

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

EFFECTO DE DISTINTOS TRATAMIENTOS DE APLICACIÓN DE GLIFOSATO
EN CULTIVARES DE SOJA RR

por

Mauricio García Rodríguez

José Carlos Hémala Sastre

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

MONTEVIDEO

URUGUAY

2014

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. Grisel Fernández

Ing. Agr. Juana Villalba

Ing. Agr. Daniel Torres

Fecha: 30 de mayo de 2014

Autor: -----

Mauricio García Rodríguez

José Carlos Hémala Sastre

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias que siempre apoyaron de forma incondicional. A nuestros amigos que participaron directamente en el trabajo de campo y a aquellos que de una u otra forma hicieron que la carrera haya sido tan disfrutable. Y por último, pero menos importante, a nuestra tutora Ing. Agr. Grisel Fernández, quien siempre presente cada vez que la necesitamos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	vi
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1 SOJA RESISTENTE AL GLIFOSATO (SOJA RR).....	2
2.2 GLIFOSATO	2
2.2.1 <u>Generalidades</u>	3
2.2.2 <u>Sitio y modo de acción</u>	3
2.3 EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO EN CULTIVOS DE SOJA RR.....	6
2.4 DAÑOS ASOCIADOS CON APLICACIONES DE GLIFOSATO EN SOJA RR.....	7
2.5 POSIBLES EXPLICACIONES DE LOS EFECTOS OBSERVADOS CON LAS APLICACIONES DE GLIFOSATO A SOJAS RR.....	9
2.6 ALTERNATIVAS PARA DISMINUIR EL EFECTO DEL GLIFOSATO	13
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	14
3.1 TRATAMIENTOS.....	15
3.2 DESCRIPCIÓN Y METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN	16
3.3 DETERMINACIONES	17
3.3.1 <u>Experimento 1</u>	17
3.3.2 <u>Experimento 2</u>	18

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	19
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.....	19
3.6 MODELO ESTADÍSTICO (DBCA) CON ARREGLO FACTORIAL.....	20
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	21
4.1 EXPERIMENTO 1.....	21
4.1.1 <u>Altura de plantas</u>	21
4.1.2 <u>Peso fresco de plantas</u>	23
4.1.3 <u>Peso seco de plantas</u>	24
4.1.4 <u>Efecto de la aplicación de glifosato sobre la clorofila</u>	27
4.1.4.1 Clorofila total.....	27
4.1.4.2 Relación clorofila a: clorofila b	29
4.1.5 <u>Efecto de la aplicación de glifosato en la sintomatología visual de</u> <u>daño</u>	29
4.2 EXPERIMENTO 2: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO EN LAS VARIABLES REPRODUCTIVAS.....	31
5. <u>CONCLUSIONES</u>	35
6. <u>RESUMEN</u>	36
7. <u>SUMMARY</u>	37
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	38

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Características de las variedades en estudio.....	14
2. Clasificación de los tratamientos para el experimento 1.....	15
3. Escala según el grado de daño visible.....	17
4. Relación entre la clorofila total con aplicación y sin aplicación, y la disminución de la clorofila por la aplicación de glifosato.....	29
5. Escala sintomatológica para ambos momentos.....	31
6. Número de chauchas, granos por planta y peso de 100 en cada uno de los momentos de aplicación.....	33
Figura No.	
1. Altura de planta de soja en V4-V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	22
2. Altura de planta de soja en R1R2con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.	22
3. Peso fresco de planta de soja en V4V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	24
4. Peso fresco de planta de soja en R1-R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	24
5. Peso seco de planta de soja en V4-V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	26

6. Peso seco de planta de soja en R1-R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	27
7. Clorofila total de plantas de soja RR con y sin aplicación de glifosato para cada variedad en ambos momentos V4-V5 y R1-R2.....	28
8. Relación clorofila a: clorofila b en planta de soja en V4V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.....	30
9. Rendimiento por planta según momento de aplicación.....	33

Foto No.

1, 2, 3, 4. Visualización de daño por glifosato.	32
---	----

1. INTRODUCCIÓN

El uso de glifosato en cultivares genéticamente modificados permite una simplificación e inclusive, una mejora en el manejo de malezas en el cultivo de soja sin perjudicar los rendimientos obtenidos.

Sin embargo con el aumento de la comercialización de estos cultivares y del uso de este herbicida, surge, en la actualidad la necesidad de conocer la relación entre el uso del herbicida y su efecto en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivares de soja RR.

A pesar de su baja toxicidad y de poseer características ambientales favorables, diversos trabajos han reportado efectos negativos derivados del uso del glifosato sobre organismos no blanco en diferentes agroecosistemas (Neumann et al., 2006).

Así mismo el aumento del área cultivada de soja resistente al glifosato, es resultado del beneficio de esa tecnología en el manejo de malezas. Sin embargo en algunos casos han sido observados síntomas visuales de daño luego de la aplicación del herbicida en post-emergencia pese a la resistencia. En la bibliografía se sostiene además que los daños son variables dependiendo del cultivar, de la dosis de glifosato y de los momentos de aplicación. No obstante hasta la actualidad no existen investigaciones consistentes acerca de la posibilidad de daño en soja RR por efecto de su aplicación.

Partiendo de esta problemática y de la importancia del cultivo de soja a nivel nacional, donde se cree que la totalidad del área de soja cultivada en el país son cultivares RR y además que en el 100% de área se realiza al menos un aplicación de glifosato sobre el cultivo, resulta de sumo interés el estudio del comportamiento de los cultivares de soja RR frente a la aplicación de este herbicida.

Por las razones expuestas el presente trabajo tuvo por objetivo estudiar la tolerancia de 4 cultivares de soja RR sembrados en el país frente al glifosato en 2 estados de desarrollo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 SOJA RESISTENTE AL GLIFOSATO (SOJA RR)

Los cultivares de soja transgénica RR (Roundup Ready) son variedades de soja modificadas mediante técnicas de ingeniería genética.

La soja RR es una variedad resistente al herbicida glifosato. La primer generación de este evento fue introducido en 1996 en Estados Unidos (Duke, 2005) y fue desarrollada transgénicamente a partir de la inserción al genoma de la secuencia codificante cp4 EPSPs, proveniente de una bacteria del suelo del genero *Agrobacterium* sp. (Franz et al., 1997).

El gen cp4 EPSPs dirige la producción de la enzima 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPs) capaz de metabolizar el glifosato, tornándose la planta inmune a los efectos tóxicos del herbicida (Padgett et al., 1996). Con esta modificación la planta de soja es menos sensible a la inhibición por glifosato comparativamente con plantas que posean la EPSPs endógena presente en la soja no transgénica (Zobiole et al., 2010a).

2.2 GLIFOSATO

El glifosato (N-fosfometil glicina) es un herbicida clasificado como no selectivo y de acción sistémica, utilizado en post-emergencia. Presenta amplio espectro de acción, lo que posibilita el control de malezas anuales y perennes, tanto de hoja ancha como de gramíneas.

Debido a su capacidad de translocarse en el floema es particularmente útil para matar órganos subterráneos de plantas perennes que tienden a prosperar en pasturas y sistemas agrícolas conservacionistas (Martino, 1995).

Debido a la alta eficiencia de control y a que es rápidamente metabolizado en el suelo por los microorganismos y fuertemente adsorbido, el

glifosato no presenta residualidad y por lo tanto no presenta actividad pre-emergente (Sprankle et al., 1975).

2.2.1 Generalidades

Es del grupo químico de las glicinas, con ácido fosfórico unido al radical amino. Generalmente es formulado como sal isopropilamónica de glifosato aunque también existen otras formas tales como sales potásicas, las sales amoníacas y diamoníacas de glifosato.

Química y físicamente, el glifosato se asemeja mucho a sustancias que se encuentran en la naturaleza y no es especialmente reactivo. Se ha afirmado que es poco móvil en los suelos, no tiene persistencia biológica y tampoco es bioacumulable ni se biomagnifica a lo largo de la cadena alimenticia (Giesy et al. 2000, Williams et al. 2000). El glifosato es muy poco soluble en solventes orgánicos comunes según Schuette (1998), y altamente soluble en agua ya que posee un reducido tamaño y es de naturaleza polar, lo que hace que no pueda atravesar por si mismo las cutículas foliares y membranas hidrofóbicas de las malezas por lo cual, es formulado como sal (Ashfield, 2006).

Las hojas y partes fotosintéticamente activas constituyen los principales órganos de intercepción y absorción. Además de la especie, su estado fenológico, existen otros factores que hacen modificar la absorción, factores inherentes a la planta y factores inherentes al herbicida o bien su interacción tal como el comportamiento de las gotas del caldo herbicida sobre la superficie vegetal, lo que puede variar según la naturaleza y composición de la cutícula y las ceras epiculares asociadas (Wyrill y Burnside, 1976). Los factores ambientales también intervienen en la eficiencia del glifosato, tales como las precipitaciones, la humedad relativa y temperatura ambiental, la intensidad lumínica y el viento según Caseley y Coupland (1994).

2.2.2 Sitio y modo de acción

Es común que los términos modo y sitio de acción de los herbicidas sean usados como sinónimos pero existen claras diferencias entre éstos. El modo de acción se refiere a los eventos a partir de los cuales se desencadena la acción

de los herbicidas; el sitio de acción se refiere al mecanismo o proceso bioquímico específico que es afectado (Gunsolus y Curran, 1996).

Desde las primeras investigaciones al respecto se afirma que el glifosato inhibe la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. Jaworski, citado por Zobiolo et al. (2011), comprobó que el agregado de una mezcla de fenilalanina, tirosina y triptófano contrarresta la inhibición del crecimiento causada por el glifosato, en experimentos realizados en *Lemna gibba* y en la bacteria *Rhizobium japonicum*.

