

¿SE RELACIONA LA EVOLUCIÓN DE LOS MECANISMOS MULTIFACTORIALES DE RESISTENCIA A HERBICIDAS CON LA TOLERANCIA AL ESTRÉS?

Albert J. Fischer¹; Danijela Pavlovic²; Hagai Yasuor¹; Aldo Merotto Jr³.

¹University of California, Davis - Department of Plant Sciences, One Shields Ave., Davis, CA 95616, ajfischer@ucdavis.edu

²Institute for Plant Protection and Environment, Teodora Drajzera 9, Belgrade;

³UFRGS - Faculdade de Agronomia. Av. Bento Gonçalves, 7712. Cep 90501-970. Porto Alegre, RS.

Resumen: La *Echinochloa phyllopogon* es una de las principales malezas resistentes a herbicidas en cultivos de arroz en California. Esta resistencia ocurre simultáneamente para diferentes herbicidas tiocarbamatos e inhibidores de la ACCasa y ALS. Los biotipos resistentes también presentan elevada tolerancia a la inundación, resistencia baja a clomazone y menor susceptibilidad a paraquat. Un biotipo de *Chenopodium album* sobreviviente a atrazina en campos de maíz de Serbia expresa tolerancia al estrés hídrico y resistencia baja a atrazina. Ambos tipos de estrés causan daño fotooxidativo en plantas. La resistencia a herbicidas en estos biotipos es causada por mecanismos multifactoriales ajenos al sitio activo (ASA) que confieren elevada capacidad de detoxificación de herbicidas y posiblemente por otros mecanismos. Los sistemas cloroplásticos de fotoprotección y las enzimas detoxificadoras pueden conferir protección cruzada a estreses causados por el ambiente y por compuestos xenobióticos fotooxidativos. Por esto se hipotetiza que estos complejos mecanismos de resistencia ASA pueden representar una sobre regulación de las respuestas a estrés en biotipos adaptados a diversos ambientes estresados. Esta tolerancia cruzada puede estar sujeta a un control genético complejo, y bajos niveles de resistencia en plantas individuales pueden incrementarse por acumulación de genes menores o amplificación génica bajo selección recurrente a dosis subletales de herbicida. El manejo de malezas en ambientes estresados debe contemplar estrategias *a priori* a fin de contener la evolución de la resistencia causada por mecanismos ASA y para evitar que se evolucione de resistencias de bajo nivel hacia elevados niveles de resistencia ASA a herbicidas.

Palabras clave: *Echinochloa phyllopogon*, *Chenopodium album*, tolerancia a la inundación, detoxificación, bajo nivel de resistencia.

Summary: Can the evolution of multifactorial herbicide resistance relate to stress tolerance?

Echinochloa phyllopogon represents one of the worst herbicide resistance cases in a major crop weed and seriously compromises rice production in California. Resistance occurs simultaneously for several thiocarbamate, ACCase and ALS inhibitors. These R biotypes also exhibit enhanced submergence tolerance, low-level clomazone resistance, and low paraquat sensitivity. Moisture stress tolerance and low atrazine sensitivity was documented in a *Chenopodium album* biotype surviving in Serbian atrazine-treated corn fields. Both types of stresses cause photooxidation damage to plants. These multifactorial non target-site (NTS) herbicide resistances result from enhanced detoxification and possibly other mechanisms. Chloroplast photoprotective systems and stress-inducible detoxifying enzymes can confer cross-protection to both environmental and xenobiotic photooxidative stresses. Therefore, it could be hypothesized that these complex NTS resistances may represent a general up-regulation of stress tolerance responses in biotypes adapted to various environmental stresses. These cross tolerances may involve complex genetic control, and low level-resistance endowed by multiple genes can evolve higher resistance levels under repeated treatment with sub-lethal herbicide rates. Weed management in stressful environments should *a priori* contemplate strategies to delay NTS resistance evolution and to avoid low-level resistance evolution into higher NTS resistance levels.

Keywords: *Echinochloa phyllopogon*, *Chenopodium album*, submergence tolerance, enhanced detoxification, low-level resistance.

