UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESTRATEGIAS DE CONTROL DE *Amaranthus palmeri* RESISTENTE A GLIFOSATO Y A HERBICIDAS INHIBIDORES ALS EN SOJA ENLIST

por

Paul APOLANT GUELFI
Juan Manuel LOITEY BONÉ

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
2018

Tesis aprobada por:

Director: ----------

Dra. Grisel Fernández

Ing. Agr. Diego Sorrondegui

Ing. Agr. Juan Martin Sorrondegui

Fecha: 16 de marzo de 2018

Autores: ----------

Paul Apolant Guelfi

Juan Manuel Loitey Boné

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias y amigos que de alguna forma u otra contribuyeron con su apoyo a lo largo de la carrera y para que este trabajo pudiera ser realizado.

Agradecemos a la dirección de la tesis compuesta por el Ing. Agr. Diego Sorrondegui y al Ing. Agr. Juan Martin Sorrondegui por su apoyo, dedicación y tiempo brindado durante todo el transcurso de la elaboración del trabajo.

A la Dra. Grisel Fernández por actuar como contraparte de la Facultad y permitir que dicho trabajo pudiera ser llevado a cabo.

Un agradecimiento en particular al Ing. Agr. Juan Martin Sorrondegui por su apoyo en el análisis estadístico de los resultados y la dedicación proporcionada en las tareas de campo llevadas a cabo.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN.....II

AGRADECIMIENTOS.....III

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....VI

1. INTRODUCCIÓN 1

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 2

2.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL *A. palmeri*. 2
2.2. IDENTIFICACIÓN DEL *A. palmeri* 3
2.3. ORIGEN DEL *A. palmeri* 4
2.4. BIOLOGÍA DEL *A. palmeri* 4
2.4.1. Características que convierten al *A. palmeri* en una "súper maleza" 6
2.5. *A. palmeri* Y SU IMPACTO EN CULTIVOS 7
2.6. HIBRIDACIÓN INTERESPECÍFICA 7
2.7. RESISTENCIA A HERBICIDAS EN *A. palmeri* 9
2.7.1. Mecanismo de resistencia involucrados en la resistencia del *A. palmeri* 10
2.8. FITNESS DE BIOTIPOS DE *A. palmeri* RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES AL GLIFOSATO 11
2.9. ESTRATEGIAS DE CONTROL Y MANEJO DE LA RESISTENCIA 12
2.10. GENERALIDADES SOBRE RESISTENCIA A HERBICIDAS 15
2.10.1. Situación actual de la resistencia en el mundo 16
2.10.2. Procesos de generación de la resistencia 17
2.10.3. Mecanismos de resistencia 18
2.10.3.1. Mecanismos de resistencia exclusionaria 18
2.10.3.2. Mecanismo de compartimentación 19
2.10.3.3. Detoxificación metabólica 19
2.11. DESCRIPCIÓN DE LOS GRUPOS QUÍMICOS UTILIZADOS 20
2.11.1. Inhibidores de la ALS 20
2.11.2. Inhibidores de la EPSPS 20
2.11.3. Auxinas sintéticas 21
2.11.4. Inhibidores de la PPO (Protoporfirinógeno oxidasa) 21

2.11.5. Inhibidores de la glutamino sintetasa 22
2.12. RESEÑAS 22
2.12.1. Breve reseña sobre un trabajo similar sobre el uso de herbicidas residuales, en *A. palmeri*, realizado en la provincia de Santa Fe, Argentina 22
2.12.2. Breve reseña sobre la tecnología utilizada en este experimento 22
3. MATERIALES Y MÉTODOS. 24
3.1. LOCALIZACIÓN 24
3.2. EXPERIMENTO 25
3.2.1. Tratamientos 25
3.3. METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN 26
3.4. DETERMINACIONES 27
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL. 28
3.6. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN. 29
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 30
4.1. CONTROL DE *A. palmeri* 30
4.1.1. Fecha 1 - 16 DDMA 30
4.1.2. Fecha 2 - 27 DDMA 33
4.1.3. Fecha 3 - 35 DDMA y 8 DDMB. 36
4.1.4. Fecha 4- 66 DDMA 39 DDMB 21 DDMC. 40
4.1.5. Fecha 5 - 93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC 43
4.2. SELECTIVIDAD 47
5. CONCLUSIONES 51
6. RESUMEN 52
7. SUMMARY 54
8. BIBLIOGRAFÍA 56

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No. Página

1. Tratamientos momentos A, B y C.....25

2. Instalación del ensayo.....26

3. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 16 DDMA.....28

4. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 16 DDMA.....30

5. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 27 DDMA.....31

6. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 27 DDMA.....32

7. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 35 DDMA y a 8 DDMB.....33

8. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 66 DDMA 39 DDMB 21 DDMC.....37

9. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC.....40

10. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 93DDMA 66DDMB 48DDMC.....42

11. Selectividad por tratamiento para las 5 fechas de evaluación.....45

Figura No.

1. Croquis de la disposición a campo.....27

Imagen No.

1. Ubicación geográfica del ensayo.....23

2. Parcela y testigo apareado.....27

3. Control con herbicidas residuales (35 DDMA y 8 DDMB).....36

4. Control sin herbicidas residuales (35 DDMA y 8 DDMB).....36

5. Fitotoxicidad por 2,4-D colina + glifosato (8 DDMB).....46

6. Fitotoxicidad por glufosinato de amonio (8 DDMB).....46

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos 3 años se ha denunciado la presencia de *Amaranthus palmeri* en chacras agrícolas de Uruguay. Se presume que esta maleza fue introducida en el territorio uruguayo ya siendo resistente al glifosato y herbicidas ALS. Probablemente haya ingresado como semilla en maquinaria contaminada importada a Uruguay desde países con *A. palmeri* resistente, como es el caso de mucha maquinaria usada que se importa de Estados Unidos, especialmente cosechadoras sucias portando propágulos de esta maleza y otras.

Según Metzler (2015) no se había identificado *A. palmeri* resistente en Córdoba (Argentina) hasta la zafra 2011/2012, siendo esta maleza sospechosa de haber arribado a estas latitudes portando resistencia adquirida en latitudes diferentes. Hoy el problema en Córdoba es catastrófico, habiendo alrededor de 500 mil hectáreas infestadas, además de haber casos reportados en las provincias de Entre Ríos, San Luis y Santa Fe.

En Uruguay no hay todavía una comunicación oficial del total del área infestada, ni la ubicación de las zonas afectadas por *A. palmeri* pero ya se ha denunciado en varias chacras. Según MGAP. DIEA (2015) en la encuesta agrícola "primavera 2015" la superficie afectada por malezas del género *Amaranthus* son 10724 has.

El aumento en el área sembrada por cultivos de verano es explicado principalmente por el cultivo de soja, correspondiente primariamente a cultivos RoundUp Ready, lo que acarrea un drástico incremento en el uso del herbicida glifosato. Éste herbicida debido a su enorme versatilidad, amplio espectro de acción, baja toxicidad en mamíferos y su nula actividad en suelo, lo hacen el herbicida más usado y difundido en el mundo desde su introducción en 1974 (Powles y Preston, 2006). Esto marcó una tendencia en el uso indiscriminado de glifosato. El uso repetido de herbicidas con el mismo modo de acción genera una muy alta presión de selección sobre malezas resistentes, permitiendo prosperar poblaciones de malezas de este tipo (Tharayil-Santhakumar, 2010).

Heap (2014) describe como las peores malezas resistentes a especies del género *Lolium, Amaranthus, Conyza y Echinochloa.*

El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes estrategias de control químico de *A. palmeri* en soja con el evento ENLIST E3 (DAS-44406-6), resistente a los herbicidas glifosato, 2.4-D y glufosinato de amonio.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE *A. palmeri*

Las plántulas de *A. palmeri* tienen las hojas largas y anchas, las primeras hojas verdaderas tienen forma ovoide, cambiando a forma de diamante, son suaves y glabras (Clark et al., 1999).

Según Mohseni-Moghadam et al. (2013), las plantas adultas de *A. palmeri* son erectas y miden entre 0,3 y 2m de altura. Tiene raíces pivotantes de color rojizo. Los cotiledones de la plántula miden entre 0,7 y 1cm de largo, son angostos de color verdoso rojizo en la superficie apical y rojizo en la zona ventral. El vástago es por lo general grueso con colores verdosos a rojizos. Tiene hojas alternadas, ovadas de 5 a 20cm de largo y 1,3 a 6cm de ancho. Sus flores son pequeñas y verdes, producidas en densas y compactas inflorescencias terminales que miden entre 10 y 50cm. Su fruto es un utrículo de una sola semilla que mide hasta 2mm de longitud y se arrugan cuando se secan.

Pratt et al. (1999) de la Iowa State University, establecen que los tallos y hojas de *A. palmeri* varían de color verde a rosado. Las hojas tienen forma de diamante y tienen peciolos largos (igual o más largos que el largo de la lámina). El ápice de las hojas presenta un pequeño mucrón. Los tallos y hojas son glabros con una apariencia encerada. La inflorescencia es larga y punzante al tacto debido a las brácteas muy largas. Las flores femeninas tienen brácteas largas (3 a 7mm), 5 tépalos, el primero agudo y el resto obtusos, presenta 2 estigmas. Las flores masculinas por otro lado, tienen brácteas de 2,3 a 5mm, 5 tépalos, el primero con una nervadura central que se extiende 0,25-1.4mm por encima del ápice del borde del tépalo.

Es una especie muy prolífica con gran producción de semillas. Produce alrededor de 100.000 semillas por planta femenina en condiciones de competencia con cultivos (Legleiter y Johnson, 2013) y hasta 500.000 semillas por planta femenina cuando crece sin competencia (Keeley et al., citados por Schonbeck, 2014).

Las semillas son de pequeño tamaño midiendo 1mm a 1,3mm de largo, con forma de lente de color rojizo-amarronado, oscuro a negro.

2.2. IDENTIFICACIÓN DE *A. palmeri*

Es importante diferenciar *A. palmeri* de *Amaranthus quitensis (A. quitensis)* y *Amaranthus hibridus* (*A. hibridus).* Para ello Legleiter y Johnson (2013), enumeraron ciertos aspectos morfológicos para diferenciar *A. palmeri* de *A. quitensis*, como ser, presencia o ausencia de pelos en tallos y hojas, forma de las hojas, longitud del peciolo, estructura de la inflorescencia, patrón de crecimiento del meristema apical, etc.

- Presencia o ausencia de pelos: el *A. palmeri* es glabro mientras que *A. quitensis* tiene pubescencia tanto en tallos como en hojas.
- Forma de la hoja: el *A. palmeri* tiene hojas anchas y ovadas en forma de diamante, las de *A. quitensis* son similares pero con pelos.
- Longitud del peciolo: en *A. palmeri* son tan largos o más largos que el largo de la lámina, mientras que el *A. quitensis* es más corto que el largo de la lámina.
- Estructura de las inflorescencias: las hembras de *A. palmeri* pueden llegar a medir más de 80cm, además tienen brácteas rígidas y agudas que provocan una sensación punzante.
- Patrón de crecimiento del meristema apical: el patrón de crecimiento del meristema apical es el responsable de la forma de la hoja y el largo del peciolo, con el objetivo de captar la mayor radiación posible. Esto resulta en una apariencia de roseta cuando se mira desde arriba.

Pratt et al. (1999) crearon esta clave botánica para identificar diferentes especies del género *Amaranthus*:

1a. Planta dioica

2a. Planta pistilada (femenina)

3a. Tépalos 0-1; brácteas cortas, 0.5-2.5 mm; 3 Estigmas.....*Amaranthus rudis*.

3b. Tépalos 5; brácteas largas, 3-7 mm; 2 Estigma.....*Amaranthus palmeri.*

2b. Planta estaminada (macho)

4a. Brácteas cortas, 0.9-2.8 mm; Todas las nervaduras de tépalos cortos.....*Amaranthus rudis.*

4b. Brácteas largas, 2.3-5 mm; Nervadura del primer tépalo larga.....*Amaranthus palmeri*.

1b. Planta monoica:

5a. Bráctea larga, 4-7mm; al menos un tépalo más largo que el fruto:

6a. Tépalos 5, todos más largo que el fruto, ápice obtuso.....*Amaranthus retroflexus*.

6b. Tépalos 3-5, comúnmente sólo 2 más largos que el fruto, ápices agudos o rectos.....*Amaranthus powellii*.

5b. Brácteas cortas 3-5mm; Todos los tépalos más cortos que el fruto.....*Amaranthus hybridus (Amaranthus quitenisis)*.

2.3. ORIGEN DEL *A. palmeri*

A. palmeri proviene del desierto de Sonora y el Valle inferior del Rio Grande (Ehleringer, Keely et al., citados por Schonbeck, 2014). Invade fácilmente áreas de cultivos de zonas con clima cálido. Se convirtió en una maleza agrícola importante en el sur de los Great Plains a fines de 1990 (Horak, citado por Schonbeck, 2014), infestando hoy al menos 750 mil hectáreas de algodón y otros cultivos en el estado de Arkansas, EEUU (Fugate, citado por Schonbeck, 2014) y más de un millón de hectáreas en el estado de Georgia, EEUU (Langcuster, citado por Schonbeck, 2014). En los últimos 10 años se han publicado numerosos informes constatando resistencia al glifosato y grandes pérdidas de cosecha por parte del *A. palmeri* (Horak y Peterson, Culpepper, Jha et al., citados por Schonbeck, 2014).