Paralelamente, los mismos resultados fueron obtenidos por Santos (2004) en experimentos en los que la adición de dichos aminoácidos aromáticos previno la inhibición del crecimiento de *B. japonicum*, una vez que se le incluyó al microorganismo la enzima sensible al glifosato (Moorman et al., 1992). Otros autores relatan los mismos resultados cuando se previno parcialmente la inhibición del crecimiento de raíces de pepino (*Cucumis sativus* cv. Wisconsin) causada por el glifosato y por el ácido N-pirimidilaminometileno bifosfónico (Forlani et al., 1997).

Actualmente se afirma que el glifosato inhibe la enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPs), la cual es responsable de la reacción de conversión de shiquimato-3-fosfato y fosfoenolpiruvato en EPSP y fosfato inorgánico en la vía del ácido shiquímico (Geiger y Fuchs, 2002). Por lo tanto, este herbicida afecta una de las vías más importantes en las plantas, ya que, según Shaner (2006), más del 30% del carbono fijado por las plantas pasa a través de esta ruta metabólica.

Diversos autores reportan lo mismo. El glifosato es un poderoso inhibidor de la EPSPs (Steinrücken y Amrhein, 1980), ya que es análogo del PEP (fosfoenolpiruvato). Cuando es tomado el glifosato por la enzima EPSPs en lugar del PEP causa la inhibición de la biosíntesis de 3 aminoácidos aromáticos esenciales, triptófano, tirosina y fenilalanina, los cuales son precursores de otros productos, como lignina, alcaloides, flavenoides y ácidos benzoicos (Amarante y Santos, 2002), y el resultado inmediato es una acumulación de shiquimato-3-P que es convertido rápidamente a ácido shiquímico (Devine et al., 1993).

La acumulación de ácido shiquímico ocurre porque la inhibición de EPSPs causa una disminución en los niveles de arogenato, precursor de la fenilalanina y de la tirosina en esta ruta metabólica. En condiciones normales, el arogenato se acumula y ejerce inhibición alostérica sobre la enzima dihidroxiacetona-fosfato sintasa (DHAP) la cual es clave en el suministro de shiquimato-3-P para este proceso. Cuando se inhibe la EPSP con glifosato, los niveles de arogenato bajan, se libera la represión alostérica sobre la DHAP y se desregula toda esta vía, consecuentemente se producen cantidades incontroladas de shiquimato-3-fosfato y así ocurre la mencionada acumulación de shiquimato (Siehl, 1997).

Esta síntesis desordenada de ácido shiquímico implica una desviación de carbono y una escasez del mismo para formar compuestos intermediarios en otras rutas metabólicas esenciales. De esta forma resulta en una deficiencia de intermediarios para el ciclo de Calvin (ciclo C3), vía que permite la fijación de CO₂ de la atmósfera para formar carbohidratos. Para Duke y Powels (2008), esta podría ser una de las principales causas de la muerte de plantas tratadas con glifosato. Según Fischer (2008), deficiencias de aminoácidos aromáticos también pueden afectar la síntesis de proteínas y ser así una causa más de la lenta muerte de las plantas tratadas.

De acuerdo con Ireland, citado por Zobiole et al. (2011), cualquier sustancia química que induce alteraciones en el metabolismo de la hoja, directa o indirectamente afecta el nivel de los intermediarios o de la actividad de las enzimas del ciclo de Calvin. Como la biomasa total de la soja depende de la energía que brinda la fotosíntesis para sintetizar compuestos carbónicos (Shibles y Weber, 1965), disminuciones en la asimilación del CO₂ llevan a una reducción de la biomasa y la acumulación de carbohidratos.

Además, el bloqueo de la ruta del shiquimato y la consecuente reducción en los niveles de aminoácidos de los cuales se forman metabolitos secundarios, que participan en respuesta de la planta a los patógenos, hacen que aumente la susceptibilidad a las enfermedades (Duke et al., 2007).

2.3 EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO EN CULTIVOS DE SOJA RR

El cultivo de soja ha atravesado intensas modificaciones biotecnológicas en la búsqueda de aumento de productividad y reducción de los costos de producción. Una de las modificaciones más importantes puede ser considerada la introducción de los cultivares de soja con resistencia al glifosato. Según Papa et al. (1997) la introducción de los cultivares de soja tolerantes al glifosato en los sistemas agrícolas ha significado un avance sustancial en el manejo de malezas en el cultivo y en la disminución de las pérdidas de rendimiento por interferencia de las mismas.

Existen numerosas ventajas técnicas en el uso de glifosato en cultivares de soja RR como las destacadas por Vitta (1999) quien sostiene que la flexibilidad en la aplicación del herbicida y la simplicidad de la tecnología, son la principal explicación de la generalización de su uso. La flexibilidad tiene que ver, con la tolerancia de la soja RR durante todo su ciclo, como también con la eficiencia del herbicida de controlar muchas especies de malezas, independientemente de su estado de desarrollo. No obstante esto, existen momentos oportunos de aplicación condicionado por la existencia de un periodo crítico, durante el cual el cultivo debe estar libre de malezas para obtener rendimientos viables. A su vez dicho periodo resulta condicionado por numerosos factores agronómicos, genéticos y ambientales.

En definitiva, el grado de flexibilidad para que sea económicamente viable está definido, por características del herbicida y también por la dinámica de competencia entre la soja y las poblaciones de malezas. De acuerdo a ello, Papa et al. (1997) concluye que podría en algunos casos ser más decisivo el momento de aplicación que la dosis a emplear.

La otra ventaja mencionada por Vitta (1997) es la simplicidad, que deriva de la posibilidad de poder basar el control de malezas en un único herbicida total, prescindiendo de tácticas de manejo que abarquen combinaciones o numerosos controles.

Estos beneficios han tornado, recientemente, a la tecnología en un tema polémico. La utilización de glifosato en sojas RR ha pasado a incrementar el

total de aplicaciones de este herbicida en los sistemas de cero laboreo. Con ello, esta práctica se asocia a riesgos de cambios de comunidades de malezas, presionando al incremento de malezas más tolerantes al herbicida, e inclusive a la generación de resistencia al mismo.

Por otra parte la fuerte expansión de la tecnología de la soja RR, presionando al aumento del uso del glifosato, desencadenó en la incertidumbre de los agricultores en conocer su real efecto sobre las plantas de soja RR, ya que muchos han notado que algunos cultivares RR presentan daños visuales luego de la aplicación de glifosato en post-emergencia.

2.4 DAÑOS ASOCIADOS CON APLICACIONES DE GLIFOSATO EN SOJA RR

Recientemente se ha afirmado que el glifosato puede causar efectos de estrés en plantas de soja RR cuando este debería ser selectivo, y no tener efecto herbicida, ni causar estreses en el normal desarrollo de las plantas (Taiz y Zeiger, 2009). Krishna et al. (2004), sostienen que el glifosato puede disminuir el contenido de clorofila, crecimiento de la planta, la nodulación, la biomasa, el contenido de hemoglobina y la fijación del nitrógeno en sojas RR.

Por su parte Taylor et al. (1999), McCann et al. (2005), al comparar variedades comerciales de soja RR con variedades convencionales, demostraron que la transformación genética no interfiere en la normalidad de la planta y los granos.

Igualmente, Correia y Durigan (2007), comprobaron que el uso de diferentes formulaciones de glifosato no alteraron la acumulación de materia seca en la parte aérea de diferentes cultivares de soja RR. Igualmente, Bohmy Rombaldi (2010), también comprobó que aplicaciones de glifosato no interfieren en las características nutricionales y funcionales de la planta y grano de soja RR.

Contrariamente a estos resultados existen también varias investigaciones probando que la aplicación de glifosato a sojas RR bajo ciertas condiciones resulta en daño.

Según Cerdeira et al. (2007) y contrariamente a lo sostenido por Correia y Durigan (2007), la soja genéticamente modificada, a pesar de ser resistente al glifosato, puede presentar daños frente a las aplicaciones del herbicida asociadas a la formulación utilizada.

En respuesta a esta controversia se han realizado numerosas investigaciones con el objetivo de verificar la influencia del glifosato en el crecimiento, desarrollo y en la calidad de los granos de soja RR.

En estas investigaciones se han constatado una serie de efectos negativos en las plantas.

Según Zobiolo et al. (2011), el síntoma típico observado después de la aplicación de glifosato, conocido como yellow flashing o amarillamiento de las hojas superiores, es muy similar al síntoma asociado a la deficiencia de magnesio y por la misma razón muchas veces atribuido a la misma. Sin embargo los mismos autores han comprobado que el síntoma ocurre tanto en áreas con baja como adecuada y hasta elevada fertilidad.

Cakmak, citado por Zobiolo et al. (2011), observó una menor altura de plantas y una menor producción de biomasa seca de la parte aérea, de la raíz, y consecuentemente de la biomasa total con aplicaciones de glifosato. Los trabajos realizados por Bott, citado por Zobiolo (2011), también respaldaron ese resultado, los cuales observaron que la aplicación de glifosato en soja RR redujo significativamente la biomasa y la elongación de la raíz.

Los daños visibles luego de las aplicaciones de glifosato incluyen necrosis y clorosis. Estos síntomas de daño se desarrollan 1 o 2 horas o días luego de la aplicación; las sojas RR se recuperan del daño con el tiempo. Moteado y necrosis pueden deberse a sales, surfactantes y otros ingredientes de las formulaciones (Krishna et al., 2004). Los mismos autores dicen que las aplicaciones de glifosato a soja RR aún en dosis de etiquetas, puede resultar en clorosis y reducir el crecimiento de las plantas. También han documentado en algunos casos síntomas de moteado y necrosis.

Según Albrecht y Avila, citados por Franco et al. (2012), las aplicaciones de glifosato pueden alterar la calidad de los granos y su vigor, inclusive reduciendo la productividad de la soja RR aun cuando no ocurran reducciones significativas en el rendimiento.