Introducción

Setenta años de monocultivo continuo en California ha llevado a serias infestaciones de ciertas malezas muy dañinas de las cuales la *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss, *E. oryzoides* (Ard.) Fritsch y *E. crus-galli* (L.) Beauv. var. *crus-galli* son las más competitivas y difíciles de controlar. El control de malezas en arroz ha dependido fuertemente en el empleo repetido de los pocos ingredientes activos disponibles, lo cual ha llevado a la evolución de resistencia en la mayoría de las especies problemáticas. La resistencia de *E. phyllopogon* hacia la mayoría de los herbicidas que la pueden controlar representa uno de los problemas más graves para la producción de arroz en California (FISCHER *et al.*, 2000). Varios niveles de resistencia son observables y bajos niveles de resistencia son frecuentes con clomazone que mata a las plantas al exponer a los cloroplastos a daño fotoactivo (tal como el que causan las formas de oxígeno reactivo, FOR) (FERHATOGLU y BARRETT, 2006). Recientemente se ha documentado resistencia de bajo nivel a la atrazina (cuya toxicidad es generada por daño de FOR) en *Chenopodium album* L. (PAVLOVIC *et al.*, 2008), lo cual podría sugerir elementos en común con el caso de *E. phyllopogon*. Discutiremos aquí (a) mecanismos de resistencia ajenos al sitio activo (ASA) en *E. phyllopogon* proveniente de arrozales de California b) resistencia a herbicidas generadores de FOR en *E. phyllopogon* y *C. album*, y c) la hipótesis de que la resistencia tipo ASA y la tolerancia a estreses ambientales puede estar relacionada y tener implicancias para el manejo de la resistencia a herbicidas.

Generación de la información

Se investigaron mecanismos de resistencia en *E. phyllopogon* mientras se realizaban estudios paralelos relacionando características morfo-fisiológicas con sensibilidad a la atrazina en un biotipo de *Chenopodium album* con tolerancia a atrazina colectado en campos de maíz en Serbia. Estos trabajos involucraron estudios de análisis de crecimiento, cuantificación de absorción y translocación de herbicidas marcados con ¹⁴C, estudios de respuesta a dosis en plantas, ensayos enzimáticos de sensibilidad en el sitio activo (ALS, ACCasa) y de metabolismo de herbicidas (actividad y contenido de citocromo P₄₅₀, perfiles metabolómicos). La diseminación de biotipos de *E. phyllopogon* con resistencia a múltiples herbicidas en California se estudió usando marcadores AFLP. Para estudiar la resistencia a herbicidas fotooxidativos se cuantificaron niveles de pigmentos foliares y la emisión de fluorescencia clorofílica (Fv/Fm). Los procedimientos detallados de estos estudios aparecen en la bibliografía oportunamente citada en este trabajo.

Principales resultados y sus implicaciones

Resistencia en *Echinochloa phyllopogon*. Varios niveles de resistencia simultánea a tiocarbamatos (molinato, tiobencarbo), inhibidores de ACCasa (cihalofop y fenoxaprop), inhibidores de ALS (bispiribac, penoxsulam, bensulfuron, orthosulfamuron), y clomazone están presentes en biotipos de *E. phyllopogon* (FISCHER *et al.*, 2000). Propanil controla a la *E. phyllopogon* resistente (R) con menor eficacia que a los biotipos susceptible (S). Elevadas tasas de detoxificación - mediatizadas por actividad P₄₅₀- le confieren resistencia a bispiribac-sódico (la cual se detectó incluso antes de que el herbicida estuviera disponible en California) así como también bajos niveles de resistencia a penoxsulam. Tasas metabólicas incrementadas (P₄₅₀, conjugación con glutatión y cisteína), así como quizás también bajas tasas de absorción foliar, confieren resistencia a R-*E. phyllopogon* (*E. phyllopogon* resistente) contra herbicidas inhibidores de la ACCasa (BAKKALI *et*