Antiguamente *A. palmeri* era cultivado como alimento por las tribus indígenas Cocopa, Mohave y Pima. Dichas tribus horneaban y comían hojas. Además, las tribus Navajo y Yuma molían la semilla e incorporaban esta molienda en el alimento (Sauer, citado por Mohseni - Moghadam, 2013).

2.4. BIOLOGÍA DE *A. palmeri*

A. palmeri pertenece a la familia Amaranthaceae. Es una especie de habito de vida anual y de ciclo estival (Steyermark, citado por Mohseni - Moghadam, 2013). Es una planta de metabolismo C4. Comparado con otras especies del género *Amaranthus*, tiene el crecimiento más agresivo y competitivo de todas, incluso en bajas densidades (Rowland et al., Massinga et

al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013). Además, comparado con otras especies del género *Amaranthus*, éste tiene mayor área foliar, mayor producción de vástagos principales y mayor deposición de materia seca, revelando su alto grado de competencia en un ambiente cultivo-maleza (Horak y Loughin, citados por Mohseni - Moghadam, 2013).

A. palmeri tiene una reproducción dioica, lo que determina que haya plantas femeninas o masculinas, obligando a que haya polinización cruzada generando alta diversidad genética. Esto le confiere la habilidad de adaptarse y rápidamente diseminar genes de resistencia cuando se aplica alta presión de selección por utilizar repetidamente el mismo modo de acción de un herbicida por ejemplo (Legleiter y Johnson, 2013).

Las características de resistencia pueden diseminarse por polen (intercambio genético) y en caso del *A. palmeri* por ser una especie dioica, existe intercambio genético cada año ya que las plantas son fecundadas por polinización cruzada, siendo este polen capaz de trasladarse hasta 305m de una planta resistente a una susceptible (Sosnoskie et al., citados por Teaster y Hoagland, 2014).

El banco de semillas del suelo de *A. palmeri* se reabastece fácilmente por la muy prolífica producción de semilla y gracias a su pequeño tamaño, ya que esto facilita una rápida dispersión (Morgan et al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013). La investigación demuestra que las semillas luego de 3 años en el suelo en sistemas de cero laboreo, pierden viabilidad (Langcuster, citado por Schonbeck, 2014). Las semillas de *A. palmeri* generalmente son distribuidas por agua de riego (Wilson, citado por Mohseni - Moghadam, 2013), viento (Menges, citado por Mohseni - Moghadam, 2013) y actividades humanas como el movimiento de maquinaria (Sauer, Norsworthy et al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013).

A. palmeri es una especie de rápido crecimiento inicial, alta tasa de crecimiento, de comportamiento agresivo y alta competencia. Dichas características la convierten en una maleza de importancia tanto en agricultura intensiva como extensiva.

A. palmeri, acumula concentraciones importantes de nitratos, que durante la digestión pueden ser tóxicos para el ganado (Schwitz et al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013).

También el oxalato presente en *A. palmeri* puede provocar toxicidad en el ganado (Saunders y Becker, citados por Mohseni - Moghadam, 2013).

2.4.1. Características que convierten al *A. palmeri* en una "súper maleza"

Legleiter y Johnson (2013) describieron al *A. palmeri* como una maleza de competencia agresiva frente a cultivos, pudiendo crecer de 5 a 7,5 cm/día. Dichos autores demostraron en estudios de la universidad de Purdue que plantas de esta maleza que surgieron el 29 de mayo del 2013 (primavera boreal) equivalente al 29 de noviembre en el hemisferio sur (primavera austral) alcanzaron en 2 meses 180cm de altura.

Cuando se le deja competir en todo el ciclo del cultivo *A. palmeri* provoca pérdidas de hasta 91% en maíz y hasta 79% en soja (Legleiter y Johnson, 2013). Además, es una planta de mecanismo fotosintético del tipo C4, con alta eficiencia del uso del agua, y alta tasa de crecimiento cuando hay altas temperaturas (Keeley et al., Horak y Loughlin, Guo y Al-Khatib, citados por Schonbeck, 2014).

Además, hay reportes de alelopatía generada por *A. palmeri*. Menges (1987), demostró que, incorporando residuos de dicha maleza en el suelo, 7 semanas previo a la siembra, se redujo el crecimiento de zanahoria y cebolla en 49% y 68% respectivamente.

Poblaciones de *A. palmeri* han desarrollado resistencia a múltiples modos de acción herbicida, incluyendo inhibidores de la ALS, triazinas, inhibidores de la hidroxifenil piruvato desoxigenasa (HPPD), dinitroanalinas y glifosato (Legleiter y Johnson, 2013).

Es una maleza con flujo de emergencia prolongado, estirándose desde principios de noviembre a mediados de marzo, obligando a gestionar el manejo a lo largo del año (Legleiter y Johnson, 2013).

Al tener semillas de pequeño tamaño tiene facilidad de prosperar en sistemas de cero labranzas, donde la semilla queda en la zona ideal de emergencia (2 a 3 cm de profundidad). Además, dichas semillas son fácilmente diseminadas por actividades del hombre, siendo transportadas en semilla, granos, alimentos para aves, maquinaria sucia, etc. (Legleiter y Johnson, 2013). Tienen la capacidad de germinar bajo un amplio rango de temperaturas, desde bajas (16/10ºC día/noche) con baja tasa de germinación (Keeley et al., citados Schonbeck, 2014) a altas temperaturas (35/30ºC) con tasas de germinación máximas (Guo y Al-Khatib, citados por Schonbeck, 2014). Como resultado de esto la estación de germinación se extiende de fines de invierno a fines de otoño.

2.5. *A. palmeri* Y SU IMPACTO EN CULTIVOS

La combinación de altas tasas de crecimiento, adaptación a altas temperaturas, sequía y sistema radicular extenso transforman al *A. palmeri* en una maleza extremadamente agresiva, muy competitiva frente a cultivos de verano y un serio impedimento físico al momento de la cosecha. Una vez establecido es muy difícil controlarla. En Georgia (E.E.U.U), algunos productores de algodón han recurrido al arrancado manual ya que la resistencia a herbicidas y su crecimiento vigoroso hacen que el control químico fracase (Langcuster, citado por Schonbeck, 2014).

A. palmeri causa terribles pérdidas de rendimientos en todos los cultivos, especialmente si la maleza emerge antes o a la vez que el cultivo. Un estudio a campo realizado en el estado de Arkansas (E.E.U.U) demostró que una planta de *A. palmeri* en 3 metros lineales redujo el rendimiento de un cultivo de soja en 17%, y que una planta de *A. palmeri* cada 30cm redujo rendimientos en 64% (Klingman y Oliver, citados por Schonbeck, 2014). El *A. palmeri* superó la altura del cultivo entre 20 a 60cm luego de 4 semanas de emergido hasta el momento de cosecha.

En Kansas (E.E.U.U), rendimientos en maíz (*Zea mays*) mermaron en un 20% cuando había una planta de *A. palmeri* cada 2 metros lineales, y 40-80% con una planta de *A. palmeri* cada 30cm lineales (Massinga et al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013). La altura del *A. palmeri* superó a la del maíz y su área foliar interceptó radiación a una mayor altura sobre el suelo comparado con el área foliar del maíz (Massinga et al., citados por Schonbeck, 2014). Sin embargo, cuando el *A. palmeri* emergió varias semanas después que el maíz, tuvo mucho menor impacto en el rendimiento, y su producción de semillas disminuyó en 80-98% (Massinga et al., citados por Mohseni - Moghadam, 2013).). En otro estudio realizado en Kansas se demostró que al plantar *A. palmeri* con soja al mismo tiempo, el rendimiento mermó en 28%, mientras que el *A. palmeri* plantado 20 días luego de la soja no tuvo impactos en el rendimiento (Bensch et al., citados por Schonbeck, 2014).

Además, residuos de *A. palmeri* pueden inhibir el crecimiento de cultivos como zanahoria, cebolla, repollo y sorgo granífero (Menges, 1987), estos autores sugirieron que la alelopatía es la explicación de estos resultados.

2.6. HIBRIDACIÓN INTERESPECÍFICA

La hibridación interespecífica se refiere al cruzamiento entre especies diferentes del mismo género. Dicha hibridación ha funcionado como un método

de generación de resistencia a herbicidas en algunas malezas, como lo es un nuevo método de resistencia al glifosato que involucra la amplificación del gen 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS, enzima responsable de la formación de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano (Gaines et al., citados por Gaines et al., 2011). Obteniendo en individuos resistentes entre 40 y 100 veces más copias del gen EPSPS que en individuos susceptibles.

Si este mecanismo de rápida amplificación del gen EPSPS es específico de una especie, entonces la hibridación interespecífica, un proceso de evolución significativo, proveerá el potencial de transferencia de dicha característica a especies emparentadas cuando expuestas a similares presiones de selección (Trucco et al., citados por Gaines et al., 2011).

El *A. palmeri* una planta dioica que se ha diseminado del suroeste al sureste de EEUU era controlado perfectamente con glifosato (Steckel, citado por Gaines et al., 2011). La resistencia ocurrió primeramente en cultivos de algodón resistentes al glifosato (Culpepper, 2006), donde el alto grado de resistencia al glifosato se vio relacionado a la amplificación del gen EPSPS, un mecanismo de resistencia al glifosato desconocido previo al descubrimiento en *A. palmeri* (Gaines et al., citados por Gaines et al., 2011). Esta especie se mostró previamente resistente a varios herbicidas incluyendo, triazinas, inhibidores de ALS y herbicidas dinitroanalinas (Gossett et al., Horak y Peterson, citados por Schonbeck, 2014, Sprague et al., Vencill et al., Wise et al., Heap, citados por Gaines et al., 2011).

La hibridación interespecífica puede llegar a influir la evolución de resistencia, en el caso que los genotipos híbridos de la progenie sean más aptos que uno o ambos padres (Abbott, Barton, citados por Gaines et al., 2011). En el caso de genes de resistencia a un herbicida, el hibrido tendrá claramente un fitness mayor con respecto a la especie susceptible parental cuando es expuesto al herbicida en cuestión. Se le ha prestado mucha atención a la transferencia de genes de resistencia de cultivos a malezas (Ellstrand et al., Legere, Gaines et al., citados por Gaines et al., 2011), pero hay muy poca información disponible acerca de hibridación interespecífica entre especies de malezas. Ejemplos de hibridación interespecífica incluyen géneros como *Ambrosia* (Vincent y Cappadocia, citados por Gaines et al., 2011), *Avena* (Cavan et al., citados por Gaines et al., 2011), *Helianthus* (Natali et al., citados por Gaines et al., 2011), *Conyza* (Zelaya et al., citados por Gaines et al., 2011) y *Linaria* (Ward et al., citados por Gaines et al., 2011).

La hibridación interespecífica ha demostrado transferir resistencia a herbicidas a escala comercial también en los géneros *Lolium* (Busi et al., 2008) y *Amaranthus* (Sosnoskie et al., citados por Gaines et al., 2011).

La hibridación interespecífica ha sido investigada en varias especies del genero *Amaranthus* (Sauer, citado por Gaines et al., 2011) y algunos se han referido al género como "promiscuo" (Trucco et al., citados por Gaines et al., 2011). Dicha hibridación ocurre entre *A. hybridus* y *Amaranthus tuberculosus* (*A. tuberculosus)*, ocurriendo en sentido unidireccional del *A. hybridus* al *A. tuberculosus* (Trucco et al., citados por Gaines et al., 2011).

El número de cromosomas varía según especies del género *Amaranthus*, igualmente tener el mismo número no es prerrequisito para que ocurra el fenómeno de hibridación interespecífica. Sin embargo, la progenie parece ser más viable y fértil cuando sus especies parentales comparten el mismo número de cromosomas, como es el caso de hibridación entre *A. tuberculosus* y *A. hybridus* (Trucco et al., citados por Gaines et al., 2011).

En el experimento llevado a cabo por Gaines et al. (2011) se ha demostrado hibridación interespecífica entre *A. palmeri* y *A. spinosus*. Dada la convivencia geográfica de ambas especies este dato fue descrito por Gaines et al. (2011) de gran importancia agronómica. En el mismo experimento, Gaines et al. (2011) establecen que la característica de amplificación del gen EPSPS puede ser transferido a otras especies del género, que, de lo contrario, en caso de no ocurrir dicha transferencia, la característica de amplificación de EPSPS no evolucionaría en dichas especies.

La persistencia de los híbridos de *A. spinosus* X *A. palmeri* dependerá de su fecundidad y otros componentes del fitness. La característica de resistencia al glifosato por medio de la amplificación de la EPSPS en *A. palmeri* es transmisible vía polen a otras especies malezas del género, particularmente con *A. spinosus* (Gaines et al., 2011).

2.7. RESISTENCIA A HERBICIDAS EN *A. palmeri*

Culpepper (2006) establece que el primer caso de resistencia al glifosato en *A. palmeri* fue reportado en Georgia, Estados Unidos. El autor demostró que glifosato aplicado a plantas de 5-13cm de altura a dosis 3 veces la dosis normal (0.84kg ia ha-1) controló este biotipo, en solamente un 17%. El biotipo resistente fue controlado en un 82% por glifosato a una dosis 12 veces mayor.

Culpepper (2006) demostró en invernáculo que valores de DL50 (dosis necesaria para controlar el 50%) para apreciación visual y peso fresco de tallos expresado como porcentaje de los no tratados fue de 8 y 6,2 veces mayor con el biotipo resistente frente biotipo susceptible al glifosato.