2.5 POSIBLES EXPLICACIONES DE LOS EFECTOS OBSERVADOS CON LAS APLICACIONES DE GLIFOSATO A SOJAS RR

En Brasil y en la región Centro-Norte de Estados Unidos aplicaciones frecuentes de glifosato han llevado al surgimiento de deficiencias de Fe, Zn y Mn en soja RR (Johal y Huber, citados por Zobiolo et al., 2011). Por lo tanto, la clorosis en la soja RR puede ser atribuida a la inmovilización de cationes bivalentes como Fe y Mn (Huber 2006, Bott et al. 2008, Zobiolo et al. 2011).

Como el glifosato es considerado un ácido fosfónico (Franz, citado por Zobiolo et al., 2011) y esos ácidos poseen propiedades quelantes de cationes metálicos con cationes bivalentes y trivalentes (Kabachnik, citado por Zobiolo et al., 2011), es una de las posibilidades que explicarían la menor disponibilidad de esos nutrientes en los tejidos de las plantas (Zobiolo et al., 2011).

De acuerdo con Cakmak et al. (2009), la persistencia de ese síntoma clorótico depende de la habilidad de la planta de recuperarse por la absorción radicular de los elementos que fueron inmovilizados por el glifosato en los tejidos foliares.

Un estudio previo demuestra que el glifosato reduce las concentraciones radiculares de nutrientes minerales en soja RR respecto a sojas RR no tratadas o su isolínea no tratada y no RR, y el efecto más pronunciado se vio en cultivares precoces (Zobiolo et al., 2011). El efecto en la disminución de minerales en raíces puede atribuirse a la reducción de parámetros fotosintéticos como resultado del daño directo del glifosato sobre la clorofila (Reddy et al., 2004), o a la inmovilización de micronutrientes esenciales por el glifosato debido a la capacidad del mismo de formar complejos insolubles con metales (Jaworski, Kabachnik, Bromilow, Coutinho y Mazo, citados por Zobiolo et al., 2011).

La ocurrencia de ese síntoma de amarillamiento en los cultivares RR han llevado erróneamente a muchos productores al uso intensivo de fertilizantes foliares como alternativa para amenizar o suprimir esa posible deficiencia nutricional, a veces sin lograr la recuperación del cultivo (Zobiolo et al., 2011).

Por otra parte los efectos negativos en la acumulación de biomasa ocurren en definitiva probablemente debido a los efectos aditivos de la disminución de la tasa fotosintética y a la reducción en la concentración de nutrientes en la parte aérea (Zobiolo et al., 2011).

Además estos autores en otros estudios con grupos de cultivares de madurez temprana altamente sensibles al glifosato, evaluaron la influencia del aumento de la dosis del herbicida sobre la fotosíntesis y la eficiencia en el uso del agua de las plantas. Demostraron que con aumentos de dosis, todos los parámetros fotosintéticos así como la fluorescencia de la clorofila, decrecen drásticamente, y consecuentemente que la fotosíntesis, la eficiencia de uso del agua y la producción de biomasa de soja RR fueron afectadas por el glifosato.

Reddy et al. (2004), observaron efectos tóxicos para la planta además de reducción del tenor de clorofilas cuando se aplica glifosato en dosis altas afectando también la composición de los granos.

Según Zobiolo et al. (2011), la tasa fotosintética y el índice SPAD presentan decrecimientos proporcionales a las dosis de glifosato aplicadas, siendo el efecto más pronunciado con la aplicación única del herbicida, probablemente por el hecho de que a una aplicación única las plantas son expuestas a concentraciones mayores del herbicida que las que reciben en una modalidad secuencial de aplicación. Afirmaron que la menor producción de biomasa de la soja RR se debe al decrecimiento de la tasa fotosintética, a la menor producción de clorofila y a la probable inmovilización de nutrientes en los tejidos foliares mencionada anteriormente.

Para Reddy et al. (2004), la relación entre la tasa fotosintética y el índice SPAD mostro que el aumento de la dosis se reflejó en una disminución de la tasa fotosintética y del tenor de clorofila, probablemente por el daño directo del glifosato al cloroplasto, o por la quelatinización o inmovilización de cationes

como Mg y Mn, requeridos para la formación de clorofila y para la fotosíntesis, respectivamente (Beale 1978, Taiz y Zeiger 1998).

Sobre esta hipótesis, también Yahaya et al. (2011), observaron que cuando la cebada es expuesta a un estrés como la aplicación de glifosato, se reduce el contenido de clorofila y se manifiestan síntomas visuales como clorosis de hojas, concluyendo que estos efectos hacen que los cultivos crezcan por debajo de su potencial y causen reducciones en el rendimiento.

Huang et al. (2012), comprobaron la disminución de clorofila a y b en *Imperata cylindrical* L. luego del tratamiento con glifosato, observando diferencias según la concentración y el tiempo de aplicación de glifosato.

Efectos de otros herbicidas sobre el contenido de clorofila han sido reportados por Wang y Zhou (2006), quienes detectaron la disminución de clorofila en trigo cuando fue tratado con clorimuron.

Sajid y Honermeie (2013), condujeron un estudio para evaluar el estrés provocado por herbicidas en alcachofa y concluyeron que los diferentes herbicidas de post-emergencia, en función de su modo de acción, afectan el rendimiento de la hoja de la alcachofa y la medición de la fluorescencia de la clorofila se puede utilizar para detectar el estrés por el herbicida en hojas de alcachofa en condiciones de campo. También se puede concluir que la alcachofa puede recuperar este estrés junto con las etapas de desarrollo en función de la severidad del estrés por el herbicida y las condiciones ambientales reinantes.

Por otra parte, en los suelos y en las plantas, el principal metabolito del glifosato es el ácido aminometilfosfónico, detectado en algunas plantas naturalmente tolerantes a este herbicida como *Agropyron repens* e *Equisetum arvense* (Coupland, Dyer, citados por Monquero et al., 2004).

Desde esa base, otra de las hipótesis que explican las reducciones en la acumulación de biomasa seca de la parte aérea y de la raíz en soja RR con la aplicación de glifosato, es el proceso de degradación del herbicida dentro de la planta, que resulta en la formación de AMPA (ácido aminometilfosfónico), conocida fitotoxina (Duke et al. 2003, Reddy et al. 2004), a las reducciones en la tasa fotosintética, menor conversión de fotoasimilados (Zobiole et al., 2011) y

en la biodisponibilidad de nutrientes en los tejidos (Cakmak et al. 2009, Zobiolo et al. 2011).

Igualmente, para Reddy et al. (2004), los síntomas indeseables y la reducción de biomasa en la soja RR causada por el glifosato es atribuido a la acumulación de AMPA, primer y principal metabolito fitotóxico del glifosato, el cual es uno de los responsables por la disminución de la biomasa seca de la parte aérea y de la raíz y del tenor de clorofila.

Poco se sabe de la degradación del glifosato a AMPA en plantas. Se conjetura que el glifosato puede ser metabolizado en plantas por 2 vías similares a aquellas en microorganismos. El metabolito AMPA es fitotóxico para algunas especies de plantas. Aunque es considerablemente menos activo que la molécula original. A pesar de que el glifosato es normalmente metabolizado por algunas plantas, AMPA se encuentra como mayor metabolito en semillas de soja RR tratadas con el herbicida. Los residuos de AMPA fueron también detectados en hojas y semillas de soja tratada, indicando el metabolismo del glifosato en soja RR (Krishna et al., 2004).

Los mismos autores afirman que la medida del daño en sojas RR tratadas con glifosato, es dependiente de los niveles de AMPA formados en la planta, y que bajo condiciones de campo, la formación de AMPA depende de la dosis aplicada, del genotipo y de condiciones ambientales. Esa incertidumbre en la formación de AMPA en plantas, explica porque algunos productores se enfrentan a daños en algunas sojas RR y en otras no, y porque el mismo productor que un año encuentra síntomas y daño, al año siguiente no los encuentra.

Otros autores hallaron otras hipótesis, como Reddy, citado por Franco et al. (2012), que dice que el glifosato translocado preferencialmente para los tejidos reproductivos y nódulos, puede tener potencial efecto del herbicida en el metabolismo del nitrógeno en soja RR, y consecuentemente en su producción (Cerdeira, citado por Franco et al., 2012).

Por otra parte Kremer y Means (2009) observaron también que el glifosato provocó además un desbalance de ácido indol acético (AIA) en plantas de soja RR.

2.6 ALTERNATIVAS PARA DISMINUIR EL EFECTO DEL GLIFOSATO

Visto todos estos resultados, algunos autores investigaron acerca de las posibles formas de contrarrestar estos efectos negativos de la aplicación de glifosato.

Así, Jaworski (1972), propone que la adición de aminoácidos exógenos junto o después de la aplicación de glifosato permite contrarrestar la parcial disminución del crecimiento y los demás efectos indeseables en las plantas de soja RR tratadas con el herbicida, mostrando en los experimentos valores normales de los parámetros fotosintéticos en comparación a las plantas sin el agregado exógeno de aminoácidos (Zobiolo et al., 2011).

Otra posibilidad de reducir los efectos del glifosato que ha sido desarrollada es el uso de bioestimulantes. Estos compuestos son utilizados para aumentar el crecimiento y la productividad de la soja, sobre el argumento de que tales productos aumentan la actividad microbiana, biodisponibilidad de nutrientes y mineralización de la materia orgánica (Subler, Chen, citados por Zobiolo et al., 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” de Facultad de Agronomía en el departamento de Paysandú (Latitud 32 S, 56 W), entre los meses de diciembre del año 2012 y abril de 2013.

Por razones metodológicas y de instrumentación práctica se optó por la realización de este estudio en dos experimentos similares y complementarios, debido a que para realizar determinaciones tempranas fue necesaria la extracción total de la planta, mientras que para las restantes determinaciones se continuó hasta la cosecha.

