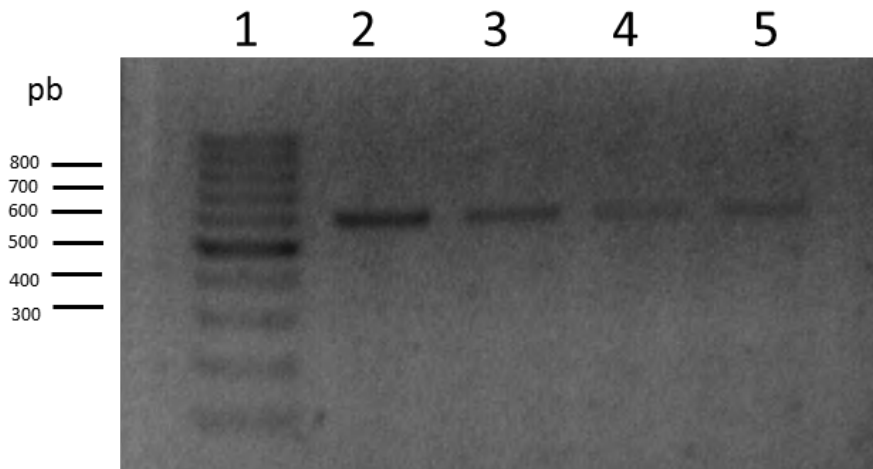


**Figura 13. Gel de electroforesis de la expresión de la región A del dominio CT de la ACCase mediante PCR.** ADN amplificado de oligo n600. 1: Marcador 100 pb [300 ng]. 2: Biotipo resistente, I-Pb-4 (R) 20  $\mu$ L y 3: Biotipo sensible, Pb-INIFAP (S) 20  $\mu$ L. Gel de agarosa al 1.5%.



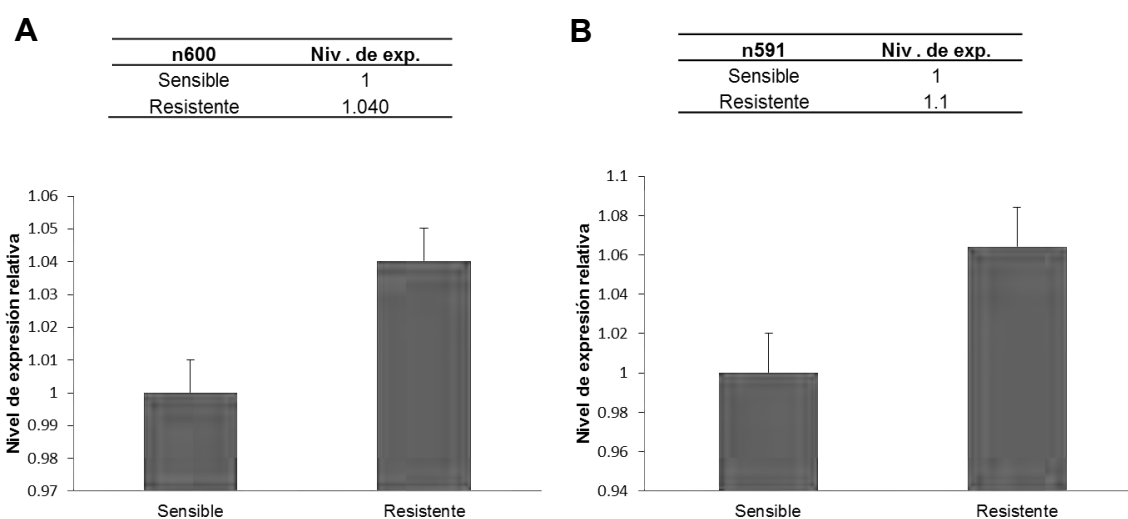


**Figura 14. Gel de electroforesis de la expresión de la región B del dominio CT de la ACCasa mediante PCR.** ADN amplificado de oligo n591. 1: Marcador 100 pb [300 ng]. 2: Biotipo resistente, I-Pb-4 (R) 20  $\mu$ L y 3: Biotipo sensible, Pb-INIFAP (S) 20  $\mu$ L. Gel de agarosa al 1.5%.



**Figura 15. Gel de electroforesis de la purificación de los productos PCR.** 1: Marcador 100 pb [300 ng]. 2: R600, ADN amplificado de oligo n600 del biotipo resistente I-Pb-4 (R) 5  $\mu$ L. 3: S600, ADN amplificado de oligo n600 del biotipo sensible Pb-INIFAP (S) 5  $\mu$ L. 4: R591, ADN amplificado de oligo n591 del biotipo resistente I-Pb-4 (R) 5  $\mu$ L y 5: S591, ADN amplificado de oligo n591 del biotipo sensible Pb-INIFAP (S) 5  $\mu$ L. Gel de agarosa al 1.5%.

Se realizó el análisis densitométrico utilizando el software ImageJ® para medir el nivel de expresión relativa del dominio CT de la ACCasa en los productos amplificados obtenidos en la PCR. Se determinó que para la amplificación de la región A (n600) el nivel de expresión relativa del biotipo resistente fue de 1.040 veces mayor en comparación con el biotipo sensible; referente a la región B (n591) se determinó que el nivel de expresión relativa del biotipo resistente fue de 1.1 veces mayor en comparación con el biotipo sensible (figura 16).



**Figura 16. Expresión del dominio CT de las regiones A (n600) y B (n591) en los biotipos sensible y resistente de *Phalaris brachystachys*.** (A) Análisis densitométrico del nivel de expresión de la región A. (B) Análisis densitométrico del nivel de expresión de la región B. Análisis realizado por software ImageJ® con cuantía de 0.1 y 0.2 para la región A y B respectivamente.