Según Culpepper (2006) dosis de glifosato de 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0 kgha-1 controló *A. palmeri* emergido en 8, 17, 46, 70 y 82% respectivamente, 28 días post aplicación. El glifosato es recomendado en dosis de 0.84kgha-1 para controlar especies de *Amaranthus* de hasta 46cm de altura (Jost et al., citados por Culpepper, 2006), una dosis que normalmente controla especies de *Amaranthus* adecuada y eficazmente (Everitt et al., Nuti et al., Grichar et al., Keeling et al., Kending y Nichols, citados por Culpepper, 2006).

La mayoría de las plantas de *A. palmeri* resistentes a glifosato volvieron a crecer vigorosamente luego de 7 días post aplicación a una tasa de crecimiento de 2.4 kg MS/ha/d y el crecimiento se reanudó principalmente del meristema apical pero también se evidenció crecimiento de meristemas axilares en plantas que sobrevivieron a altas dosis de glifosato (4.8-6.0 kg MS/ha/d) (Culpepper, 2006). Culpepper (2006) demostró no haber diferencias en ploidía entre *A. palmeri* resistente y susceptible.

Debido al flujo de emergencia prolongado que tiene el *A. palmeri* es necesario varias aplicaciones de glifosato a lo largo del ciclo del cultivo, por lo que la presión de selección generada es considerablemente alta, favoreciendo la evolución de biotipos resistentes (Culpepper, 2006).

2.7.1. Mecanismo de resistencia involucrados en la resistencia del *A. palmeri*

Gaines et al., citados por Gaines (2011) establecen que la resistencia al glifosato por parte del *A. palmeri* es producto de un mecanismo de amplificación del gen EPSPS, obteniendo mayor número de copias del gen (60 a 120 veces), diluyendo el efecto herbicida del glifosato.

El glifosato compite con el sustrato de fosfoenol piruvato por un sitio de acción en la enzima fosfoenol piruvato shikimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS), resultando en un flujo de carbono no controlado y consecuente acumulación de shikimato en tejido sensible afectado (Amrhein et al., 1980). Shikimato acumulado en plantas tratadas con glifosato indica que el herbicida está afectando la actividad de la enzima EPSPS (Mueller et al., 2003). Sin embargo, Culpepper (2006) afirma no encontrar shikimato acumulado en hojas de *A. palmeri* resistente a glifosato.

Además de haber generado resistencia al glifosato, el *A. palmeri* ha desarrollado resistencia a otros herbicidas. Gossett et al., citados por Gaines et al. (2011) sostienen que la resistencia a dinitroanalinas por ejemplo, trifluralina fue primero reportada en Carolina del Sur y Tennessee (E.E.U.U) en 1989. Desde entonces el *A. palmeri* también ha generado resistencia a herbicidas

inhibidores de la ALS, como imazethapyr, inhibidores del fotosistema II, como la atrazina, e inhibidores de la EPSPS, como el glifosato (Horak y Peterson, Sprague et al., Vencill et al., Wise et al., Heap, citados por Gaines et al., 2011).

Teaster y Hoagland (2013) investigaron la probabilidad de preferencia del sexo de la planta de *A. palmeri* en la expresión de la resistencia al glifosato, concluyeron que no existe tal preferencia.

Desde el 2005 el *A. palmeri* ha evolucionado resistencia al glifosato de Este a Oeste en E.E.U.U (Neve et al., 2011). Esto lo ha convertido en una de las malezas más problemáticas en algodón en Arkansas, Georgia, Missouri, Carolina del Norte, Carolina del Sur y Tennessee (Culpepper 2006, Webster, citado por Neve et al. 2011, Norsworthy et al., citados por Neve et al. 2011).

Para el año 2009 *A. palmeri* resistente infestaba un total de 675mil hectáreas de chacras cultivadas con soja y algodón (Nichols et al., citados por Neve et al., 2011).

Recién en la zafra 2011/2012 el *A. palmeri* resistente fue detectado en el suroeste de la provincia de Córdoba, Argentina, no se tenía registro de esta especie en los anales botánicos de ese país previo a ese año y es fuertemente sospechosa de haber arribado portando un bagaje de resistencias adquiridas en otras latitudes (Metzler, 2015).

El aumento del uso de glifosato ha sido acompañado por una disminución del laboreo por aumento de sistemas sembrados bajo siembra directa (labranza cero) ejerciendo una muy alta presión de selección capaz de generar resistencia al glifosato en *A. palmeri* (Neve et al., 2010).

2.8. FITNESS DE BIOTIPOS DE *A. palmeri* RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES AL GLIFOSATO

Un paradigma común en biología evolucionaria es la expectativa de que genes de resistencia a un herbicida tengan un costo de fitness (Herms y Mattson, Bergelson y Purrington, Vila-Aiub et al., citados por Vila-Aiub et al., 2014). Sin embargo, es sabido hoy en día que el costo de fitness en plantas no es universal y que depende en gran parte del mecanismo de resistencia en particular (Vila-Aiub et al., citados por Vila-Aiub et al., 2014), el alelo involucrado en la resistencia (Menchari et al., citados por Vila-Aiub et al., 2014), trasfondo genético (Paris et al., citados por Vila-Aiub et al., 2014) y el ambiente (Purrington y Bergelson, Gassmann, Tardif et al., Vila-Aiub et al., Ashigh y Tardif, citados por Vila-Aiub et al., 2014).

Vila-Aiub et al. (2014) demostraron no existir diferencias de fitness entre plantas susceptibles y resistentes de *A. palmeri*. Ambas tenían igual altura y peso de planta a igual grado de desarrollo. Es decir, aquellas plantas de *A. palmeri* resistentes a glifosato con hasta 76 copias de la EPSPS no tenían diferencias con aquellas susceptibles al glifosato con 21 copias del mismo. También afirman que existe una obvia ventaja de fitness de plantas de *A. palmeri* exhibiendo mayor número de copias del gen EPSPS sobre plantas de *A.palmeri* sin elevado número de copias (susceptibles) cuando son tratadas con glifosato.

Costos de fitness han sido identificados en insectos y plantas con amplificaciones de genes asociados a resistencia a insecticida y herbivoria (Raymond et al., Bekaert et al., citados por Vila-Aiub et al., 2014).

Constitutivamente, mayor expresión del gen EPSPS significa concomitantemente extra síntesis de RNAm de EPSPS y proteína EPSPS con potenciales impactos en el fitness de la planta (Vila-Aiub et al., 2014).

El número de copias de EPSPS no tuvo efecto en el crecimiento de *A. palmeri* sin importar el nivel de competencia del ambiente donde crecían, lo mismo ocurrió para la biomasa de inflorescencia, siendo la misma para ambos biotipos (Vila-Aiub et al., 2014).

2.9. ESTRATEGIAS DE CONTROL Y MANEJO DE LA RESISTENCIA

El *A. palmeri* como ya se mencionó se disemina de manera rápida vía cosecha, equipos y vehículos sin limpiar luego de salir de zonas infestadas y fallas en eliminar manualmente plantas que escapan al control químico (Flessner et al., 2015)

Para Flessner et al. (2015) de la Virginia State University, el mejor control del *A. palmeri* se basa en las siguientes estrategias:

- integración de la rotación de cultivos con rotación de modos de acción de herbicidas.

- diversificar modos de acción de los herbicidas usados dentro de la zafra.

- monitoreo pre y post aplicación de herbicidas.

- limpieza de maquinaria, vehículos y equipos.

- eliminar manualmente aquellas plantas que escaparon al tratamiento químico.

De las estrategias enumeradas, Flessner et al. (2015) sostienen que la de rotar modos de acción es la que tendrá mayor beneficio dentro de la estación de crecimiento de la soja. Estos autores explican que esta diversificación puede ser realizada al incluir herbicidas residuales junto con la aplicación de "quemado", usando herbicidas residuales a la siembra, y mezclas de herbicidas post emergentes. Se debe tener sumo cuidado en identificar tratamientos residuales que sean más eficaces para el enmalezamiento en general, y de evitar el uso de inhibidores de la ALS ya que se sabe que *A. palmeri* exhibe resistencia a este grupo químico, toda aplicación de glifosato debe estar acompañada de otro herbicida con diferente modo de acción, sin importar si hay o no biotipos resistentes (Flessner et al., 2015).

Para resumir, Flessner et al. (2015) enumeran lo que ellos proponen como puntos clave en el control de *A. palmeri* resistente a glifosato.

1) Empezar limpio: no plantar sobre malezas existentes.

2) Usar herbicida residual: aplicado pre siembra o pre emergente. Incluir un herbicida residual en post emergencia es recomendado.

3) Momento de aplicación: es clave aplicar antes que las plantas superen los 10cm de altura. La aplicación en plantas con mayor desarrollo sólo acelera el proceso de generación de resistencia.

4) Usar adecuadas dosis: aplicar herbicidas en subdosis reduce el control de malezas e incrementa el potencial de generación de resistencia.

5) No ignorar plantas que escapan al control: poblaciones competitivas pueden formarse en poco tiempo. Remover dichas plantas manualmente es un método eficaz.

6) Diversificar modos de acción: para que efectivamente se roten modos de acción y así mitigar la resistencia, uno no puede basarse en la familia química del herbicida, si no en el modo de acción que aparece en la etiqueta.

Para seguir, Ashlgh et al. (2013) afirman que el manejo más efectivo en el control de *A. palmeri* es una combinación de métodos preventivos, culturales, mecánicos y químicos.

Para obtener un control eficaz a largo plazo de *A. palmeri*, una aproximación de múltiples tácticas es necesario (Holshouser, 2008).

Ashlgh et al. (2013) demostraron que el *A. palmeri* puede semillar entre 3 y 8 semanas post germinación, dependiendo si hay situación de estrés o no la hay, respectivamente.

Langcuster, citado por Schonbeck (2014) afirma que es de vital importancia monitorear chacras para poder controlar el *A. palmeri* en sus primeras etapas. Gracias al rápido crecimiento del *A. palmeri*, la ventana de control es muy acotada, por ello, varios monitoreos e intervenciones oportunas son críticos para lograr un correcto control.

Metzler (2015) menciona que, en la provincia de Córdoba, Argentina en chacras con infestaciones severas, se contrataron cuadrillas de personal para realizar desmalezado manual de las plantas de *A. palmeri*, y que la pasada de una rastra de discos en chacras muy infestadas puede llegar a disminuir la población de la maleza en un 50%, sin embargo advierte que no se debe abusar de esta herramienta para no enterrar demasiado la semilla, la cual permanece viable bajo tierra por otros 5 años más.

Otra práctica cultural muy eficiente es el de acortamiento del espacio entre línea (entre surco). Al cerrarse temprano el canopeo, el IAF de la soja aumenta, llevando a una mejor competencia y habilidad de supresión de malezas en sojas sembradas con distancia entre hileras menores (Howe y Oliver, Norsworthy y Oliver, citados por Jha, 2008).

Malugeta y Boerboom, citados por Jha (2008) sostienen que se acelera el cerrado del canopeo cuando la soja es sembrada a 18cm de distancia entre hilera, permitiendo mayor flexibilidad en la aplicación de herbicidas, reduciendo la emergencia de malezas, e interferencia en estaciones de crecimiento posteriores, comparado con sojas sembradas a 76cm.

Disminuir el espacio entre línea en soja parece ser una estrategia que los productores pueden realizar para minimizar la sobrevivencia de *A. palmeri*, carácter de gran importancia considerando su altísimo potencial reproductivo de hasta 600000 semillas por planta femenina (Keeley et al., Massinga et al., Sellers et al., citados por Schonbeck, 2014).

Tuesca et al., citados por Metzler (2015) compararon tratamientos residuales simples con una técnica conocida como "overlapping" o de solapamiento de residualidad que consiste en realizar tratamientos secuenciales con herbicidas persistentes, con diferentes mecanismos de acción, con un espaciamiento temporal breve para que la residualidad del primero se superponga con el aplicado en última instancia. El lapso puede oscilar entre 15 y 30 días según el principio activo utilizado. De este modo la

actividad herbicida permanece lo suficientemente alta como para controlar los flujos potenciales.

Norsworthy y Meehan, citados por Schonbeck (2014) constataron que cultivos de cobertura de la familia *Brassica* inhibía el crecimiento del *A. palmeri*, explicado por efectos alelopáticos. Incluso la incorporación de estos cultivos de cobertura en el suelo previo a la siembra de cultivos de verano redujo *A. palmeri* en un 25-50% durante las primeras 4 semanas del cultivo (Norsworthy et al., citados por Schonbeck, 2014).

2.10. GENERALIDADES SOBRE RESISTENCIA A HERBICIDAS

Heap (2014) define la resistencia a un herbicida como un resultado normal y predecible de una selección natural. Raras mutaciones que confieren resistencia a herbicidas a ciertos individuos dentro de una población de malezas previo a la aplicación de un herbicida. Son favorecidas con repetidas aplicaciones de un herbicida hasta un punto en el que la población ya no es controlada por el herbicida bajo dosis recomendadas en condiciones agrícolas.

Por otro lado, Dekker y Duke (1995) describen a la resistencia como la habilidad, característica o cualidad de una población de plantas dentro de una especie o un taxón mayor, o de células vegetales en cultivo, de resistir un herbicida en particular a una dosis que es substancialmente mayor a aquella que soporta la misma planta salvaje, con un ciclo de vida normal. Estos mismos autores afirman que la resistencia a un herbicida puede ser conferida de varias maneras e incluye la ausencia pre existente de susceptibilidad, selección de variantes resistentes dentro de una especie diversa, o resistencia adquirida por manipulación genética (ejemplo: cultivos)

Además, Heap (2014) define dos tipos de resistencia, múltiple y cruzada.

