

Factores ambientales y genéticos que promueven la susceptibilidad a un
herbicida de la familia de las sulfonilureas en genotipos parentales de maíz
híbrido

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires,
Área Producción Vegetal*

Alejandro D. Celani

Ingeniero Agrónomo - Universidad de Buenos Aires - 2007

Lugar de trabajo: Bayer Crop Science – Planta María Eugenia, Rojas, Buenos Aires



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

COMITÉ CONSEJERO

Director de Tesis
Sebastián Arisnabarreta Dupuy
Ingeniero Agrónomo (FAUBA)
Dr. (EPG- FAUBA)

Codirector de Tesis
Lucas Borrás
Ingeniero Agrónomo (FAUBA)
Dr. (EPG- FAUBA)

Consejero de Estudios
Marcelo Melani
Ingeniero Agrónomo (UNLP)
PhD in Plant Sciences (North Dakota State University)

JURADO DE TESIS

Pedro Rimieri
Ingeniero Agrónomo (UNLP)
Dr. (MSc.) (Universidad Paris XI)

Horacio A. Acciaresi
Ingeniero Agrónomo (UNLP)
Dr. (MSc.) (UNLP)

Daniel Presello
Ingeniero Agrónomo (Facultad de Ciencias Agrarias, UNR)
MSc. (UNR)
PhD in Plant Sciences (McGill University)

Fecha de defensa de la tesis: 22 de Junio de 2021

DEDICATORIA

A mi esposa Tatiana por su apoyo incondicional, consejo y paciencia que me permitieron llevar adelante este proyecto.

A mis hijos Federico y Agustín que nacieron ya con esta tesis en marcha y sin duda, a su vez, fueron fuente de motivación y fuerza para poder concretarla.

A mis padres, Rosa y José, por inculcar la persistencia en favor de mi desarrollo y transmitirme el sentido de construirlo activamente. A mi hermano Matías por estar siempre presente a pesar de los vaivenes de la vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que me acompañaron y ayudaron durante todos estos años a realizar este trabajo dentro del ámbito profesional y personal.

Al comité consejero. Especialmente agradezco a mi director Sebastián Arisnabarreta, por su apoyo y confianza para guiar mi trabajo pacientemente, así como a su motivación al abordaje integrado y holístico de los diferentes temas para esclarecer el enfoque. A Lucas Borrás y Marcelo Melani, por su soporte y dedicación al proyecto, así como a su motivación al pensamiento crítico y reflexivo.

Al equipo de Investigación para la Producción de Bayer Crop Science, quienes estuvieron codo a codo trabajando conmigo para garantizar los mejores estándares de calidad de la información generada y que sin duda son producto del esfuerzo y compromiso que tiene el grupo con todos los proyectos relacionados a la investigación agrícola. Por otro lado, quiero agradecer a todo el equipo de Cono Sur de producción de semillas que alentaron y apoyaron siempre mi formación académica dentro de la empresa, especialmente a: María José Hourquescos, Santiago Mordeglia, Matías Marcantonio, Débora Puecher, Mario Faure, Martín Uribelarrea, Rafael Lozada y Soledad Svetaz.

Al equipo de Mejoramiento de maíz de Bayer Crop Science, quienes me ayudaron y me dieron su soporte desde el momento inicial con el germoplasma de la empresa.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.

A todos los que de una u otra manera me aconsejaron, guiaron y ayudaron con el trabajo.

DECLARACIÓN

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

Alejandro D. Celani

ÍNDICE GENERAL

Índice de Tablas	VII
Índice de Figuras	VIII
Abreviaturas	XII
Resumen	XVI
Abstract	XVII
Capítulo 1. Introducción general	1
1.1. Relevancia de los herbicidas en la producción agrícola	1
1.2. Herbicidas en la producción de semilla híbrida de maíz	3
1.3. Inhibidores de la ALS, mecanismos de tolerancia	6
1.4. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental	10
1.5. Condiciones meteorológicas post aplicación del herbicida y su relación con la sintomatología	11
1.6. Objetivos e hipótesis de trabajo	12
Capítulo 2. Materiales y métodos	14
2.1. Descripción general de los experimentos.....	14
2.2. Diseño experimental y descripción de los tratamientos.....	16
2.3. Variables respuesta	18
2.3.1. Severidad del daño post aplicación en tejido vegetativo.....	18
2.3.2. Fenología y afecciones sobre tejido reproductivo	19
2.3.3. Altura de planta y rendimiento	20
2.4. Variables meteorológicas post aplicación del herbicida.....	21
2.5. Análisis de los datos.....	21
Capítulo 3. Resultados.....	24
3.1. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental	24
3.1.1. Severidad del daño post aplicación en tejido vegetativo.....	24
3.1.2. Fenología y afecciones sobre características reproductivas	29
3.1.3. Altura a floración y rendimiento	34
3.1.4. Correlación entre la altura a floración y rendimiento con síntomas post aplicación del herbicida.....	43

3.2. Condiciones meteorológicas post aplicación del herbicida: su relación con la sintomatología	46
4. Discusión.....	54
4.1. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental	54
4.2. Condiciones meteorológicas post aplicación y su efecto sobre la expresión de la sintomatología del herbicida	58
5. Conclusiones.....	60
5.1. Trabajos futuros	62
Bibliografía.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Detalle general sobre los ambientes explorados, germoplasma, y variables evaluadas en los experimentos conducidos para el proyecto. Tr: germoplasma subtropical/tropical, Te: germoplasma templado. Sev 7, Sev 14 y Sev 21 refieren a las notas de severidad medidas a los 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida.....	14
Tabla 2. Detalle de los sitios de evaluación incluyendo, densidad, tamaño de parcela (largo y distanciamiento entre surcos), repeticiones y la cantidad de parentales evaluados por tipo de germoplasma.....	15
Tabla 3. Parámetros de referencia para tomar la variable de esqueletonización de panoja (SKLP) en función a la intensidad y la frecuencia observada en la parcela.	19
Tabla 4. Cantidad y porcentaje de transiciones de notas de severidad desde la lectura hecha a los 7 días a la realizada a los 14 días y desde la relevada a los 14 días a la realizada a los 21 días post aplicación del herbicida. Fondo amarillo indica mantenimiento de la nota, verde es una disminución de la severidad y naranja un aumento en la severidad.....	25
Tabla 5. Fuentes de variación para altura de planta y rendimiento para los diferentes genotipos, tratamientos de aplicación y ambientes evaluados (S^2 =Varianza, %=proporción de la varianza total, Sig.=nivel de significancia estadística)	34
Tabla 6. Resumen de resultados para altura de planta a floración (cm) incluyendo la media ($\bar{X}$), número de evaluaciones (n), coeficiente de determinación (R^2) y las fuentes de variación.	36
Tabla 7. Resumen de resultados para rendimiento (kg. /ha) incluyendo la media ($\bar{X}$), número de evaluaciones (n), coeficiente de determinación (R^2) y las fuentes de variación.....	37
Tabla 8. Medias de variables ambientales para los 2, 7, 14 y 21 días post aplicación: Temperatura mínima (Tmin, °C) y máxima (Tmax, °C), el déficit de presión de vapor estimado (DPV, mmHg), la radiación incidente (Rad Inc, Kw.m ²), la humedad relativa (HR, %) y la amplitud térmica (AT, °C).	47
Tabla 9. Resumen de los cambios de significancia de correlaciones del rendimiento y la altura de planta entre parcelas aplicadas con el herbicida frente al control. “Pos” (en verde): indica que la variable respuesta tuvo un aumento del coeficiente frente al control para esa variable ambiental, “Neg” (en rojo): indica que la variable respuesta tuvo una disminución del coeficiente frente al control para esa variable ambiental	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución del rendimiento por unidad de superficie para trigo, maíz y arroz y la venta de agroquímicos para el período 1960–2004. Extraído de Oerke (2006)	1
Figura 2. Evolución del volumen de atrazina y glifosato junto al área de siembra directa en Argentina. Fuente: AAPRESID y CASAFAE, extraído de Trigo (2011)	2
Figura 3. Evolución del número de permisos para evaluación de eventos transgénicos y no transgénicos con diferentes características en Argentina. Fuente: INASE, extraído de Trigo (2011)	3
Figura 4. Esquema representando el efecto fenotípico de la endocría en maíz; P1 y P2 son los parentales que se usarían para la producción de la F1 (híbrido). Extraído de Becker p. 146 (1993).....	4
Figura 5. Imagen de un lote de producción de semilla híbrida de maíz con 6 surcos de línea “hembra” despanojados y 1 surco de línea “macho” (relación 6:1) (A); ejemplo de una panoja afectada por atrofia de espiguillas (esqueletonización de panoja) (B); y una espiga con enrollamiento de estigmas.....	5
Figura 6. Número de especies malezas resistentes a los diferentes grupos de herbicidas según HRAC a través de los años. Extraído de encuesta internacional sobre malezas resistentes (Heap, 2019).	6
Figura 7. Cuatriciclo pulverizador de 4 picos. El equipo se desplaza por pasillos laterales a las parcelas para la aplicación del producto.....	17
Figura 8. Parcela experimental mostrando un genotipo muy susceptible al herbicida (testigo de susceptibilidad). Imagen de ensayo de Villalonga, Bs, As, de campaña 2009-2010.....	17
Figura 9. Escala de severidad de daños post aplicación con imágenes de ejemplo para cada nota.	18
Figura 10. Escalas utilizadas para; a) Cantidad de polen (POL), b) Tamaño de panoja (TSZ), c) Intensidad de esqueletonización (SKLP) y d) enrollamiento de estigmas (SLBR).....	20
Figura 11. Probabilidad de tener valores de severidad significativos ($Sev \geq 3$) a los 7, 14 y 21 días post aplicación para los diferentes tratamientos (Control: sin aplicar, ALS: aplicación del herbicida en V4) y grupos de genotipos. Letras similares indican ausencia de diferencias significativas ($p > 0.05$) mediante prueba LSD de Fisher dentro de cada momento de aplicación.	26
Figura 12. ACM para la zona de evaluación Norte, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.	27
Figura 13. ACM para la zona de evaluación de transición, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.	28

Figura 14. ACM para la zona de evaluación Templada, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.	29
Figura 15. Unidades térmicas acumuladas a 50% de floración femenina (S50) para cada combinación de tipo de germoplasma y tratamiento. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).	30
Figura 16. Enrulamiento de estigmas (SLBR) para los diferentes grupos de germoplasma, Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).	31
Figura 17. Unidades térmicas acumuladas a 50% de floración masculina (P50) para cada combinación de tipo de germoplasma y tratamiento. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).	31
Figura 18. Cantidad de polen (POL) para los diferentes grupos de germoplasma, Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).	32
Figura 19. Tamaño de panoja (TSZ) para los diferentes grupos de germoplasma (A) y tratamiento post emergencia de herbicida (B), Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).	33
Figura 20. Esqueletonización de panoja (SKLP) para los diferentes grupos de germoplasma (A) y tratamiento post emergencia de herbicida (B), Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).	33
Figura 21. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura de planta frente al control sin aplicar para el germoplasma Subtropical y Tropical. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (O: Subtropical 1x, ♣: Subtropical 2x, ▼: Tropical 1x, Tropical 2x: —).	39
Figura 22. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa del rendimiento contra el control sin aplicar para el germoplasma Subtropical y Tropical. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (O: Subtropical 1x, ♣: Subtropical 2x, ▼: Tropical 1x, Tropical 2x: —).	40
Figura 23. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura contra el control sin aplicar para el germoplasma Templado. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (■: Templado 1x, ◆: Templado 2x).	41
Figura 24. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura contra el control sin aplicar para el germoplasma Templado. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (■: Templado 1x, ◆: Templado 2x).	42