## 6.4 Secuenciación

Se obtuvo la secuencia de los productos PCR de los biotipos resistente y sensible de *Phalaris brachystachys* correspondiente a la región A y B (figuras 17 y 18), se hizo un alineamiento entre sí y se cotejaron con la secuencia de *Phalaris minor* silvestre (AY196481.1 GeneBank) para detectar los cambios en los nucleótidos. El análisis se realizó con el software libre clustalW® ([www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/)).

```

R600          TGTCCCTCCTGATTTCCCAGTGGCAGACAGATTATTGTTATCGCAAATGATATTACTTTT
P.minor.AY196481.1 TCCACTCCTGATTTCCCAGTGGCAGACAGATTATTGTTATCGCAAATGATATTACTTTT
S600          TCCACTCCTGATTTCCCAGTGGCAGACAGATTATTGTTATCGCAAATGATATTACTTTT
*****

R600          AGAGCCGGGTCATTTGGCCCAAGGGAAGATGCATTTTTTGAAGCTGTTACAAACCTAGCT
P.minor.AY196481.1 AGAGCTGGGTCATTTGGCCCAAGGGAAGATGCATTTTTTGAAGCTGTTACAAACCTAGCT
S600          AGAGCCGGGTCATTTGGCCCAAGGGAAGATGCATTTTTTGAAGCTGTTACAAACCTAGCT
*****

R600.4       TGTGAGAAGGAGCTTCCACTTATCTACTTGGCTGCAAACCTCTGGTGCTCGGATTGGCATT
P.minor.AY196481.1 TGTGAGAAGGAGCTTCCCCTTATCTACTTGGCTGCAAACCTCTGGTGCTCGGATTGGCATT
S600.4       TGTGAGAAGGAGCTTCCACTTATCTACTTGGCTGCAAACCTCTGGTGCTCGGATTGGCATT
*****

R600          GCCGATGAAGTAAAATCTTGCTTCCGTGTTGGATGGTCTGATGATAGCAGCCCTGAACGT
P.minor.AY196481.1 GCTGATGAAGTAAAATCTTGCTTCCGTGTTGGATGGTCTGATGATAGCAGCCCTGAACGT
S600          GCCGATGAAGTAAAATCTTGCTTCCGTGTTGGATGGTCTGATGATAGCAGCCCTGAACGT
**

R600          GGATTTTCGTACATTTATCTGACGGAAGAAGACTATGGTCGTATCAGCTCTTCTGTATA
P.minor.AY196481.1 GGATTTTCGTACATTTATCTGACGGAAGAAGACTATGGTCGTATCAGCTCTTCTGTATA
S600          GGATTTTCGTACATTTATCTGACGGAAGAAGACTATGGTCGTATCAGCTCTTCTGTATA
*****

R600          GCGCACAAGATGCAGCTAGGTAGTGGCGAAATTAGGTGGGTTATTGATTCTGTTGTCCGG
P.minor.AY196481.1 GCGCACAAGATGCAGCTAGATAGTGGCGAAATTAGGTGGGTTATTGATTCTGTTGTAGGG
S600          GCGCACAAGATGCAGCTAGGTAGTGGCGAAATTAGGTGGGTTATTGATTCTGTTGTCCGG
*****

R600          AAGGAGGATGGACTAGGTGTGGAGAACATACATGGAAGTGCCGCTATTGCCAGTGCTTAT
P.minor.AY196481.1 AAGGAGGATGGACTAGGTGTGGAGAACATACATGGAAGTGCTGCTATTGCCAGTGCTTAT
S600          AAGGAGGATGGACTAGGTGTGGAGAACATACATGGAAGTGCCGCTATTGCCAGTGCTTAT
*****

R600          TCTAGGGCATAACGAGGAGACATTTACACTTACATTTGTTACTGGACGAACTGTTGGAATA
P.minor.AY196481.1 TCTAGGGCATAACGAGGAGACATTTACACTTACATTTGTTACTGGACGAACTGTTGGAATA
S600          TCTAGGGCATAACGAGGAGACATTTACACTTACATTTGTTACTGGACGAACTGTTGGAATA
*****

R600          GGAGCTTATCTTGCTCGACTTGGCATAACGATGCATACAGCGTACTGACCAGCCCATATC
P.minor.AY196481.1 GGAGCCTATCTTGCTCGACTTGGCATAACGATGCATACAGCGTACTGACCAGCCCATATT
S600          GGAGCTTATCTTGCTCGACTTGGCATAACGATGCATACAGCGTACTGACCAGCCCATATC
*****

R600          TT-----
P.minor.AY196481.1 TTGACTGGGTATTCTGCCCTGAACCAAGCTTCTTGGGCGGGAAGTGTACAGCTCCCACATG
S600          TT-----
**

```

Figura 17. Análisis de secuencias las nucleotídicas de la región A del dominio CT de la ACCasa. Alineamiento de secuencias obtenidas del producto de PCR comparadas con la secuencia silvestre de *Phalaris minor*, R600= Biotipo resistente de *Phalaris brachystachys* y S600=Biotipo sensible de *Phalaris brachystachys*.



```

R591      GGATGGGGC AAGACAGTAGTTACCGGCAGGGCAAACCTTGGAGGGATTCTGTGGGTGT
P.minor.AY196481.1 AGGATGGGGC AAGACAGTAGTTACCGGCAGGGCAAACCTTGGAGGGATTCTGTGGGTGT
S591      AGGATGGGGC AAGACAGTAGTTACCGGCAGGGCAAACCTTGGAGGGATTCTGTGGGTGT
          *      *
          *      *

R591      TATAGCTGTGGAGACACAGCAATGATGCAGCTCGTCCCTGCTGATCCAGGCCAGCCTGA
P.minor.AY196481.1 TATAGCTGTAGAGACACAGCCATGATGCAGCTTGTCCCTGCTGATCCAGGCCAGCCTGA
S591      TATAGCTGTGGAGACACAGCAATGATGCAGCTCGTCCCTGCTGATCCAGGCCAGCCTGA
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      TTCCCATGAGCGGTCTGTTCCCTCGTGCTGGGCAAGTCTGGTTTCCAGATTCTGCTACTAA
P.minor.AY196481.1 TTCCCATGAGCGGTCTGTTCCCTCGTGCTGGGCAAGTCTGGTTTCCAGATTCTGCTACTAA
S591      TTCCCATGAGCGGTCTGTTCCCTCGTGCTGGGCAAGTCTGGTTTCCAGATTCTGCTACTAA
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      GACAGCGCAGGCGATGTTGGACTTCAACCGTGAAGGGTTACCTCTGTTCACTCTTGCTAA
P.minor.AY196481.1 GACAGCACAGGCGATGTTGGACTTCAACCGTGAAGGGTTACCTCTGTTCACTCTTGCTAA
S591      GACAGCGCAGGCGATGTTGGACTTCAACCGTGAAGGGTTACCTCTGTTCACTCTTGCTAA
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      CTGGAGAGGCTTCTCCGGTGGGCAAAGAGATCTTTTGAAGGAATTCTGCAGGCTGGGTC
P.minor.AY196481.1 CTGGAGAGGCTTCTCTGGTGGGCAAAGAGATCTTTTGAAGGAATTCTGCAGGCTGGGTC
S591      CTGGAGAGGCTTCTCCGGTGGGCAAAGAGATCTTTTGAAGGAATTCTGCAGGCTGGGTC
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      AACAAATGTTGAAAATCTTCGGACGTACAATCAGCCTGCCTTTGTATATAATCCCAAGGC
P.minor.AY196481.1 AACGATTGTTGAGAACCTTCGGACATACAATCAGCCTGCCTTTGTATATAATCCCAAGGC
S591      AACAAATGTTGAAAATCTTCGGACGTACAATCAGCCTGCCTTTGTATATAATCCCAAGGC
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      TGCAGAGCTACGTGGAGGGGCTTGGGTCTGATTGATAGCAAGATAAATCCTGATCGCAT
P.minor.AY196481.1 TGCAGAGCTACGTGGAGGGGCTTGGGTCTGATTGATAGCAAGATAAATCCTGATCGCAT
S591      TGCAGAGCTACGTGGAGGGGCTTGGGTCTGATTGATAGCAAGATAAATCCTGATCGCAT
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      TGAGTGCTATGCCGAGAGGACTGCAAAGGGCAATGTTCTCGAACCTCAAGGGTTGATTGA
P.minor.AY196481.1 TGAGTGCTATGCTGAGAGGACTGCGAAGGGCAATGTTCTCGAACCTCAAGGGTTGATTGA
S591      TGAGTGCTATGCCGAGAGGACTGCAAAGGGCAATGTTCTCGAACCTCAAGGGTTGATTGA
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      GATCAAGTTCAGGTCAGAGGAACTCCAAGATGCAATGGGTAGGCTTGATCCAGAATTGAT
P.minor.AY196481.1 GATCAAGTTCAGGTCAGAGGAACTCCAAGATGCAATGGGTAGGCTTGATCCAGAATTGAT
R591      GATCAAGTTCAGGTCAGAGGAACTCCAAGATGCAATGGGTAGGCTTGATCCAGAATTGAT
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

R591      AAATCTGAAAGC
P.minor.AY196481.1 AAATCTGAAAGC
S591      AAATCTGAAAGC
          *      *      *

```

Figura 18. Análisis de las secuencias nucleotídicas de la región B del dominio CT de la ACCasa. Alineamiento de secuencias obtenidas del producto de PCR comparadas con la secuencia silvestre de *Phalaris minor*, R591= Biotipo resistente de *Phalaris brachystachys*, S591=Biotipo sensible de *Phalaris brachystachys*.