En base a esto, ambos experimentos comienzan con la siembra diferenciándose en la metodología, únicamente en la duración de los mismos, culminando el primer experimento, a los 7 días posteriores al estado fenológico R1-R2 y el segundo experimento culminando con la madurez y cosecha. Ambos conducidos en condiciones semicontroladas bajo telado, siendo regados siempre que fuera necesario.

Los cultivares de soja RR incluidos fueron los mismos en los 2 experimentos: Nidera 6411, Nidera 5909, Don Mario 6.2 e Igra 510. Las principales características de importancia con posible influencia en su comportamiento durante el experimento se detallan a continuación.

Cuadro No. 1. Características de las variedades en estudio.

Variedad	N5909	N6411	DM 6.2	Igra 510
Ciclo	5	6	6	5.6
Hábito de vida	indeterminado	Determinado	Indeterminado	Indeterminado
PMG (g)	175	170	180	153
Color de pubescencia	Castaño	Gris	Gris	
Color de flor	Purpura	Purpura	Violeta	
Días a floración	39	71		42
Días a maduración	129	167	132	116
Potencial de ramificación	Media	Muy ramificadora	Alto	
Altura de planta para su ciclo (cm)	106	1065	115	92

Este estudio tuvo por objetivo la evaluación de la tolerancia de las distintas variedades de soja RR al glifosato, su efecto en las variables vegetativas (experimento 1) y su efecto en el rendimiento (experimento 2).

3.1 TRATAMIENTOS

El total de tratamientos para cada experimento fueron 12, resultantes de la combinación de 4 cultivares de soja y 3 momentos de aplicación (aplicación en V4-V5; aplicación en R1-R2 y testigo) (cuadro No. 2).

Cuadro No. 2. Clasificación de los tratamientos para el experimento 1.

Tratamientos	Variedad	Momento Aplicación	No. Plantas por recipiente
1	Nidera 5909	V4-V5	1
2	Nidera 6411	V4-V5	1
3	Don Mario 6.2i	V4-V5	1
4	Igra 510	V4-V5	1
5	Nidera 5909	R1-R2	1
6	Nidera 6411	R1-R2	1
7	Don Mario 6.2i	R1-R2	1
8	Igra 510	R1-R2	1
9	Nidera 5909	Nunca	1
10	Nidera 6411	Nunca	1
11	Don Mario 6.2i	Nunca	1
12	Igra 510	Nunca	1

3.2 DESCRIPCIÓN Y METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN

El estudio fue instalado en macetas y baldes según el tratamiento se colectara para las determinaciones con poco desarrollo en V4-V5 o mayor desarrollo en R1-R2, respectivamente.

Estos recipientes, macetas y/o baldes, fueron rellenos con sustrato compuesto por una mezcla de dos partes de tierra y una de arena. La capacidad de cada uno fue en promedio 10 kg de sustrato para los baldes y 5 kg para las macetas.

Previo a la siembra se fertilizaron todas las unidades experimentales con P_2O_5 , utilizando una dosis equivalente a 20 kg/ha.

La siembra fue realizada el 15 de diciembre del 2012, previo a esta las semillas de las diferentes variedades fueron inoculadas, para lo cual se utilizó inoculante a una dosis de 4 g por cada Kg de semilla y un adherente en 1,2 g por cada kg de semilla.

La densidad de siembra utilizada fue de 4 semillas por recipiente, con el objetivo de asegurar la instalación de al menos una planta por unidad (objetivo del experimento), lo que posteriormente derivó en la necesidad de realizar un raleo de plantas, el cual fue efectuado el día 3 de enero, dejando una planta por

unidad experimental con el fin de eliminar la competencia, en algunos casos fue necesario el trasplante debido a que no se lograron emergencias.

Una vez alcanzado los estados de desarrollo de V4-V5 y R1-R2 se realizaron las aplicaciones correspondientes con glifosato. El glifosato utilizado contiene 480 de e.a. y la dosis utilizada para ambas aplicaciones fue de 1440 g de e.a/ha.

La cosecha se realizó manualmente y se llevó a cabo el 16 de abril en primera instancia, donde se cosecharon todas las plantas que presentaban madurez de cosecha, las restantes se cosecharon el 23 de abril cuando alcanzaron esta madurez.

3.3 DETERMINACIONES

3.3.1 Experimento 1

Todas las determinaciones se realizaron a los 7 días posteriores a cada aplicación, las mismas fueron:

- Altura
- Peso fresco
- Materia seca
- Contenido de clorofila a y b.
- Sintomatología de daño.

Para realizar estas determinaciones, a excepción de la sintomatología de daño, se extrajeron las plantas. Para la altura se midió el largo de la parte aérea hasta la inserción de la última hoja. Para la determinación de peso fresco también se utilizó solo la parte aérea de las plantas.

Posteriormente las plantas fueron llevadas a estufa a 60°C durante 48 horas para la estimación correspondiente de la materia seca.

La absorbancia se midió mediante un espectrofotómetro a 645nm y 663nm, para lo que se quitó la segunda hoja de cada planta, se picó la hoja, y se colocó 1 g de la misma en vasos de bohemia con acetona envueltos en papel de aluminio para evitar el contacto con la luz solar, luego utilizando una bomba de vacío con un embudo y papel de filtro Whatman No. 1 se extrajo todo el líquido. Este líquido, en principio acetona, virado a verde debido a la clorofila, se colocó en probetas y se completaron las mismas con acetona al 80% hasta alcanzar los 50 ml, y este preparado es el que se utiliza para la medición en el espectrofotómetro.

A partir de las determinaciones realizadas de absorbancia en ambas longitudes de ondas se calculó el contenido de clorofila a y clorofila b, la de la siguiente forma:

Clorofila a = $(12,7 * \text{promedio de la absorbancia en } 663\text{nm}) - (2,69 * \text{promedio de la absorbancia en } 645\text{nm})$

Clorofila b = $(22,9 * \text{promedio de la absorbancia en } 645\text{nm}) - (4,68 * \text{promedio de la absorbancia en } 663\text{nm})$

Previamente a la determinación de niveles de daño por visualización, se construyó una escala de síntomas según el grado de daño ocasionado por el glifosato a la planta post aplicación (cuadro No. 3).

Cuadro No. 3. Escala según el grado de daño visible.

0	sin síntomas
1	1 hoja con síntomas leves
2	más de 1 hoja con síntomas leves
3	más de 1 hoja con síntomas moderados
4	más de 1 hoja con síntomas severos

3.3.2 Experimento 2

Las determinaciones en este caso se realizaron en los días inmediatamente posteriores a la cosecha.

Las variables determinadas a cosecha fueron:

- Vainas por planta
- Número de granos por planta
- Peso de 100 granos (g)
- Rendimiento (g/planta)

Para estas determinaciones se cosecharon manualmente las vainas de todas las plantas, se contó el número de vainas por cada planta y luego del desgrane se realizó el conteo de granos, se pesaron los mismos obteniéndose el rendimiento y con éste, se calculó el peso de 100 granos.

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

El ensayo tuvo un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con arreglo factorial de tratamientos. Donde los factores estudiados fueron variedad (4 variedades de soja RR) y el momento de aplicación (sin aplicar, aplicación en V4-V5 y aplicación en R1-R2), siendo la unidad experimental cada recipiente, los dos experimentos tienen 12 tratamientos explicados anteriormente. Teniendo el primer experimento 5 bloques, y el segundo experimento 6 bloques.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa infostat. Los experimentos tuvieron un diseño de parcelas de bloques al azar (DBCA) con factorial.

3.6 MODELO ESTADÍSTICO (DBCA) CON ARREGLO FACTORIAL

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Vari} + M_j + (\text{Var} * M)_{ij} + \beta_k + E_{ijk}$$

Y_{ijk} : rendimiento

μ : media general

Vari: efecto de la i-ésimo variedad

M_j : efecto del J-ésimo momento

$(\text{Var} * M)_{ij}$: efecto de la interacción variedad por momento

β_k : efecto bloque

E_{ijk} : error experimental

Supuestos del modelo:

- El modelo es correcto
- El modelo es aditivo
- Los errores son variables aleatorias independientes
- E_{ijk} tiene distribución $N(0, \sigma^2\epsilon)$
- No hay interacción BLOQUE x TRATAMIENTO

Cuando el efecto de los cultivares o de los momentos de aplicación fue significativo, la separación de medias fue realizada a través de prueba de Tukey.

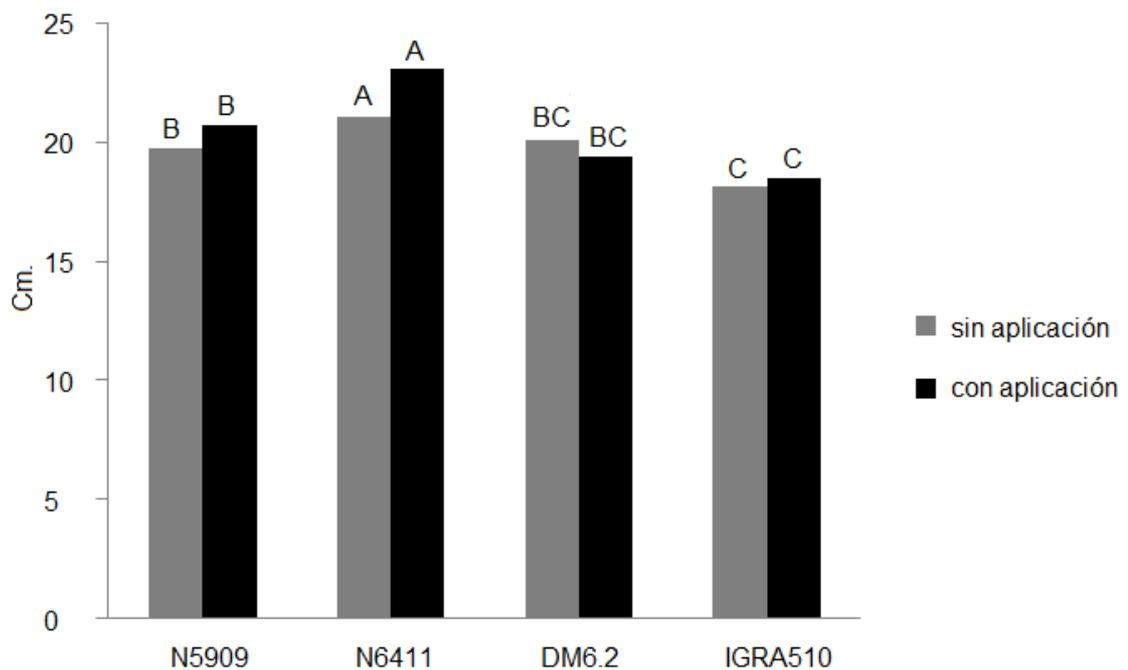
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EXPERIMENTO 1

Se mostraran y discutirán los resultados de la determinaciones realizadas en el experimento 1, correspondientes al efecto de la aplicación de glifosato en las variables vegetativas, en el contenido de clorofila y en la sintomatología visual de daño.