Figura 25. Resultados del modelo mixto para rendimiento en kg. ha ⁻¹ (barras azules, eje izquierdo) y altura de la planta a floración en centímetros (barras grises, eje derecho) en función a la nota de severidad tomada a los 21 días post aplicación. Los valores son los mínimos cuadrados medios resultantes del modelo. Letras diferentes indican valores que difieren significativamente (prueba t de student con valor-p < 0.05). n=número de parcelas, considerando sólo aquellas que tuvieron ambos datos presentes.	44
Figura 26. Correlaciones entre las alturas de las parcelas controles y las aplicadas para cada repetición de cada material para los casos que no tuvieron síntomas de severidad a los 21 días post aplicación o nota “1” (a), para aquellas parcelas con síntomas leves o nota “2” (b) y las parcelas con nota “3” o nota severa (c). En cada gráfico se incluye la ecuación lineal ajustada, el error cuadrático medio (del inglés RMSE), el R ² , y el valor-p. Gris oscuro se resalta el intervalo de confianza y en gris claro el intervalo de predicción.....	45
Figura 27. Correlaciones entre los rendimientos de las parcelas control y las aplicadas para cada repetición de cada material para los casos que no tuvieron síntomas de severidad a los 21 días post aplicación o nota “1” (a), para aquellas parcelas con síntomas leves o nota “2” (b) y las parcelas con nota “3” (c). En cada gráfico se incluye la ecuación, el error cuadrático medio (del inglés RMSE), el R ² , y el valor-p. Celeste oscuro se resalta el intervalo de confianza y en celeste claro el intervalo de predicción.	45
Figura 28. Doble agrupamiento jerárquico de los ambientes de evaluación considerando las diferentes mediciones meteorológicas estandarizadas a los 2, 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida	48
Figura 29. Análisis de componentes principales a través de bi-plots considerando las medias ambientales de DPV, Tmax, Tmin, Rad Inc, HR y AT de los 2 (a), 7 (b), 14 (c) y 21 (d) días post aplicación frente a la altura de las parcelas control y las aplicadas con el herbicida.....	49
Figura 30. Análisis de componentes principales a través de bi-plots considerando las medias ambientales de DPV, Tmax, Tmin, Rad Inc, HR y AT de los 2 (a), 7 (b), 14 (c) y 21 (d) días post aplicación frente al rendimiento de las parcelas control y las aplicadas con el herbicida.	50
Figura 31. Correlaciones entre la Altura a floración de las parcelas aplicadas con herbicidas (barras rojas) y el control (barras azules) frente a las diferentes variables ambientales medias de los a) 2 días, b) 7 días, c) 14 días y d) 21 días post aplicación (*correlación significativa valor-p<0.05; **correlación significativa valor-p<0.01: ns: correlación no significativa). Las flechas naranjas indican donde hubo un cambio de correlación entre tratamientos.	51
Figura 32. Correlaciones entre el rendimiento de las parcelas aplicadas con herbicidas (barras rojas) y el control (barras azules) frente a las diferentes variables ambientales medias de los a) 2 días, b) 7 días, c) 14 días y d) 21 días post aplicación (*correlación significativa valor-p<0.05; **correlación significativa valor-p<0.01: ns: correlación no significativa). Las flechas naranjas indican donde hubo un cambio de correlación entre tratamientos.....	52
Figura 33. Esquema conceptual resumiendo el aporte del presente trabajo en relación con la aplicación del herbicida, el genotipo y la ambiente post aplicación. 1x: líneas endocriada, 2x: parentales dobles, ↑ / ↓ : aumenta/disminuye la probabilidad del	

siguiente estado por el aumento de la variable, $\uparrow \uparrow / \downarrow \downarrow$: aumenta/disminuye mucho la probabilidad del siguiente estado por el aumento de la variable. (-): efecto negativo sobre la variable, (+): efecto positivo sobre la variable / HR: Humedad Relativa, DPV: déficit de presión de vapor, Rad: radiación incidente, AT: amplitud térmica). S50: momento de 50% de floración femenina (°C. día), P50: momento de 50% de floración masculina ((°C. día), SKLP: esqueletonización de panoja (1 “menor severidad”- 9 “mayor severidad”), TSZ: tamaño de panoja (1 “grande”-9 “pequeña”), Rend.: Rendimiento (kg. ha⁻¹) y Alt: Altura de la planta a floración (cm).....61

ABREVIATURAS

Abreviatura	Definición	Unidad	Aplicación
ACM	Análisis de correspondencia múltiple		Método de análisis
ALS	Acetolactato sintasa		Enzima blanco del herbicida
Alt.	Altura de la parcela en floración	cm.	Variable respuesta
AT	Amplitud térmica diaria	°C	Variable ambiental
DPV	Déficit de presión de vapor promedio diario estimado a partir HR, Tmax y, Tmin Allen R.G. et al. – FAO, 1998 (fórmulas 12 y 19 y convertido de kPa a mmHg)	mmHg	Variable ambiental
HR	Humedad relativa promedio diaria	%	Variable ambiental
P50	Unidades térmicas acumuladas desde la siembra hasta el día que se registra que el 50% de los individuos de la parcela emitiendo polen (temperatura base de 10 °C y máxima posible de 30 °C) (Gilmore, 1958)	°C. día	Variable respuesta
POL	Cantidad de polen evaluada con una escala visual de 1(mucho polen) a 9 (ausencia de polen). Protocolos internos de trabajo Bayer Crop Science	1 a 9	Variable respuesta
Rad Inc.	Radiación incidente media diaria de registro horario	Kw/m ²	Variable ambiental
Rend.	Rendimiento de la parcela	Kg./ha.	Variable respuesta

S50	Unidades térmicas acumuladas desde la siembra hasta el día que se registra que el 50% de los individuos de la parcela tiene estigmas visibles (temperatura base de 10 °C y máxima posible de 30 °C) (Gilmore, 1958)	°C. día	Variable respuesta
Sev	Escala visual para evaluar severidad del herbicida en tejido vegetativo; 1=Plantas sin síntomas, 2=Plantas con amarillamiento y acortamiento de entrenudos moderado, 3=Plantas con amarillamiento y acortamiento de entrenudos intenso y 4=plantas muertas (adaptado de Bunting et al., 2004a y 2004b; Pataky et al., 2008)	1 a 4	Variable respuesta
Sev 14	Medición de severidad (Sev) a los 14 días post aplicación de herbicida (adaptado de Bunting et al., 2004a y 2004b)	1 a 4	Variable respuesta
Sev 21	Medición de severidad (Sev) a los 21 días post aplicación de herbicida (adaptado de Bunting et al., 2004a y 2004b)	1 a 4	Variable respuesta
Sev 7	Medición de severidad (Sev) a los 7 días post aplicación de herbicida (adaptado de Bunting et al., 2004a y 2004b)	1 a 4	Variable respuesta
SKLP	Del inglés "Skeletonization"; esqueletonización (sin. atrofia de espiguillas) de panoja evaluada con una escala visual y observación de frecuencia de 1 (poca esqueletonización en la parcela) a 9 (mucho esqueletonización; atrofia de espiguillas masculinas en la parcela). Protocolos internos de trabajo Bayer Crop Science	1 a 9	Variable respuesta

SLBR	Del inglés "Silk Balling Rating"; enrulamiento de estigmas dentro de las chalas evaluado con una escala visual de 1 (todos los estigmas emergidos por fuera de las chalas) a 9 (estigmas sin emerger enrulados dentro de las chalas. Protocolos internos de trabajo Bayer Crop Science	1 a 9	Variable respuesta
Subtropical 1x	Grupo de líneas endocriadas usadas como parentales de producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de programas subtropicales de la empresa Bayer Crop Science. Ciclos (sin. madurez relativa) más precoces que los subtropicales.		Criterio de clasificación
Subtropical 2x	Grupo de parentales 2 vías usados en la producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de programas subtropicales de la empresa Bayer Crop Science. Ciclos (sin. madurez relativa) más precoces que los subtropicales.		Criterio de clasificación
Te	Germoplasma templado		Criterio de clasificación
Templado 1x	Grupo de líneas endocriadas usadas como parentales de producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de programas templados la empresa Bayer Crop Science. Ciclos (sin. madurez relativa) más precoces que los subtropicales.		Criterio de clasificación
Templado 2x	Grupo de parentales 2 vías usados en la producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de maíz templado de la empresa Bayer Crop Science. Ciclos (sin. madurez relativa) más precoces que los subtropicales.		Criterio de clasificación
Tmax	Temperatura máxima diaria	°C	Variable ambiental
Tmin	Temperatura mínima diaria	°C	Variable ambiental
Tr	Germoplasma tropical y subtropical		Criterio de clasificación

Tropical 1x	Grupo de líneas endocriadas usadas como parentales de producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de maíz tropical de la empresa Bayer Crop Science Ciclos (sin. madurez relativa) más largos que los subtropicales.		Criterio de clasificación
Tropical 2x	Grupo de parentales 2 vías usados en la producción de semilla híbrida de los programas de mejoramiento de maíz tropical de la empresa Bayer Crop Science. Ciclos (sin. madurez relativa) más largos que los subtropicales.		Criterio de clasificación
TSZ	Del inglés "Tassel Size"; tamaño de panoja evaluada con una escala visual de 1 (panojas muy grandes y ramificadas) a 9 (panojas muy pequeñas sin ramificaciones). Protocolos internos de trabajo Bayer Crop Science	1 a 9	Variable respuesta

RESUMEN

Los herbicidas pertenecientes a la familia de las sulfonilureas han mostrado ser efectivos para el control químico de malezas en maíz (*Zea Mays*) en post-emergencia. Son actualmente de uso masivo en el mundo, tanto en lotes comerciales como en lotes de producción de semilla híbrida. Sin embargo, relacionado al segundo escenario, existe una gran diversidad en la tolerancia a este tipo de herbicidas en las líneas parentales tanto por causas genéticas como ambientales, presentando una restricción de su uso. Los estudios sobre variabilidad genética en maíz de la tolerancia a inhibidores de la enzima acetolactato sintetasa (ALS) (principio activo muy importante de la familia de las sulfonilureas) son, en su mayoría, en híbridos, segundas y/o terceras filiales. La relación entre el grado de susceptibilidad con diversidad de condiciones ambientales en experimentos a campo y sobre líneas parentales de origen diverso de maíz híbrido está aún menos estudiada. El objetivo general del presente trabajo fue analizar en profundidad la sintomatología causada por una formulación compuesta por foramsulfuron + Iodosulfuron metilo Sodio + Isoxadifen-etilo (Equip® WG) en diversos genotipos y ambientes para mejorar los métodos de evaluación en términos de variables respuesta y sitios de testeo. A través del trabajo se encontró i) una mayor susceptibilidad en el germoplasma subtropical y tropical frente al templado en términos de síntomas durante período vegetativo temprano, fenología y afecciones en tejido reproductivo, rendimiento y altura a floración en líneas endocriadas (1x) frente a parentales dos vías (2x); ii) un mayor componente genotípico frente al ambiental en lo que respecta a la variabilidad en la sintomatología en términos de altura y rendimiento; iii) que la sintomatología observada en tejido vegetativo a los 21 días post aplicación del herbicida estaba asociada con el rendimiento y la altura de planta a floración; iv) que una mayor humedad relativa y radiación entre los 7 y 21 días post aplicación del herbicida se relacionaron con una menor pérdida de rendimiento y disminución de la altura a floración frente al control sin aplicar. Contrariamente, el déficit de presión de vapor y la amplitud térmica en el mismo período se relacionaron de manera inversa. Estos resultados son relevantes para la selección de lugar de evaluación y el manejo agronómico durante y posterior a la aplicación.

Palabras clave: herbicidas, sulfonilureas, acetolactato sintetasa, parentales, maíz, híbrido, susceptibilidad, germoplasma, ambiente.

ABSTRACT

The Sulfonylurea herbicides have been proven effective for chemical control of weeds as a post-emergence tool in maize (*Zea Mays*). Currently, they are extensively being used not only in commercial corn but also in hybrid seed production fields. However, in relation to the second scenario, exists a huge diversity in relation to the herbicide response for different inbred parents and environments which can restrict its usage for the seed production. Studies related to the genetic variability of the tolerance to the acetolactate synthase (ALS) inhibiting herbicides (an important active principle from Sulfonylurea chemical family) were predominantly carried out in hybrids, F2 and F3 families. The relation between the susceptibility rate with the environmental conditions measured in field trials over parent lines from different backgrounds is even less known. The general objective from the present work was to analyze the symptoms caused by an ALS-inhibiting herbicide consisting of foramsulfuron + iodosulfuron + isoxadifen-ethyl (Equip®) in a diversity of genotypes and environmental conditions to improve the evaluation methods in terms of response variables and testing sites. The findings from the work were i) a higher susceptibility of the subtropical and tropical against the temperate germplasm (mainly for inbred parents compared to 2-ways parents) in terms of the symptoms observed during early vegetative stages, flowering time and reproductive tissues condition, grain yield and plant height; ii) a higher genotypic than environmental dependence of the herbicide impact on the plant height at flowering time and grain yield; iii) an association between the symptoms observed during the vegetative growth with those ones observed during reproductive phase; and iv) the radiation and relative air humidity between 7 to 21 days post spraying moment are the two main meteorological variables from the testing sites positively associated with the tolerance in terms of plant height and yield. However, vapor pressure deficit and thermal amplitude from the same period correlated in opposite manner. This is important for future assessment place selections and overall post spraying practices in seed production.

Key words: herbicides, sulfonylureas, acetolactate synthase, parent inbred, maize, hybrid, susceptibility, germplasm, environment.

Capítulo 1. Introducción general

1.1. Relevancia de los herbicidas en la producción agrícola

El control químico de malezas es una parte del proceso de producción agrícola muy importante a nivel global, cuyo valor se puede cuantificar a través de la evolución y magnitud de su mercado (Philips McDougall, 2017). Globalmente hubo un incremento muy significativo de las ventas de agroquímicos desde mitad del siglo 20 hacia la actualidad junto con el aumento de los rendimientos de los principales cultivos, siendo los herbicidas los que ocupan la mayor proporción de ventas (Oerke, 2006) (Figura 1).