Resistencia cruzada: ocurre cuando un único mecanismo de resistencia confiere resistencia a más de un herbicida. Resistencia cruzada del sitio de acción es el tipo más común y es el resultado de un sitio de acción alterado, confiriendo resistencia a otros herbicidas que inhiben esa misma enzima.

Resistencia múltiple: sucede cuando más de un mecanismo de resistencia ocurre dentro de una misma planta. Resistencia múltiple es usualmente el resultado de selección secuencial de mecanismos de resistencia por herbicidas con diferentes sitios de acción o por acumulación de genes de resistencia vía flujo de polen.

2.10.1. Situación actual de la resistencia en el mundo

Existen actualmente 404 especies resistentes a herbicidas, habiendo 11 nuevos casos reportados por año (Heap, 2014).

La resistencia a uno o más sitios de acción de herbicidas se ha reportado en 220 especies de malezas (130 dicotiledóneas y 90 monocotiledóneas) y hay malezas que han evolucionado resistencia a 21 de los 25 sitios de acción herbicidas conocidos (Heap, 2014).

Malezas resistentes a herbicidas han sido reportadas en 66 cultivos en 61paises. Estados Unidos tiene el mayor número de malezas resistentes (144) seguido por Australia (62), Canadá (59) y Francia (35) (Heap, 2014).

Heap (2014) señala que a principios del 1990 este problema estaba limitado a países desarrollados con acceso a herbicidas, mientras que en países en desarrollo, éste no era un problema ya que el control de malezas era realizado principalmente manualmente. Esto ha cambiado dramáticamente en las últimas dos décadas y países como China y Brasil dependen de herbicidas como principal medida de manejo. China se encuentra hoy en la quinta posición del ranking de malezas resistentes y Brasil octavo con 31 casos reportados. El cultivo de trigo ha seleccionado 59 malezas resistentes, el maíz 58, la soja 46 y el arroz 39, luego aparecen los bordes de carreteras y autopistas con 31 especies y luego sistemas fruti-horticolas con 27 especies, donde se alcanza alta presión de selección por repetidas aplicaciones (más de 5) durante una temporada para poder llegar a tener el suelo libre de malezas.

El control de malezas resistentes está en un punto crítico. Por más de 40 años productores han soportado malezas resistentes a herbicidas porque la industria proveía un flujo amplio y estable de nuevos paquetes tecnológicos de herbicidas con nuevos sitios de acción. Hoy el escenario es diferente, esto ya no ocurre, la industria no introduce un nuevo herbicida con un nuevo sitio de acción hace 30 años (Heap, 2014).

El caso de resistencia múltiple no era tan importante hasta los años 90 pero ha incrementado desde entonces. Existen hoy 65 casos de resistencia múltiple, la mayoría (46) son de poblaciones que tienen resistencia a 2 sitios de acción, 12 casos con resistencia a 3 sitios de acción y un caso de *Lolium rigidum* de tener resistencia a 7 sitios de acción. La resistencia múltiple en *A. palmeri* y *Amaranthus tuberculatus* es de principal preocupación en cultivos RoundUp Ready en Estados Unidos. Poblaciones de *A. palmeri* con resistencia a inhibidores del fotosistema II, inhibidores de la ALS, inhibidores de 4-HPPD y glifosato han sido identificados en el centro oeste de Estados Unidos (Heap, 2014).

Heap (2014) sostiene que hoy una de las mayores preocupaciones a nivel global es la resistencia múltiple. Del 2015 al 2025 la resistencia múltiple en malezas obligará a cambiar programas de control de malezas del presente. Cultivos resistentes a herbicidas con múltiples características de resistencia proveerán algunas soluciones, también la introducción de algunos herbicidas nuevos con diferentes sitios de acción. El autor afirma que productores deberán ser re-educados/capacitados nuevamente con programas de control de malezas que incluyan rotación de cultivos, diversificación de los sistemas en sí, incrementar el laboreo, utilizar cultivos de cobertura, tener tolerancia cero para algunas malezas en ciertos cultivos y por, sobre todo, la adopción de estrategias de manejo de malezas resistentes. Heap (2014) explica que más allá del 2025 habrá un aumento en el descubrimiento de nuevos herbicidas con nuevos sitios de acción, posiblemente liderado por China, cultivos resistentes a herbicidas seguirán apareciendo, habrá mayor diversidad en sistemas agrícolas y verdaderos sistemas integrados de control de malezas se desarrollarán. Herbicidas probablemente seguirán siendo la columna vertebral del control de malezas por varios años más, sin embargo, eventualmente serán suprimidos por nuevas tecnologías, posiblemente robots desmalezadores de bajo costo, nano-máquinas o bioherbicidas genéticamente modificados (Heap, 2014).

2.10.2. Procesos de generación de la resistencia

Biólogos confirman que las malezas no cambian para convertirse en resistentes, en cambio la población cambia. Una población de malezas es extremadamente diversa. A pesar de aparentar ser iguales, existen pequeñas diferencias a nivel genético. Estas pequeñas diferencias genéticas a veces pueden ser las responsables de conferir la habilidad inherente de resistir ciertos herbicidas. En realidad, la frecuencia con que aparecen estas variantes es muy baja (uno en un millón). El panorama cambia totalmente cuando se aplican varias aplicaciones del mismo herbicida a dicha población de malezas, por lo que la frecuencia de las variantes genéticas resistentes aumenta considerablemente ya que la mayoría de las susceptibles son eliminadas. Entonces se le da una oportunidad para que las especies resistentes puedan proliferar. Entonces al utilizar el mismo herbicida durante varios años las poblaciones susceptibles obviamente disminuyen drásticamente y aumentan dramáticamente aquellas resistentes. Morfológicamente la población susceptible no es distinta a la resistente, por lo que en los primeros años no se notan diferencias. Sin embargo, cuando el herbicida es utilizado reiteradamente el control de la maleza disminuye, es ahí cuando se identifica una población resistente, y se afirma que la especie ha desarrollado resistencia a dicho herbicida (Tharayil-Santhakumar, 2010).

Tharayil-Santhakumar (2010) explica que cuando la frecuencia inicial de individuos resistentes es alta, más probabilidad existe de generar resistencia en poco tiempo. También explica que aquellas especies que germinan de sus propágalos desarrollarán resistencia más rápidamente que aquellas especies cuyos propágalos permanecen en dormancia en el suelo.

Cuanto más sensible una especie es a un herbicida, antes evolucionarán las especies resistentes, ya que la presión de selección es alta y el 90-95% de los individuos susceptibles mueren por acción del herbicida (Tharayil-Santhakumar, 2010). Al no rotar herbicidas o modos de acción, se genera una presión de selección que permite que poblaciones resistentes prosperen. Como también herbicidas con modo de acción especifico, por ejemplo, cuando un herbicida tiene un sólo sitio de acción en maleza, basta con que un sólo individuo tenga el sitio de acción diferente para convertirse en resistente, siendo esta resistencia más rápidamente adquirida que con herbicidas de múltiple modo de acción.

Sistemas de monocultivo y uso repetido del mismo o similar herbicida ha llevado a una resistencia a herbicidas en ciertas malezas (Peterson, Van Gessel, citados por Culpepper, 2006).

2.10.3. Mecanismos de resistencia

Las plantas escapan al efecto de los herbicidas por varios mecanismos (Vaughn y Duke, Holt et al., citados por Dekker y Duke, 1995). Estos mecanismos pueden ser clasificados en dos categorías: aquellos que excluyen la molécula del herbicida del sitio de acción donde inducen su respuesta tóxica (resistencia exclusionaria) y aquellos mecanismos que hacen que el sitio de acción especifico de la molécula herbicida sea resistente al compuesto químico (alteración de sitio de acción, Dekker y Duke, 1995). Muchos de estos mecanismos operan a la vez produciendo resistencia total de la planta (Dekker y Duke, 1995).

2.10.3.1. Mecanismos de resistencia exclusionaria

El sitio de acción donde la molécula del herbicida actúa está protegido en alguna medida por la morfología y fisiología de determinadas especies de plantas. También la actividad metabólica en células vegetales vivas puede detoxificar herbicidas (Dekker y Duke, 1995)

La resistencia exclusionaria puede darse en la absorción del herbicida excluyendo la entrada de la molécula química al simplasto (parte viva de la

planta, Dekker y Duke, 1995). En cuanto a la parte muerta de la planta (apoplasto), ésta puede interferir con el movimiento del herbicida debido a propiedades físicas de la cutícula (cera epicuticular, cera cuticular, cutina, fibras de pectina, etc., Dekker y Duke, 1995).

2.10.3.2. Mecanismo de compartimentación

Los herbicidas pueden ser secuestrados en varias localidades de la planta antes de alcanzar el sitio de acción. Algunos herbicidas lipofílicos pueden ser inmovilizados en glándulas ricas en lípidos o cuerpos oleosos (Foy, Stegink y Vaughn, citados por Dekker y Duke, 1995). Además, los herbicidas pueden ser secuestrados en vacuolas (Coupland, citado por Dekker y Duke, 1995).

2.10.3.3. Detoxificación metabólica

Dekker y Duke (1995) describen este mecanismo como la detoxificación de herbicidas por reacciones bioquímicas que pueden ser agrupados en 4 grandes categorías, oxidación, reducción, hidrolisis y conjugación. Tharayil-Santhakumar (2010) afirma que el herbicida es detoxificado antes que llegue al sitio de acción a una tasa suficientemente rápida para que la planta no muera.

La alteración molecular del sitio de acción es una resistencia conferida en una planta por alteración o mutación de los diferentes sitios de acción (Dekker y Duke, 1995).

La sobreproducción del sitio de acción puede brindar resistencia no solo por múltiples copias del gen codificando dicho sitio (Steinrucken et al., citados por Dekker y Duke, 1995), sino también por un aumento en la expresión del gen que codifica para la proteína del sitio de acción (Hollander-Czytko et al., citados por Dekker y Duke, 1995). Por ejemplo, la resistencia para el glifosato es conferida por sobreproducción del sitio de acción EPSPS (Kishore y Shah, citados por Dekker y Duke, 1995).

Heap (2014) sostiene que existen 5 mecanismos primarios de resistencia a herbicidas, los cuales son los siguientes.

1) Resistencia por sitio de acción, explicado como el resultado de mutaciones que alteran el sitio de acción del herbicida (por lo general en una enzima) previniendo o reduciendo la habilidad del herbicida a unirse al sitio objetivo. Ejemplos de éstos son las resistencias a: herbicidas inhibidores de la ALS, inhibidores de la ACCasa, dinitroanalinas y Triazinas.

2) Detoxificación metabólica por parte del incremento en la actividad metabólica que metaboliza (degrada) ese herbicida antes que mate a la planta.

3) Disminución en la absorción y/o translocación resulta en una restricción suficiente del movimiento del herbicida hacia el sitio de acción, permitiendo la sobrevivencia de la planta.

4) Secuestro del herbicida dentro de las paredes celulares, vacuolas, reduciendo la concentración del herbicida que llega al sitio de acción pudiendo resultar en resistencia.

5) Amplificación o sobreexpresión del gen, genera una sobre producción del sitio objetivo (enzima) diluyendo el efecto herbicida.

2.11. DESCRIPCIÓN DE LOS GRUPOS QUÍMICOS UTILIZADOS

2.11.1. Inhibidores de la ALS

En este experimento se utilizó un herbicida de la familia de las triazolopirimidinas, el diclosulam, ingrediente activo presente en el herbicida texaro.

Estos herbicidas actúan inhibiendo la enzima acetolactato sintasa (ALS), también llamada acetohidroxiacido sintasa (AHAS), enzima clave en la biosíntesis de la cadena de aminoácidos isoleucina, leucina y valina (LaRossa y Schloss, citados por WSSA, 2012). La muerte de la planta es resultado de eventos que ocurren en respuesta a la inhibición de la ALS y baja producción de aminoácidos, sin embargo, el proceso de fitotoxicidad no está del todo claro (WSSA, 2012).

2.11.2. Inhibidores de la EPSPS

El glifosato (N-fosfonometil glicina) perteneciente a la familia de las glicinas, es un herbicida postemergente, no selectivo utilizado a nivel global. Es un herbicida que inhibe la enzima 5-enolpiruvato-shikimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS, Amrhein, citado por WSSA, 2012) que produce EPSP de shikimato-3-fosfato y fosfoenol-piruvato en el camino del ácido shikímico. La inhibición de la EPSPS conlleva a un agotamiento de los aminoácidos aromáticos, triptófano, tirosina, y fenilananina, todos necesarios para la síntesis de proteína necesaria para los caminos biosintéticos que se precisan para el crecimiento. La falla de la

adición exógena de estos aminoácidos para superar completamente la toxicidad en plantas superiores (Duke y Hoagland, Lee, citados por WSSA, 2012) sugiere que otros factores están involucrados en la inhibición de síntesis de proteínas (WSSA, 2012).

2.11.3. Auxinas sintéticas

En el experimento se utilizan 2 familias con este modo de acción. La familia de los arilpicolinatos y la del acidofenoxicarboxilico, siendo el halauxifen metil y el 2,4-D los herbicidas utilizados respectivamente.