Posteriormente las secuencias nucleotídicas se codificaron a secuencias aminoacídicas para detectar mutaciones puntuales y cotejarlas con las mutaciones reportadas (figuras 19 y 20), para ello se utilizó el software libre fr33® (<http://www.fr33.net/translator.php>).

```

R600          ECP FPSGRQI IVIANDITFRAGSFG PREDAFFEAVTNLACEKKLPLIYLAANSGARIGI
P.minor.AAO48712.1 STPEFPSGRQI IVIANDITFRAGSFG PREDAFFEAVTNLACEKKLPLIYLAANSGARIGI
S600          STPEFPSGRQI IVIANDITFRAGSFG PREDAFFEAVTNLACEKKLPLIYLAANSGARIGI
               . * .*****

R600          ADEVKSCFRVGWSDSSPERGFSYIYLTEEDYGRISSSVIAHKMQLGSGEIRWVIDSVVG
P.minor.AAO48712.1 ADEVKSCFRVGWSDSSPERGFSYIYLTEEDYGRISSSVIAHKMQLDLSGEIRWVIDSVVG
S600          ADEVKSCFRVGWSDSSPERGFSYIYLTEEDYGRISSSVIAHKMQLGSGEIRWVIDSVVG
               *****

R600          KEDGLGVENIHGSAAIASAYSRAYEETFTLTFVTGRTVGI GAYLARLGIRCIQRTDQPII
P.minor.AAO48712.1 KEDGLGVENIHGSAAIASAYSRAYEETFTLTFVTGRTVGI GAYLARLGIRCIQRTDQPII
S600          KEDGLGVENIHGSAAIASAYSRAYEETFTLTFVTGRTVGI GAYLARLGIRCIQRTDQPII
               *****

```

**Figura 19. Análisis de las secuencias aminoacídicas de la región A del dominio CT de la ACCasa.** Alineamiento de secuencias obtenidas del producto de PCR comparadas con la secuencia silvestre de *Phalaris minor*, R600= Biotipo resistente de *Phalaris brachystachys* y S600=Biotipo sensible de *Phalaris brachystachys*.

```

R591          DGAKTVVTGRAKLGGI PVGVIAVETQ TMMQLVPADPGQPD SHERSVPRAGQVWF PDSATK
P.minor.AAO48712.1 GWAKTVVTGRAKLGGI PVGVIAVETQ TMMQLVPADPGQPD SHERSVPRAGQVWF PDSATK
S591          GWGKT VVTGRAKLGGI PVGVIAVETQ TMMQLVPADPGQPD SHERSVPRAGQVWF PDSATK
               .. *****

R591          TAQAMLDNFNREGLPLFILANWRGFSGGQRDLFEGILQAGSTIVENLRTYNQPAFVYIPKA
P.minor.AAO48712.1 TAQAMLDNFNREGLPLFILANWRGFSGGQRDLFEGILQAGSTIVENLRTYNQPAFVYIPKA
S591          TAQAMLDNFNREGLPLFILANWRGFSGGQRDLFEGILQAGSTIVENLRTYNQPAFVYIPKA
               *****

R591          AELRGGAWVVI DSKINPDRIECYAERTAKGNVLEPQGLIE IKFRSEELQECMGRLDPELI
P.minor.AAO48712.1 AELRGGAWVVI DSKINPDRIECYAERTAKGNVLEPQGLIE IKFRSEELQECMGRLDPELI
S591          AELRGGAWVVI DSKINPDRIECYAERTAKGNVLEPQGLIE IKFRSEELQECMGRLDPELI
               *****

R591          NLKA
P.minor.AAO48712.1 NLKA
S591          NLKA
               ****

```

**Figura 20. Análisis de las secuencias aminoacídicas de la región B del dominio CT de la ACCasa.** Alineamiento de secuencias obtenidas del producto de PCR comparadas con la secuencia silvestre de *Phalaris minor*, R591= Biotipo resistente de *Phalaris brachystachys* y S591=Biotipo sensible de *Phalaris brachystachys*.

En la región A (n600) se encontraron tres mutaciones puntuales en las posiciones 1651, 1652 y 1653, teniendo los siguientes cambios de aminoácidos respectivamente: Serina por ácido glutámico, treonina por cisteína y ácido glutámico por serina (Ser-1651-Glu, Thr-1652-Cys y Glu-1653-Ser). Para la región B (n591) se encontraron dos mutaciones puntuales en los posiciones 1947 y 1948, teniendo los siguientes cambios de aminoácidos respectivamente: glicina por ácido aspártico y triptófano por glicina (Gly-1947-Asp y Trp-1948-Gly).

Para identificar la posición de las mutaciones localizadas en el dominio CT de la ACCasa del biotipo resistente de *Phalaris brachystachys* se analizó la estructura tridimensional del dominio CT de la ACCasa de *Phalaris minor* por medio del software Swiss Model® [*P. minor* (Q84U78\_9POAL)] (figura 21), con la finalidad de saber si dichas mutaciones corresponden a una posición dentro del sitio activo donde se une el herbicida. Cotejando la secuencia del dominio CT obtenida de los biotipos resistente y sensible de *Phalaris brachystachys*, en este modelo se identificó que las mutaciones de la región A no son representativas, ya que no están dentro del sitio activo para el herbicida. En cuanto a las mutaciones detectadas en la región B se localizaron dentro del sitio activo y la mutación Trp-1948-Gly se encuentra posicionada frente a una mutación puntual comúnmente reportada: Ile-2041-Asn (figura 22).

La mutación Gly-1947-Asp causó la sustitución de un aminoácido alifático (glicina) por un aminoácido de carga negativa (ácido aspártico). La mutación Trp-1948-Gly causó la sustitución de un aminoácido aromático (triptófano) por un aminoácido alifático, glicina (figuras 23 y 24). Las sustituciones antes mencionadas poseen distintas propiedades fisicoquímicas que pueden alterar estructural y/o conformacionalmente el sitio activo y en consecuencia modificar la interacción del mismo con el herbicida.





Figura 21. Estructura tridimensional de la ACCasa de *Phalaris minor*. Imagen obtenida mediante el programa Swiss Model®.