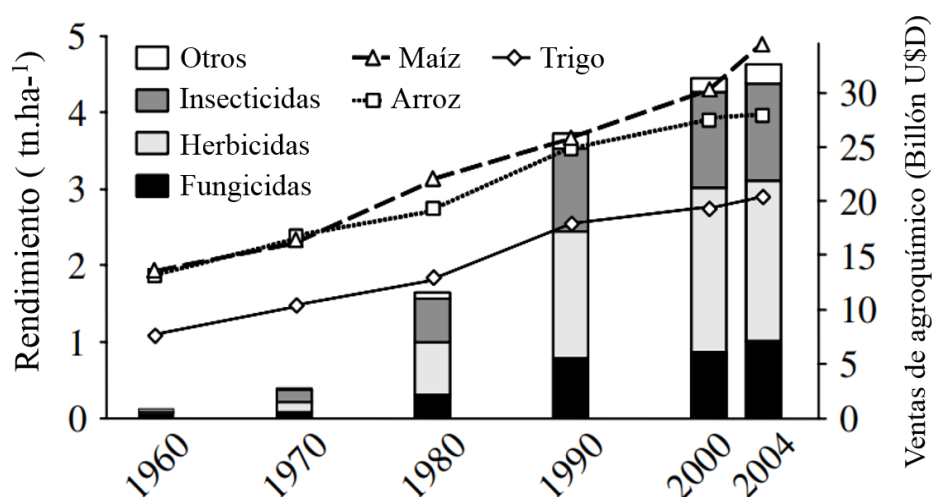


Figura 1. Evolución del rendimiento por unidad de superficie para trigo, maíz y arroz y la venta de agroquímicos para el período 1960–2004. Extraído de Oerke (2006)

Los herbicidas son una herramienta importante en el control integrado de malezas, permitiendo la reducción de pérdidas de rendimiento por competencia de recursos con el cultivo. Para maíz hay estimaciones de pérdidas potenciales causadas por las malezas de un 40% y que se han podido reducir a un 10% a nivel global, siendo este uno de los cultivos mayormente beneficiados (Oerke, 2006). En 2017 los herbicidas ya representaron el 43% del mercado global de productos para protección de cultivos estimado en 54,2 billones de dólares, correspondiéndole a Latinoamérica el 27% de ese mercado (Philips McDougall, 2017). En Argentina, los herbicidas, y principalmente el

glifosato, permitieron junto al avance y desarrollo de nuevos eventos biotecnológicos relacionados, la expansión de la siembra directa (Trigo, 2011) (Figuras 2 y 3). En el año 2017 la siembra directa alcanzó un 91% del área sembrada de Argentina (Nocelli Pac, Bolsa de Cereales & Aapresid, 2018). Para 2012 en Argentina, el 62% del mercado total de agroquímicos era el de herbicidas con un valor 1.5 billones de dólares, mientras que esa proporción se eleva al 65% si solo se considera maíz (Kleffmann Group, 2012). Junto con esto, es importante considerar que el cultivo de maíz es el segundo después de trigo en cuanto a cantidad de malezas resistentes a herbicidas, con 61 especies registradas (Heap, 2019), por lo que el desafío para el cultivo en relación con el control de malezas y la diversificación de principios activos es muy importante.

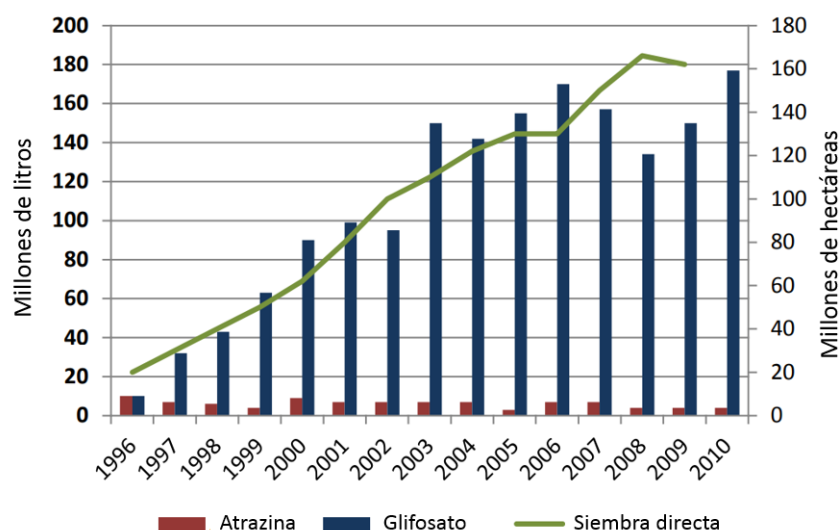


Figura 2. Evolución del volumen de atrazina y glifosato junto al área de siembra directa en Argentina. Fuente: AAPRESID y CASAFA, extraído de Trigo (2011)

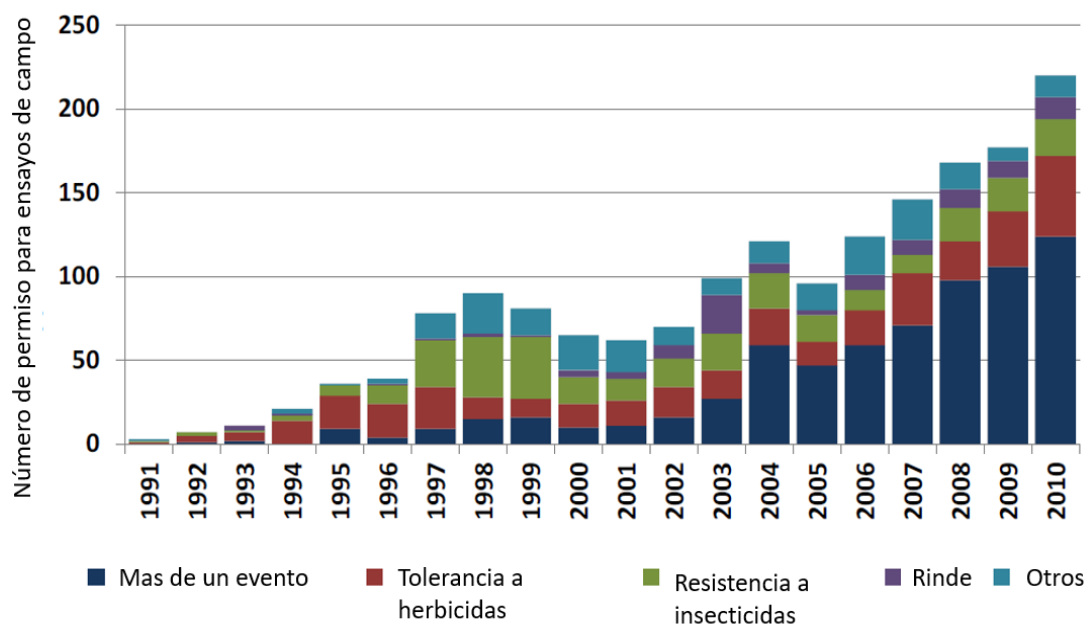


Figura 3. Evolución del número de permisos para evaluación de eventos transgénicos y no transgénicos con diferentes características en Argentina. Fuente: INASE, extraído de Trigo (2011)

De todos los grupos químicos de herbicidas, se centrará en el presente trabajo en los inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS). También se hará foco en los mecanismos de tolerancia a dicho modo de acción, así como en las características y los antecedentes relevantes relacionados a la familia de moléculas de las sulfonilureas desde el punto de vista del germoplasma y el ambiente.

1.2. Herbicidas en la producción de semilla híbrida de maíz

El manejo de malezas en cultivos de líneas endocriadas de maíz tiene mayor complejidad que su manejo en híbridos comerciales. En campos de producción de semillas híbridas (o cultivares híbridos de maíz, un canopeo integrado por líneas parentales endocriadas presenta una situación muy desventajosa en cuanto a competencia con malezas. Esto se debe fundamentalmente a la depresión por endogamia, caracterizado por características fenotípicas tales como disminución del rendimiento, aumento de susceptibilidad a enfermedades, baja altura de planta e inserción de espiga, baja cantidad de ramificaciones en las panojas, aumento de plantas sin espigas y un

reducido índice de área foliar (Shull, 1908; Jones, 1939; Good y Hallauer, 1977; Meghji et al., 1984; Saleh et al., 1993; Lourenço Nass y De Miranda Filho, 1995) (esquema ilustrativo en Figura 4).

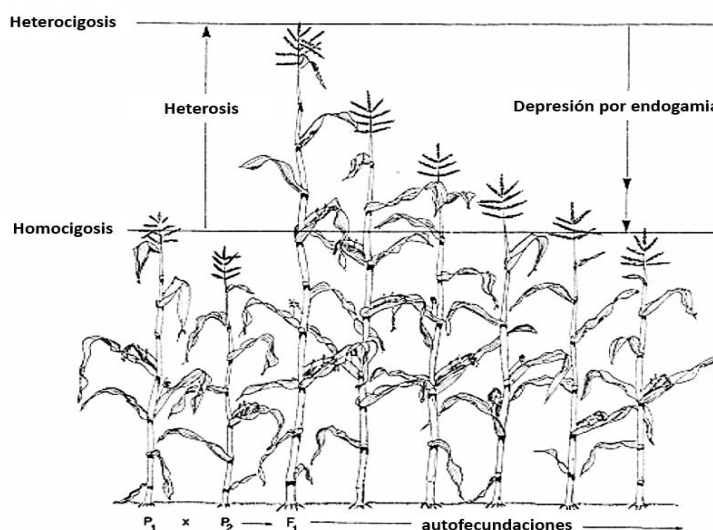


Figura 4. Esquema representando el efecto fenotípico de la endocria en maíz; P1 y P2 son los parentales que se usarían para la producción de la F1 (híbrido). Extraído de Becker p. 146 (1993)

En lotes de producción de semilla híbrida, el control químico de malezas con herbicidas inhibidores de la ALS se ve limitado si uno o ambos parentales son susceptible/s a este tipo de herbicidas. El reflejo de lo dependiente que es la industria productora de semilla híbrida al uso de este tipo de herbicidas se manifiesta en que las decisiones de avances de híbridos de estadios pre comerciales a comerciales están fundadas, entre muchos otros factores, a que los parentales de los híbridos candidatos a avanzar sean tolerantes a este grupo de herbicidas. Asimismo, la actividad semillera tiene un interés creciente de producir sustentablemente, rotando principios activos y usando los herbicidas que tengan bandas toxicológicas de menor impacto sobre la salud y el medio ambiente. Para esto, es relevante tener un conocimiento amplio con relación a las interacciones entre herbicida, genotipo y ambiente post aplicación en características específicas de la producción de semilla.

A diferencia de la producción de maíz para grano con híbridos comerciales, al abordar el impacto de un determinado principio activo en la producción de semilla híbrida, se suman variables relacionadas con la función que tiene el genotipo en el esquema productivo, es decir si éste actúa como polinizador (parental “macho”) o como receptor

de polen (parental “hembra”). De esta manera, y a modo de ejemplo, cualquier efecto no deseado del herbicida sobre atributos relacionados a la inflorescencia masculina, como la incidencia y severidad de fenómenos particulares tales como la esqueletonización de las panojas (i.e. panojas con menor número de espiguillas completamente desarrolladas) o la altura de la planta, son importantes desde el punto de vista sólo del polinizador. En este mismo sentido, una afección causada a los polinizadores podría impactar en la relación de siembra a utilizar (proporción de surcos de hembra frente a surcos del macho), aumentando la necesidad de surcos de macho para compensar la disminución de cantidad de polen por el herbicida y por lo tanto disminuyendo en el área cosechable de semilla híbrida. Contrariamente, la presencia de una anomalía como lo es el enrollamiento de estigmas dentro de las chalas o la altura de inserción de espiga son sólo relevantes desde el punto de vista del parental receptor de polen (Arisnabarreta y Solari, 2017) (Figura 5). Asimismo, efectos diferenciales en la fenología de cualquiera de los genotipos que actúan como parentales podría generar problemas de sincronización de floración entre ellos, generando esto resultados catastróficos sobre la fijación de granos en la espiga, e impactando fuertemente sobre los costos de producción de semilla híbrida. Por ello es un objetivo relevante en esta industria entender la relación entre variables específicas de la producción de semillas y su interacción con la aplicación del herbicida y el ambiente.



Figura 5. Imagen de un lote de producción de semilla híbrida de maíz con 6 surcos de línea “hembra” despanojados y 1 surco de línea “macho” (relación 6:1) (A); ejemplo de una panoja afectada por atrofia de espiguillas (esqueletonización de panoja) (B); y una espiga con enrollamiento de estigmas

1.3. Inhibidores de la ALS, mecanismos de tolerancia

El grupo de herbicidas inhibidores de la enzima acetolactato sintetasa (ALS) pertenece a los últimos grupos lanzados al mercado desde principios del siglo XXI. Este grupo de herbicidas ha sido uno de los más difundidos durante los últimos años globalmente, habiendo 56 productos registrados en el mundo (Heap, 2019). Como consecuencia de esto último, el número de especies de malezas resistentes a este grupo de herbicidas se ha incrementado muy rápidamente en los últimos 30 años (Heap, 2019) (Figura 6). Por lo cual, el entendimiento de los mecanismos de tolerancia en un cultivo modelo como el maíz, tiene especial relevancia ya que permitiría hacer un uso racional de este herbicida tanto en malezas como en otros cultivos, generando un impacto significativo en el medio ambiente.

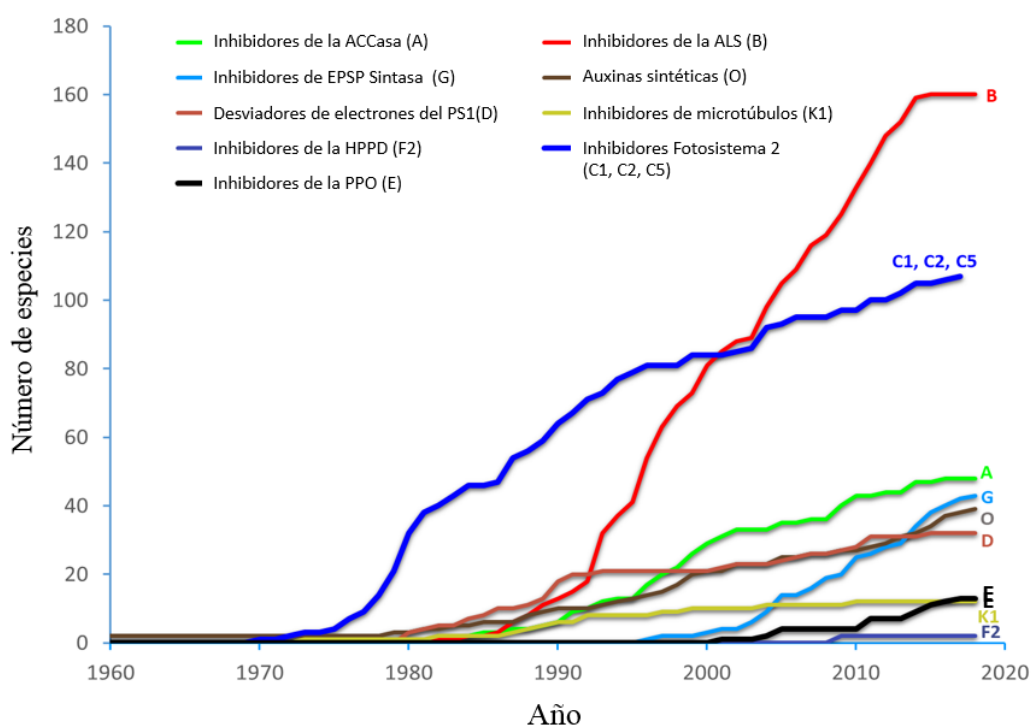


Figura 6. Número de especies malezas resistentes a los diferentes grupos de herbicidas según HRAC a través de los años. Extraído de encuesta internacional sobre malezas resistentes (Heap, 2019).