Estos son herbicidas que actúan similarmente a la auxina endógena (IAA), aunque el mecanismo verdadero no está del todo comprendido. EL sitio de unión celular especifico relevante en la acción de IAA y los herbicidas que imitan auxinas (WSSA, 2012) no ha sido identificado. No obstante, la acción de estos compuestos parece afectar la plasticidad de la pared celular y el metabolismo de los ácidos nucleicos. Estos compuestos acidifican la pared celular por estímulo de la actividad de la bomba protón motriz ATPasa unida a la membrana. La reducción del pH apoplástico induce la elongación celular por incremento de la actividad de las enzimas responsables en el aflojamiento de la pared celular. Bajas concentraciones de herbicidas de este tipo estimulan la ARN polimerasa, resultando en incrementos en ARN y ADN y proteínas de biosíntesis. Incrementos anormales en estos procesos, llevan a división celular incontrolada y crecimiento incontrolado, resultando en la destrucción del tejido vascular. En contraste, altas concentraciones de estos herbicidas inhiben la división celular y crecimiento, por lo general en zonas meristemáticas que acumulan fotoasimilados y herbicida desde el floema. Estos herbicidas imitadores de auxinas estimulan la síntesis de etileno, produciendo en algunos casos el síntoma epinástico característico asociado a la exposición de estos herbicidas.

2.11.4. Inhibidores de la PPO (Protoporfirinógeno oxidasa)

Flumioxazin de la familia N-Fenil-ftalimida fue utilizado en este experimento perteneciente a este modo de acción.

Estos herbicidas inhiben la enzima protoporfirinógeno oxidasa, y una enzima encargada de la síntesis de clorofila. La inhibición de la protoporfirinógeno oxidasa, lleva a una acumulación de protoporfirinógeno IX (PPIX) el primer precursor de la clorofila. Esta acumulación es transitoria. PPIX

formada fuera de su ambiente nativo es probablemente separado de quelatos de Mg y otras enzimas que normalmente previenen la acumulación de PPIX. En consecuencia, lípidos y proteínas son atacados y oxidados, resultando en la pérdida de clorofila y carotenoides y en membranas permeables que provocan la deshidratación de células y organelos (Duke et al., 1991).

2.11.5. Inhibidores de la glutamino sintetasa

El glufosinato de amonio perteneciente a la familia del ácido fosfínico, inhibe la actividad de la enzima glutamino sintetasa (Lea, citado por WSSA, 2012), enzima responsable en catalizar la reacción que convierte glutamato y amoníaco en glutamina. La acumulación de amoníaco en la planta (Tachibana, citado por WSSA, 2012) destruye células e inhibe directamente reacciones del fotosistema I y II (Sauer, citado por WSSA, 2012). El amoníaco reduce el gradiente de pH a través de la membrana pudiendo desacoplar la fotofosforilación (WSSA, 2012).

2.12. RESEÑAS

2.12.1. Breve reseña sobre un trabajo similar sobre el uso de herbicidas residuales, en *Amaranthus palmeri*, realizado en la provincia de Santa Fe, Argentina

Papa y Tuesca (2016) en conjunto realizaron un experimento que consistió en evaluar la efectividad de control sobre *Amaranthus palmeri* de herbicidas residuales selectivos para el cultivo de soja. Allí se contrastaron la acción de los herbicidas residuales: metribuzin, sulfentrazone y flumioxazin en tratamientos simples o secuenciales. En los tratamientos secuenciales se fue variando el orden de aplicación y alternando herbicidas con distintos mecanismos de acción, siendo uno de los objetivos ir superponiendo el efecto residual de los herbicidas, para evitar que las plantas de *A. palmeri* emerjan y se establezcan cercanas a la siembra de un cultivo. En todas las instancias de evaluación, los tratamientos con aplicaciones secuenciales mostraron un desempeño mejor, que los tratamientos con aplicaciones simples. Estos autores señalan que lo que resulta más efectivo para combatir esta maleza es el uso de herbicidas residuales con espectro para *A. palmeri*, con distintos modos de acción y en aplicaciones sucesivas. Destacaron aplicar metribuzin como primer tratamiento, por su mayor acción residual, seguido de un herbicida inhibidor de la PPO (flumioxazin o sulfentrazone), junto con S-metolaclor. Demostrando así una eficacia mayor, respecto a los tratamientos con el orden inverso de aplicación.

2.12.2. Breve reseña sobre la tecnología utilizada en este experimento

ENLIST es un sistema innovador en control de malezas, este paquete tecnológico creado por la multinacional Dow AgroSciences, consta de tres grandes componentes. El primero de los componentes son los eventos biotecnológicos, que le proveen a los cultivos Enlist diferentes tolerancias a herbicidas. En el caso de la Soja DAS 44406-6 (Enlist), el evento le provee tolerancia a glifosato, 2,4-D y glufosinato de amonio (CORTEVA, 2019).

El segundo de los componentes del sistema, son las soluciones herbicidas, donde para el Cono Sur, el herbicida desarrollado es Enlist Colex D^{TM}. Este herbicida está compuesto por 2,4-D Sal Colina y tiene las características de ser un 2,4-D sin olor, de ultra baja volatilidad, con un potencial minimizado de deriva física y con una mejorada compatibilidad con otros herbicidas (principalmente con glifosato, CORTEVA, 2019).

El tercer componente del sistema, es un manual de buenas prácticas (Enlist Protect) que busca hacer más sustentable el uso de esta tecnología, brindando básicamente capacitación en tecnologías de aplicación para minimizar derivas físicas y generando recomendaciones de lavado de tanques de fumigadoras para evitar general problemas de daño a cultivos no Enlist. También en este manual se proponen programas de control de malezas, pensados en combinar modos de acción, para lograr controles de malezas efectivos y sustentables en el tiempo (CORTEVA, 2019).

Cabe señalar que este evento, todavía no está liberado para su libre comercialización y uso en el Uruguay, por lo que este ensayo se realizó bajo la condición de regulado, siguiendo las normas de Bioseguridad de INAS y de Stewarship de Dow AgroSciences.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La chacra donde se instaló el ensayo se ubica en el departamento de Paysandú (Uruguay) a 17km de la ciudad de Paysandú y 3.5km del pueblo Porvenir (32°23´42.30¨ S - 57°56´26.20¨ O).

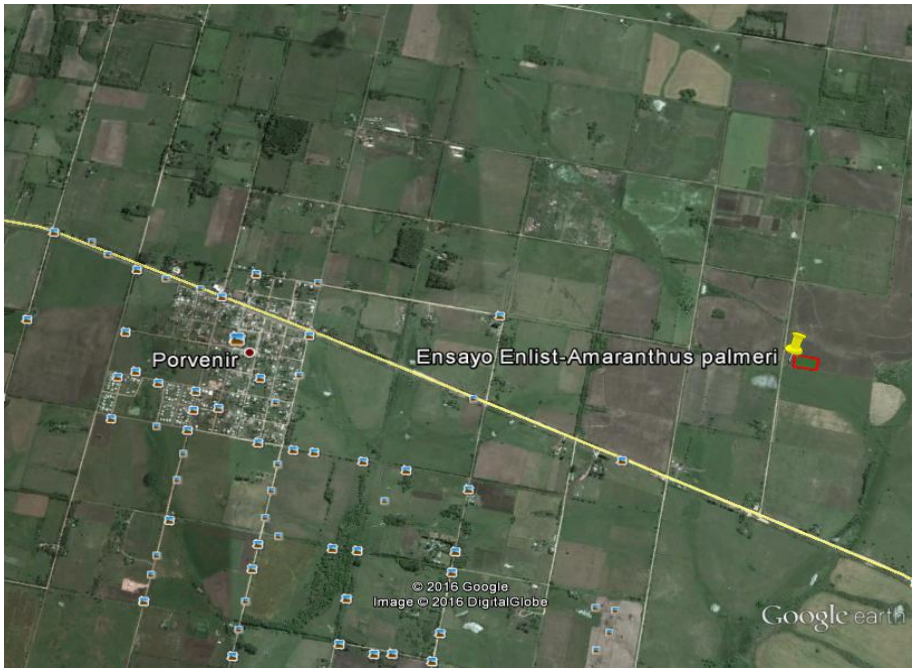

Imagen 1. Ubicación geográfica del ensayo.

El área experimental fue seleccionada en función de la abundante presencia de la maleza en cuestión en los últimos 2 veranos. En el verano 2015 se recolectaron muestras de plantas que se llevaron a identificar al laboratorio de Botánica de la Facultad de Agronomía constatando que el enmalezamiento se trataba de *A. palmeri* efectivamente.

En el verano del 2015 el enmalezamiento de *A. palmeri* fue notorio e incluso al momento de la cosecha del cultivo de soja la altura de éste superaba a la del cultivo, lo que causó que, al cosechar la soja, la maleza fuese cortada favoreciendo su persistencia y diseminación de semilla. No sólo reabasteciendo el banco de semillas si no contaminando la cosechadora y demás maquinaria involucrada en el proceso de cosecha. Luego en otoño se sembró una avena

negra (*Avena strigosa*) como cultivo de cobertura. Dicha cobertura fue controlada los últimos días de setiembre iniciando un barbecho corto previo a la siembra de la soja Enlist. Cabe destacar que para favorecer la germinación de la semilla de *A. palmeri* que se encontraba en el banco de semillas del suelo, se retiró manualmente con un rastrillo la mayoría del rastrojo de Avena, así homogeneizando el sitio del ensayo y permitiendo que la luz llegue al suelo sin impedimentos físicos. La soja fue sembrada el 26 de noviembre del 2015. Cabe mencionar que todos los tratamientos fueron iniciados cuando aún no había *A. palmeri* emergido debido a que aún no había condiciones óptimas de temperatura, habiendo resultado en una primavera fresca.

3.2. EXPERIMENTO

3.2.1. Tratamientos

El objetivo de este experimento fue evaluar la eficacia de control de *A. palmeri* de 9 tratamientos en cultivo de soja ENLIST E3. Estos tratamientos se componían de 1, 2 o 3 momentos de aplicación, desde la pre siembra/pre emergencia hasta la post emergencia avanzada del cultivo de soja.

Cuadro 1. Tratamientos: momentos A, B y C

Tratamiento	Momento A (24/11/15) Pre siembra	Momento B (21/12/15) Estadio V2	Momento C (8/01/16) Estadio V6-7
1	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)		
2	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	
3	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	glufosinato de amonio (600g ea/ha) + sulfato de amonio (N/A)	
4	diclosulam (25g ea/ha),halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	
5	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	
6	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	glufosinato de amonio (600g ea/ha) + sulfato de amonio (N/A)	
7	2,4-D colina(912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	glufosinato de amonio(600g ea/ha) + sulfato de amonio(N/A)	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)
8	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	2,4-D colina(912g ea/ha) + glifosato(960g ea/ha)	glufosinato de amonio (600g ea/ha) + sulfato de amonio (N/A)
9	glifosato (960g ea/ha)		

3.3. METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN

Los tratamientos se aplicaron con una mochila experimental de CO2, con un varal de 6 boquillas AIXR 110 01 a una presión de 1bar logrando un gasto de 125 litros/ha. Las fechas y condiciones de aplicación se detallan en el cuadro siguiente.

Cuadro 2. Instalación del ensayo.

	Aplicaciones		
	Pre Siembra (24/11/15)	Estadio V2 (21/12/15)	Estadio V6-7 (08/01/16)
Condiciones	Momento A	Momento B	Momento C
Hora de inicio:	19:00	17.30	14.00
Hora de finalización:	20:15	18.00	15.00
Temperatura (°C) (inicio - final):	24,4 - 18.,1	30,4	33
Humedad relativa (inicio - final):	50,6 - 66,5%	68%	53%
Velocidad del viento promedio (Km/h)(ráfagas):	10,5 (15,3) - 4,2 (5,2)	11 (16)	4,7 (7,6)

3.4. DETERMINACIONES

Las evaluaciones de control se realizaron bajo 2 modalidades, una mediante el conteo de individuos emergidos de la maleza y otra mediante apreciación visual. Las fechas de las evaluaciones en las que se realizaron las determinaciones serán expresadas como días después de cada momento de aplicación (momento A= pre siembra (24/11/15); momento B=soja estadio V2 (21/12/15), momento C= soja estadio V6-7 (08/01/16). Los conteos de individuos fueron realizados a los 18, 29 y 95 días pos siembra. Los mismos se efectuaron en 5 muestras por parcela de 0.33x0.33 metros.

Las evaluaciones de control por apreciación visual fueron expresadas como porcentaje y así se consideraron al momento de procesar la información estadísticamente. Las evaluaciones se realizaron 18, 29, 37, 68 y 95 días post siembra. En estas se determinó un porcentaje de control general por parcela y a la misma vez un porcentaje de fitotoxicidad por parcela.

Las evaluaciones de selectividad también se realizaron mediante apreciación visual.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental usado fue de bloques completos al azar, con 9 tratamientos y 3 repeticiones. Cada parcela resultó en 18m2, 6m de largo y 3m de ancho. Además, cabe aclarar que a campo se dispusieron 2 franjas que oficiaron de testigos apareados entre las parcelas para facilitar las determinaciones visuales.