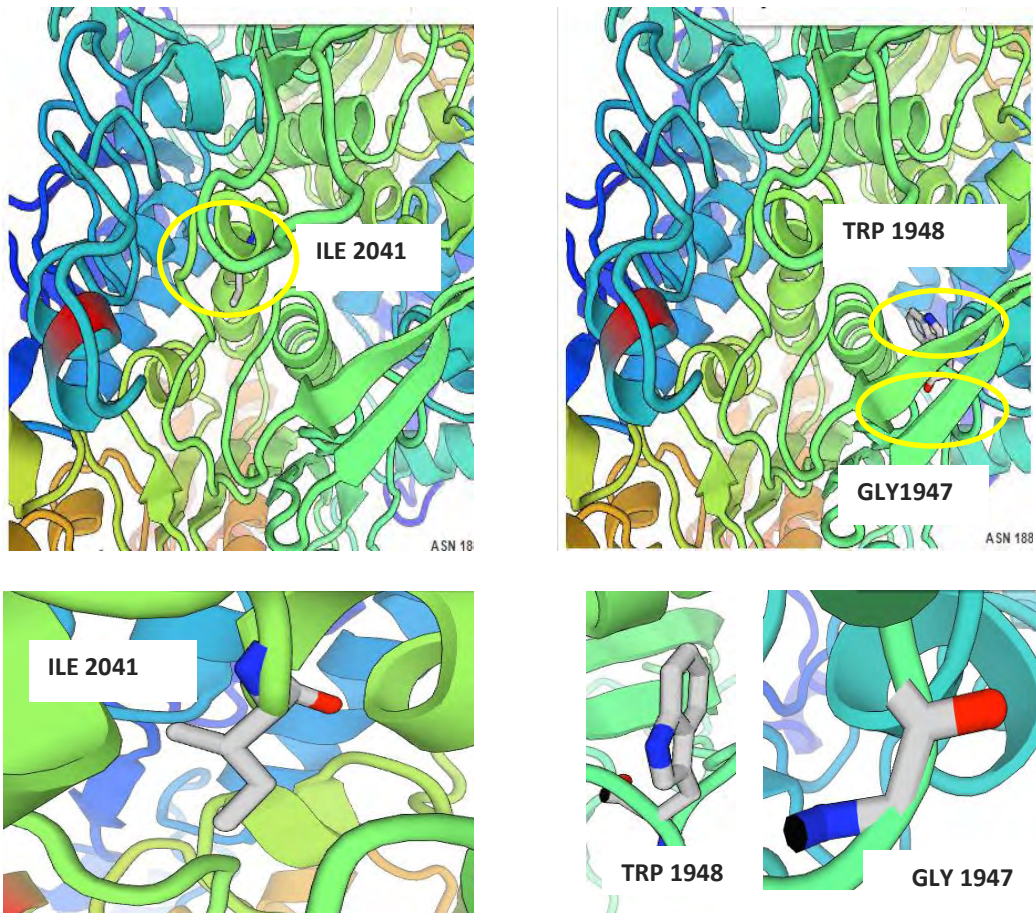
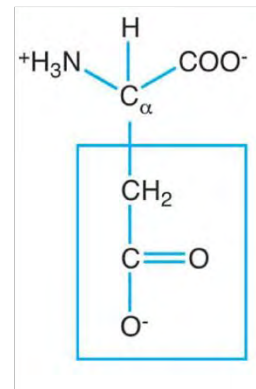
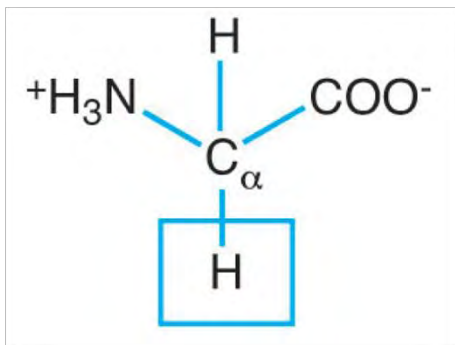
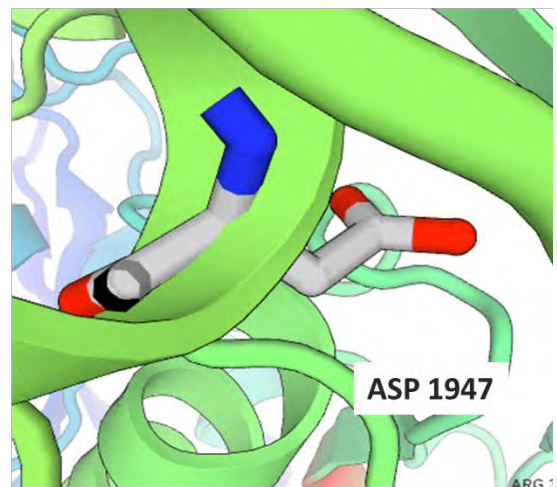
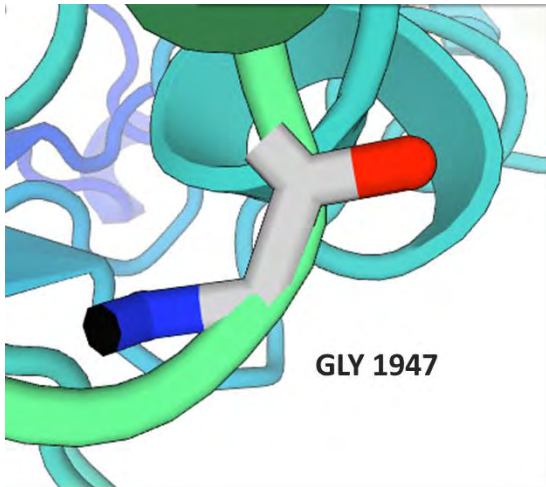
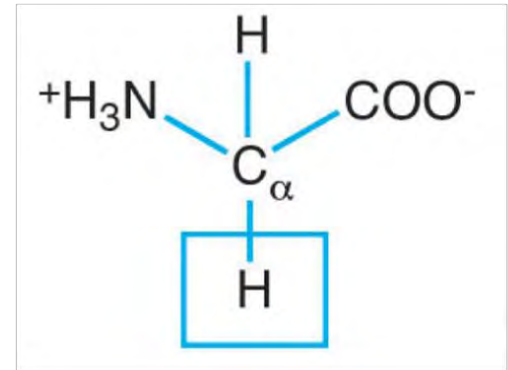
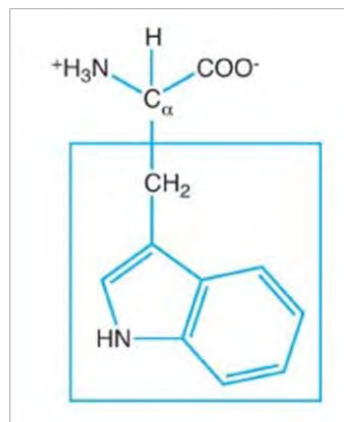
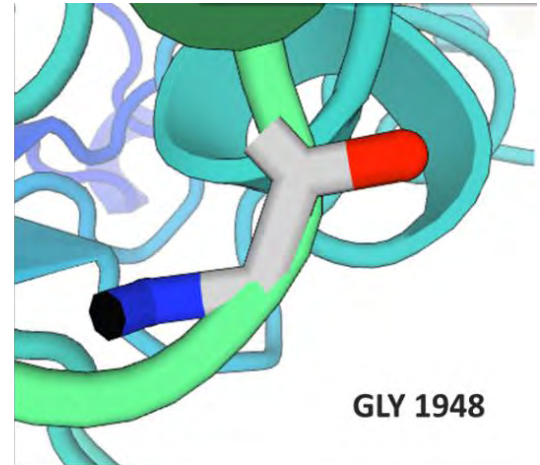
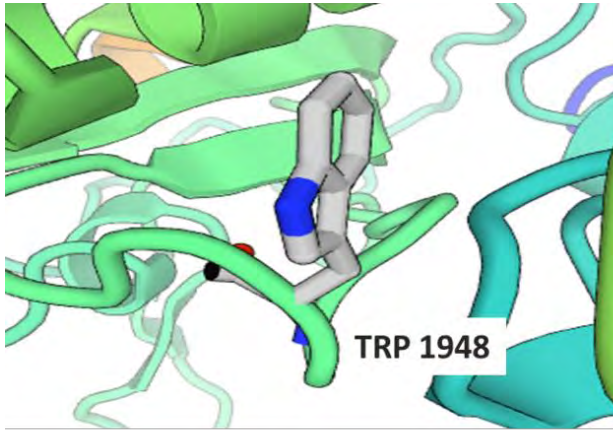


Figura 22. Posicionamiento de los aminoácidos Ile-2041, Gly-1947 y Trp-1948 en la estructura tridimensional de la ACCasa. Imagen obtenida mediante el programa Swiss Model®.



**Figura 23. Mutación puntual Gly-1947-Asp.** Estructura de los aminoácidos y cambio en su grupo funcional. Imagen obtenida mediante el programa Swiss Model®.