al., 2007; RUIZ-SANTAELLA *et al.*, 2006). Resistencia a nivel del sitio de acción (SA) aún no se había encontrado, pero recientes estudios con quinclorac sugieren que *R-E. phyllopogon* tiene poca elevación de la biosíntesis de etileno en respuesta a quinclorac. Esto puede estar relacionado con alteración de la percepción y transducción de la señal auxínica de este herbicida; *R-E phyllopogon* también tiene elevada actividad de la enzima β -cianoalanina sintetasa encargada de detoxificar al cianuro resultante de la biosíntesis de etileno y también una elevada capacidad de detoxificar quinclorac via P₄₅₀. Es decir *R-E. phyllopogon* exhibe una verdadera resistencia multifactorial tipo ASA hacia este herbicida (MILAN *et al.*, 2009). El metabolismo de tiocarbamatos involucra bioactivación mediatizada por P₄₅₀ hacia una forma más tóxica previa detoxificación final de este herbicida via conjugación (USUI, 2001). Estudios metabolómicos sugieren importantes diferencias fisiológicas entre biotipos R y S (Figura 1) (YASUOR y FISCHER, 2008). Dado que los biotipos *R-E. phyllopogon* se habrían originado de una única introducción fundacional de acuerdo a un estudio efectuado usando marcadores AFLP (TSUJI *et al.*, 2003), todas esas plantas exhiben los mismos patrones de resistencia conferidos por esos diversos mecanismos enzimáticos mencionados, entre las que se destaca la actividad inducible de diversas isoenzimas P₄₅₀ altamente activas y con especificidad hacia múltiples sustratos que son capaces de detoxificar a diversos herbicidas (YUN *et al.*, 2005) (Tabla 1). Los bajos niveles de resistencia a clomazone en *R-E. phyllopogon* (Figura 2) reflejan de forma similar su baja sensibilidad al paraquat (Figura 3) lo que resultaba en menores daños cloroplásticos en plantas R comparadas con plantas S (YASUOR *et al.*, 2008). La presumible falta de metabolismo de paraquat en plantas no puede explicar estas respuestas. La adición de glutatión aliviaba el daño de paraquat en las plantas S mucho más que en las R, lo cual sugería que protección contra fotooxidación por FOR lograda a través del ciclo acorbato/glutatión podría estar involucrada en la baja sensibilidad al paraquat del biotipo R (FISCHER *et al.*, 2008). La menor efectividad del propanil sobre *R-E. phyllopogon* ciertamente involucra mayor actividad P₄₅₀ dado su participación en el metabolismo parcial de este herbicida y sería lógico también pensar que los sistemas de protección elevada contra FOR podrían estar también operando en este caso también.

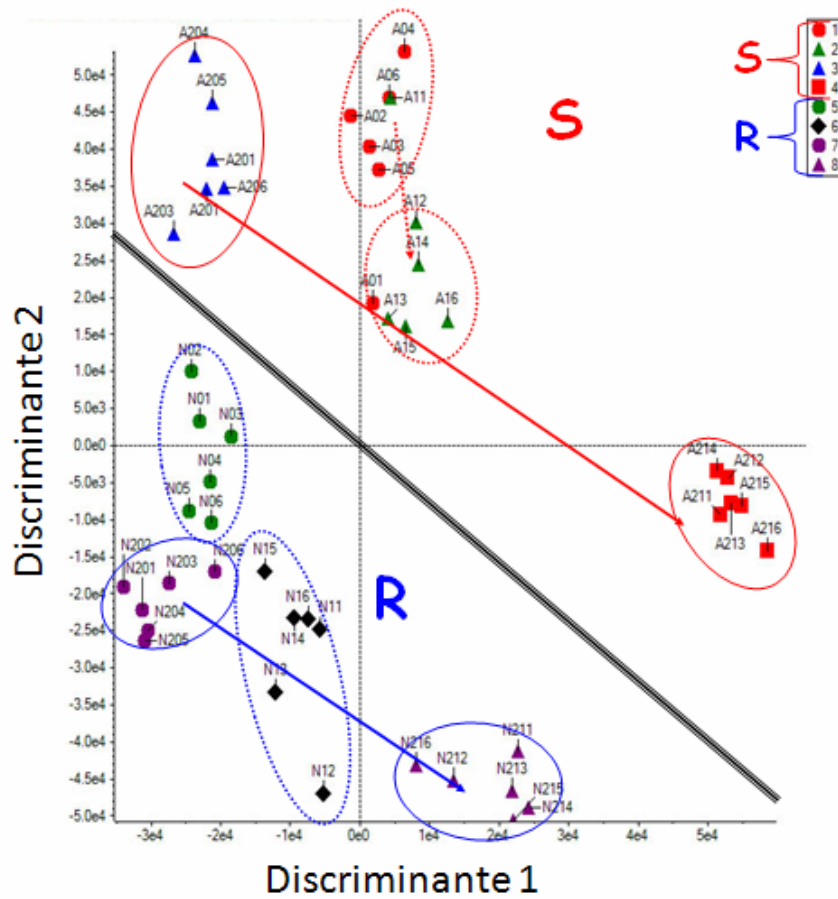


Figura 1. Gráfico de análisis canónico discriminante resultante del análisis RP-LC-MS/MS de plantas de *Echinochloa phyllopogon* tratadas con clomazone (50 μ M) mostrando la clara separación del metaboloma de un biotipo susceptible (S) y otro resistente (R) a clomazone y a múltiples herbicidas (YASUOR y FISCHER, 2008).