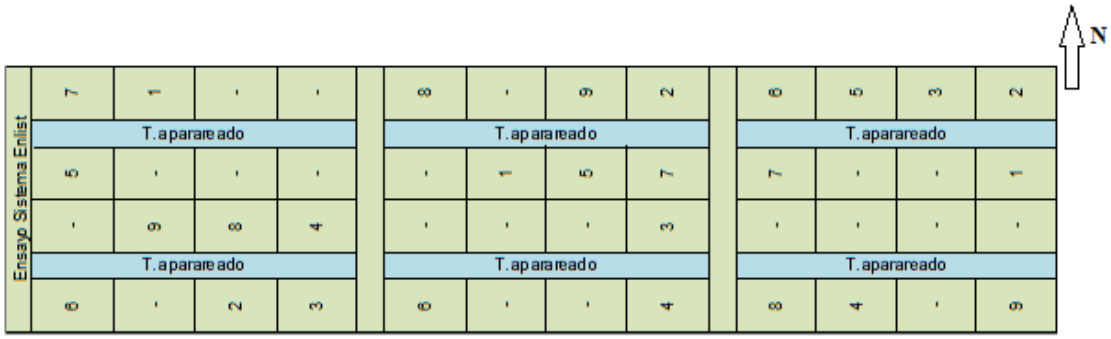

Figura 1. Croquis de la disposición a campo.

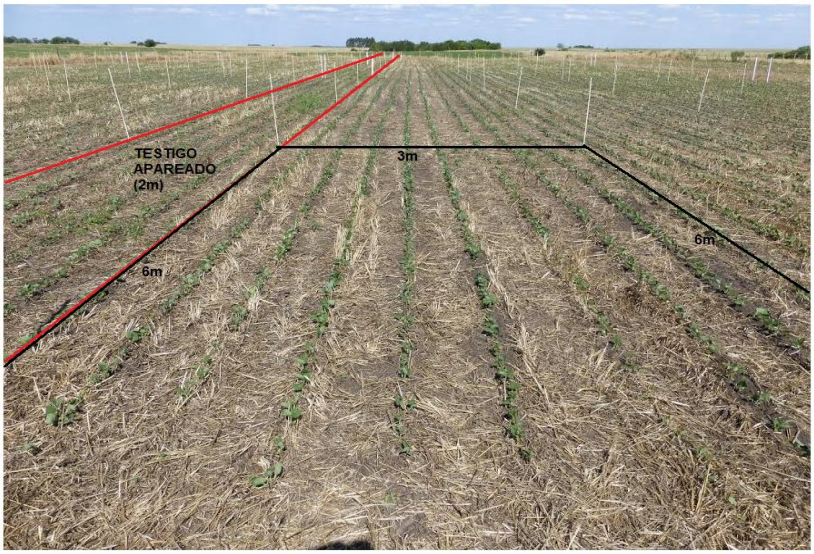

Imagen 2. Parcela y testigo apareado.

3.6. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

El análisis de los datos estadísticos obtenidos en este experimento se realizó con el software estadístico Infostat 2012/E.

Todas las variables obtenidas fueron sometidas a un análisis de la varianza (ANAVA) y una posterior comparación de medias a través de la prueba de Tukey con un Alfa (α) =0,05.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan y discuten separadamente los resultados de control y fitotoxicidad por fecha de evaluación.

4.1. CONTROL DE *A. palmeri*

4.1.1. Fecha 1 - 16 DDMA

En esta evaluación no habiéndose aplicado aún los tratamientos del momento B sólo fueron evaluados 4 estrategias herbicidas tal como figura en el cuadro 3, donde se muestran además los resultados de control expresado como porcentaje.

Cuadro 3. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 16 DDMA.

Tratamiento	16 DDMA
flumioxazin (72g ea/ha)+ 2,4-D colina (912g ea/ha)+ glifosato (960g ea/ha)	84,44[a]
diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	96,67[a]
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	15,42[b]
glifosato (960g ea/ha)	0[c]
% C.V	18,26
p-valor	<0,0001
MDS	15,28

Como puede observarse en el cuadro, se detectó un efecto muy significativo de tratamientos y se observaron marcadas diferencias entre tratamientos.

En esta evaluación se constató que los tratamientos con mejores controles resultan los que presentan mayor residualidad. Del análisis comparativo entre tratamientos surge el aporte principal de flumioxazin en esta residualidad.

El peor tratamiento resultó ser el (glifosato), con un nulo porcentaje de control, lo cual era esperable.

En cuanto a los tratamientos que solo sumaron 2,4-D colina al glifosato el resultado en residualidad fue mínimo, de solo 15,42%. De cualquier manera, es posible relevar algo de actividad residual por efecto del 2,4-D colina afectando en cierta medida los nacimientos de la maleza.

Los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos de: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato y diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, que no se diferenciaron estadísticamente entre sí. El buen comportamiento de estos tratamientos tiene muy probablemente su explicación en la presencia del flumioxazin en la mezcla, corroborando la residualidad de control de este herbicida.

Pese a no detectarse diferencias significativas entre tratamientos con y sin diclosulam más halauxifen (Texaro) parece destacable el control excelente alcanzado cuando al flumioxazin se utilizó además junto a este herbicida. El resultado estaría sugiriendo un efecto de complementación interesante a pesar de que esta maleza es también resistente a los herbicidas inhibidores de la ALS.

Tal como se menciona en materiales y métodos en esta evaluación se registró además el total de emergencias de *A. palmeri* en los distintos tratamientos. En el análisis estadístico de esta información no pudo detectarse efecto de tratamientos aun cuando los promedios muestran importantes diferencias. Muy probablemente el alto coeficiente de variación este explicando este resultado.

Cuadro 4. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 16DDMA

Tratamiento	Fecha 1 (16 DDMA) (pl./m^2)
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	3,6[a]
diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	3[a]
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	11,25[a]
glifosato (960g ea/ha)	27[a]
%CV	146,7
p-Valor	0,0987
MDS	25,57875

De todas formas, puede constatarse, a nivel de los promedios similar tendencia a la discutida cuando se comentaron los controles. Bajos totales de emergencias y muy similares en los tratamientos de: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato y diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, mayores totales en los tratamientos de glifosato y 2,4-D colina y un muy alto número emergencias de *A. palmeri* por metro cuadrado en el caso en que sólo se aplicó glifosato.

La cantidad de emergencias de *A. palmeri* estimadas en 27 plantas por metro cuadrado para el tratamiento con solo glifosato y 12 plantas por metro cuadrado para los tratamientos en que se agrega 2,4-D colina al glifosato se consideran inaceptables a nivel de producción, ya que según Klingman y Oliver, citados por Schonbeck (2014), una planta de *A. palmeri* en 3 metros lineales redujo el rendimiento de un cultivo de soja en 17%, y que una planta de *A.*

palmeri cada 30cm redujo rendimientos en 64%. Por consiguiente, conteos de plantas como en los tratamientos 2,4-D colina + glifosato y solo glifosato, implicarían perdidas aún peores.

4.1.2. Fecha 2 - 27 DDMA

En esta segunda evaluación se corroboran las tendencias observadas en la primera evaluación e inclusive se acentúan las diferencias entre tratamientos.

Cuadro 5. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 27DDMA

Tratamiento	27 DDMA
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	91,11[b]
diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	96,67[a]
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	0[c]
glifosato (960g ea/ha)	0[c]
% C.V	6,3
p-valor	<0,0001
MDS	4,61

En esta instancia pasan a diferenciarse significativamente los tratamientos: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato del tratamiento de diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, destacando el aporte del diclosulam al flumioxazin.

Considerando la resistencia a herbicidas de la familia de los inhibidores de la ALS del *A. palmeri* (Gossett et al., Horak y Peterson, Sprague et al., Vencill et al., Wise et al., Heap, citados por Gaines, 2011), podría concluirse que el resultado del tratamiento es un aporte de diclosulam, debido a que el halauxifen no es residual, aportando cierto control a pesar de que la población es ALS resistente.

De esta evaluación surge además información a la baja residualidad del 2,4-D colina, que a la fecha da resultados idénticos al glifosato.

El conteo de emergencias en esta evaluación a diferencia de lo encontrado en la primera, si se encontraron efecto de tratamiento y diferencias significativas entre tratamientos.

Cuadro 6. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 27DDMA

Tratamiento	Fecha 2 (27 DDMA) (pl./m^2)
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	$2,8^{ab}$
diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	$0,6^{a}$
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	$53,7^{c}$
glifosato (960g ea/ha)	48^{bc}
%CV	82,65
p-Valor	0,0005
MDS	45,65398

En los tratamientos de glifosato + 2,4-D colina y solo glifosato, se contabilizaron iguales y muy elevados totales de emergencias. Se confirma una vez más la baja residualidad del 2,4-D colina.

A diferencia de lo observado en las evaluaciones de control, los tratamientos con flumioxazin sólo y flumioxazin y diclosulam + halauxifen no mostraron diferencias en número de emergencias. Aun cuando se percibe alguna variación siendo que uno de los tratamientos es a y otro ab.

De cualquier forma esta evaluación de emergencias señala una amplia diferencia entre el primer grupo de tratamientos que tiene a flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, y diclosulam + halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, con el segundo grupo que tiene 2,4-D colina + glifosato y solo glifosato.

Lo interesante en esta evaluación, fue confirmar la poca eficacia que tienen herbicidas no residuales en el control de *A. palmeri*, ya que el conteo de emergencias erogó números de pl. /m^2 más altos aún.

4.1.3. Fecha 3 - 35 DDMA y 8 DDMB

En esta instancia el cultivo de soja se encontraba en estadio V2.

Cuadro 7. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 35 DDMA y a 8 DDMB.

Tratamiento	Control (Porcentaje) 35DDMA 8DDMB
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	65b
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	80ab
flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → glufosinato de amonio (600g ea/ha)	95a
diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) →2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	91ab
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	76,67ab
2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → glufosinato de amonio (600g ea/ha)	74,17ab
glifosato (960g ea/ha)	0bc
%CV	15,83
p-valor	<0,0001
MDS	27,8

Los resultados de esta fecha muestran relación estrecha con las segundas aplicaciones realizadas 8 días antes de la evaluación.

De estos tratamientos, se destaca: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, con el que era esperable lograr el mejor resultado debido al modo de acción del glufosinato de amonio, que al ser un desecante actúa más rápido y a los 8 días de aplicado luce más que el 2,4-D que es un sistémico de más lenta acción en planta. Estadísticamente diferente al que no recibió una segunda aplicación tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato.

Sin embargo, los tratamientos: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato →2,4-D colina + glifosato, 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato y 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, aun habiendo recibido una segunda aplicación, no logran diferenciarse del tratamiento con una única aplicación de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato.

El resultado del análisis estadístico llama la atención ya que se esperaban encontrar mayores variaciones, por ejemplo, que el tratamiento con diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato →2,4-D colina + glifosato, fuera diferente significativamente del tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato. Muy probablemente el efecto reciente de la segunda aplicación esté encubriendo diferencias y las mismas puedan ser analizadas en la siguiente evaluación.

Además, se ratificó que 8 días luego de la segunda aplicación (momento B) el tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, en el cual no hubo una segunda aplicación de herbicida, al evaluar el efecto a los 35 días de aplicado se observó una merma en el efecto residual del herbicida, comenzándose a detectar emergencias de la maleza. Corroborando que la técnica de "overlapping" o de solapamiento propuesta por Tuesca et al., citados por Metzler (2015) debería considerarse como una buena estrategia.

Todos los tratamientos que recibieron una segunda aplicación fueron similares, iguales estadísticamente.

En un análisis más minucioso podría decirse que el único que se diferencia del tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato sin solapamiento, es el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, por lo tanto esto estaría indicando que los niveles de control que exige esta maleza solo se lograron en el presente estudio con un herbicida de importante residualidad como el flumioxazin a la siembra seguido de una aplicación de glufosinato de amonio en V2.

Queda claro al comparar los tratamientos de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato y de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, versus el tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, que una segunda aplicación logra un control superior sin importar si el herbicida es glufosinato de amonio o 2,4-D + glifosato.

Al comparar tratamientos sin residuales con tratamientos con residuales: flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, y diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato →2,4-D colina + glifosato, se vio como el porcentaje de control siempre fue mejor al utilizar tratamientos con residuales, tal como se ve a continuación en las imágenes 3 y 4.

Imagen 3. Control con herbicidas residuales (35 DDMA y a 8 DDMB)

Imagen 4. Control sin herbicidas residuales (35 DDMA y a 8 DDMB)

En esta fecha no se realizaron conteos de emergencia tal como se aclara en materiales y métodos.

4.1.4. Fecha 4- 66 DDMA 39 DDMB 21 DDMC

En esta evaluación las plantas de soja habían alcanzado el estadío V7.

Cuadro 8. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 66 DDMA 39DDMB 21DDMC

Tratamiento	Detalle	Fecha 4: 66 DDMA 39DDMB 21DDMC
1	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	63,33b
2	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	85ab
3	flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)→ glufosinato de amonio (600g ea/ha)	96,67a
4	diclosulam (25g ea/ha) y halauxifen (4,76g ea/ha) + flumioxazin (72g ea/ha) + 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	80ab
5	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	61,67b
6	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → glufosinato de amonio (600g ea/ha)	70ab
7	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → glufosinato de amonio (600g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha)	90ab
8	2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → 2,4-D colina (912g ea/ha) + glifosato (960g ea/ha) → glufosinato de amonio (600g ea/ha)	98,33a
9	glifosato (960g ea/ha)	0c
	%CV	15,21
	p-valor	<0,0001
	MDS	31,65273

Los resultados de esta evaluación corroboran el excelente comportamiento del tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato→

glufosinato de amonio. Igualmente, el tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, con una única aplicación continúa siendo el tratamiento de peor comportamiento, aunque en esta fecha el tratamiento con 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato presenta similar resultado (disminuye su control categorizándose como b). La diferencia entre estos dos tratamientos se explica por una peor performance del 2,4-D colina + glifosato vs. glufosinato de amonio, que en este caso fue más activo sobre las plantas que estaban presentes al momento de la aplicación.