**Figura 24. Mutación puntual Trp-1948-Gly.** Estructura de los aminoácidos y cambio en su grupo funcional. Imagen obtenida mediante el programa Swiss Model®.

## VII. DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como intención determinar y comparar las secuencias nucleotídicas del dominio carboxil transferasa (CT) de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa) para dos biotipos de *Phalaris brachystachys*, ya que esta es una maleza de importancia mundial por su comportamiento resistente a herbicidas inhibidores de la ACCasa. En el estado de Guanajuato se ha encontrado como maleza exótica, siendo un problema en la producción del cultivo de trigo.

Los biotipos analizados fueron uno sensible y uno reportado como resistente (Medina *et al.*, 2007) a herbicidas inhibidores de la ACCasa, al observar el hábito de crecimiento se encontraron diferencias significativas, el biotipo resistente en promedio fue ~20 cm más pequeño que el biotipo sensible. Una característica del género *Phalaris sp.* es su crecimiento delicadamente decumbente, sin embargo, el biotipo resistente presentó un crecimiento totalmente horizontal, dándole una ventaja adicional, ya que dentro del cultivo del trigo se expone en menor medida a los tratamientos herbicidas debido a que las plantas aledañas lo cubren en gran parte.

El número de hojas en el biotipo sensible tuvo de 1 a 3 hojas más que el biotipo resistente, dicho factor tomó relevancia nuevamente en la extracción de ADN, ya que para 100 mg de material vegetal que fue la cantidad necesaria para el procedimiento, se requirió una mayor cantidad de área foliar del biotipo resistente en comparación con el biotipo sensible. La concentración y pureza de ADN varió entre los biotipos, para el biotipo resistente se obtuvo una concentración de 411.6 ng/ $\mu$ L y un radio de 1.93 y para el biotipo sensible fue una concentración de 504.0 ng/ $\mu$ L y un radio de 1.86.

Los resultados de la PCR punto final determinaron la expresión del dominio CT de la ACCasa para las regiones examinadas, se obtuvo un amplificado de ~600 pb para la región A y un amplificado de ~591 pb para la región B, siendo lo esperado para cada región respectivamente. Para determinar el nivel de expresión del dominio CT de la ACCasa se realizó una densitometría a las imágenes de los

geles de cada región amplificada utilizando el software ImageJ®. Para la amplificación de la región A el nivel de expresión relativa del biotipo resistente fue de 1.040 veces mayor en comparación con el biotipo sensible y para la región B se determinó que el nivel de expresión relativa del biotipo resistente fue de 1.1 veces mayor en comparación con el biotipo sensible.

Los resultados de la secuenciación mostraron algunas diferencias nucleotídicas que fueron traducidas en mutaciones para ambas regiones, en la región A se localizaron tres mutaciones puntuales: Ser-1651-Glu, Thr-1652-Cys y Glu-1653-Ser. En la región B se encontraron dos mutaciones puntuales: Gly-1947-Asp y Trp-1948-Gly. Las sustituciones de nucleótidos en la región A dieron lugar a mutaciones neutras sin un cambio significativo estructural y funcionalmente.

Para identificar la posición de las mutaciones puntuales encontradas en *Phalaris brachystachys* se analizó la estructura tridimensional de la ACCasa de *Phalaris minor* (Q84U78\_9POAL) utilizando el software libre Swiss Model® donde se determinó que las mutaciones en las posiciones 1651, 1652 y 1653 no se sitúan dentro del sitio activo, en cambio las mutaciones en las posiciones 1947 y 1948 sí se encuentran dentro del sitio activo. El aminoácido Gly-1948 se situó frente a Ile-2041, una posición determinante para la sensibilidad de herbicidas ariloxifenoxipropionatos (APP) y ciclohexanodionas (CHD) (Délye *et al.*, 2005). La mutación Ile-2041-Asn ha sido reportada como causante de resistencia en cinco especies: *Alopecurus myosuroides* (Délye *et al.*, 2003), *Avena fatua* (Cruz-Hipólito *et al.*, 2011), *Avena sterilis* spp. *ludoviciana* (Liu *et al.*, 2007), *Lolium rigidum* (Yu *et al.*, 2007) y *Phalaris paradoxa* (Hochberg *et al.*, 2009).

La mutación Gly-1948-Trp es un mecanismo de resistencia a sitio blanco (TSR) ya que en la estructura tridimensional se localizó en el sitio activo de la ACCasa, el efecto de dicha mutación podría intervenir con la sensibilidad a herbicidas inhibidores de la ACCasa, aunque esta mutación no se ha reportado. En el 2005 Délye y colaboradores establecieron en el modelo tridimensional de la ACCasa de la levadura las interacciones de las moléculas APP y CHD con los aminoácidos del

sitio activo CT de la ACCasa, determinando que una mutación en Ile-2041 tendría un efecto homólogo en Val-1967 y viceversa, comparando lo anterior con los resultados de este estudio se podría esperar que la mutación Gly-1948-Trp tenga un efecto en la sensibilidad a los herbicidas inhibidores de la ACCasa o solamente podría interferir por la obstrucción de la cavidad del sitio activo al herbicida siendo este un mecanismo TSR por efecto postranscripcional resultado de duplicaciones o amplificaciones génicas (Fischer, 2008) teniendo como consecuencia una sobreexpresión de la ACCasa.

Este trabajo confirmó la resistencia de *Phalaris brachystachys* a herbicidas inhibidores de la ACCasa en Guanajuato, México. El diagnóstico efectivo de resistencia aquí presentado es una pauta para el manejo que se requiere en el campo guanajuatense con problemas de biotipos resistentes que obstaculizan la producción de trigo. Se debe tener en cuenta que el mayor de los costos directos de la resistencia ocurren en el primer año de un mal control de malezas, debido a la baja en el rendimiento del cultivo (Beckie, 2006), pero los problemas a futuro serán impactantes ya que el control químico tradicional de malezas será inexistente.

Como primer paso para el control de biotipos de malezas resistentes a herbicidas se debe vincular los trabajos de investigación y los servicios de extensión agrícola para tener una apropiada transferencia de tecnología. El Manejo Integral de Plagas (MIP) es una estrategia idónea a emplear, la integración de los métodos biológico, cultural, físico, preventivo y químico evitará la presión de selección de genes resistentes en las poblaciones de malezas tratadas. Una alternativa para el manejo de malezas resistentes es la rotación de cultivos, para ello es necesario hacer estudios económicos y agronómicos, una combinación probada en España para cultivos de trigo con malezas resistentes del género *Phalaris* es la rotación con el cultivo de girasol (Saavedra *et al.*, 1989).

Pese a que los herbicidas ejercen la presión de selección de biotipos resistentes no se deben dejar a un lado, ya que usándolos de manera apropiada son una herramienta útil en la producción agrícola, sin embargo la restricción de herbicidas

selectivos como es el caso de los herbicidas inhibidores de la ACCasa tendrá que estipularse en malezas identificadas como especies resistentes. Otra alternativa es el cambio de herbicidas, en el 2011 Cruz-Hipólito y colaboradores recomendaron el cambio de herbicidas inhibidores de la ACCasa a herbicidas inhibidores de ALS (metsulfurón metil + iodosulfuron) para el manejo de malezas resistentes en el cultivo de trigo, pero dicha recomendación puede ser contraproducente, ya que existen casos de resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de la ACCasa y ALS en malezas como *Phalaris brachystachys*, *Phalaris minor* y *Phalaris paradoxa* (Heap, 2017).