Tabla 1. Metabolismo incrementado e inducido por pre-tratamiento con herbicidas: actividad de

| Pre-tratamiento Herbicida ^a | Sustrato ^b | Actividad P ₄₅₀ ^c (pmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹) (±SE) | |
|---|-----------------------|---|---------------|
| | | plantas R | plantas S |
| Bispiribac-sódico | Bispiribac-sódico * | 33.3 ± 0.5b | 11.0 ± 0.2a |
| | Fenoxaprop-etilo | 0.0a | 0.0a |
| | Tiobencarbo | 0.0a | 0.0a |
| Fenoxaprop-etilo | Bispiribac-sódico | 0.0a | 0.0a |
| | Fenoxaprop-etilo * | 246.7 ± 5.7d | 143.3 ± 14.9b |
| | Tiobencarbo * | 37.5 ± 1.1b | 22.7 ± 5.3a |
| Tiobencarbo | Bispiribac-sódico | 0.0a | 0.0a |
| | Fenoxaprop-etilo | 0.0a | 0.0a |
| | Tiobencarbo * | 297.1 ± 5.5e | 245.2 ± 2.6c |

^a Las plantas fueron pre-tratadas con 1µM de cada herbicida durante 24h antes de ser muestreadas.

^b Bispiribac-sódico, fenoxaprop-etilo y tiobencarbo (0.1, 0.25 and 0.25 mM, respectivamente) fueron agregados al medio como sustratos de hidroxilación. Asteriscos (*) indican significancia estadística entre un par de medias R y S dentro de una hilera según la mínima diferencia significativa protegida de Fisher para $P < 0.05$.

^c Dentro de cada column las medias seguidas por una misma letra no difieren estadísticamente según la diferencia honestamente significativa de Tukey–Kramer para $P < 0.05$.

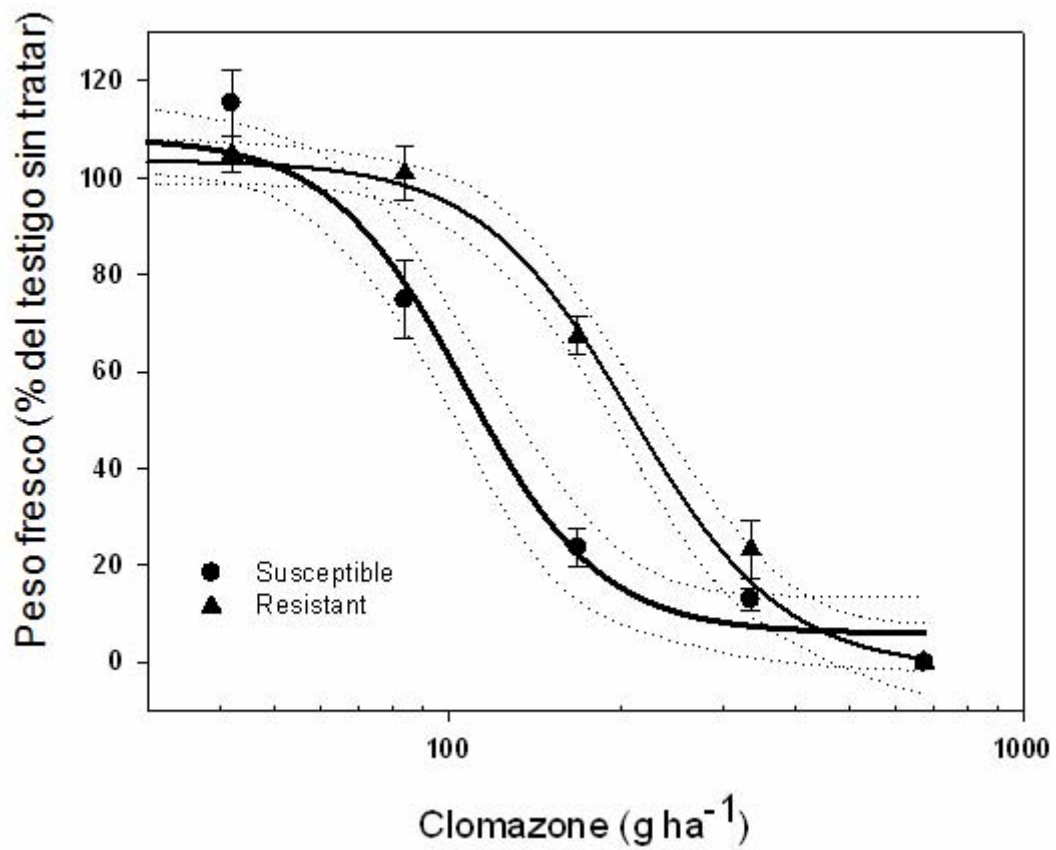


Figura 2. Respuesta a dosis de clomazone por una accesión de *Echinochloa phyllopogon* susceptible y otra resistente a múltiples herbicidas. Cada punto representa una media \pm ES (n = 10). Líneas punteadas representan el índice de confianza al 95% de las ecuaciones de regresión.