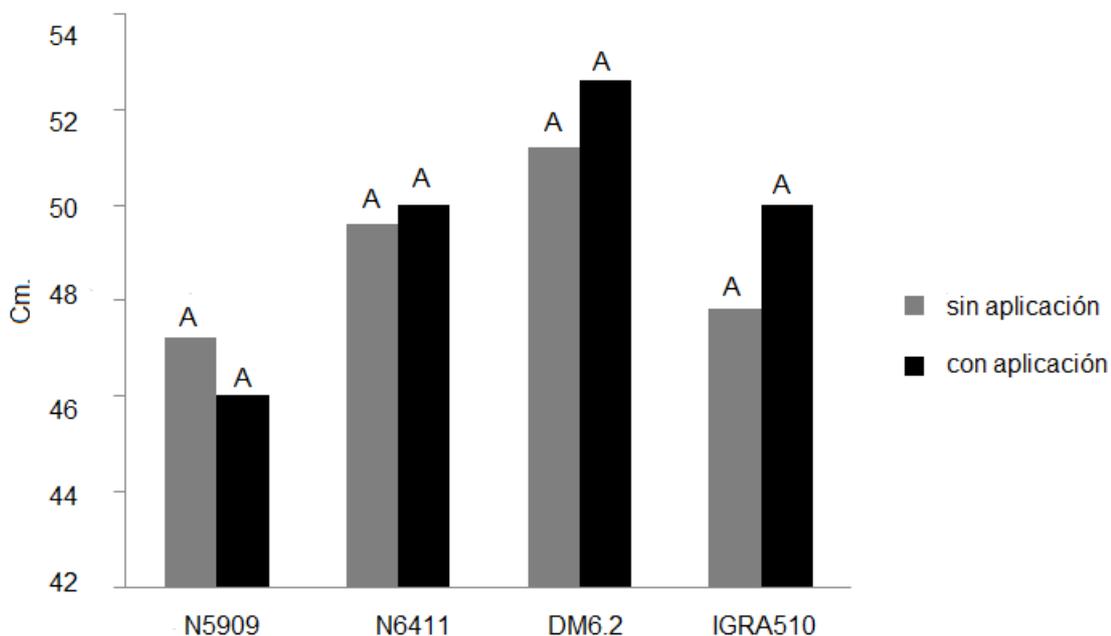
4.1.1 Altura de plantas

No se encontraron variaciones significativas en la altura de las plantas por efecto de la aplicación de glifosato en ninguno de los 2 momentos de aplicación. La altura de plantas resultó similar para todas las variedades con y sin glifosato tanto en la aplicación realizada en V4-V5 como la realizada en R1-R2 (figuras No. 1 y No. 2).



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 1. Altura de planta de soja en V4-V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 2. Altura de planta de soja en R1R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.

Contrariamente a lo mencionado en la bibliografía, donde Cakmak, citado por Zobiole et al. (2011), observó una menor altura de plantas cuando eran tratadas con glifosato, en este trabajo y como se observa en los gráficos anteriores, la aplicación de glifosato no afectó el crecimiento en altura de las plantas de las distintas variedades estudiadas en ninguno de los 2 momentos de aplicación.

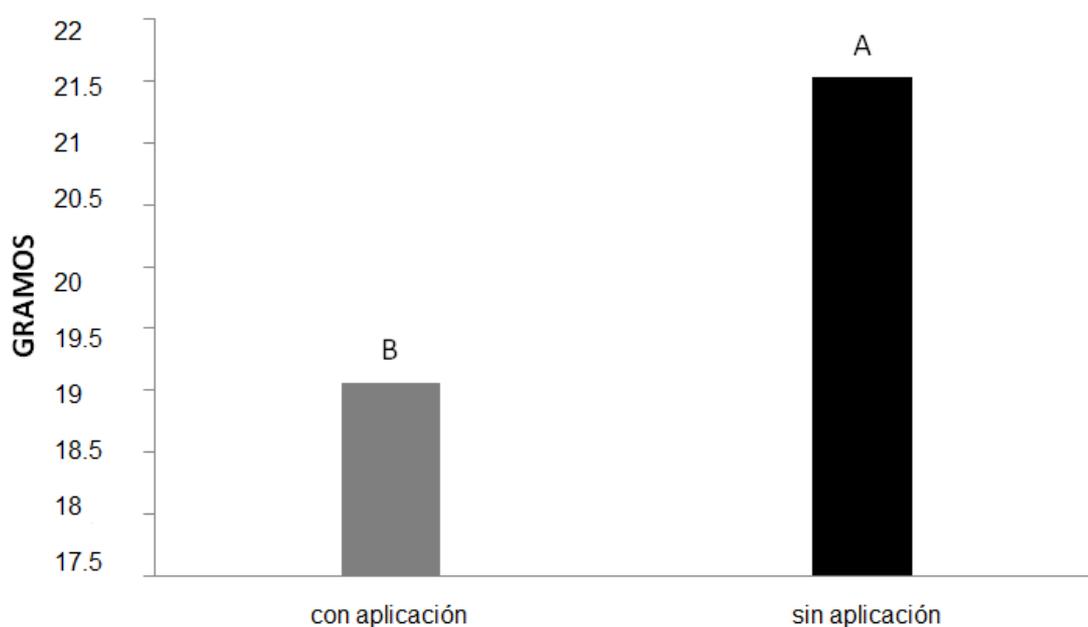
En el primer momento de aplicación (V4-V5) se detectó efecto de la variedad en la altura como era esperable considerando las características varietales de los materiales. Se observaron diferencias en altura del 14% entre la planta más baja y la más alta en las plantas sin la aplicación de glifosato y del 20% en las tratadas con el herbicida.

En la determinación en R1-R2, contrariamente a lo esperado, la altura de plantas resultó estadísticamente similar para todas las variedades en dicho momento, mostrando concordantemente variaciones en altura menores que en el momento V4-V5, siendo las mismas del 8% entre la planta más baja y la más

alta en las plantas sin aplicar y del 12% en las que recibieron aplicación de glifosato.

4.1.2 Peso fresco de plantas

Se encontraron diferencias significativas en el peso fresco de plantas por efecto de la aplicación de glifosato en el primer momento de aplicación (V4-V5), aunque ningún efecto de la variedad, ni ningún efecto de la interacción variedad x aplicación (figura No. 3).

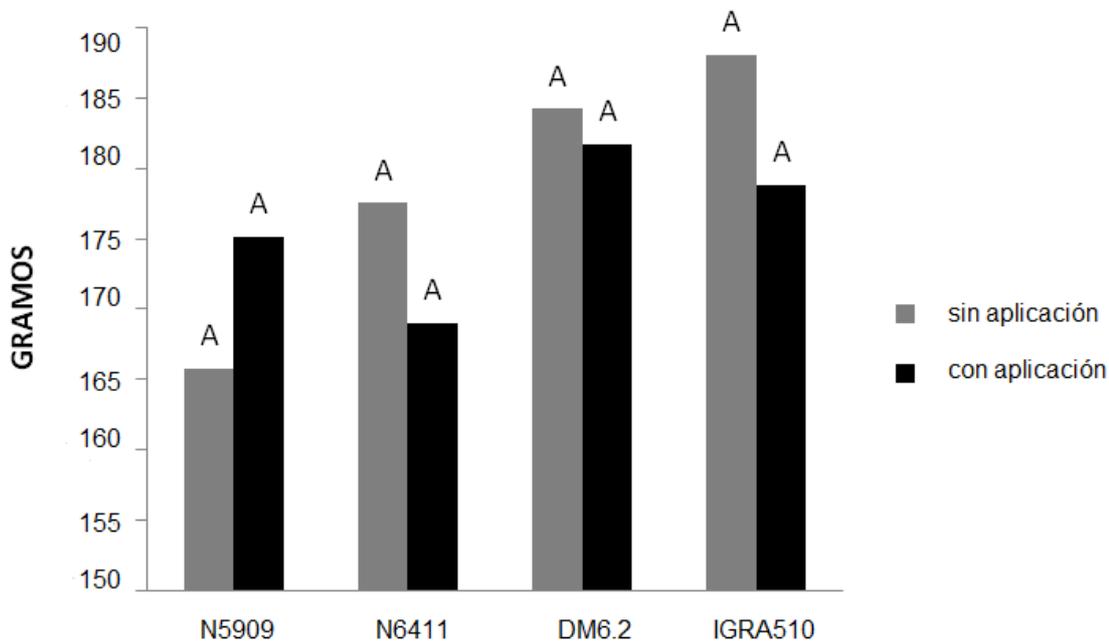


Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 3. Peso fresco de planta de soja en V4V5 con y sin aplicación de glifosato.

El efecto promedio de disminución en el peso fresco de plantas para todas las variedades en esta aplicación, aunque significativo resulto poco trascendente e igual a un 12%.

La estimación del peso fresco en las plantas después de la aplicación en el momento R1-R2 no mostró diferencias por efecto de la aplicación (figura No. 4).