Dentro del grupo de los inhibidores de la ALS, la familia de las sulfonilureas ha tenido gran difusión en Argentina para el control de malezas en maíz en post emergencia (Tuesca, 2011). Esta expansión se dio tanto en cultivos no resistentes a glifosato, debido a la necesidad de control de malezas de hoja ancha y de hoja angosta, como en cultivos resistentes para el control de especies de hoja angosta, que incluyen biotipos resistentes a glifosato como *Sorghum halepense* (Ustarroz, 2013). Asimismo, esta familia de moléculas (ej. nicosulfuron, metsulfuron, primisulfuron, pirasulfuron, rimsulfuron, entre otras) suele presentar bandas toxicológicas verdes en sus formulaciones comerciales (Categoría IV según la Organización Mundial de la Salud, 2009), no presentando peligro bajo condiciones de uso normal, favoreciendo la masificación de su utilización bajo condiciones seguras.

Los mecanismos bioquímicos de la tolerancia estudiados mediante ^{14}C -clorsulfuron indican un rol importante en la absorción y, más aún en la translocación, como procesos diferenciales entre especies de malezas con distinto grado de tolerancia (Goatley et al., 1990). En otro trabajo con ^{14}C -rimsulfuron, donde se compararon varias especies de malezas susceptibles (entre ellas *Sorghum halepense*) y maíz tolerante, se halló una rápida metabolización por parte de este último en comparación con las malezas (Koeppel et al., 2000). Adicionalmente, otro inhibidor de la ALS como nicosulfuron, mostro que su selectividad entre especies (en una comparación entre maíz frente a dos malezas gramíneas anuales) estuvo también ligada a la metabolización a compuesto no tóxicos, mientras que la variabilidad dentro de maíz estuvo asociada más a la absorción y translocación del principio activo (Hinz y Owen, 1996). En otro estudio de la variación de la susceptibilidad intraespecífica en maíz a rimsulfuron, la hipótesis de tolerancia por absorción y detoxificación (metabolización) diferencial del principio activo fue hallada como la más robusta y no así tanto por translocación o actividad de la ALS (Fuentes y Leroux, 2003). En posteriores experimentos con ^{14}C -foramsulfuron en híbridos de maíz se ha observado que la tolerancia a esta molécula está asociada al proceso de detoxificación o metabolización, no habiendo diferencias en cuanto a la absorción entre híbridos tolerantes y sensibles (Bunting et al., 2004b). No obstante, los autores encontraron que el grado de susceptibilidad depende no solo de la translocación y metabolización del principio activo, sino también de la absorción, translocación y metabolización del antídoto que integra la formulación comercial (Isoxadifen-etilo). En el mismo trabajo se observó que esta molécula incrementó la metabolización de

foramsulfuron a las 24 horas post aplicación, pero sin diferencias a las 4 horas, indicando un retraso en la absorción y/o translocación de Isoxadifen-etilo comparado al principio activo (Bunting et al., 2004b). Esto último plantea que ciertas condiciones ambientales en el corto plazo post aplicación podrían tener efectos proporcionalmente diferentes en la absorción y/o translocación entre el principio activo y el antídoto, siendo específico de la molécula. Adicionalmente, se ha registrado relación entre el impacto en el rendimiento en líneas de maíz por sensibilidad a foramsulfuron con la alteración de la concentración proteínas solubles en una fase inicial (48 horas) y una fase secundaria (21 días) habiendo correlación entre ambas características (Brankov et al., 2014; Dragicevic et al., 2017), lo que plantea existencia de cuestiones asociadas a los procesos de absorción y translocación (respuesta inicial al momento de aplicación) y la metabolización / detoxificación (respuesta de los días posteriores a la aplicación).

En relación con la herencia del carácter, en maíz se ha encontrado una segregación de la susceptibilidad correspondiente a un locus simple recesivo o loci ligados para foramsulfuron (Pataky et al., 2006; Nordby et al., 2008), nicosulfuron, primisulfuron y thifensulfuron (Green y Ulrich, 1993; Willams et al., 2005) tanto en híbridos como en líneas puras, encontrándose oportunidad de mejorar la tolerancia rápidamente con parentales resistentes. Lo mismo se ha hallado para primisulfuron con estudios en plántulas de líneas endocriadas de maíz (Harms et al., 1990). Años más tarde se encontró un efecto de la condición alélica de dominancia intermedia o codominancia para foramsulfuron (Pataky et al., 2008) identificados dentro de los genotipos tolerantes. Los trabajos de Pataky et al. (2008) y Nordby et al. (2008) fueron realizados estudiando la segregación de los caracteres considerados para determinar susceptibilidad en segundas (F₂) y terceras (F₃) filiales respectivamente, utilizadas como poblaciones de mapeo. No obstante, es valioso el análisis sobre líneas endocriadas homocigotas y primeras filiales (F₁) de origen diverso que muestren comportamiento diferencial y de valores intermedios en cuanto a la susceptibilidad. El hallazgo de distintos grados de variabilidad entre los grupos sumaría evidencia a la hipótesis de que más de un gen podría intervenir en el mecanismo intraespecífico detrás de los diferentes niveles de tolerancia. El tratamiento simplificado de la herencia de manera cualitativa (locus simple recesivo = susceptible) tiene una extraordinaria utilidad; siendo un ejemplo la diferenciación entre genotipos de maíz homocigotas y heterocigotas resistentes, con el uso de su polen sometido a clorsulfuron en un probador susceptible conocido y observando la segregación de esa

progenie (Frascaroli et al., 2000). Sin embargo, este tipo de prácticas que actúan sobre la fase haploide solo surten efecto (capacidad de seleccionar) sobre el gen mayor que relacionados a la metabolización del herbicida, pudiendo escapar genes menores de carácter cuantitativo relacionados a distintos mecanismos de tolerancia de la especie que definen distintos niveles y tipos de sintomatología.

Foramsulfuron, como otras sulfonilureas, están incluidas dentro del grupo de moléculas metabolizadas por la familia de enzimas citocromo-P450 mono oxigenasa, y se ha relacionado que la actividad de los antidotos en las formulaciones comerciales se da sobre esta familia de enzimas (Barret, 1995; Kreuz et al., 1996; Robineau, 1998; Hatzios & Burgos, 2004; Siminsky et al., 2006; Riechers et al., 2010). Relacionado a esto, se han encontrado QTLs (del inglés quantitative trait loci) en poblaciones de maíz derivadas de cruza susceptibles $\times$ tolerantes, ligados a la susceptibilidad a primisulfuron, nicosulfuron y foramsulfuron que mapean en la misma región del cromosoma 5S donde ha sido secuenciado un gen codificante para el citocromo P450 (Nordby et al., 2008).

Hasta lo aquí expuesto se puede apreciar la gran cantidad de trabajos relacionados con la susceptibilidad a la familia de las sulfonilureas en distintas especies, con aproximaciones clásicas y exitosas en los diferentes niveles de análisis (i.e. pruebas de los distintos principios activos con carbono-14, medición de dinámica de proteínas solubles, pruebas de progenie para estudiar heredabilidad del carácter, mapeo de poblaciones segregantes con QTLs, entre otras). La integración de estos conceptos es lo que lleva a analizar la variabilidad de la sintomatología en diversos parentales de maíz híbrido en la sección 3.1, junto con la interacción en distintos ambientes, y luego analizando en la sección 3.2 cómo las variables meteorológicas podrían explicar parte de dicha variabilidad a la respuesta del herbicida. Para tal fin se analizarán características relacionadas al crecimiento vegetativo y reproductivo, así como el grado de dependencia de ellas entre sí y como es su interacción con variables ambientales, tales como radiación, temperatura y humedad relativa, con la expresión de la tolerancia/susceptibilidad a Equip® cuya formulación está compuesta por foramsulfuron, Iodosulfuron metilo Sodio, y Isoxadifen-etilo en un grupo de líneas y parentales 2 vías usados para la generación de híbridos simples y 3 o 4 vías de diferentes fuentes de origen de la empresa Bayer Crop Science. La finalidad del trabajo reside en investigar en función de estos conceptos integrados y en este marco, como se relacionan el germoplasma y el ambiente post aplicación con el manejo del herbicida en la producción de semilla híbrida de maíz.

1.4. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental

Los síntomas de fitotoxicidad en el cultivo de maíz relacionado al uso de principios activos de la familia de las sulfonilureas, como nicosulfuron, rimsulfuron, primisulfuron o Iodosulfuron + foramsulfuron sobre germoplasma sensible, se pueden observar a los pocos días de la aplicación a través de clorosis en el tejido foliar joven, detención del crecimiento y acortamiento de entrenudos (Kidnie, 1998; Boerboom, 2005; Shumway y Scott, 2006). En híbridos de maíz dulce se encontró gran variabilidad genotípica a la respuesta de aplicaciones de nicosulfuron y primisulfuron en tejido vegetativo, así como en el rendimiento medido en peso de espigas comercializables por superficie y la altura final (Grey et al., 2000). En otro trabajo realizado sobre híbridos de maíz dulce se encontró una respuesta cuadrática del rendimiento en grano a dosis crecientes de nicosulfuron con gran variación entre años y entre genotipos (Morton y Harvey, 1992). A su vez, existen evidencias de problemas de cuaje de granos, reducciones del rendimiento y malformación de espigas, dependiendo del momento de aplicación (Bunting et al., 2004a).

Específicamente en la producción de semilla híbrida, se ha encontrado en un grupo de 20 líneas de maíz susceptibles, una reducción en la altura de la planta y de la altura de inserción de la espiga que ha limitado el uso de nicosulfuron, primisulfuron y rimsulfuron (Stefanovic et al., 2004 y 2010). Sumado a esto, la limitación del uso de herbicidas de la familia de las sulfonilureas por la susceptibilidad del germoplasma ya ha sido reportada en relación a sus efectos no solo sobre características como altura y rendimiento, sino también sobre características específicas como tamaño, esqueletonización y cantidad de ramificaciones de las panojas y enrollamiento de los estigmas dentro de las chalas (Nielsen, 2000; Reising-Rechner et al., 2014; Dragicevic, 2017). Estas variables son claves para la caracterización de líneas parentales de maíz híbrido en la industria de semilla y muestran una clara dependencia genética como ambiental (Arisnabarreta y Solari, 2017). Por lo tanto, el conocimiento, no sólo del impacto de un herbicida sobre una variable determinada sino de la relación entre ellas, es de mucho valor y plantea la necesidad de su caracterización en la industria de semillas.

1.5. Condiciones meteorológicas post aplicación del herbicida y su relación con la sintomatología

Existe una gran cantidad de conocimiento empírico, como bibliografía científica respecto a la relación entre el ambiente post aplicación con el grado de sensibilidad observada a campo de los distintos herbicidas, medido esto sobre la efectividad del control sobre diversas especies maleza (blanco) como frente a la tolerancia del cultivo no blanco. Este balance determinaría el éxito de un determinado producto pero que resultan válidas y útiles para el entendimiento de las variables ambientales que afectan la susceptibilidad al herbicida.

Desde el punto de vista de los trabajos realizados con foco en la eficacia de herbicidas, se encontró una mayor susceptibilidad con menores temperaturas post aplicación en *Abutilon theophrasti* Medic con un inhibidor de la ALS como thifensulfuron (Zhao et al., 1990). Opuestamente, en el caso de un herbicida inhibidor de la enzima HPPD (p-hidroxifenil-piruvato-deshidrogenasa) como mesotrione, se encontró que la actividad foliar fue influenciada por la temperatura post aplicación, pero cuyo aumento se correlacionó con menor susceptibilidad, mientras que mayores humedades relativas aumentaron la susceptibilidad en 5 especies de malezas, siendo la magnitud de los efectos dependientes de la especie (Johnson y Young, 2002). Por otro lado, se ha encontrado que herbicidas como cletodim, tralkoxydim (ciclohexanodionas), fenoxaprop-P y quizalafop (ariloxifenoxipropionatos) aplicados sobre avena y cebada disminuyeron su biomasa proporcionalmente en mayor magnitud con ausencia de radiación ultravioleta (UV) en las horas posteriores a la aplicación cuando se lo comparó con un tratamiento de exposición UV de 4 horas post aplicación, mostrando la gran inestabilidad de este tipo de moléculas frente a este factor (McMullan, 1996). Contrariamente con glifosato, se encontró que su eficacia de control disminuye en ausencia de luz en *Abutilon theophrasti* Medic (Aaron, 2004).