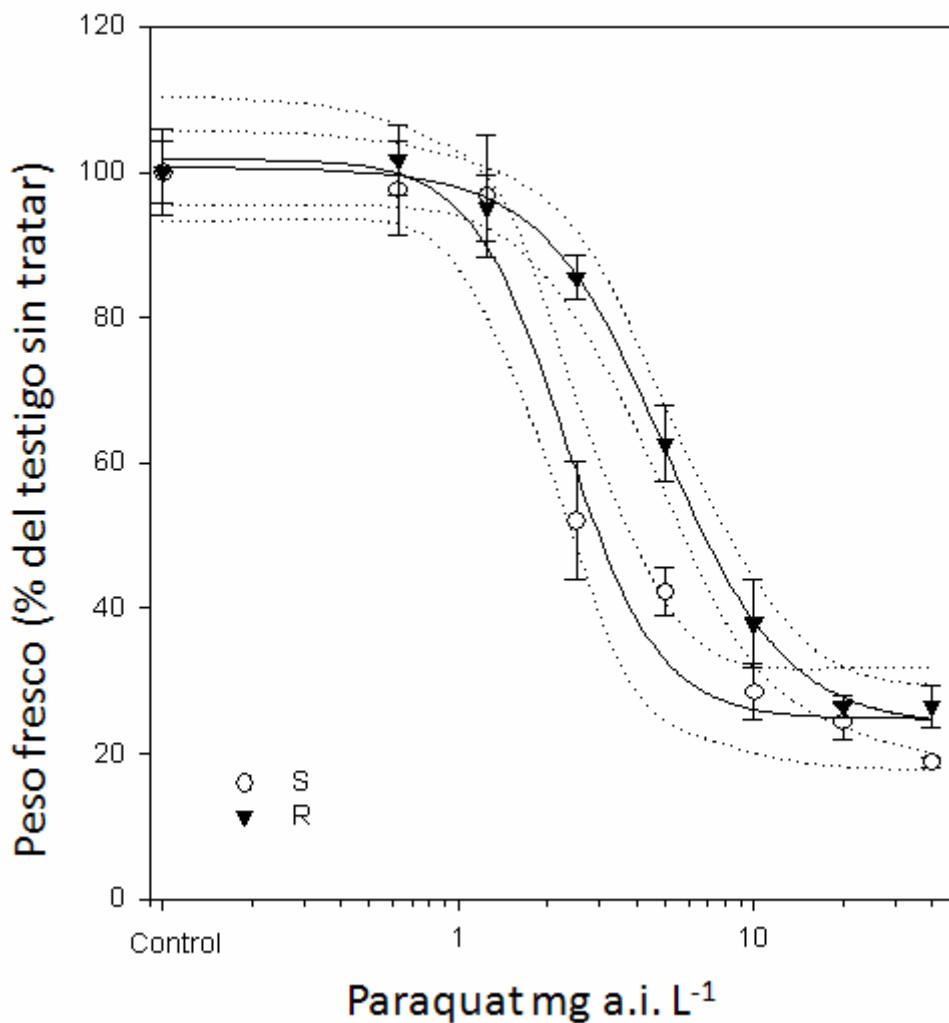


Figura 3. Respuesta a dosis de paraquat en un biotipo de *Echinochloa phyllopogon* susceptible (S) y otro resistente (R) a múltiples herbicidas que fueron tratados hidropónicamente con el herbicida al estado de 2-3 hojas (YASUOR *et al.*, 2008)

Baja sensibilidad a la atrazina y tolerancia al estrés hídrico en *Chenopodium album*. La atrazina era capaz de suprimir sustancialmente a este biotipo de *C. album* colectado en Serbia (VC), no obstante su altura, emisión Fv/Fm, y su transpiración sólo se reducían en un 60% comparado con 0% y 100% para los testigos S y R, respectivamente (PAVLOVIC *et al.*, 2008). El fuerte decrecimiento inicial de la emisión del cociente de fluorescencia clorofílica Fv/Fm cesó en el biotipo VC tres días después del tratamiento con atrazina (Figura 4), lo cual sugería que el proceso de detoxificación de atrazina o de protección contra FOR facilitaría la sobrevivencia del biotipo VC en campos de maíz tratados con atrazina. A su vez, esta mitigación de la fotoinhibición por atrazina se aunaba a una adaptación al estrés hídrico, que seguramente este biotipo debía sufrir bajo la competencia del maíz, mediante la limitación del área foliar expuesta a la demanda evapotranspiratoria, bajas tasas transpiratorias, y un mayor control del cierre estomático (Tabla 2). La evolución de resistencia a múltiples herbicidas en *E. phyllopogon* se asocia a un uso prolongado de herbicidas tiocarbamato bajo estrés de submergencia dadas las condiciones del cultivo de arroz en California, donde la inundación permanente se implementa para suprimir malezas. Estos biotipos resistentes también presentan baja sensibilidad o resistencia hacia ciertos herbicidas fototóxicos (paraquat, clomazone). Se sabe que la resistencia a paraquat puede conferir a ciertas