Una perspectiva es la creación de nuevas moléculas herbicidas dirigidas a la ACCasa, los derivados de bipiperidilcarboxaminas son potentes inhibidores de la ACCasa homomérica en mamíferos, con lo cual son candidatos potenciales para el desarrollo de nuevos herbicidas inhibidores de la ACCasa (Délye, 2005).

## VIII. CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias en las secuencias nucleotídicas de *Phalaris brachystachys* entre los biotipos sensible y resistente.

La expresión relativa del dominio CT de la ACCasa para la amplificación de la región A (n600) en el biotipo resistente fue de 1.040 veces mayor en comparación con el biotipo sensible.

La Expresión relativa del dominio CT de la ACCasa para la amplificación de la región B (n591) en el biotipo resistente fue de 1.1 veces mayor en comparación con el biotipo sensible.

En la región A (n600) se encontraron tres mutaciones puntuales: Ser-1651-Glu, Thr-1652-Cys y Glu-1653-Ser.

En la región B (n591) se encontraron dos mutaciones puntuales: Gly-1947-Asp y Trp-1948-Gly.

Las sustituciones Ser-1651-Glu, Thr-1652-Cys y Glu-1653-Ser son mutaciones neutras en estructura y funcionalidad y no se localizan en el sitio activo del dominio CT de la ACCasa.

Las sustituciones Gly-1947-Asp y Trp-1948-Gly se localizan en la abertura del sitio activo del dominio CT de la ACCasa.

El aminoácido Gly-1948 se situó frente a Ile-2041, que es una posición determinante para la sensibilidad de herbicidas ariloxifenoxipropionatos (APP) y ciclohexanodionas (CHD).

Por su posición en el sitio activo del dominio CT de la ACCasa, la mutación puntual Trp-1948-Gly proporciona un mecanismo de resistencia a sitio blanco (TSR) por un efecto postranscripcional resultado de duplicaciones o amplificaciones génicas.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aedo, N. (2013). *Morfología de una gramínea y leguminosa típica*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de INIA Instituto de Investigaciones Agropecuarias: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/libros/NR30968.pdf>
- Agrobit. (2014). *Fertilización en el cultivo del trigo*. Recuperado el 2 de Noviembre de 2016, de [http://www.agrobit.com/Documentos/A\\_8\\_Fertiliz%5C743\\_ag\\_000002fe\[1\].htm](http://www.agrobit.com/Documentos/A_8_Fertiliz%5C743_ag_000002fe[1].htm)
- Anónimo. (2015). *Producción mundial de trigo*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de <https://www.produccionmundialtrigo.com/previous-year.asp>
- Badii, M. H., Flores, A. E., Ponce, G., Quiroz, H., García Salas, J. A., y Foroughbakhch, R. (2004). Formas de evaluar los enemigos naturales en control biológico. *Cultura Científica y Tecnológica (CULCyT)*, 3-11.
- Banco de México. (2017). *Sistema de información económica*. Recuperado el 27 de Abril de 2017, de Balanza de productos agropecuarios: <http://www.banxico.org.mx/SieInternet/consultarDirectorioInternetAction.do?accion=consultarCuadro&idCuadro=CE122&locale=es>
- Bárberi, P. (2004). *Métodos preventivos y culturales para el manejo de malezas*. Recuperado el 03 de Noviembre de 2016, de ESTUDIO FAO PRODUCCIÓN Y PROTECCION VEGETAL: <http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s00.htm#Contents>
- Beckie, H. J. (2006). Herbicide-Resistant Weeds: Management Tactics and Practices. *Weed Technology*, 793–814.
- Brown, A. C., Moss, S. R., Wilson, Z. A. y Field, L. M. (2002). An isoleucine to leucine substitution in the ACCase of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) is associated with resistance to the herbicide sethoxydim. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 160–168.
- Carver, B. F. (2009). *Wheat: Science and trade*. Iowa, U.S.A.: Wiley-Blackwell.
- Castillo Luna, M. d. y Gómez Gómez, R. (2016). Efecto de la esterilización del suelo con vapor de agua sobre semillas de malezas. *Agronomía Mesoamericana*, 409-413.

- CESAPEG. (2007). *Campaña de manejo fitosanitario de trigo*. Recuperado el 10 de Noviembre de 2016, de Manejo integrado de malezas: Comité estatal de sanidad vegetal de Guanajuato:  
[http://www.cesaveg.org.mx/html/folleto/folleto\\_07/folleto\\_malezas\\_07.pdf](http://www.cesaveg.org.mx/html/folleto/folleto_07/folleto_malezas_07.pdf)
- Chapman, G. P. y Peat, W. E. (1995). *Introducción a las gramíneas*. Zaragoza, España: ACRIBIA, S.A.
- Chhokar, R. S., Sharma, R. K., Jat, G. R., Pundir, A. y Gathala, M. K. (2007). Effect of tillage and herbicides on weeds and productivity of wheat under rice–wheat growing system. *Crop Protection* , 1689–1696.
- Christoffers, M. J., Berg, M. L. y Messersmith, C. G. (2002). An isoleucine to leucine mutation in acetyl-CoA carboxylase confers herbicide resistance in wild oat. *Genome*, 1049-1056.
- Christoffers, M. J. y Pederson, S. N. (2007). Response of wild oat (*Avena fatua*) acetyl-coA carboxylase mutants to pinoxaden. *Weed Science* , 121-130.
- Coob, A. (1992). Herbicides and plant physiology. *Wiley-Blackwell*, 296 páginas.
- Cocker, K. M., Coleman, J. O., Blair, A. M., Clarke, J. H. y Moss, S. R. (2000). Biochemical mechanisms of cross-resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides in populations of *Avena spp.* *Weed Research*, 323-334.
- Cruz Hipólito , H., Fernández, P., Alcántara, R., Gherekhloo, J., Osuna, M. D. y De Pado, R. (2015). Ile-1781-Leu and Asp-2078-Gly Mutations in ACCase Gene, Endow Cross-resistance to APP, CHD, and PPZ in *Phalaris minor* from Mexico. *International Journal of Molecular Sciences*, 21363-21377.
- Cruz Hipólito, H., Domínguez Valenzuela, J. A., Osuna, M. D. y De Prado, R. (2012). Resistance mechanism to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Phalaris paradoxa* collected in Mexican wheat fields. *Plant Soil*, 121–130.
- Cruz Hipólito, H., Osuna, M. D., Domínguez Valenzuela, J. A. y Espinoza, N. (2011). Mechanism of Resistance to ACCase-Inhibiting Herbicides in Wild Oat (*Avena fatua*) from Latin America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7261–7267.



- De la Cruz, R. R. (2010). *Programa de elaboración de casos de éxito de innovación en el sector agropecuario*. Recuperado el 18 de Marzo de 2017, de Producción de trigo "Integradora agropecuaria del centro S.A. de C.V.": <https://www.redinnovagro.in/casosexito/24guanajuato.pdf>
- De Prado, R., González Gutiérrez, J., Menéndez, J., Gasquez, J., Gronwald, J. W. y Giménez Espinosa, R. (2000). Resistance to acetyl CoA carboxylase-inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. *Weed Science*, 311-318.
- De Prado, R., Osuna, M. D. y Fisher, A. J. (2004). Resistance to ACCase inhibitor herbicides in a green foxtail (*Setaria viridis*) biotype in Europe. *Weed Science*, 506-512.
- Délye, C., Calmés, E. y Matějček, A. (2002a). SNP markers for blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) genotypes resistant to acetyl CoA carboxylase inhibiting herbicides. *Theoretical and Applied Genetics*, 1114–1120.
- Délye, C., Wang, T. y Darmency, H. (2002b). An isoleucine-leucine substitution in chloroplastic acetyl-CoA carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione. *Planta*, 421–427.
- Délye, C., Matějček, A. y Gasquez, J. (2002c). PCR-based detection of resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) and ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud). *Pest Management Science*, 474–478.
- Délye, C., Zhang, X. Q., Chalopin, C., Michel, S. y Powles, S. B. (2003). An isoleucine residue within the carboxyl-transferase domain of multidomain acetyl-CoA carboxylase is a major determinant of sensitivity to aryloxyphenoxypropionate but not to cyclohexanedione inhibitors. *Plant Physiology*, 1716-1723.
- Délye, C. (2005). Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Science*, 728–746.
- Délye, C., Zhang, X. Q., Michel, S., Matějček, A. y Powles, S. B. (2005). Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass. *Plant Physiology*, 794-806.
- Délye, C., Duhoux, A., Pernin, F., Riggins, C. W. y Tranel, P. (2015). Molecular Mechanisms of Herbicide Resistance. *Weed Science*, 91–115.