En trabajos combinados con malezas como *Brachiaria platyphylla* y maíz híbrido, donde se evaluaron combinadamente temperatura y radiación con nicosulfuron, se ha encontrado que éste se translocó al vástago y se metabolizó más rápido con mayores temperaturas e irradiancia durante las 72 horas post aplicación tanto en la maleza como y en el cultivo (Gallaher, 1999). Adicionalmente, en otro trabajo de evaluación

simultanea de maíz híbrido y diferentes malezas sensibles como *Solanum nigrum*, *S. halapense*, *D. sanguinalis*, *E. crus-galli*, *Chenopodium album* y *Amaranthus retroflexus* con aplicaciones de rimsulfuron, se halló que el maíz metabolizó rápidamente la molécula frente a las malezas y que la temperatura tuvo un rol importante en el cultivo, disminuyendo su vida media en el vástago y la raíz al aumentar de 10 a 30 °C en las horas posteriores a la aplicación (Koepe, 2000). En relación con trabajos enfocados exclusivamente en la tolerancia del cultivo, se ha hallado una mayor pérdida de materia seca a los 14 días posteriores a la aplicación de rimsulfuron frente al control a medida que aumenta la temperatura y la humedad relativa para híbridos de maíz, así como una triple interacción genotipo x Temperatura x Humedad Relativa (Fuentes y Leroux, 2002). En trabajos recientes se observó un mayor efecto de foramsulfuron (entre varios herbicidas evaluados) sobre *Eleusine indica* con mayores valores de déficit de presión de vapor cuando el cultivo tiene adecuada disponibilidad hídrica (Shekoofa et al., 2020).

En resumen, se puede apreciar una serie de trabajos de estudio sobre herbicidas inhibidores de la ALS donde ponderan el efecto de variables ambientales sobre el cultivo y la maleza blanco, así como un único antecedente focalizado exclusivamente en el cultivo. Asimismo, estos se mencionan a la radiación, a la temperatura y a la humedad relativa como factores importantes en relación con el impacto del herbicida en genotipos con algún grado de susceptibilidad. Finalmente, como valor adicional se desprende el valor de considerar al déficit de presión de vapor, combinando temperatura y humedad relativa, como variable adicional de interés en un marco de adecuada disponibilidad hídrica edáfica.

1.6. Objetivos e hipótesis de trabajo

El **objetivo general** de esta tesis es estudiar características relacionadas al crecimiento vegetativo y reproductivo en líneas endocriadas y parentales 2-vías utilizados en la producción de semilla híbrida y su interacción con diferentes ambientes con la aplicación en post emergencia de un herbicida del grupo de inhibidores de la ALS.

La **hipótesis general** es que existe una menor susceptibilidad al herbicida en germoplasma 2 vías que en las líneas puras, pero con diversidad de su respuesta dentro de cada uno de estos grupos según su grupo de madurez y origen (Tropical, Subtropical

o Templado), y que dicha respuesta se encuentra condicionada por variables ambientales post aplicación como la temperatura, la radiación, la humedad relativa y el déficit de presión de vapor.

Los **objetivos específicos** que se desprenden son (i) analizar la respuesta en tejido vegetativo, la fenología, afecciones en órganos reproductivos, la altura de planta a floración y el rendimiento frente a la aplicación del herbicida en los distintos genotipos y ambientes de evaluación, (ii) estudiar la correlación de la respuesta entre variables vegetativas y reproductivas, y (iii) profundizar acerca de que variables ambientales tienen mayor impacto en la respuesta a la aplicación del herbicida en los distintos parentales de maíz híbrido.

Las **hipótesis particulares** que se desprenden de estos objetivos específicos son que (i) hay distinta respuesta al herbicida con relación a las características vegetativas y reproductivas exploradas para los distintos genotipos y ambientes, (ii) existe una asociación entre el mayor daño foliar observado en el período post aplicación, con una menor altura de planta a floración y el rendimiento, y (iii) existe mayor probabilidad de hallar impacto en tejido vegetativo y órganos reproductivos ante condiciones de menor humedad relativa, mayor déficit de presión de vapor, mayor amplitud térmica y menor radiación durante los 21 días posteriores a la aplicación del herbicida

Capítulo 2. Materiales y métodos

2.1. Descripción general de los experimentos

Con el fin de llevar a cabo los objetivos planteados, el ensayo se llevó a cabo en 18 ambientes dados por distintas fechas de siembra y localidades del país, desde la provincia de Catamarca hasta el sur de la provincia de Buenos Aires, con el fin de explorar un amplio rango de variabilidad ambiental. Los datos obtenidos en la presente tesis fueron recolectados en experimentos conducidos por el área de Investigación para la Producción de Bayer Crop Science de Argentina. Se realizaron en cuatro campañas agrícolas desde 2006-2007 hasta la campaña 2009-2010, según se detalla en la Tabla 1 donde se agrupan las variables evaluadas respecto a severidad post aplicación, Fenología, Rendimiento y Altura de planta. Cabe aclarar que al mencionar “notas de severidad post aplicación” en todos los análisis y discusiones del trabajo, se hace referencia específicamente a notas de evaluación de daño en tejido vegetativo causado por el herbicida según la escala detallada en la Figura 9 de la sección 2.3.1.

Tabla 1. Detalle general sobre los ambientes explorados, germoplasma, y variables evaluadas en los experimentos conducidos para el proyecto. Tr: germoplasma subtropical/tropical, Te: germoplasma templado. Sev 7, Sev 14 y Sev 21 refieren a las notas de severidad medidas a los 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida.

Campaña agrícola	Información general sobre el ambiente de evaluación					Tipo de germoplasma evaluado	Información general de tipo de variable evaluada			
	Localidad, Provincia	Fecha de siembra	Altitud	Latitud	Longitud		Severidad post aplicación	Fenología	Rendimiento	Altura de planta
2006-2007	Puerta Grande, Catamarca	29-Jul	405	-27.9	-65.4	Tr	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Quines, San Luis	17-Ago	475	-32.2	-65.9	Tr + Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Rojas, Buenos Aires	21-Oct	72	-34.2	-60.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Fernandez, Santiago del Estero	29-Ago	154	-27.9	-63.9	Tr	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Carmen, Santa Fé	21-Oct	113	-33.7	-61.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Carmen, Santa Fé	11-Sep	113	-33.7	-61.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
2007-2008	Puerta Grande, Catamarca	2-Ago	405	-27.9	-65.4	Tr	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Carmen, Santa Fé	22-Sep	113	-33.7	-61.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Villa Dolores, Córdoba	6-Sep	442	-31.8	-65.4	Tr + Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
	Villalonga, Buenos Aires	11-Oct	442	-31.8	-65.4	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	Si	Si
2008-2009	Puerta Grande, Catamarca	1-Ago	405	-27.9	-65.4	Tr	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Villa Dolores, Córdoba	31-Ago	442	-31.8	-65.4	Tr + Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Rojas, Buenos Aires	6-Sep	72	-34.2	-60.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Villalonga, Buenos Aires	21-Oct	442	-31.8	-65.4	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
2009-2010	Puerta Grande, Catamarca	28-Jul	405	-27.9	-65.4	Tr	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Villa Dolores, Córdoba	2-Sep	442	-31.8	-65.4	Tr + Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Rojas, Buenos Aires	12-Sep	72	-34.2	-60.9	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No
	Guamini, Buenos Aires	14-Oct	182	-37.1	-61.7	Te	Sev 7, Sev 14, Sev 21	Si	No	No

El germoplasma evaluado comprendió diferentes parentales usados para la producción de semilla de la empresa Bayer, clasificándose, por un lado, en función a su programa / madurez relativa en; Templados (origen: Argentina, Sudáfrica y Estados Unidos), Subtropicales (origen: Brasil, Argentina y Sudáfrica) o Tropicales (origen: México, Brasil, Tailandia y Filipinas), y por otro lado, por su conformación; 1x - material simple de una vía o material 2x que corresponden a una F₁ relacionados a la producción de híbridos 3 vías o 4 vías que por lo tanto presentan cierto grado de heterosis (entendida bajo la definición de Shull, 1948). Todos los grupos de genotipos incluyen materiales del grupo heterótico machos (i.e. polinizadores) y hembras (i.e. productores de semilla) desde el punto de vista del cruzamiento (Tabla 2). De acuerdo con los genotipos normalmente sembrados en cada región, los ambientes fueron clasificados como zona norte (localidades de testeo de genotipos tropicales y subtropicales; Tr), de transición (localidades de testeo de todos los tipos de germoplasma; Tr + Te) y templada (localidades de testeo de genotipos templados; Te).

Tabla 2. Detalle de los sitios de evaluación incluyendo, densidad, tamaño de parcela (largo y distanciamiento entre surcos), repeticiones y la cantidad de parentales evaluados por tipo de germoplasma.

Campaña agrícola	Características del ensayo por ambiente de evaluación					Cantidad de genotipos por grupo de germoplasma					
	Localidad, Provincia	Densidad (pl.m ²)	Largo de parcela (m.)	Distanciamiento entre surcos (cm.)	Reps.	Tropical 1x	Tropical 2x	Subtropical 1x	Subtropical 2x	Templado 1x	Templado 2x
2006-2007	Puerta Grande, Catamarca	80	7	70	3	17	21	8	10		
	Fernandez, Santiago del Estero	80	7	70	3	19	21	9	12		
	Quines, San Luis	80/90*	7	70	3	18	21	8	10	20	
	Rojas, Buenos Aires	90	7	70	3					68	15
	Carmen, Santa Fé 1	90	7	70	3					29	12
	Carmen, Santa Fé 2	90	7	70	3					30	12
2007-2008	Puerta Grande, Catamarca	80	6	70	3	25	25	14	6		
	Villa Dolores, Córdoba	80	6	70	3	43	31	31	9	50	15
	Carmen, Santa Fé	90	6	70	3					81	15
	Villalonga, Buenos Aires	90	6	70	3					80	15
2008-2009	Puerta Grande, Catamarca	80	6	70	2	17	9	7	1		
	Villa Dolores, Córdoba	80/90*	6	70	2	19	10	8	1	1	
	Rojas, Buenos Aires	90	6	52	2					23	6
	Villalonga, Buenos Aires	90	6	52	2					25	7
2009-2010	Puerta Grande, Catamarca	80	5	70	2	60	16	16	7		
	Villa Dolores, Córdoba	80/90*	5	52	2	65	15	22	3	6	
	Rojas, Buenos Aires	90	5	52	2					112	7
	Guaminí, Buenos Aires	90	5	52	2					86	7

* 80 para materiales tropicales o subtropicales y 90 para templados

2.2. Diseño experimental y descripción de los tratamientos

Los experimentos fueron llevados a cabo siguiendo un diseño en bloques completos al azar con un arreglo espacial en parcelas divididas con tres repeticiones para las campañas 2006-2007 y 2007-2008, mientras se utilizaron dos repeticiones para el resto de las temporadas. La unidad experimental consistió en parcelas de un surco con largos de 5,6 o 7,0 metros distanciados a 70 o 52 cm dependiendo del germoplasma y sitio de evaluación detallado en la Tabla 2. La densidad de siembra fue de 11 plantas (pl.) / m² y se realizó un raleo entre V2 y V3 para llegar a una densidad final de 8 pl. / m² para los genotipos tropicales o subtropicales y de 9 pl. / m² para germoplasma templado (Tabla 2). Los tratamientos resultaron de la combinación de los distintos niveles de herbicida en la parcela principal, habiendo un control sin aplicar y otro aplicado con la dosis recomendada de marbete de Equip WG® en combinación con cada genotipo parental de maíz de distinto origen en la subparcela. El herbicida aplicado consistió en una formulación en granos dispersables compuesta por foramsulfuron 30% + iodosulfuron metilo sodio 2% + isoxadifen-etilo 30% a razón de 120 g / ha + 1600 cm³ / ha de éster metílico de aceite de soja 85% (p/p) + 2 kg / ha de sulfato de amonio. El herbicida fue aplicado entre V4 y V6 (Ritchie et al., 1986) con mochila de CO₂ o cuatriciclo pulverizador (Figura 7) con un caudal constante entre 120 a 140 l / ha, pastillas de abanico plano a 30 cm por encima del canopeo y a una presión de trabajo de 2 a 2.4 bares. Todos los experimentos fueron mantenidos libres de malezas, plagas y enfermedades, sin restricciones hídricas ni nutricionales. En todos los experimentos se incluyó un testigo de conocida susceptibilidad al herbicida para verificar la eficacia de la aplicación del herbicida (Figura 8).

En cada localidad se registraron variables ambientales mediante estaciones meteorológicas automáticas (Davis® e Imetos de Pessl Instruments®) instaladas en cada localidad. Circunstancialmente, en ausencia de datos en algún lapso debido a fallas en la medición de las estaciones experimentales, se complementaron las variables ambientales con datos meteorológicos de la NASA (POWER Data Access Viewer v1.1.1) (Stackhouse et al., 2018). Para asegurar consistencia entre ambas fuentes se validaron series de datos solapadas de las estaciones meteorológicas con la base anteriormente mencionada, verificando relaciones 1:1 y coeficientes de determinación siempre mayores a 0.8.



Figura 7. Cuatriciclo pulverizador de 4 picos. El equipo se desplaza por pasillos laterales a las parcelas para la aplicación del producto.



Figura 8. Parcela experimental mostrando un genotipo muy susceptible al herbicida (testigo de susceptibilidad). Imagen de ensayo de Villalonga, Bs, As, de campaña 2009-2010.