Los tratamientos flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato y 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, continúan comportándose como tratamientos intermedios y poco satisfactorios al igual que la evaluación anterior.

El tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, aplicado en el momento A, sin recibir aplicaciones en los momentos B y C, controló un 63,33% de control a los 66 días de aplicado (66 DDMA). Se ve claramente como a los 66 días, la residualidad se fue perdiendo, por lo que el porcentaje de control fue cada vez menor.

Analizando el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, que si recibió una aplicación en el momento B con 2,4-D colina + glifosato y nada en el momento C, se observó un control de 85%, explicado por el aporte de la aplicación de los herbicidas del momento B. Al compararse el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, con el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, es decir, una segunda aplicación con glufosinato de amonio contra una de 2,4-D colina + glifosato, el mejor control es logrado con una segunda aplicación de glufosinato de amonio, logrando un 96,67% (11% más).

Al comparar el tratamiento de diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato con el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, se observó que este último tuvo un 5% más de control en esta cuarta evaluación.

En la fecha 4 (66 DDMA 39DDMB 21DDMC), el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, repasado con glufosinato de amonio en el momento B, resultó en un mejor control frente al tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato), el cual fue repasado con 2,4-D colina + glifosato.

Comparando los tratamientos que sí recibieron aplicaciones de herbicida en el momento C, se observó que para esta evaluación, el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, con un 98,33% de control fue mejor que el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato, el cual generó 90% de control, explicado probablemente por el modo de acción del glufosinato de amonio el cual tiene escasa sistemia, por lo que plantas desarrolladas pudieron haber rebrotado. En el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, la última aplicación de glufosinato de amonio puede considerarse como un "segundo golpe", ya que anteriormente se había aplicado 2,4-D colina + glifosato, logrando un mejor control final.

Más aún, al compararse el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato y el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato →glufosinato de amonio, contra el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato y el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, se observó que el mejor porcentaje de control se obtuvo con una tercera aplicación. Concluyendo que cuando no se utilizan herbicidas residuales, se necesitó de una 3er aplicación para lograr controles aceptables.

4.1.5. Fecha 5 - 93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC

En esta quinta evaluación las tendencias no coinciden con las observadas en la evaluación anterior.

Cuadro 9. Control (porcentaje) de *A. palmeri* a 93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC.

Tratamiento	Detalle	Fecha 5: 93 DDMA 66 DDMB 48DDMC
1	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato	56,67b
2	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	92,67a
3	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato→ glufosinato de amonio	99a
4	diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	97,67a
5	2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	88,33a
6	2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio	70b
7	2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato	98,67a
8	2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio	98,67a
9	glifosato	0c
	%CV	6,52
	p-valor	<0,0001
	MDS	14,76201

La evaluación de control en la última fecha mostró resultados llamativos. Si bien y como esperable el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D

colina + glifosato permanece mostrando los más bajos niveles de control, ahora se le asemeja el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio. También para este tratamiento puede ser considerado como esperable su control, ya que se trata de una primera aplicación de un herbicida con baja residualidad, complementado con un desecante. Sin embargo, el resultado para todos los restantes tratamientos es muy bueno y resultan todos estadísticamente similares.

Interesa comentar que en el caso de esta evaluación el análisis estadístico termine indicando como similares a tratamientos tan buenos como el tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato→ glufosinato de amonio (99%) y no tan buenos como el tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato (solamente 88,3%).

En esta evaluación se corrobora lo observado en la evaluación anterior en donde una única aplicación de herbicida en el momento A, tal como es el caso del tratamiento de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, no es suficiente para controlar tan exigente maleza. A los 93 DDMA el porcentaje de control de dicho tratamiento disminuyó a 56,67%, sugiriendo claramente que la residualidad del flumioxazin ya había sido vencida, considerando este porcentaje de control como no aceptable a nivel de producción.

En esta evaluación se revierte lo observado al comparar los tratamientos de diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato y flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato. En esta instancia la superioridad la tiene el tratamiento, cuya única diferencia es la presencia de los herbicidas diclosulam y halauxifen. Sin embargo, no es posible determinar que existe un aporte de estos herbicidas ya que no presentan diferencias significativas.

En la evaluación anterior se observó que el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, repasado con glufosinato de amonio en el momento B, resultó en un mejor control frente al tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, el cual fue repasado con 2,4-D colina + glifosato. Sin embargo, en esta evaluación, esto se invierte, resultando en un mejor porcentaje de control por parte del tratamiento de 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, explicado probablemente por la leve residualidad del 2,4-D colina, que pudo ocasionalmente controlar alguna emergencia posterior.

Al comparar el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio con el tratamiento 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato, se observó, a diferencia de la evaluación anterior, que no existen diferencias significativas. Esto es

interesante ya que sugiere que el orden en que son aplicados los herbicidas 2,4-D colina + glifosato y glufosinato de amonio no es de gran importancia.

Es importante mencionar que a pesar de que con estas 3 aplicaciones se obtiene un buen porcentaje de control, no es sostenible en el tiempo. La presión de selección sería tan alta que en muy corto plazo aparecerían biotipos resistentes. Además, esta secuencia de aplicaciones es altamente dependiente del efecto año (verano lluvioso vs. seco).

En esta instancia a pesar que el cultivo de soja se encontraba en estado reproductivo los conteos de emergencia fueron realizados con el cuadro al igual que en las evaluaciones anteriores. Los resultados son presentados en el cuadro 10.

Cuadro 10. Conteos de emergencias de *A. palmeri* a 93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC

Tratamiento	Detalle	93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC (pl./m^2)
1	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato	0,6^{a}
2	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	0^{a}
3	flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato→ glufosinato de amonio	0^{a}
4	diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	0,6^{a}
5	2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato	3^{a}
6	2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio	9,6^{ab}
7	2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato	0,6^{a}
8	2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio	1,2^{a}
9	glifosato	23,4^{b}
	%CV	156,63
	p-Valor	0,0096
	MDS	19,71423

El conteo de emergencias realizado a más de 3 meses de la siembra confirma como lo establece la bibliografía la continuidad de flujos de esta maleza a lo largo de la estación de crecimiento (verano). Ya que se dieron

lluvias luego de un periodo largo de déficit hídrico que permitieron nuevas emergencias y se observaron diferencias visuales entre los tratamientos. Por lo tanto, se procedió a contar nacimientos.

El tratamiento que constaba de una única aplicación en el momento A de flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, resultó en un número de emergencias de *A. palmeri* muy bajo (0,6 pl./m^2), sin diferencias significativas con aquellos tratamientos que sí recibieron una segunda aplicación en el momento B. Explicado simplemente porque los herbicidas utilizados en el momento A son los que determinan el resultado. Esto es llamativo, que exista algo de control residual del flumioxazin a los 93DDA, es lo que se observó en los tratamientos del 1 al 4 y seguramente este explicado por el déficit hídrico.

El tratamiento con 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato logró un control que resultó en un conteo de 3 pl. /m^2. De todas formas, no presenta diferencias significativas con los tratamientos mencionados los cuales presentaron un excelente desempeño. Igualmente, no se cree que 3 pl. /m^2 de *A. palmeri* sea aceptable a nivel comercial, ya que, a pesar de no tener un impacto importante en el rendimiento del cultivo de soja, si debería considerarse un problema desde el punto de vista del reabastecimiento del banco de semillas del suelo, ya que se está hablando de 30mil pl./ha de *A. palmeri.* Si cada planta de *A. palmeri* puede llegar a producir 100mil semillas en condiciones de competencia con cultivo (Legleiter y Johnson, 2013), entonces 3 pl. /m^2, equivaldría a una producción de 300mil semillas/m^2 en toda la chacra, algo totalmente inaceptable, si se pretende controlar ésta maleza.

Algo peor ocurre con el tratamiento con 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, ya que la aplicación de glufosinato de amonio en el momento B, no ofrece residualidad alguna, por lo que las emergencias posteriores son el resultado de lo aplicado en el momento A, registrándose 9,6 pl. /m^2 de *A. palmeri*, resultando en un escenario peor al anterior descripto. Se podría presumir que el tratamiento con 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio, arrojó peor control ya que venía arrastrando controles más bajos en evaluaciones anteriores, por lo que la soja estaba menos desarrollada permitiendo mayor ingreso de luz, favoreciendo nacimientos de *A. palmeri*. Lo observado coincide con lo discutido en las determinaciones de control (porcentaje) en la misma fecha de evaluación. Este tratamiento no logró diferenciarse significativamente del tratamiento que sólo recibió aplicación de herbicida en el momento A, siendo el tratamiento con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato.

Por último, coincidiendo con lo observado en todas las evaluaciones realizadas, se vuelve a reafirmar que el glifosato por sí solo no ofrece ningún tipo de control residual (23,4 pl. /m^2).

Se podría decir que los tratamientos que recibieron herbicidas residuales pre siembra, siendo los tratamientos con flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato, flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato→ glufosinato de amonio, y diclosulam y halauxifen + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, siguen teniendo cierta actividad frente al testigo incluso 93 días después.

Es destacable, la residualidad increíble que tuvo el flumioxazin. El porcentaje de control podría indicar que hay un efecto herbicida, pero en realidad por los días que habían transcurrido no se podría decir. Pasaron 93 días desde la aplicación, y la residualidad no se comporta siempre así, fue un efecto año, ya que como se venía dando el clima, sin lluvias, las moléculas del herbicida pudieron quedar inactivas, y se podrían haber reactivado con una lluvia posterior en enero.

4.2. SELECTIVIDAD

Los resultados de fitotoxicidad serán presentados separados por fecha, de igual manera que se presentaron los resultados de control de *A. palmeri.*

Las evaluaciones de selectividad mostraron alta tolerancia de la soja a los tratamientos ensayados. Como puede observarse en el cuadro 11, sólo en la fecha 3 y 4 fue posible observar algún efecto.

Cuadro 11. Selectividad por tratamiento para las 5 fechas de evaluación

Tratamiento	16 DDMA (Media Fitotoxicidad)	27 DDMA (Media Fitotoxicidad)	35 DDMA 8 DDMB (Media Fitotoxicidad)	66 DDMA 39 DDMB 21 DDMC (Media Fitotoxicidad)	93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC (Media Fitotoxicidad)
1	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]
2	0[a]	0[a]	0[a]	1[a]	0[a]
3	0[a]	0[a]	0[a]	3,33[a]	0[a]
4	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]
5	0[a]	0[a]	4[a]	0[a]	0[a]
6	0[a]	0[a]	2,5[a]	0[a]	0[a]
7	0[a]	0[a]	2,5[a]	7[b]	0[a]
8	0[a]	0[a]	4[a]	3,67[ab]	0[a]
9	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]	0[a]
%CV	Sd	Sd	188,54	77,46	519,62
p-Valor	Sd	Sd	0,1703	<0,0001	0,4726
MDS	Sd	Sd	6,80265	3,74989	1,677

En los tratamientos 5, 6, 7 y 8 fueron observados algunas sintomatologías de fitotoxicidad (daño) y así resultaron con las anotaciones que figuran en el cuadro. Cabe aclarar que el análisis estadístico no logró detectar diferencias significativas y por lo tanto tampoco puede afirmarse que hayan existido efectos fitotóxicos. Sólo en la fecha 4 aparecen diferencias significativas para esta variable encontrándose sintomatologías de daño en el tratamiento 7 y algún efecto en los tratamientos 8 y 3. Los síntomas de fitotoxicidad evidenciados fueron exclusivamente de contacto y no sistémicos, por lo que, los daños se limitaron a las hojas expuestas a la aplicación, observándose una recuperación total en evaluaciones posteriores.

Los herbicidas utilizados demostraron ser muy seguros. Es importante destacar lo seguro que fue el 2,4-D colina + glifosato aplicado solamente 2 días antes de la siembra, ya que, si se tratara de una soja NO Enlist, debería tener un tiempo de espera mucho mayor para que no aparezcan síntomas de fitotoxicidad,

A continuación, se presentan imágenes representando los síntomas de fitotoxicidad registrados en la fecha 3 (imágenes 5 y 6).

Imagen 5. Fitotoxicidad por 2,4-D colina + glifosato (8 DDMB)

Imagen 6. Fitotoxicidad por glufosinato de amonio (8 DDMB)

En la evaluación de la fecha 3 (8DDMB) se aprecian síntomas bien diferentes, la aplicación de 2,4-D colina + glifosato genera un manchado necrótico en las zonas de las hojas que recibieron fumigación, esto se debe a que la enzima que destoxifica la molécula de 2,4-D, se satura en esos sectores del tejido foliar, provocando la necrosis (resistencia metabólica).

Por otro lado, el síntoma de la fitotoxicidad provocado por glufosinato de amonio se evidencia por aparecer zonas cloróticas en las hojas que reciben la pulverización.

5. CONCLUSIONES

Los tratamientos no incluyendo herbicidas residuales, aun controlando las plantas de *A. palmeri* presentes al momento de la aplicación resultaron deficientes en el control de las emergencias posteriores de la maleza.