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

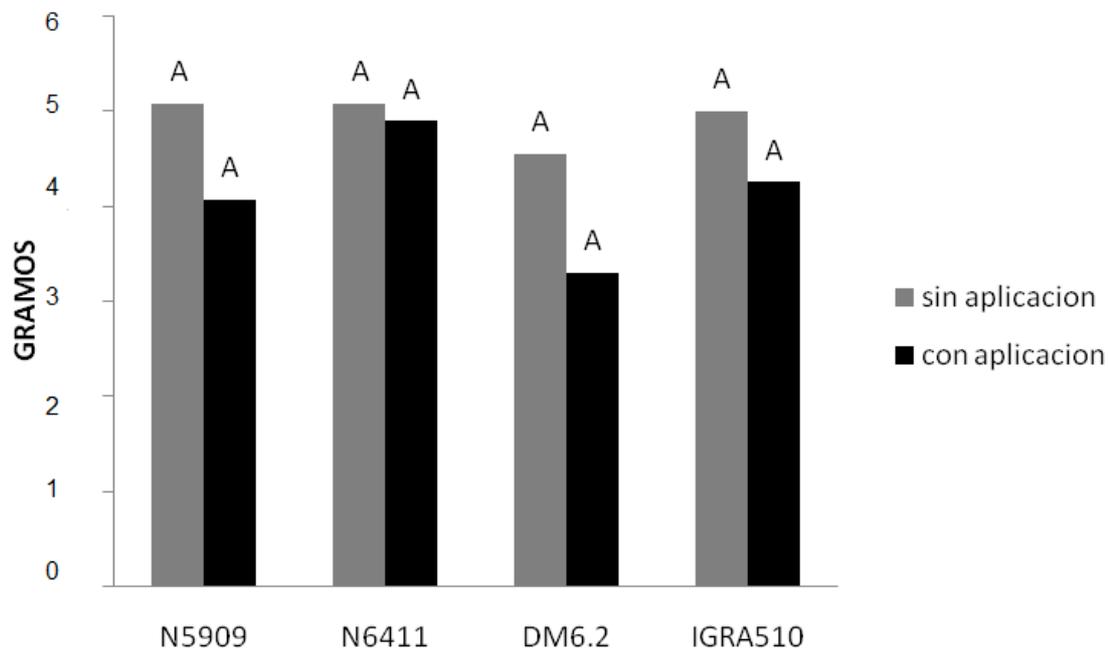
Figura No. 4. Peso fresco de planta de soja en R1-R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.

A modo de comentario y aún no habiéndose encontrado efectos significativos parece interesante comentar las particularidades observadas a nivel de los promedios en el caso de la variedad N5909.

Esta aparece como la única variedad sin consistencia tanto en la estimación de altura con la aplicación tardía como en la estimación de peso de fresco. Si bien fue la única variedad que mostró un promedio de altura menor en el tratamiento con aplicación que el sin aplicación aparece en la estimación de peso fresco como la única con pesos frescos mayores en el tratamiento con aplicación que el sin aplicación presentando aparentes contradicciones.

4.1.3 Peso seco de plantas

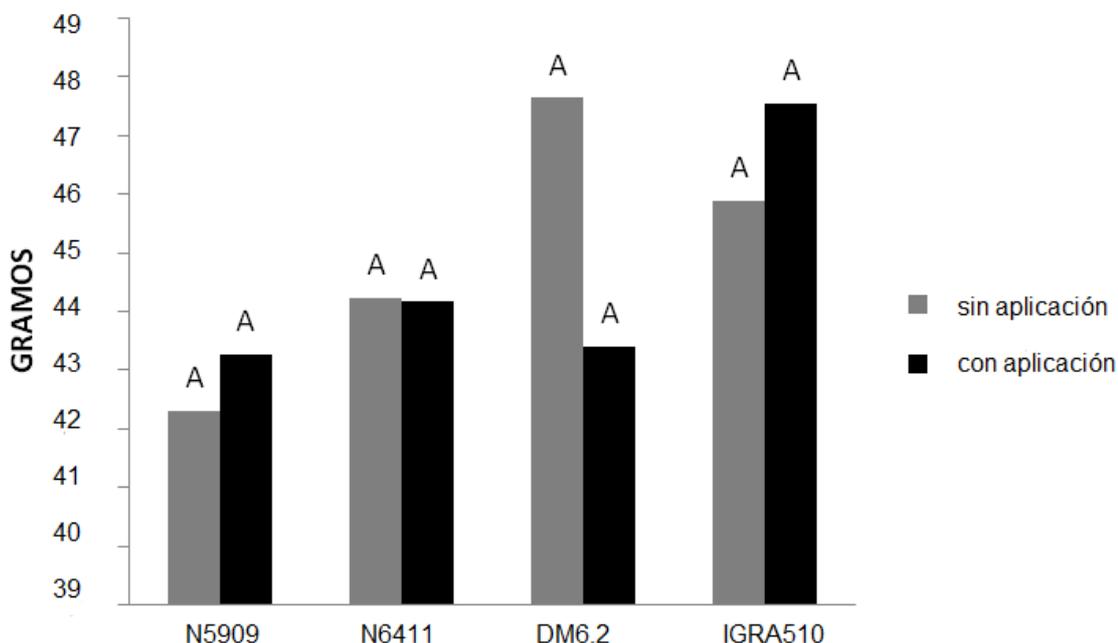
En el caso de esta variable no se encontraron variaciones significativas en el peso de materia seca de plantas por efecto de la aplicación de glifosato ni entre variedades, en ninguno de los dos momentos de aplicación (figuras No. 5 y No. 6).



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 5. Peso seco de planta de soja en V4-V5 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.

En consideración de las variaciones observadas en el peso fresco en esta determinación y considerando la frecuente correlación entre peso fresco y peso seco se esperaba encontrar diferencias en esta estimación, de cualquier forma la tendencia a nivel de promedios es la misma encontrada en peso fresco, todas las variedades disminuyen el peso seco mostrando de todas formas concordancia con la estimación de peso seco.



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 6. Peso seco de planta de soja en R1-R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.

En el caso de esta estimación realizada en las etapas reproductivas los resultados fueron concordantes con los encontrados en el peso fresco y también coincidentes con la bibliografía estudiada donde Correia y Durigan (2007), comprobaron que el uso de diferentes formulaciones de glifosato no altera la acumulación de materia seca en la parte aérea de diferentes cultivares de soja RR.

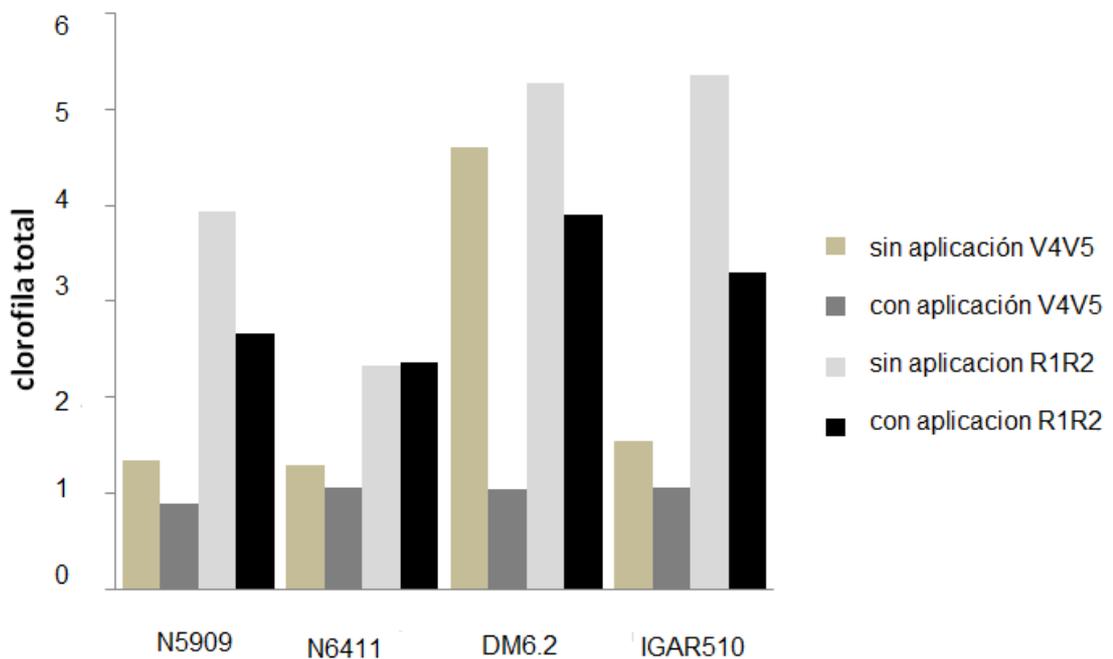
Considerando las respuestas obtenidas en las variables vegetativas estudiadas puede afirmarse que solo existieron mínimas variaciones por efecto de las variedades como por efecto de la aplicación de glifosato. Inclusive las únicas diferencias detectadas ocurrieron en la primera determinación en las etapas inmediatamente posteriores a las etapas V4-V5.

4.1.4 Efecto de la aplicación de glifosato sobre la clorofila

4.1.4.1 Clorofila total

El análisis de varianza detectó efectos significativos de la interacción variedad x aplicación con las aplicaciones en el momento V4-V5 y ningún efecto en el caso de la aplicación en el momento R1-R2. Como puede observarse en la figura que sigue, el contenido de clorofila total determinado en V4-V5 de las distintas variedades no se vio modificado en las plantas tratadas con glifosato, a excepción de la variedad D.M 6.2, la cual presentó niveles de clorofila cuatro veces mayor en plantas sin aplicar respecto a las que sí tuvieron aplicación de glifosato.