2.3. Variables respuesta

2.3.1. Severidad del daño post aplicación en tejido vegetativo

Como método de evaluación de la sintomatología en el crecimiento vegetativo se utilizó una escala visual de severidad del daño (Sev), siendo 1 = plantas sin síntomas visibles, 2 = plantas con amarillamiento y acortamiento de entrenudos moderado, 3 = plantas con amarillamiento y acortamiento de entrenudos severo y 4 = plantas muertas (Figura 9). El registro de la sintomatología se realizó a los 7, 14 y 21 días post - aplicación del herbicida. Estos momentos de lectura se basan en trabajos previos realizados con este herbicida y cultivo (Bunting et al., 2004a y 2004b; Pataky et al., 2008). Las mediciones de sintomatología se tomaron en las parcelas aplicadas como en el tratamiento control para evitar confundir en los análisis características ocasionalmente relacionadas a efectos por endocria de los parentales.

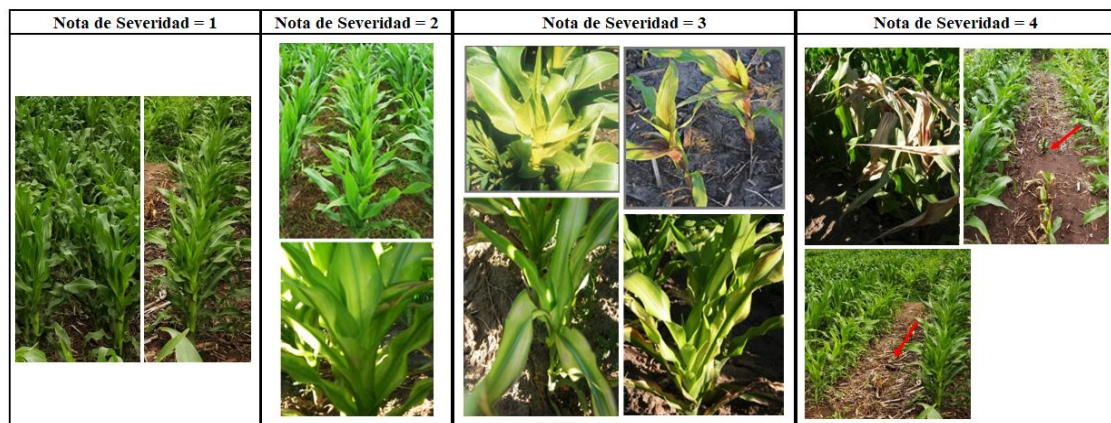


Figura 9. Escala de severidad de daños post aplicación con imágenes de ejemplo para cada nota.

2.3.2. Fenología y afecciones sobre tejido reproductivo

El momento de aparición de estigmas (S50) y antesis (P50) se registró como la fecha en que el 50 % de las plantas dentro de cada parcela comenzaron con la emisión de estigmas y polen respectivamente. El tiempo térmico acumulado ($^{\circ}\text{C}$ día) a S50 y P50 fue calculado como la sumatoria de $^{\circ}\text{C}$ diarias desde siembra a S50 o P50, usando una temperatura base de 10°C y máxima de 30°C (Gilmore, 1958).

En antesis se registró (i) la cantidad de polen emitido por las panojas (POL), alrededor de media mañana, utilizando una escala visual de 1 a 9 (1 = mucho polen; 9=poco polen) (Figura 10.a), (ii) el tamaño de las panojas (TSZ), utilizando una escala visual de 1 a 9 (1 = panojas muy grandes y ramificadas; 9 = panojas muy pequeñas sin ramificaciones, Figura 10.b) y (iii) el grado de esterilidad o atrofia de las espiguillas masculinas (i.e. esqueletonización SKLP), evaluando la proporción de las panojas sin espiguillas desarrolladas en relación a la superficie total de la panoja (Figura 10.c), y el número de plantas dentro de cada parcela que manifiesten dicho carácter en relación con el total de plantas dentro de la parcela. Los valores de intensidad y frecuencia fueron ingresados a la matriz de la Tabla 3 para consolidarlos en una escala de 1 a 9.

Tabla 3. Parámetros de referencia para tomar la variable de esqueletonización de panoja (SKLP) en función a la intensidad y la frecuencia observada en la parcela.

		Intensidad								
Frecuencia	SKLP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
	3	1	1	1	1	2	2	2	3	3
	4	1	1	1	2	2	3	3	4	4
	5	1	1	2	2	3	3	4	4	5
	6	1	1	2	3	3	4	5	5	6
	7	1	2	2	3	4	5	5	6	7
	8	1	2	3	4	4	5	6	7	8
	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

A su vez, en antesis se midió (i) la densidad de plantas por parcela para corroborar que la densidad fuese homogénea y cercana a la establecida en todas las unidades experimentales, y (ii) el apelonamiento de estigmas (SLBR), mediante una escala visual de 1 a 9 (1 = todos los estigmas emergidos - ausencia de estigmas enrulados dentro de las chalas; 9 = ausencia de estigmas emergidos – estigmas completamente enrulados dentro de las chalas) (Figura 10.d).

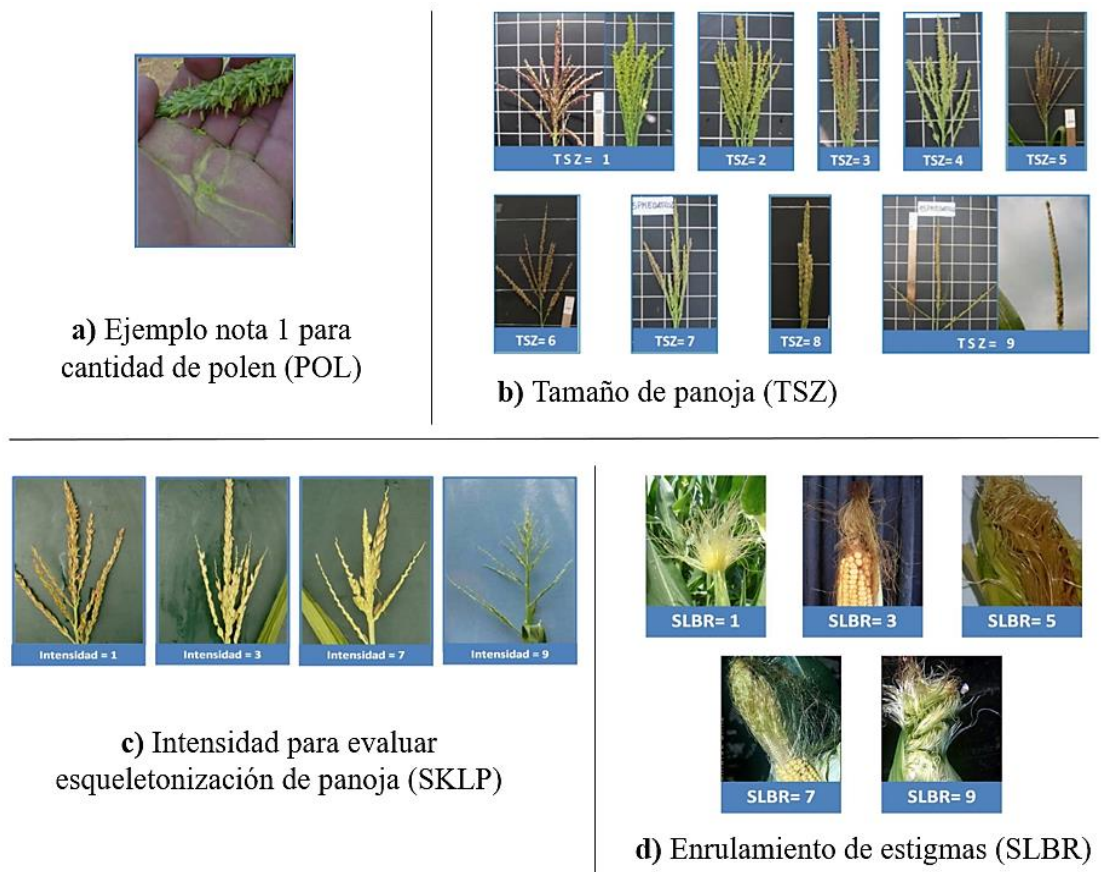


Figura 10. Escalas utilizadas para; a) Cantidad de polen (POL), b) Tamaño de panoja (TSZ), c) Intensidad de esqueletonización (SKLP) y d) enrulamiento de estigmas (SLBR).

2.3.3. Altura de planta y rendimiento

La altura de planta (Alt, cm) se registró en antesis (P50) midiendo la distancia desde la superficie del suelo hasta la punta de la ramificación principal de la panoja. A su vez, el rendimiento en grano o semilla (Rend, kg / ha) se estimó a través de la cosecha manual de todas las espigas dentro de una unidad experimental, su desgrane y medición de peso y humedad con posterior ajuste a 12.5% con una balanza Kretz Delta Digital ECO2® y

computador de análisis de granos DICKEY-John® GAC2100 para determinación de humedad. Para lograr contar con datos balanceados, la altura de planta en antesis y el rendimiento sólo se consideraron en las campañas agrícolas 2006-2007 y 2007-2008 (Tabla 1).

2.4. Variables meteorológicas post aplicación del herbicida

Las variables meteorológicas fueron medidas desde siembra a floración para el cálculo de unidades térmicas diarias y para evaluar las condiciones de los 2 días posteriores a la aplicación (condiciones inmediatas relacionados a la absorción sin coincidencia con el momento de lectura de severidad) así como los 7, 14 y 21 días post tratamiento del herbicida (condiciones relacionados a la detoxificación coincidente con los lapsos de las lecturas de severidad). La razón de los períodos evaluados fue seleccionada en función del entendimiento de los mecanismos iniciales de respuesta y los de detoxificación posteriores a la aplicación en base a los resultados de la dinámica de severidad, siguiendo aproximaciones similares a las de Brankov et al., 2014 y Dragicevic et al., 2018. Las variables meteorológicas fueron registradas con una frecuencia horaria y a partir de dichos registros se calcularon; i) la radiación incidente media diaria (Rad Inc.) en Kw/m^2 , ii) la humedad relativa promedio diaria (HR) en %, iii) la temperatura mínima absoluta (Tmin) y temperatura máxima absoluta (Tmax) diaria en °C, iv) la amplitud térmica diaria como la diferencia entre Tmax y Tmin, v) el Déficit de Presión de Vapor promedio diario (DPV) a partir de HR, Tmax y Tmin basado en el método de Allen et al., FAO, 1998 (fórmulas 12 y 19) y expresado en mmHg.

2.5. Análisis de los datos

Para analizar el grado de sintomatología de los distintos genotipos evaluados mediante las notas de severidad post aplicación, se realizó un modelo general linealizado (MGL) para variables binarias con una regresión logit (Berkson, 1953) en el cual se consideraron como efectos fijos al tratamiento del herbicida (parcela principal), tipo de germoplasma (subparcela) y su interacción, mientras que se especificaron como efectos aleatorios al

ambiente, y la combinación de año y localidad, mientras que los bloques se asignaron como sitios dentro de ambiente. Para poner a prueba las hipótesis planteadas en el capítulo 1.6 se realizó la prueba LSD de Fisher con un valor α de 0.05. Para definir una respuesta binaria se consideró a los valores de severidad 1 y 2 como los casos sin afecciones significativas, mientras que los valores de 3 y 4 se los consideró como casos de afecciones significativas. Se ejecutó el modelo para cada momento de medición de severidad por separado (i.e. a los 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida). Posteriormente, para la interpretación de la asociación entre los sitios de testeos y las diferentes notas, se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) (Benzécri, 1979) de las parcelas tratadas con el herbicida dentro de cada zona de testeo (i.e. norte (Tr), transición (Tr + Te) y templada (Te)). Como parámetros de diagnóstico del ACM se consideraron principalmente a la masa y a la inercia relativa de los valores de las notas y cada fuente de variación. Siendo la masa relativa la frecuencia relativa de determinado valor en el caso de la severidad o de un nivel de un factor frente al resto en el caso del criterio de clasificación, mientras que la inercia relativa es la suma ponderada de las distancias entre los puntos-fila y su centro de gravedad usando como ponderación a la masa de cada punto-fila relativo al total y será mayor entre más se aleje de las frecuencias de la condición de independencia.

Para las variables medidas S50, P50, SBLR, TSZ, POL, SKLP, Alt y Rend se utilizó un modelo general lineal por máxima verosimilitud restringida (RELM) de efectos mixtos, especificando al ambiente (combinación año y localidad) y la repetición como componentes aleatorios, así como al tratamiento de aplicación (parcela principal) y al tipo de germoplasma (subparcela) como variables de clasificación fijas. Para comparar el nivel de significancia de los tratamientos se realizó una prueba t de student con un valor α de 0.05. Por otro lado, las agrupaciones de germoplasma y ambientes definidas por rendimiento y altura de planta se hicieron mediante metodología de Ward (1967) graficado mediante dendogramas de 2 vías (JMP® 14.1. - SAS, 2018) con los valores relativos medios y normalizados de la parcela tratada frente al control para el germoplasma Templado por un lado y para el Tropical/Subtropical por el otro. Cuando se realizó este análisis la localidad de Quines fue excluido el germoplasma templado por tener un muy alto desbalance de genotipos.