- Diez de Ulzurrun, P. y Leaden, M. I. (2012). Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* a herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y glifosato. *Planta Daninha*, 667-673.
- Domínguez Valenzuela, J. A. (2007). Manejo preventivo de malezas. *XXVIII Congreso Mexicano de la Ciencia de la Maleza*. Mazatlán, Sinaloa.
- Duke, S. y Dayan, F. (2011). Bioactivity of herbicides. In: Moo-Young, Murray editor. *Comprehensive Biotechnology*. 2nd edition. Volume 4. Amsterdam. Elsevier Press. p. 23-35.
- Espinosa García, F. J. y Vibrans, H. (2009). Sobre la necesidad de una estrategia nacional de manejo de malezas en México. En *Invasive Plants on the move. Controlling them in North America*. Tucson, Arizona, U.S.A.: University of Arizona Press.
- Espitia , R. E., Peña , B. R., Villaseñor, M. E., Huerta , E. J. y Limón, O. A. (2003). Calidad industrial de trigo harineros mexicanos para temporal. Comparación de variedades y causas de la variación. *Fitotecnia mexicana*, 249-256.
- Esqueda, V. y Zita, G. (2007). Técnicas de detección de resistencia. *XXVIII Congreso Mexicano de la Ciencia de la Maleza*. Mazatlán, Sinaloa.
- FAO. (2010). *Recomendaciones para el manejo de malezas*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2016, de <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a0884s/a0884s00.pdf>
- FAO. (2012). *Directrices sobre la Prevención y Manejo de la Resistencia a los Plaguicidas*. Recuperado el 13 de Noviembre de 2016, de [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/Code/FAO\\_RMG\\_SP.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/FAO_RMG_SP.pdf)
- FAO. (2013). *FAO Estadísticas*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de Cultivo de trigo: [http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries\\_by\\_commodity/S](http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries_by_commodity/S)
- FAOSTAT. (2017). *Estadísticas sobre alimentación y agricultura*. Recuperado el 27 de Abril de 2017, de Comercio: Cultivos y productos de ganadería: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP>
- FIRA. (2016). *Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura*. Recuperado el 18 de Marzo de 2017, de Panorama agroalimentario: Trigo 2015: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/99098/Panorama\\_Agroalimentario\\_Trigo\\_\\_2015.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/99098/Panorama_Agroalimentario_Trigo__2015.pdf)

- Fischer, A. J. (2008). Mecanismos de resistencia: Las bases para definir estrategias. *Seminario Internacional "Viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables"*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay (27-44).
- Galdames, R., Díaz, J. y Espinoza, N. (2009). Bases moleculares de la resistencia a herbicidas y test molecular para detectar resistencia a herbicidas en Ballicas (*Lolium multiflorum* y *L. rigidum*). *Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chile*. 103-109.
- García Franco, J. L., Uscanga Mortera, E., Kohashi Shibata, J., García Esteva, A., Yáñez Jiménez, P. y Ortega Escobar, H. M. (2014). Caracterización morfológica de biotipos de *Phalaris minor* resistentes y susceptible a herbicidas inhibidores de la ACCasa. *Botanical Sciences*, 169-176.
- Gerowitt, B. (2005). Uso práctico de los umbrales económicos de malezas. *Plant Disease and Protection*, 149-158.
- Gronwald, J. W., Eberlein, C. V., Betts, K. J., Baerg, R. J., Ehlke, N. J. y Wyse, D. L. (1992). Mechanism of diclofop resistance in an Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) biotype. *Pesticide biochemistry and physiology*, 126-139.
- Heap, I. (2017). *Weeds resistant to ACCase inhibitors*. Recuperado el 04 de Abril de 2017, de International Survey of Herbicide Resistant Weeds: <http://www.weedscience.com/Summary/MOA.aspx>
- Hochberg, O., Sibony, M. y Rubin, B. (2009). The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. *Weed Research*, 37-46.
- HRAC. (2017). *Guía para el manejo de la resistencia a herbicidas*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de International Association for the Plant Protection Sciences: <http://hracglobal.com/files/Criteria-for-Confirmation-of-Herbicide-Resistant-Weeds.pdf>
- Inclendon, B. y Hall, C. J. (1997). Acetyl-Coenzyme A Carboxylase: Quaternary structure and inhibition by graminicidal herbicides. *Pesticide biochemistry and physiology*, 255-271.
- Jang, S., Marjanovic, J. y Gornicki, P. (2013). Resistance to herbicides caused by single amino acid mutations in acetyl-CoA carboxylase in resistant populations of grassy weeds. *New Phytologist*, 1110–1116.

- Juárez, Z. N., Bárcenas Pozos, M. E. y Hernández, R. L. (2014). El grano de trigo: características generales y algunas problemáticas y soluciones a su almacenamiento. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*, 79-93.
- Kaundun, S. S. (2010). An aspartate to glycine change in the carboxyl transferase domain of acetyl CoA carboxylase and non-target-site mechanism(s) confer resistance to ACCase inhibitor herbicides in a *Lolium multiflorum* population. *Pest Management Science*, 1249-1256.
- KMEC. (2016). *KMEC Engineering*. Recuperado el 29 de Noviembre de 2016, Diseño de plantas de molienda de harina: <http://www.molinoharinero.com/faq/como-producir-harina-calidad.html>
- Kuk, Y. I., Wu, J., Derr, J. F. y Hatzios, K. K. (1999). Mechanism of fenaxoprop resistance in an accession of smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pesticide biochemistry and physiology* , 112-123.
- Kuk, Y. I., Burgos, N. R. y Talbert. , R. E. (2000). Cross- and multiple resistance of diclofop-resistant *Lolium spp*. *Weed Science*, 412-419.
- Labrada, R., Caseley, J. C. y Parker, C. (1996). *Manejo de malezas para países en desarrollo*. Roma, Italia: FAO, 6-10.
- Labrada, R. (2004). *Tendencias actuales en el manejo de malezas* . Recuperado el 22 de Septiembre de 2016, de FAO. Procedimientos para la evaluación de riesgos de malezas: <http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s00.htm#Contents>
- Leach, G. E., Devine, M. D., Kirkwood, R. C. y Marshall, G. (1995). Target enzyme-based resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in *Eleusine indica*. *Pesticide biochemistry and physiology* , 129-136.
- Liu, W., Harrison, D. K., Chalupska, D., Górnicki, P., O' Donnell, C. C., Adkins, S. W. y Williams, R. (2007). Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)*, 3627–3632.
- Marles, M. A., Devine, M. D. y Hall, J. C. (1993). Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. *Pesticide biochemistry and physiology*, 7-14.
- Mársico, O. (1980). *Herbicidas y fundamentos del control de malezas*. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio sur, 18-21.