plantas una tolerancia cruzada al estrés fotooxidativo proveniente de la acción de herbicidas o de efectos ambientales; sistemas enzimáticos protectores o activos transportadores de membrana pudieran estar implicados en esta tolerancia cruzada (GRESSEL, 2002). La baja sensibilidad a atrazina observada en *C. album*, que recién comentamos, también coincidía con una adaptación al estrés ambiental evolucionada como adaptación a condiciones cálidas con probables limitaciones de humedad. *E. phyllopogon* ha co-evolucionado en Asia con el arroz bajo estrés de inundación por muchos años y posee un elevado nivel de tolerancia a la anoxia por sumersión comparado con otras especies del mismo género u otras malezas del arroz; recientemente hemos observado también que biotipos R de esta maleza tienen mayor tolerancia a la submersión que plantas S (FISCHER, datos sin publicar). Ambos tipos de estrés (sumersión y sequía) exponen a las plantas al daño por fotooxidación (SANTOSA *et al.*, 2007). Sistemas enzimáticos inducidos por estrés para detoxificar FOR, transportadores de membrana, enzimas P₄₅₀ y de conjugación pueden estar involucrados en conferir protección cruzada hacia estrés fotooxidativo, tanto el que proviene del ambiente como el que es causado por ciertos herbicidas (WERCK-REICHHART *et al.*, 2000; TAKEZAWA *et al.*, 2002). Por esta razón puede ser lógico plantearse la hipótesis de que estas resistencias tipo ASA a herbicidas comentadas puedan representar una situación de sobre-regulación general de respuestas al estrés en biotipos que han evolucionado adaptación a determinados estreses ambientales. Transportadores de membrana (como los cassettes ligados al ATP o transportadores ABC) pueden incluso conferir tolerancia a múltiples herbicidas tal como se observa en *E. phyllopogon* (GRESSEL, 2002). Es posible que estos mecanismos puedan estar bajo el control de varios genes. Dosis sub-letales de herbicidas aplicados recurrentemente pueden seleccionar por resistencia tipo ASA cuando individuos que sobreviven al tratamiento merced a un nivel bajo de resistencia son portadores de genes menores de resistencia, los cuales se acumulan en sus progenies gracias a la segregación y recombinación genética que ocurre cuando plantas vecinas logran hibridar (NEVE y POWLES, 2005; BUSI y POWLES, 2009). De forma similar, la resistencia multifactorial ASA puede ocurrir en especies autógamas como consecuencia de duplicaciones y amplificación génica a lo largo del tiempo (GRESSEL, 2002).

Los mecanismos existentes de resistencia cruzada entre agentes xenobióticos y estreses ambientales sugieren que el manejo de malezas en ambientes estresados debe contemplar medidas para retardar la evolución de resistencia ASA de tipo multifactorial. La resistencia de bajo nivel es ignorada con frecuencia y es posible de evolucionar hacia niveles más elevados de resistencia ASA bajo el efecto de recurrentes dosis herbicidas subletales, tal como puede ocurrir cuando se omite el control de especies de emergencia tardía al tiempo que los residuos de herbicida (pre-emergente) en el suelo han declinado, cuando se aplican herbicidas fuera de tiempo sobre plantas ya demasiado grandes (equivale a aplicar una dosis subletal), cuando no se calibran bien los equipos aspersores, o cuando se implementan programas de control a baja dosis. Por otra parte, ¿sería válido preguntarse si la selección hacia resistencia a herbicidas (por uso recurrente de herbicidas) podría favorecer al mismo tiempo la evolución de biotipos altamente tolerantes a los estreses ambientales y por consiguiente con mayor efecto nocivo de maleza? Estudios metabolómicos podrían permitirnos descubrir relevantes rutas metabólicas que estuvieran involucradas en la tolerancia a estreses y en la resistencia a herbicidas y, así, sugerir nuevas estrategias de manejo de malezas y también conducir al desarrollo de nuevos y más efectivos herbicidas. El conocimiento adicional sobre los mecanismos de resistencia ASA podría guiarnos hacia mejores formas de manejar la resistencia mediante la rotación de herbicidas, buscando aquellos que no sólo difieran en su modo de acción sino que también se detoxifiquen o sean “secuestrados” en la planta por mecanismos diferentes. A su vez, este conocimiento también podría ser útil para el desarrollo de cultivos con amplio espectro de resistencia a herbicidas, o para modificar plantas para uso en bioremediación y detoxificación ambiental de sustancias xenobióticas (MORANT *et al.*, 2003; INUI y OHKAWA, 2005; YAZAKI, 2006). La gran complejidad de la resistencia tipo ASA en plantas (YAZAKI, 2006; YUAN *et al.*, 2007) y en animales (HIGGINS, 2007) revela el rol esencial que cumple el manejo integrado de