A los 41 días después de la siembra (estadio V6-7) el tratamiento 1 que incluía un residual en la pre emergencia, mostró un control de 65 por ciento, mientras que los tratamientos que además de lo incluido en el T1 en la pre emergencia se le incluyera otra aplicación de 2,4-D colina + glifosato o glufosinato de amonio en la post emergencia, obtuvieron controles que variaron del 74 a 95 por ciento.

Los tratamientos 1 con pre emergente residual como flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato y el 6 con 2,4-D colina + glifosato con herbicida de escasa residualidad a la siembra y solo un desecante (glufosinato de amonio) en post emergencia resultaron los tratamientos de peor comportamiento con sólo 57 y 60 por ciento de control. Los restantes tratamientos con dos y tres aplicaciones resultaron similares.

Cuando se utilizaron residuales a la siembra, complementados con una única aplicación de glufosinato de amonio o 2,4-D colina + glifosato en la post emergencia se alcanzaron resultados de 99 y 92,67 por ciento respectivamente. Similares a aquellos obtenidos cuando no se utilizaron residuales a la siembra (sólo 2,4-D colina + glifosato) sin embargo en éstos fue necesario 2 aplicaciones más.

No se detectaron diferencias en el control de *A. palmeri* variando la secuencia de los herbicidas 2,4-D + glifosato y el herbicida glufosinato de amonio.

En cuanto a la selectividad se puede afirmar que los herbicidas utilizados fueron todos muy seguros. Además, en aquellos tratamientos que se evidenció fitotoxicidad, nunca fue sistémica, sino de contacto, por lo que la recuperación fue muy rápida, no encontrando síntomas de daño en evaluaciones posteriores.

6. RESUMEN

Debido al incremento en el área sembrada con cultivos transgénicos resistentes al glifosato, se ha generado a nivel mundial una presión de selección tal que ha promovido varias malezas resistentes a herbicidas ocasionando problemas catastróficos a nivel global. En Uruguay el escenario no es diferente. Hoy se encuentran como malezas problemáticas a especies del género *Conyza, Lolium, Equinochloa y Amaranthus.* El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar distintas estrategias para el control de *Amaranthus palmeri* en soja Enlist. A tales efectos se instaló un ensayo en el departamento de Paysandú, a 3.5 kilómetros del pueblo Porvenir (32°23´42.30¨ S - 57°56´26.20¨ O) totalizando 9 tratamientos que fueron dispuestos a campo con un diseño experimental de bloques completos al azar y 3 repeticiones. Los tratamientos ensayados fueron aplicados en tres momentos, momento A (24/11/15), momento B (21/12/15) y momento C (08/01/16). Los 9 tratamientos son los siguientes (cada momento está separado por una flecha): T1 (flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato), T2 (flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato), T3 (flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio), T4 (texaro + flumioxazin + 2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato), T5 (2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato, T6: 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio), T7 (2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio → 2,4-D colina + glifosato), T8 (2,4-D colina + glifosato → 2,4-D colina + glifosato → glufosinato de amonio), T9 (glifosato). El resultado de cada tratamiento se evaluó mediante apreciación visual para determinar porcentaje de control y mediante conteo de emergencias, arrojando 5 cuadros al azar dentro de cada parcela de 6x3 metros (18m^2). En la evaluación realizada a los 16 DDMA se constató que los tratamientos con mejores controles resultaron los que presentaron mayor residualidad. Del análisis comparativo entre tratamientos surge el aporte principal de flumioxazin en esta residualidad. En la siguiente evaluación (27 DDMA) se corroboran las tendencias observadas en la primera evaluación e inclusive se acentúan las diferencias entre tratamientos. Además, lo interesante en esta evaluación, fue confirmar la poca eficacia que tienen herbicidas no residuales en el control de *A. palmeri*, ya que el conteo de emergencias erogó números de pl./m^2 más altos aún. En la tercera evaluación (35 DDMA y a 8 DDMB) al comparar tratamientos sin residuales con tratamientos con residuales (1,2,3 y 4) se observó como el porcentaje de control siempre fue mejor al utilizar tratamientos con residuales. En la cuarta fecha (66 DDMA 39DDMB 21DDMC) se confirma que para tratamientos que sólo recibieron 2,4-D colina y glifosato a la siembra (como el tratamiento 5 y 6), sí se justifica una tercera aplicación. En la quinta y última evaluación (93 DDMA 66 DDMB 48 DDMC) el tratamiento 1, el cual recibió una única aplicación sigue mostrando los peores controles (dejando de lado el tratamiento 9 que sólo recibió glifosato), lo cual confirma la necesidad de utilizar la técnica de

solapamiento en el control de *A. palmeri*. El conteo de emergencias de la quinta evaluación realizado a más de 3 meses de la siembra confirma como lo establece la bibliografía la continuidad de flujos de esta maleza a lo largo de la estación de crecimiento (verano). Además, coincidiendo con lo observado en todas las evaluaciones realizadas, se vuelve a reafirmar que el glifosato por sí solo no ofrece ningún tipo de control (23,4 pl./m^2).

Palabras clave: Control; *Amaranthus palmeri;* Herbicidas; Resistencia.

7. SUMMARY

Due to a global increase in the area planted with genetically modified crops resistant to glyphosate, selection pressure has been generated promoting several resistant weeds, causing catastrophic problems worldwide. In Uruguay the scenario is no different. Today we can find as one of the worst problematic weeds, species of the genera, *Lolium, Conyza, Echinochloa* and *Amaranthus*. This study aims its objective to the control of *Amaranthus palmeri* (Palmer Amaranth) in Enlist Soybeans (resistant to glyphosate, glufosinate and 2,4-D). The experiment was installed in Paysandú (Uruguay) 3.5 kilometers away from a village called Porvenir (32°23´42.30¨ S - 57°56´26.20¨ O). The experimental design consisted of a randomized complete block design, with 9 treatments and 3 replications. The treatments where rehearced in three moments, moment A (24/11/15), moment B (21/12/15), moment C (08/01/16). The treatments were the following: (each moment is separated by an arrow): T1 (flumioxazin + 2,4-D coline + glyphosate), T2 (flumioxazin + 2,4-D coline + glyphosate → 2,4-D coline + glyphosate), T3 (flumioxazin + 2,4-D coline + glyphosate → glufosinate ammonium), T4 (texaro + flumioxazin + 2,4-D coline + glyphosate → 2,4-D coline + glyphosate), T5 (2,4-D coline + glyphosate → 2,4-D coline + glyphosate), T6 (2,4-D coline + glyphosate → glufosinate ammonium), T7 (2,4-D coline + glyphosate → glufosinate ammonium → 2,4-D coline + glyphosate), T8 (2,4-D coline + glyphosate → 2,4-D coline + glyphosate → glufosinate ammonium), T9 (glyphosate). The result of each treatment was evaluated by visual assessment in order to determine percentage control, and by counting *A. palmeri* emergences by randomly throwing a square frame within each parcel of 6 by 3 meters (18m2) 5 times. In the evaluation carried out 16 DFMA (Days from moment A) treatments with residual herbicides obtained the highest percentage controls. The main contribution of this feature is due to the use of flumioxazin. In the next evaluation (27 DFMA) trends observed in the previous evaluation are corroborated, and the differences between treatments are accentuated. Moreover, this evaluation confirmed the limited effectiveness of non residual herbicides controlling *Palmer Amaranth*. In the third evaluation (35 DFMA and 8 DFMB) when non residual treatments (1,2,3 and 4) are compared to residual ones, we see that the percentage of control is always better in those treatments including residual herbicides. In the fourth appraisal (66 DFMA 39 DFMB 21 DFMC) it is possible to confirm that treatments which received 2,4-D coline and glyphosate at seeding time only (such as treatment 5 and 6), a third application is necessary, and justified. In the fifth and final evaluation (93 DFMA 66 DFMB 48 DFMC) treatment 1, which received a single application continues to show the worst controls (leaving aside treatment 9 which received only glyphosate), which confirms the necessity to use the overlapping technique in order to control *A. Palmeri*. Emergency counting in the fifth appraisal carried out more than 3 months after planting, confirmed as established in the literature continuity of this

weed emergence flows throughout the growing season (summer). In addition, coinciding with what was observed in all evaluations, we again reaffirm that glyphosate itself does not offer any control at all (23.4 pl./m2).

Key words: Control; Amaranthus palmeri; Herbicides; Resistance.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. CORTEVA agriscience. 2019. Enlist. (en línea). Buenos Aires, Argentina. s.p. Consultado jul. 2019. Disponible en https://www.corteva.com.ar/productos-y-soluciones/tecnologias.html

2. Culpepper, S. 2006. Glyphosate - resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. Weed Science. 54: 620 - 626.

3. Dekker, J.; Duke, S. 1995. Herbicide - resistant field crops. (en línea). Advances in Agronomy. 54: 69-116. Consultado mar. 2016. Disponible en http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1013&context=agron_pubs

4. Duke, S.; Christy, A.; Hess, F.; Holt, Z. 1991. Herbicide-resistant crops. Ames, Iowa, Council of Agricultural Science and Technology. s.p.

5. Flessner, M.; Hagood, S.; Holshouser, D. 2015. Prevention and control of Palmer Amaranth in soybean. (en línea). Petersburg, Virginia State University. Virginia Cooperative Extension s.p. Consultado mar. 2016. Disponible en https://pubs.ext.vt.edu/2808/2808-1006/2808-1006_pdf.pdf

6. Gaines, T.; Ward, S.; Bukun, B.; Preston, C.; Leach, J.; Westra, P. 2011. Interespecific hybridization transfers a previously unknown glyphosate resistance mechanism in *Amaranthus* species. (en línea). Evolutionary Application. 5: 29-38. Consultado mar. 2016. Disponible en http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1752-4571.2011.00204.x/abstract;jsessionid=D47DDCF5707387807903A4DD35E95C0A.f03t01

7. Heap, I. 2014. Global perspective of herbicide - resistant weeds. Pest Management Science. 70: 1306 - 1315.

8. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, AR). 2015. *Amaranthus palmeri* S. Watson; biología y manejo. Paraná. 13 p.

9. Jha, P. 2008. Biology and ecology of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). (en línea). Clemson, Clemson University. Tiger prints. s.p. Consultado mar. 2016. Disponible en http://tigerprints.clemson.edu/all_dissertations/296/

10. Legleiter, T.; Johnson, B. 2013. Palmer Amaranth biology, identification and management. (en línea). West Lafayette, Purdue University. Purdue Extension. 13 p. Consultado mar. 2016. Disponible en https://www.extension.purdue.edu/extmedia/WS/WS-51-W.pdf

11. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2015. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo. 215 p.

12. Mohseni - Moghadam, M.; Kent, C.; Ashigh, J. 2013. Palmer Amaranth biology and management. (en línea). Las Cruces, New Mexico State University. Cooperative Extension Service. s.p. Consultado mar. 2016. Disponible en http://aces.nmsu.edu/pubs/_a/A617/welcome.html

13. Neve, P.; Norsworthy, J.; Smith, K.; Zelaya, I. 2011. Modelling evolution and management of glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. Weed Research. 51: 99 - 112.

14. Papa, J. C.; Tuesca, D. 2016. Manejo de *Amaranthus palmeri* S. Watson con herbicidas residuales selectivos para el cultivo de soja. (en línea). INTA. Para Mejorar la Producción. no. 54: s.p. Consultado mar. 2017. Disponible en https://www.aapresid.org.ar/rem/wp-content/uploads/sites/3/2016/09/Papa-y-Tuesca-manejo-de-amarantus-*palmeri*-con-herbicidas-residuales-soja.pdf

15. Powles, S.; Preston, C. 2006. Evolved glyphosate resistance in plants; biochemical and genetic basis of resistance. Weed Technology. 20: 282 - 289.

16. Pratt, D.; Owen, M.; Clark, L.; Gardner, A. 1999. Identification of the weedy pigweeds and waterhamps of Iowa. (en línea). Ames, Iowa State University Extension. s.p. Consultado mar. 2016. Disponible en https://store.extension.iastate.edu/Product/Identification-of-the-Weedy-Pigweeds-and-Waterhemps-of-Iowa

17. Schonbeck, M. 2014. Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). (en línea). s.l., Extension.org. s.p. Consultado mar. 2016. Disponible

en http://articles.extension.org/pages/65209/palmer-amaranth-amaranthus-palmer

18. Teaster, N.; Hoagland, R. 2014. Characterization of glyphosate resistance in cloned *Amaranthus palmeri* plants. Weed Biology and Management. 14: 1 - 10.

19. Tharayil - Santhakumar, N. 2010. Mechanism of herbicide resistance in weeds. (en línea). Amherst, MA, University of Massachusetts. 38 p. Consultado mar. 2016. Disponible en http://goob.free.fr/iup/Biologie_Moleculaire/Mechanism%20of%20Herbicide%20resistance.pdf

20. Vila - Aiub, M.; Goh, S.; Gaines, T.; Han, H.; Busi, R.; Yu, Q.; Powles, S. 2014. No fitness cost of glyphosate resistance endowed by massive EPSPS gene amplification in *Amaranthus palmeri*. Planta. 239: 793 - 80.

21. WSSA (Weed Science Society of America, US). 2012. Summary of herbicide mechanism of action according to the Weed Science Society of America. (en línea). Lawrence, KS. 6 p. Consultado mar. 2016. Disponible en http://wssa.net/wp-content/uploads/WSSA-Mechanism-of-Action.pdf