Para la agrupación de ambientes por sus variables meteorológicas se siguió la metodología de agrupamiento Ward (Ward, 1963), considerando todas las variables

ambientales normalizadas y, a su vez, se procedió a realizar un análisis de componentes principales (SAS, 2018) para entender la correlación entre dichas variables meteorológicas con la altura y el rendimiento con y sin la aplicación del herbicida para 4 lapsos de tiempo; 2, 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida. Adicionalmente, se procedió con un análisis de correlaciones lineales múltiples (SAS, 2018) entre las mismas variables respuesta de rendimiento y altura a floración frente a cada variable meteorológica de los 4 períodos, comparando como se comportaron dichas correlaciones bajo los 2 tratamientos. Sólo se incluyeron aquellos casos donde se hallaron síntomas de fitotoxicidad post aplicación sobre tejido vegetativo mayores a 1 y menores a 4. Tanto para el análisis de componentes principales como el de correlaciones múltiples se utilizaron las medias de Alt. y Rend. obtenidas de las medias por mínimos cuadrados del modelo mixto donde se computaron todas las fuentes de variación. Los 2 pasos antes mencionados tuvieron como objetivo disminuir al máximo el desbalance de germoplasma susceptible entre localidades y, por ende, evitar sesgar el análisis.

Los análisis de los datos se realizaron mediante el programa Infostat® (Di Rienzo et al., 2008) con los paquetes basados en R (librería lme4) para los MGL para variables binarias, con JMP® 14.1. (SAS, 2018) para modelos lineales mixtos con método RELM para las variables continuas y los ACMs de severidad. Las gráficas de dendogramas y barras combinadas con líneas se hicieron con los programas TIBCO Spotfire® a partir de las salidas de JMP® 14.1.

Capítulo 3. Resultados

3.1. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental

3.1.1. Severidad del daño post aplicación en tejido vegetativo

Como control de calidad de las aplicaciones, se verificó que los testigos de conocida susceptibilidad (susceptibles y tolerantes) fueran afectados por el herbicida con valores de severidad de 4 en caso del susceptible y 1 en el tolerante. En términos generales, fue observada la aparición de sintomatología del daño típicos de los inhibidores de ALS (ej. acortamientos de entre nudos y/o clorosis) durante todos los años de testeo y en todos los experimentos conducidos, a partir de los 7 días post aplicación. Al mismo tiempo, la observación de manera objetiva e independiente mostró ser efectiva ya que en los controles sin aplicación se observaron a través de los años, en muy baja frecuencia, fenotipos con características que llevaron a clasificar parcelas con valores mayores a 1 e incluso a 2 (Figura 11). Como segundo punto, se procedió a analizar el conjunto de datos a través de un cuadro de proporciones y conteo de transiciones de evaluaciones para comprender cuál es la relación y dinámica entre las notas tomadas a los 7, 14 días y 21 días. En relación con esto, se observó una mayor proporción de casos que mantuvieron el mismo valor de severidad a los 14 y 21 días post aplicación (69 a 83%) que desde los 7 a los 14 días (11 a 67%) (Tabla 4). Por otro lado, se observó que las parcelas con sintomatología leve a los 7 días post aplicación se recuperaron en un 41% de los casos sin presencia de sintomatología a los 14 días.

Tabla 4. Cantidad y porcentaje de transiciones de notas de severidad desde la lectura hecha a los 7 días a la realizada a los 14 días y desde la relevada a los 14 días a la realizada a los 21 días post aplicación del herbicida. Fondo amarillo indica mantenimiento de la nota, verde es una disminución de la severidad y naranja un aumento en la severidad

Cantidad y porcentajes de transiciones de notas desde los 7 a los 14 días									
Cantidad de casos					Porcentaje de casos				
A:	1	2	3	4	A:	1	2	3	4
de 1	1126	363	36	0	de 1	42%	11%	8%	0%
de 2	1103	2158	139	18	de 2	41%	67%	30%	20%
de 3	463	696	288	63	de 3	17%	22%	62%	69%
de 4	0	0	0	10	de 4	0%	0%	0%	11%

Cantidad y porcentajes de transiciones de notas desde los 14 a los 21 días									
Cantidad de casos					Porcentaje de casos				
A:	1	2	3	4	A:	1	2	3	4
de 1	2374	288	27	0	de 1	69%	12%	6%	0%
de 2	1038	2052	123	5	de 2	30%	83%	29%	4%
de 3	15	146	271	27	de 3	0%	6%	64%	22%
de 4	0	0	0	91	de 4	0%	0%	0%	74%

Se halló una interacción significativa ($p < 0.05$) de tipo de germoplasma $\times$ tratamiento del herbicida para la severidad medida en los tres momentos de medición (7, 14 y 21 días) y la probabilidad de hallar el tipo sintomatología severa (>2) en el control fue casi nula por la aparición de afecciones relacionados exclusivamente al genotipo (Figura 11). Adicionalmente, se observó que los genotipos subtropicales y tropicales 1x fueron los que tuvieron la mayor probabilidad de tener sintomatología severa (≥ 3) con la aplicación del herbicida, y en menor medida los templados 1x que, asimismo, mostraron una evidente recuperación en la segunda y tercera lectura de severidad frente a la primera (Figura 11). En relación con los genotipos 2x, estos mostraron menor probabilidad de tener afecciones significativas frente a los 1x y notablemente los subtropicales y templados de este grupo tuvieron una recuperación equiparándose a los controles a los 21 días de la aplicación (probabilidad nula de hallar síntomas severos), mientras que los tropicales mostraron una probabilidad diferencial frente al control incluso en la última medición.

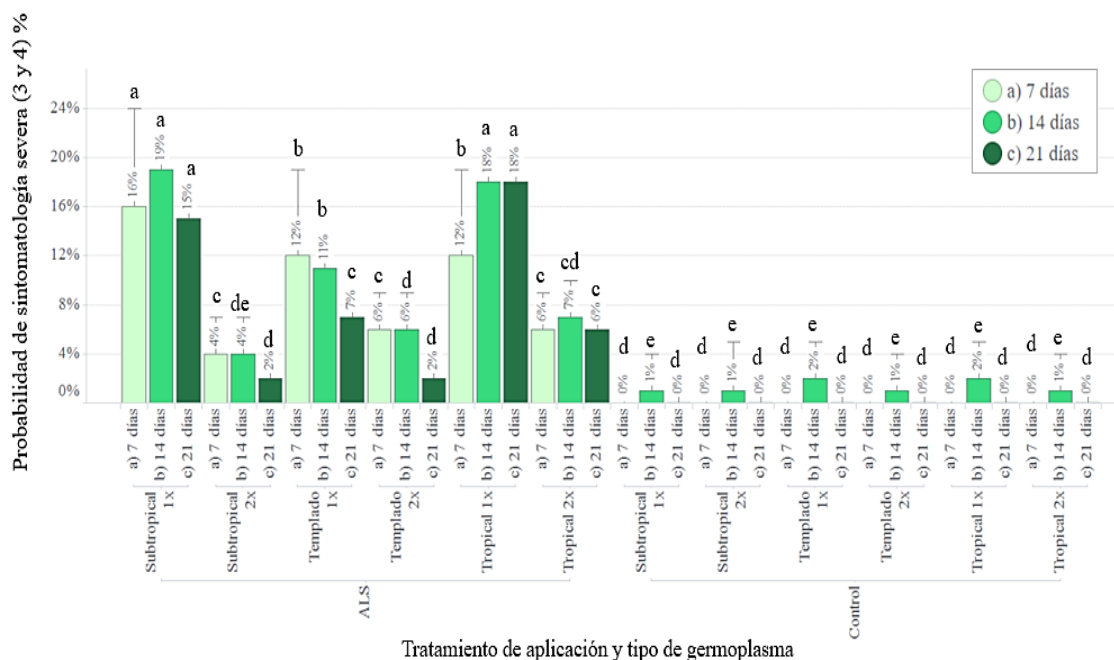


Figura 11. Probabilidad de tener valores de severidad significativos ($Sev \geq 3$) a los 7, 14 y 21 días post aplicación para los diferentes tratamientos (Control: sin aplicar, ALS: aplicación del herbicida en V4) y grupos de genotipos. Letras similares indican ausencia de diferencias significativas ($p > 0.05$) mediante prueba LSD de Fisher dentro de cada momento de aplicación.

El análisis de correspondencia múltiples (ACMs) permitió identificar la variabilidad de la severidad en función al ambiente de evaluación, organizados por zonas, norte, de transición y templada (Figuras 12, 13 y 14). Los valores de masa relativos ACM relacionados al tamaño de las figuras y especificados en las leyendas de cada gráfica, ayudan a entender la frecuencia relativa de la categoría dentro del conjunto de datos.

En lo que respecta a la zona norte de evaluación (Figura 12), se observó concentración de notas de alta severidad (3) en la localidad de Puerta Grande en 2007 y 2008, muy asociado a la nota de los 7 días y en contrastante con los años 2009 y 2010, manifestando este carácter una gran variación interanual. Asimismo, hay masas relativas semejantes entre notas moderadas (2) y severas (3), lo que indica frecuencias de notas semejantes entre sí, pero clara diferenciación en las situaciones donde se relevaron (germoplasma y ambientes de evaluación). Por otro lado, se observa una asociación entre las notas de severidad moderada en la localidad de Fernández en Santiago del Estero y Puerta Grande en 2007. A su vez, existe también una asociación entre las notas de los 14 y 21 días post aplicación con valores 1, muy ligadas a los genotipos 2x contrastantes con la de los 7

días. Es importante destacar que a la relación de la severidad causada por el herbicida con el germoplasma (también analizado en la Figura 11), se le suma un componente relacionado al sitio de testeo en los mismos rangos de aporte de variabilidad; un ejemplo para observar esto es alta frecuencia de notas “1” no solo asociados a genotipos tolerantes 2x y a notas tardías por recuperación, sino que también a condiciones particulares de Puerta Grande en 2010 (Figura 12).

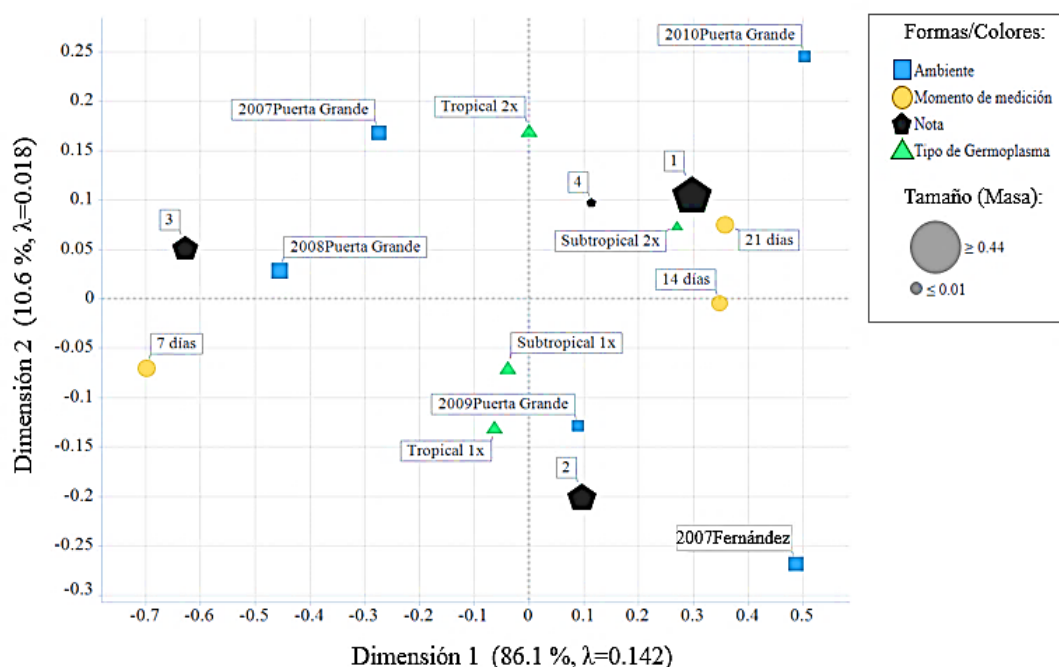


Figura 12. ACM para la zona de evaluación Norte, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.

En lo que respecta a la zona de transición (Figura 13), se observa una relación entre las notas severas con el momento de 7 días de evaluación, contrastante con las notas de los 14 y 21 días asociadas menor severidad por lo que la dinámica de recuperación coincidente con lo detallado en la Tabla 4. Asimismo, se observa una asociación entre las notas 1 con sitios específicos como 2010VillaDolores contrastando con el mismo lugar en otro año, como el caso de 2009VillaDolores con mayor asociación a notas 3, lo que refuerza la necesidad del entendimiento del componente ambiental asociado a los diferentes años de evaluación diferencia de la zona norte, en la zona de transición hay una mayor masa relativa en la nota 2 frente a la 3, indicando menores afecciones

generales en esta zona relacionado al tipo de germoplasma menos susceptible (inclusión de genotipos templados) y reforzando la asociación con el germoplasma 1x tropical y subtropical de las notas más altas de la Figura 12.