malezas, con menor dependencia en herbicidas, para retrasar la evolución de biotipos de malezas con resistencia a herbicidas.

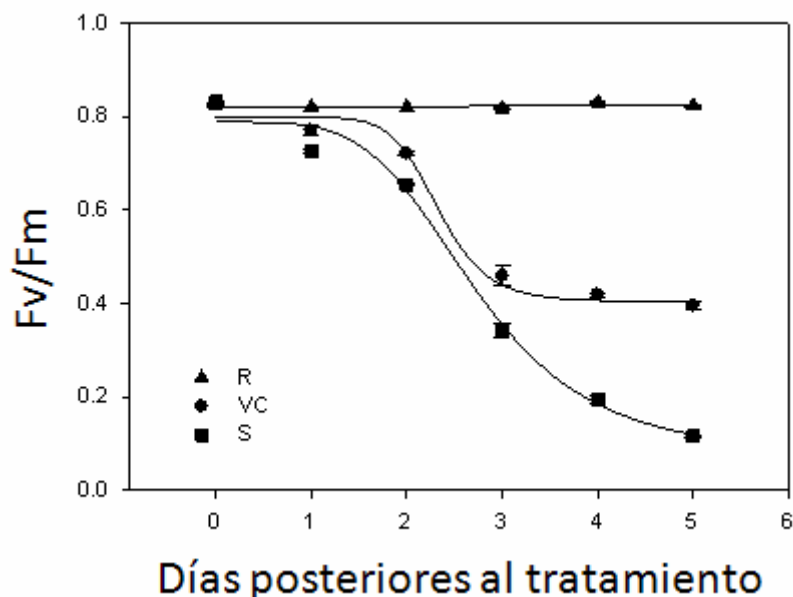


Figura 4. Máximo rendimiento cuántico de fluorescencia clorofílica (Fv/Fm) medido en tres biotipos de *Chenopodium album* (S = susceptible a atrazina, R = resistente a atrazina, y VC = proveniente de Veliki Crljeni, Serbia) varios días posteriores a un tratamiento con 2 kg i.a. ha⁻¹ de atrazina. Las barras verticales en cada punto son \pm error estándar de la media. (Adaptado de PAVLOVIC *et al.*, 2008).

Tabla 2. Análisis de varianza y contrastes ortogonales para variables de crecimiento, mínima resistencia estomática a la difusión del vapor de agua (MRD) y tasas transpiratorias medidas 22 días después de plantar tres biotipos de *Chenopodium album* (S = susceptible a atrazina, R = resistente a atrazina, y VC = proveniente de Veliki Crljeni, Serbia).

| Biotipo | Nº de hojas planta ⁻¹ | Área foliar (cm ² plant ⁻¹) | MRD (s cm ⁻¹) | Tasa de transpiración (micro g cm ⁻² s ⁻¹) |
|-------------------|----------------------------------|--|---------------------------|---|
| S | 8.25±0.96 a ^a | 24.50±2.52 a | 0.63±0.14 b | 8.77±1.67 b |
| VC | 6.50±0.58 b | 18.00±1.63 b | 2.82±1.26 a | 5.98±1.32 c |
| R | 7.50±0.31 ab | 23.00±1.18 a | 0.67±0.04 b | 17.15±0.63 a |
| <i>P</i> > F | 0.038 | 0.011 | 0.003 | <0.0001 |
| Error estándar | 0.400 | 1.230 | 0.367 | 0.767 |
| G.L. del error= 9 | | | | |

^a Medias (\pm ES) seguidas por una misma letra no difieren estadísticamente según contrastes ortogonales efectuados para $P = 0.05$, los cuales se condujeron solamente cuando el efecto del factor biotipo resultó significativo ($P \leq 0.05$) en la prueba del análisis de varianza.