- Matus Cádiz , M. A. y Hucl, P. (2005). Rapid and Effective Germination Methods for Overcoming Seed Dormancy in Annual Canarygrass. *Crop Science*, 1696-1703.
- Medina, T., Vuelvas, M. A., Aguilar, L., Grageda, O. A., Gámez, J. y Arreola, J. M. (2007). Resultados preliminares de los bioensayos realizados sobre alpiste silvestre (*Phalaris spp*) resistente a herbicidas colectado en la región del Bajío. En *Memoria del XXVIII Congreso Mexicano de la Ciencia de la Maleza* (págs. 33-41). Mazatlán, Sinaloa.
- Melgar, R. (2004). Tecnología de la Fertilización de trigo. (*INTA*) *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 43-49.
- Milne, I. R. (2006). Northern hemisphere plant disjunctions: a window on Tertiary land bridges and climate change? *Annals of Botany*, 465–472.
- Moss, S. R., Cocker, K. M., Brown, A. C., Hall, L. y Field, L. M. (2003). Characterisation of target-site resistance to ACCase-inhibiting herbicides in the weed *Alopecurus myosuroides* (black-grass). *Pest Management Science*, 190-201.
- Nikolskaya, T., Zagnitko, O., Tevzadze, G., Haselkorn, R. y Gornicki, P. (1999). Herbicide sensitivity determinant of wheat plastid acetyl-CoA carboxylase is located in a 400-amino acid fragment of the carboxyltransferase domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(25), 14647-14651.
- OEIDRUS Baja California. (2013). *El cultivo del trigo*. Recuperado el 08 de Noviembre de 2016, de SAGARPA: <http://www.oeidrus-bc.gob.mx/sispro/trigobc/Descargas/EICultivoTrigo.pdf>
- Oram, R. N. (2004). *Phalaris canariensis* is a domesticated form of *Phalaris brachystachys*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 259–267.
- Petit , C., Bay , G., Pernin , F. y Délye, C. (2010). Prevalence of cross or multiple resistance to the acetylcoenzyme A carboxylase inhibitors fenoxaprop, clodinafop and pinoxaden in blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) in France. *Pest Management Science*, 168–177.
- Powles, S. B. y Yu, Q. (2010). Evolution in action: Plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 317-347.

- Preston, C. F., Tardif, J., Christopher, T. y Powles, B. (1996). Multiple resistance to dissimilar herbicide chemistries in a biotype of *Lolium rigidum* due to enhanced activity of several herbicide degrading enzymes. *Pesticide biochemistry and physiology*, 123-134.
- Price, L. J., Moss, S. R., Cole, D. J. y Harwood, J. L. (2004). Graminicide resistance in a blackgrass (*Alopecurus myosuroides*) population correlates with insensitivity of acetyl-CoA carboxylase. *Plant, Cell & Environment*, 15-26.
- Puente Isidró, M. y García, H. (2008). Efecto alelopático del girasol (*H. annuus L.*) sobre la germinación de dos especies de malezas. *Centro Agrícola*, 75-78.
- Ramos Gamiño, F. (2013). *Maíz, trigo y arroz: Los cereales que alimentan el mundo*. (U. A. León, Ed.) Recuperado el 29 de Noviembre de 2016, de <http://eprints.uanl.mx/3649/1/maiztrigoarroz.pdf>
- Ryan, G. F. (1970). Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Science* , 614-616.
- Saavedra, M., Cuevas, J., Mesa García, J. y García Torres, L. (1989). Grassy weeds in winter cereals in southern Spain. *Crop Protection*, 181-187.
- Sánchez Ken, J., Zita, G. y Mendoza, M. (2012). Catálogo de las gramíneas malezas nativas e introducidas de México. México: SAGARPA-ASOMECIMA.
- Sasaki, Y. y Nagano, Y. (2004). Plant Acetyl-CoA Carboxylase: Structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 1175-1184.
- Scarabel , L., Panozzo , S., Varotto, S. y Sattin, M. (2011). Allelic variation of the ACCase gene and response to ACCase inhibiting herbicides in pinoxaden target-site resistant *Lolium spp.* *Pest Management Science*, 932-941.
- Serna Saldivar, S. R. (2009). *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*. D.F. México: AGT.
- Shukla, A., Dupont, S. y Devine, M. D. (1997a). Resistance to ACCaseinhibitor herbicides in wild oat: evidence for target site–based resistance in two biotypes from Canadá. *Pesticide biochemistry and physiology* , 147-155.
- Shukla, A. G., Leach, E. y Devine, M. D. (1997b). High-level resistance to sethoxydim conferred by an alteration in the target enzyme, acetyl- CoA carboxylase, in *Setaria faberi* and *Setaria viridis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 803-807.

- SIAP. (2015). *Servicio de información agroalimentaria y pesquera*. SAGARPA. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de Cultivo de trigo: [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp)
- Singh, S., Kirkwood, R. C. y Marshall, G. (1999). Biology and control of *Phalaris minor* Retz. (littleseed canarygrass) in wheat. *Crop Protect*, 18:1-16.
- Taberner Palou, A., Cirujeda Ranzenberger, A. y Zaragoza Larios, C. (2007). *Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas, 100 preguntas sobre resistencia*. Roma, Italia: FAO.
- Tardif, F. J., Holtum, J. A. y Powles, S. B. (1993). Occurrence of a herbicide-resistant acetyl-coenzyme A carboxylase mutant in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) selected by sethoxydim. *Planta*, 176-181.
- Torres García, S., Hernández Aro, M., Puente Isidró, M., Espinosa Ruiz, R., De Cupere, F., Van Damme, P. y Méndez, R. (2006). Efectos alelopáticos de *Phyla strigulosa* sobre la germinación y crecimiento de malezas. *Centro Agrícola*, 61-65.
- Valverde, E. B., Riches, C. R. y Caseley, J. C. (2000). Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz: Experiencias en América central con *Echinochloa colona*. FAO, 156.
- Volenberg, D. y Stoltenberg, D. (2002). Altered acetyl-coenzyme A carboxylase confers resistance to clethodim, fluazifop and sethoxydim in *Setaria faberi* and *Digitaria sanguinalis*. *Weed Research*, 342-350.
- Voshell, S. M., Baldini, R. M., Kumar, R., Tatalovich, N. y Hilu, K. W. (2011). Canary grasses (*Phalaris*, *Poaceae*): Molecular phylogenetics, polyploidy and floret evolution. *Taxon*, 1306-1316.
- Voshell, S. M. y Hilu, K. W. (2014). Canary Grasses (*Phalaris*, *Poaceae*): biogeography, molecular dating and the role of floret structure in dispersal. *Molecular Ecology*, 212-224.
- White, G. M., Moss, S. R. y Karp, A. (2005). Differences in the molecular basis of resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim in *Lolium multiflorum*. *Weed Research*, 440-448.
- Yu, Q., Collavo, A., Zheng, M. Q., Owen, M., Sattin, M. y Powles, S. B. (2007). Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. *Plant Physiology*, 547-558.

- Zagnitko, O., Jelenska, J., Tevzadze, G., Haselkorn, R. y Gornicki, P. (2001). An isoleucine/leucine residue in the carboxyltransferase domain of acetyl-CoA carboxylase is critical for interaction with aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione inhibitors. *PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences*, 6617-6622.
- Zhang , X. Q. y Powles, S. B. (2006). The molecular bases for resistance to acetyl co-enzyme A carboxylase (ACCCase) inhibiting herbicides in two target-based resistant biotypes of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Planta*, 550–557.
- Zita, G. (2012). *Resistencia de malas hierbas a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa. Tesis doctoral*. Universidad de Córdoba, España.