Como muestra claramente la figura el comportamiento observado en esta variedad, que presentó una reducción del 78% en el contenido de clorofila total en el tratamiento con aplicación respecto al sin aplicación, se debió a que el contenido de clorofila total determinado en plantas sin aplicación era muy alto.



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 7. Clorofila total de plantas de soja RR con y sin aplicación de glifosato para cada variedad en ambos momentos V4-V5 y R1-R2.

Analizando los resultados promedio para la determinación realizada para R1-R2 puede observarse y pese a que no existieron efectos significativos parece de interés comentar que se encuentran comportamientos particulares en la variedad N6411, variedad en la que se encontró mayores contenidos de clorofila en el tratamiento con aplicación (cuadro No. 4).

Cabe destacar además que según revisamos la bibliografía es contundente en señalar que el contenido de clorofila en plantas se ve disminuido por el efecto de la aplicación de glifosato, pero la magnitud depende de la dosis y tiempo de aplicación Huang et al. (2012).

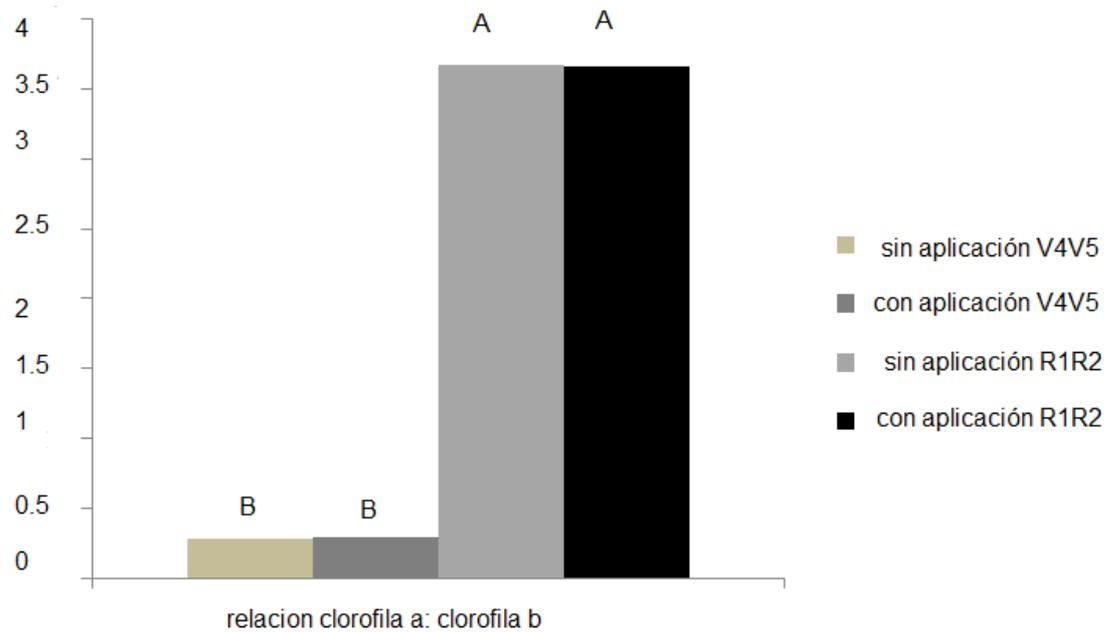
Cuadro No. 4. Relación entre la clorofila total con aplicación y sin aplicación, y la disminución de la clorofila por la aplicación de glifosato.

	Momento V4-V5		Momento R1-R2	
	clorofila total con glifo/clorofila total sin glifo	Reducción	clorofila total con glifo/clorofila total sin glifo	reducción
N5909	0,661654135	34%	0,67857143	33%
N6411	0,821705426	18%	1,08433735	
DM6.2	0,224400871	78%	0,73814042	27%
IGRA510	0,688311688	31%	0,61797753	39%

Considerando los resultados de las dos determinaciones anteriores y tal como puede observarse en el cuadro anterior, llama la atención que no se detectaran un mayor número de diferencias en la primera determinación e inclusive diferencias en la segunda determinación. En este caso el alto coeficiente de variación puede ser parte de la explicación.

4.1.4.2 Relación clorofila a: clorofila b

La relación clorofila a: clorofila b no mostró efectos significativos ni entre variedades ni de la aplicación de glifosato (figura No. 8).



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 8. Relación clorofila a: clorofila b en planta de soja en V4V5 y R1R2 con y sin aplicación de glifosato para cada variedad.

Este resultado concuerda con lo señalado en la bibliografía donde Huang et al. (2012), señalaron que ambos contenidos de clorofila (a y b) se ven reducidos en igual magnitud de acuerdo con la concentración y tiempo de aplicación del glifosato.

4.1.5 Efecto de la aplicación de glifosato en la sintomatología visual de daño

Para esta determinación no se realizó análisis estadístico dado la dificultad de la aplicación del método a variables de tipo escala. Sin embargo, la observación de los promedios permite distinguir algunas variantes en la sintomatología (cuadro No. 5).

Cuadro No. 5. Escala sintomatológica para ambos momentos

VARIEDADES	MOMENTO	
	V4V5	R1R2
N5909	1,84	1,88
N6411	1,37	1,41
DM6.2	1,79	1,71
IGRA510	2,25	2,3

Como se observa las variedades muestran similares tendencias en expresión de la sintomatología en los dos momentos. Por otra parte considerando los promedios podría comentarse que en ninguno de los dos momentos ni en ninguna de las variedades se observaron daños importantes.

Adicionalmente, podría comentarse que la variedad N6411 mostró menos daño, y la variedad IGRA510 presentó más sintomatología con algo de secado de hojas. Estos resultados concordaron con lo reportado por algunos autores en la bibliografía tales como Krishna et al. (2004), quienes observaron que los síntomas de daño se desarrollan 1 o 2 días luego de la aplicación y existe luego recuperación en la mayoría de los casos. Hay varios otros autores como Zobiole et al. (2011), para quienes aun existiendo algún grado de recuperación existen daños de mayor duración e incluso permanentes.

También cabe destacar cierta discrepancia entre esta estimación y la del contenido de clorofila. Considerando los resultados en el contenido de clorofila, lo esperable sería encontrar más pronunciados los síntomas en la variedad DM6.2, en la cual el contenido de clorofila disminuyó sustancialmente con la aplicación de glifosato.

La estimación visual de sintomatología de daño permitió detectar algunos efectos tal como se observa continuación.



Fotos No. 1 y No. 2. Visualización de daño por glifosato.



Fotos No. 3 y No. 4. Visualización de daño por glifosato.

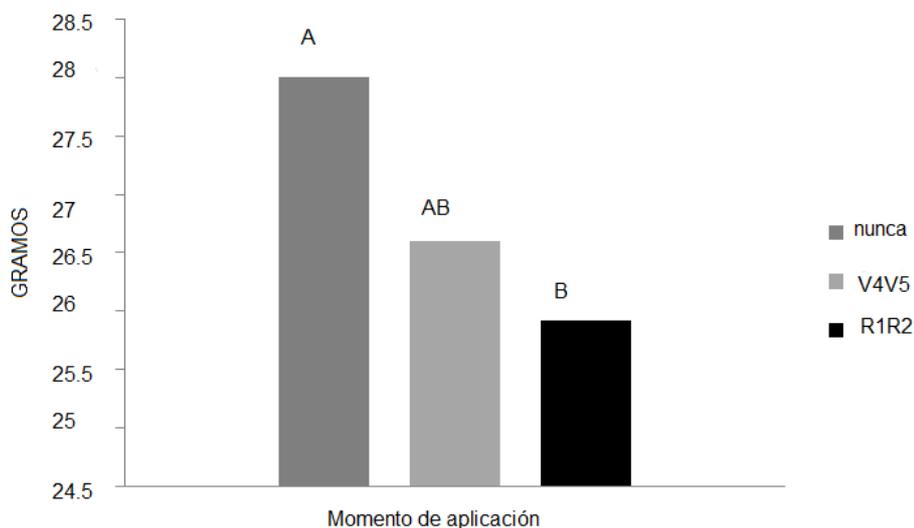
4.2 EXPERIMENTO 2: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO EN LAS VARIABLES REPRODUCTIVAS

Como se observa en el cuadro No. 6, ni el número de vainas, ni granos por planta y ni el peso de 100 granos se vieron afectados por la aplicación de glifosato, resultando similares los valores en el testigo sin aplicación y en los tratamientos con aplicaciones en V4-V5 y/o R1-R2. Solo se detectaron efectos de la variedad como era esperable.

Cuadro No. 6. Número de vainas, granos por planta y peso de 100 en cada uno de los momentos de aplicación.

Variedad	glifosato	Vainas	Granos	peso 100 granos (gr)
N5909	testigo	94 A	192 A	14,05 A
	V4V5	88,16 A	182,5 A	15,31 A
	R1R2	86,33 A	177,5 A	15,09 A
N6411	testigo	90,6 A	161 A	18,64 A
	V4V5	96,4 A	166,6 A	16,27 A
	R1R2	85,6 A	162,6 A	16,6 A
DM 6.2	testigo	80,4 A	163,6 A	17,49 A
	V4V5	77,4 A	156 A	17,85 A
	R1R2	68 A	139,4 A	18,5 A
IGRA 510	testigo	103,4 A	187,8 A	13,94 A
	V4V5	100 A	200,6 A	12,69 A
	R1R2	112,8 A	206,4 A	12,21 A

Pese a los resultados recién comentados, al analizar la variable rendimiento por planta sí se encontraron efectos significativos de la aplicación de glifosato aunque ningún efecto de la interacción variedad x aplicación (figura No. 9)



Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($p \leq 0,05$)

Figura No. 9. Rendimiento por planta según momento de aplicación.

Como se observa existe una disminución significativa en el rendimiento en las variedades por efecto de la aplicación de glifosato en el momento R1-R2, y el rendimiento de las plantas tratadas en momento V4-V5 tuvieron un rendimiento intermedio no difiriendo de las tratadas en el momento R1-R2 ni de las nunca tratadas (figura No. 9).