Bibliografia

- BAKKALI, Y.; RUIZ-SANTAELLA, J.P.; FISCHER, A.J.; DE PRADO, R. (2007). Late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): Mechanisms involved in the resistance to fenoxaprop-p-ethyl. *J. Agric. Food. Chem.* 55:4052–4058.
- BUSI, R.; POWLES, S.B. (2009). Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity* advance online publication 3 June 2009; doi: 10.1038/hdy.2009.64.
- FERHATOGLU, Y.; BARRETT, M. (2006). Studies of clomazone mode of action. *Pestic. Biochem. Physiol.* 85:7–14.
- FISCHER, A.J.; ATEH, C.M.; BAYER, D.E.; HILL, J.E. (2000). Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllopogon* in California *Oryza sativa* fields. *Weed Sci.* 48:225-230.
- FISCHER, A.J.; PAVLOVIC, D.; YASUOR, H.; MEROTTO, A. (2008). Are non target-site resistance and environmental stress tolerance related? Proceedings of the 5th International Weed Control Congress, Vancouver, British Columbia, Canada, June 23-27, 2008, Abstract 101. CR ROM.
- GRESSEL, J. (2002). Molecular biology of weed control. London and New York, Taylor & Francis.
- HIGGINS, C.F. (2007). Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters. *Nature.* 446:749-757.
- INUI, H.; OHKAWA, H. (2005). Herbicide resistance in transgenic plants with mammalian monooxygenase genes. *Pest Manag. Sci.* 61:286-291.
- MILAN, M.; YASUOR, H.; ECKERT, J.W.; FISCHER, A.J. (2009). Quinclorac Resistance in California's Late Watergrass (*Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss.), Abstract No. 231, Weed Science Society of America Meeting, Febrero 9-13, Orlando Florida.
- MORANT, M.; Bak, S.; Moller, B.L.; Werck-Reichhart, D. (2003). Plant cytochromes: tools for pharmacology, plant protection and phytoremediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14:151-162.
- NEVE, P.; POWLES, S. (2005). Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. *Theor. Appl. Genet.* 110:1154–1166.
- PAVLOVIC, D.; VRBNICANIN, S.; BOZIC, D.; FISCHER, A.J. (2008). Morphophysiological traits and atrazine sensitivity in *Chenopodium album* L. *Pest Manag. Sci.* 64:101-107.
- RUIZ-SANTAELLA, J.P.; DE PRADO, R.; WAGNER, J.; FISCHER, A.J.; GERHARDS, R. (2006). Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. fFrom California. *J. Plant Disease Protect.* 20:95-100.
- SANTOSA, I.E.; RAM, P.C.; BOAMFA, E.I.; LAARHOVEN, L.J.J.; REUSS, J.; JACKSON, M.B.; HARREN, F.J.M. (2007). Patterns of peroxidative ethane emission from submerged rice seedlings indicate that damage from reactive oxygen species takes place during submergence and is not necessarily a post-anoxic phenomenon. *Planta* 266:193-202.

- TAKESAWA, T.; ITO, M.; KANZAKI, H.; KAMEYA, N.; NAKAMURA, I. (2002). Over-expression of glutathione S-transferase in transgenic rice enhances germination and growth at low temperature Molec. Breeding 9:93–101.
- TSUJI, R.; FISCHER, A.J.; YOSHINO, M.; ROEL, A.; HILL, J.E.; YAMASUE, Y. (2003). Herbicide-resistant late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): Similarity in morphological and amplified fragment length polymorphism traits. Weed Sci. 51:740-747.
- USUI, K. (2001). Metabolism and selectivity of rice herbicides in plants. Weed Biology and Management 1:137-146.
- WERCK-REICHHART, D.; HEHN, A.; DIDIERJEAN, L. (2000). Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. Trends in Plant Sci. 5:116-123.
- YASUOR, H.; FISCHER, A.J. (2008). Clomazone resistance in late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): role of herbicide metabolism. Proceedings of the 5th International Weed Control Congress, Vancouver, British Columbia, Canada, June 23-27, 2008, Abstract 89. CR ROM.
- YASUOR, H.; TENBROOK, P.L.; TJEERDEMA, R.S.; FISCHER, A.J. (2008). Responses to clomazone and 5-ketoclomazone by *Echinochloa phyllopogon* resistant to multiple herbicides in Californian rice fields. Pest Manag Sci. 64:1031-1039
- YAZAKI, K. (2006). ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites. FEBS Letters 580:1183-1191.
- YUAN, J.S.; TRANEL, P.J.; STEWART, C.N. (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. Trends in Plant Science 12:6-13.
- YUN, M.S.; YOGO, Y.; MIURA, R.; YAMASUE, Y.; FISCHER, A.J. (2005). Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). Pestic. Biochem. Physiol. 83:107-114.