Sin embargo la reducción constatada aunque significativa fue de solo del 9%.

La escasa disminución constatada podría explicar porque no habiéndose detectado efectos a nivel de los componentes aislados, como se mostró en el cuadro No. 6, sí aparece una variación de escasa magnitud a nivel del rendimiento por planta, observando detenidamente los valores en el cuadro puede entenderse que de la combinación de efectos reducidos de disminución a nivel de los distintos componentes se sumen, evidenciados posteriormente en el rendimiento por planta.

De todas formas la disminución por efecto de la aplicación de glifosato en R1-R2 resultó de escasa magnitud y esto no llama la atención puesto que parece mostrar concordancia con los mínimos efectos observados en las restantes variables estimadas en el experimento.

Considerando los resultados de investigaciones similares revisadas podría manejarse dos explicaciones, en primer lugar podría ocurrir que las variedades estudiadas no fueran de las que tienen probabilidades de expresar efecto de glifosato, aunque entre las variedades estudiadas se incluyeron dos de las variedades de las que han existido observaciones a campo de efecto de glifosato en el país.

En segundo lugar podría cuestionarse que las condiciones en el periodo de la aplicación, el día de la aplicación, los inmediatamente anteriores y/o los inmediatamente posteriores no fueron propicias para la ocurrencia de efectos de daño.

En la bibliografía se destaca el efecto de las altas temperaturas en el periodo de la aplicación de glifosato como un factor asociado a la expresión de los daños. Según Matallio et al. (2009) existen mayores posibilidades de daños cuando las temperaturas son superiores a los 35 grados Celsius. Estos autores sostienen que por encima de los 32-35 grados disminuye la producción de la enzima EPSPs insensible así como que también el gen promotor de la enzima no se expresa bien en los tejidos meristemáticos.

Por último importa destacar que los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran concordancia con las investigaciones en el tema respecto a la mayor constatación de daño con las aplicaciones tardías.

En las aplicaciones tempranas aún existiendo efecto como sintomatología de daño y reducciones temporarias en parámetros vegetativos suele ocurrir recuperación y no se constatan efectos en el rendimiento.

5. CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias entre los cultivares de soja RR estudiados en su comportamiento frente a la aplicación de glifosato en el rendimiento final.

La aplicación de glifosato en V4-V5 no afectó el rendimiento en ninguno de los cultivares, rindiendo todos igual al testigo sin aplicación.

La aplicación de glifosato en R1-R2 disminuyó el rendimiento de todos los cultivares por igual, resultando el rendimiento de los cultivares tratados un 9% inferior que el estimado en los testigos sin aplicación.

Los resultados marcan la susceptibilidad a la aplicación tardía en los cultivares N5909, N6411, DM6.2 e Igra510 a la dosis de 1440 e.a/ha.

6. RESUMEN

Este estudio fue realizado en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” de Facultad de Agronomía en el departamento de Paysandú, entre los meses de diciembre del año 2012 y abril de 2013. El objetivo fue la evaluación de la tolerancia de las distintas variedades de soja RR al glifosato. Las variedades de soja utilizadas fueron Nidera 5909, Nidera 6411, Don Mario 6.2 e Igra 510. El diseño experimental consistió, en un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con arreglo factorial. Las determinaciones consistieron en altura, peso fresco, peso seco, contenido de clorofila (total y relación clorofila a: clorofila b), evaluación de los niveles de daño por una escala de visualización, número de vainas, granos por planta, peso de 100 granos, rendimiento por planta. Los momentos en los que se realizó la aplicación del herbicida fueron en los V4-V5 y R1-R2. No se encontraron diferencias entre los cultivares de soja RR estudiados en su comportamiento frente a la aplicación de glifosato en el rendimiento final. La aplicación de glifosato en V4-V5 no afectó el rendimiento en ninguno de los cultivares, rindiendo todos igual al testigo sin aplicación. La aplicación de glifosato en R1-R2 disminuyó el rendimiento de todos los cultivares por igual, resultando el rendimiento de los cultivares tratados un 9% inferior que el estimado en los testigos sin aplicación. Los resultados marcan la susceptibilidad a la aplicación tardía en los cultivares N5909, N6411, DM6.2 e Igra510 a la dosis de 1440 e.a/ha.

Palabras clave: *Glycine max*; Daños por herbicida; Glifosato.

7. SUMMARY

This study was conducted at the Experimental Station "Dr. Mario A. Cassinoni" Faculty of Agronomy in the Department of Paysandú, between the months of December 2012 and April 2013. The objective was to evaluate the tolerance of soybean varieties to glyphosate. RR soybean varieties used were Nidera 5909, Nidera 6411, Don Mario and Igra 510 6.2. The experimental design consisted in a randomized complete design (RCBD) with factorial arrangement blocks. The assessments included height, fresh weight, dry weight, chlorophyll content (total and chlorophyll a: chlorophyll b), evaluation of the levels of damage from scaling, number of pods, seeds per plant, weight of 100 grains, and yield per plant. The times when herbicide application was made were in the V4-V5 and R1-R2. No differences between RR soybean cultivars studied their behavior in the application of glyphosate in the final yield were found. Glyphosate application in V4-V5 did not affect performance in any of the cultivars, yielding all equal to control without application. Glyphosate application in R1-R2 decreased the yield of all cultivars alike, resulting performance of cultivars treated 9% lower than estimated in controls without application. The results mark the susceptibility to late application cultivars N5909, N6411, and Igra510 DM6.2 dose of 1440 ae / ha.

Keywords: Glycine max; Herbicide damage; Glyphosate.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ASHFIELD, L. 2005. Ecología de Eragrostis Plan Nees y respuesta a alternativas culturales de manejo. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 72 p.
2. BOHM, G. M.; GENOVESE, M. I.; PIGOSSO, G.; TRICHEZ, D.; ROMBALDI, C. 2008. Resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico e teores de isoflavonas em soja BRS 244 RR e BRS 154. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 28:192-197.
3. BOTT, S.; TESFAMARIAM, T.; CANDAN, H.; CAKMAK, I.; RÖMHELD, V.; NEUMANN, G.; 2008. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). Plant Soil. 312:185 - 194.
4. DING, W.; REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M.; BELLALLOUI, N.; BRUNS, H. 2011. Physiological responses of glyphosate-resistant and glyphosate-sensitive soybean to aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate. Chemosphere. 83: 593 - 598.
5. DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. J. 2003. Isoflavone, Glyphosate, and Aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 340-344.
6. FRANCO, D. A. S.; ALMEIDA, S. D. B.; CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O.; MORAES, R. M.; LACERDA, A. L. S.; MATALLO, M. B. 2012. Avaliação do uso de glyphosate em soja geneticamente modificada e sua relação com o ácido chiquímico. Planta Daninha. 30 (3): 659-666.

7. GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. 2000.
Ecotoxicological risk assessment for roundup herbicide. Review of Environmental. Contamination and Toxicology. 167: 35-120.
8. GUNSOLUS, J. L.; CURRAN, W. S. 1996. Herbicide mode of action and injury symptoms. University of Minnesota. North Central Extension Publication no. 377. 14 p.
9. MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OSUNA, M. D.; DE PRADO, R. A. 2004. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. Planta Daninha. 22 (3): 445-451.
10. PAIOLA, L.; PRECHLAK, A.; MOREIRA, A.; AKIYAMA, M.; PAIOLA, A.; RIZZATTI, M. 2012. RR soybean seed quality after application of glyphosate in different stages of crop development. Revista Brasileira de Sementes. 34 (3): 373 - 381.
11. PAPA, J. C.; PONSA, J. C.; ROSSI, R.; CEPEDA, S. 1997.
Malezas y su control. In: Girda, I.; Baigorri, H. eds. El cultivo de la soja en Argentina. Córdoba, INTA. cap 14, pp. 311- 328.
12. REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. 2004.
Aminomethylphosphonic Acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 5139-5143.
13. SCHUETTE, J. 1998. Environmental monitoring pest management. (en línea). Sacramento, Department of Pesticide Regulation Sacramento. 13 p. Consultado 21 oct. 2013. Disponible en <http://www.cdpr.ca.gov/docs/empm/pubs/fatememo/glyphos.pdf>

14. SPRANKLE, W.; MEGGITT, W.; PENNER, D. 1975. Rapid inactivation of glyphosate in the soil. *Weed Science*. 23: 224-228.
15. VITTA, J.I. 1990. Manejo y control de malezas. *Revista AACREA*. 10: 38 - 47.
16. WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 31: 117-165.
17. WYRILL, J. B.; BURNSIDE, O. C. 1976. Adsorption, translocation, and metabolism of 2,4-D and glyphosate in common milkweed and hemp dogbane. *Weed Science*. 23: 557-566.
18. YAO, H.; HUANG, Y.; HRUSKA, Z.; THOMSON, S. J.; REDDY, K. N. 2012. Using vegetation index and modified derivative for early detection of soybean plant injury from glyphosate. *Computers and Electronics in Agriculture*. 89: 145 - 157.
19. ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA, R. S.; KREMER, R. J.; CONSTANTIN, J.; YAMADA, T.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A; OLIVEIRA, A. 2010a. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. *Applied Soil Ecology*. 44: 176 - 180.
20. _____.; _____.; HUBER, M.; CONTANTIN, J.; CASTRO C.; ALVARES, F.; DE OLIVEIRA, A. 2010b. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. *Plant Soil*. 328: 57 - 69.

21. _____.; OLIVERA J. R.; CONTANTIN, J.; BIFFE, D. F. 2010c.
Uso de aminoacodo exogeno na prevencao de injurias
causadas por glyphosate na soja RR. Planta Daninha. 28
(3): 643 - 653.
22. _____.; _____.; _____.; _____. 2011.
Prevenção de injurias causadas por glyphosate em soja
RR por meio do uso de aminoacido. Planta Daninha. 29
(1): 195-205.