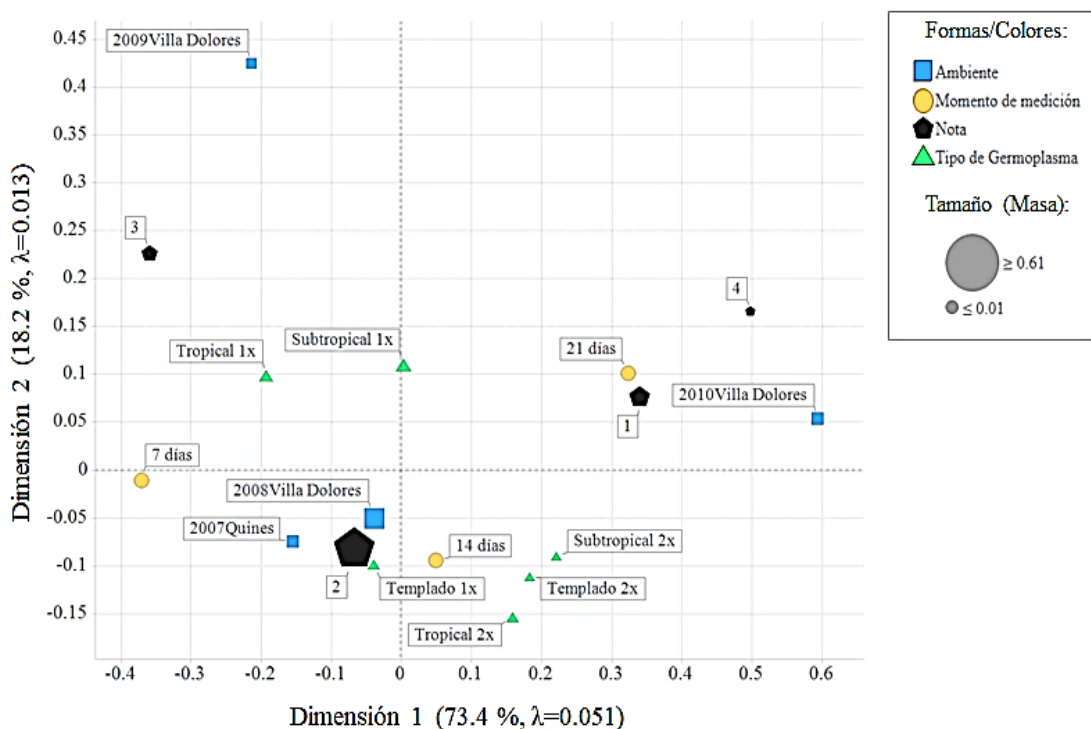


Figura 13. ACM para la zona de evaluación de transición, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.

Por último, en lo que respecta a la zona templada de testeo (Figura 14), se observó que la masa relativa de notas (frecuencia relativa al total) se concentró en sintomatología moderada (2) y leve (1) con gran parte de la variabilidad no asociada al germoplasma o al sitio de evaluación. La limitada relación con el sitio de evaluación y la nota que se observa está dada por correspondencia entre 2008Villalonga y 2008Carmen1 con notas de severidad 2 mayor que frente a las notas 1. Asimismo, se encontró menor variabilidad general producto de la ausencia de sintomatología severa ($Sev \geq 3$) en germoplasma templado.

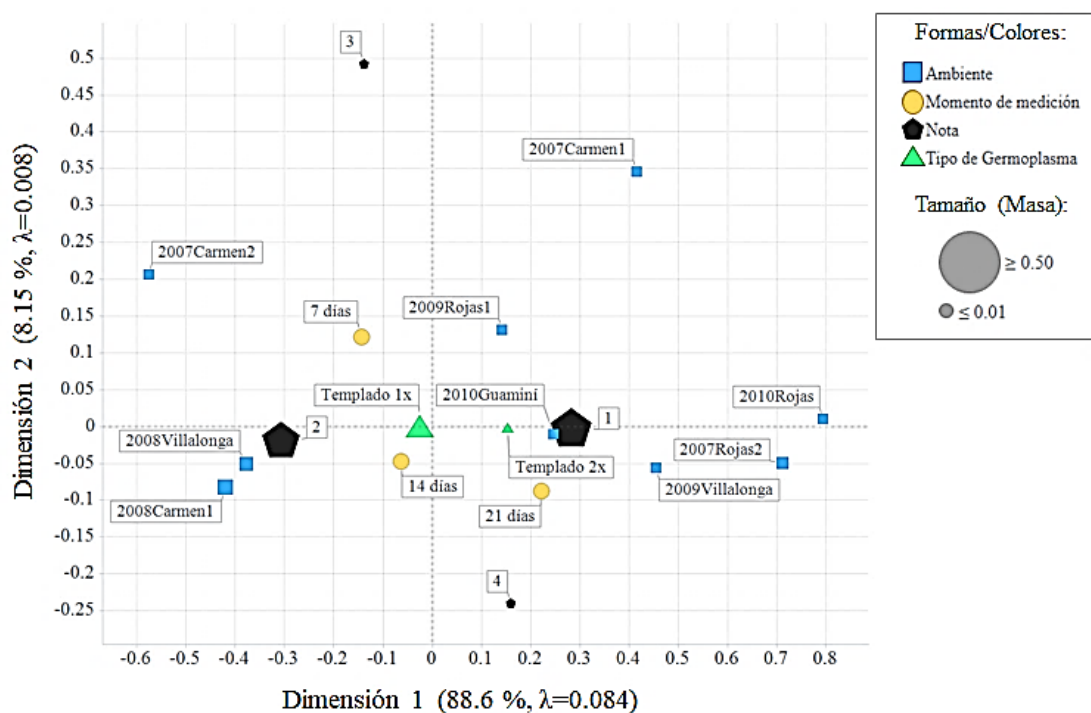


Figura 14. ACM para la zona de evaluación Templada, representando los criterios de clasificación en diferentes combinaciones de formas y colores (cuadrados azules = Ambiente, Círculos amarillo = Momento de medición, Pentágonos negros = Nota y triángulos verdes = tipo de germoplasma), el tamaño representa la Masa relativa del valor.

3.1.2. Fenología y afecciones sobre características reproductivas

En relación con el impacto del herbicida sobre la fenología y características reproductivas, es importante dividir el análisis en relación con características de importancia para un parental que actúa como receptor (i.e. S50 y SLBR) o como emisor de polen (i.e. P50, POL, SKLP y TSZ).

Se halló una interacción significativa entre el herbicida y el tipo de germoplasma (valor- $p < 0.0001$) para las unidades térmicas acumuladas hasta que la parcela alcanzó el 50% de plantas con estigmas visibles (S50) (Figura 15).

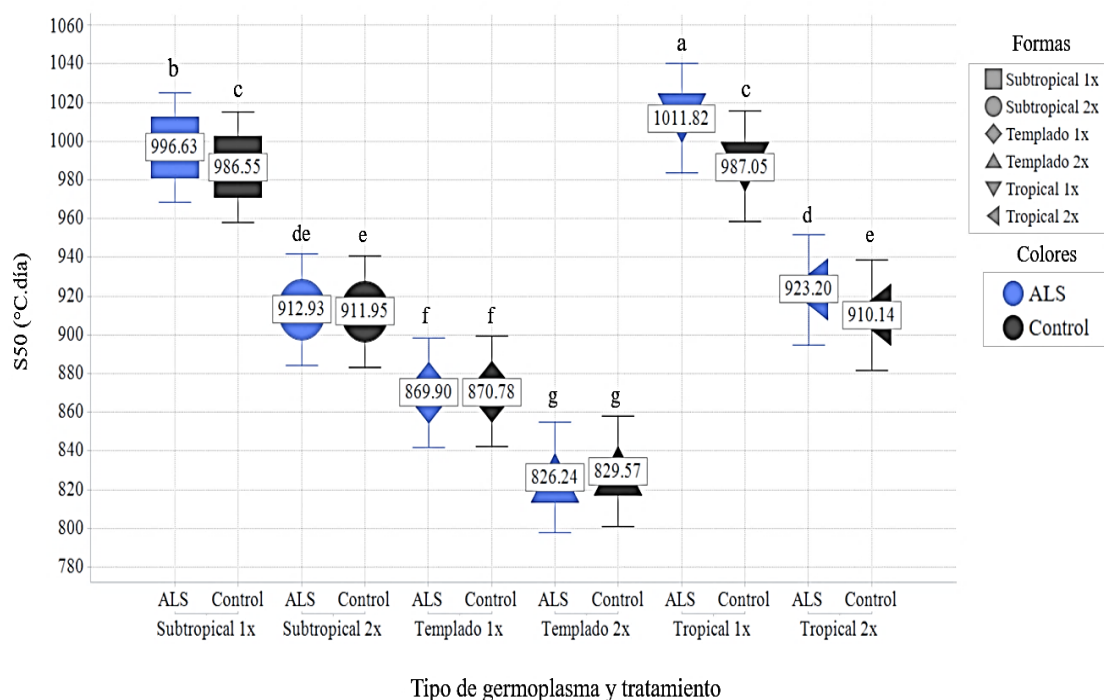


Figura 15. Unidades térmicas acumuladas a 50% de floración femenina (S50) para cada combinación de tipo de germoplasma y tratamiento. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).

Si bien la aplicación con el herbicida provocó una demora de 10 a 20 °C.días al momento en el que se llega a 50% de emisión de estigmas en los genotipos subtropicales 1x y tropicales 1 y 2x, estas diferencias no son significativas en términos agronómicos. Por otro lado, no se observó un cambio significativo en los genotipos subtropicales 2x, templados 1x, y templados 2x (Figura 15). La respuesta de los genotipos subtropicales 1x y de los tropicales 1 y 2x, se condice con lo hallado previamente con la mayor proporción de notas severas frente a la aplicación del herbicida (Figura 11). Sin embargo, los genotipos tropicales 2x, si bien mostraron una sintomatología en el tejido foliar menor que la de los genotipos templados 1x, cuando se les aplicó el herbicida manifestaron diferencias significativas en el S50 con la aplicación mientras que los templados no la tuvieron (Figura 15).

Al analizar el enrulamiento de estigmas (SLBR), no se observaron diferencias significativas entre el control y el tratamiento aplicado con herbicida ni en interacción con el germoplasma, hallándose sólo diferencias relacionadas exclusivamente al germoplasma, observándose que los genotipos subtropicales 1x tuvieron mayor

incidencia frente al resto (valor-p 0.05) (Figura 15). Cabe destacar que el ambiente contribuyó a más del 30% de la variabilidad de SBLR (Figura 16).

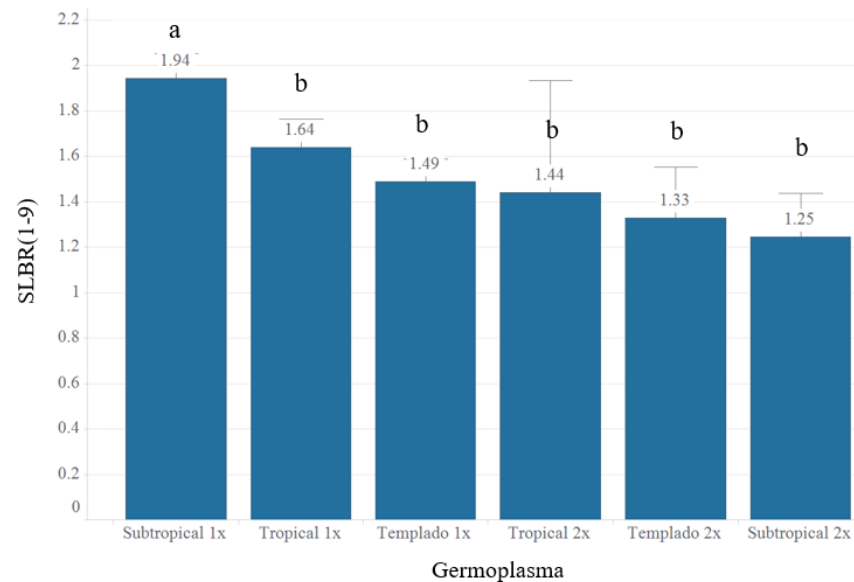


Figura 16. Enrulamiento de estigmas (SLBR) para los diferentes grupos de germoplasma, Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).

Con relación al tiempo térmico acumulado a antesis (P50) se encontró una interacción significativa entre el herbicida y el tipo de germoplasma ($p < 0.0001$) (Figura 17).

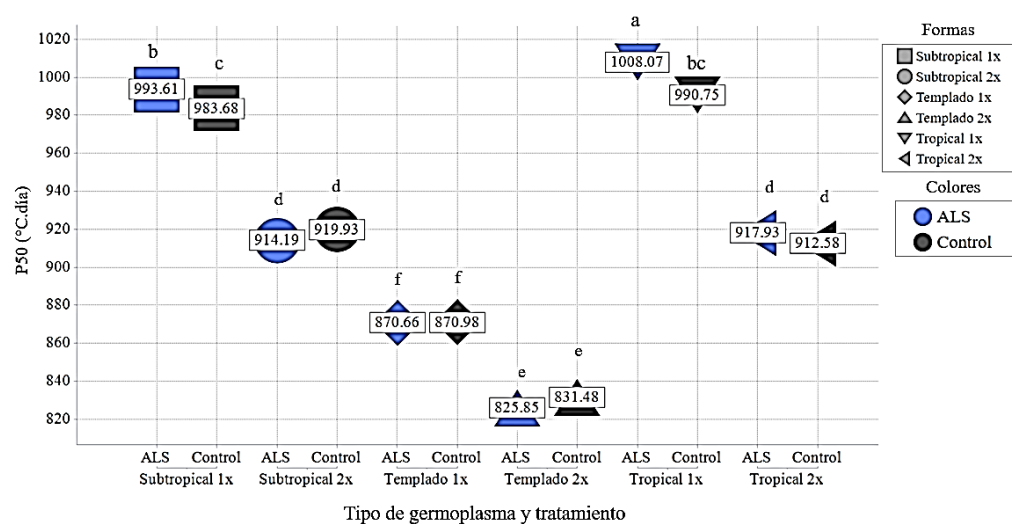


Figura 17. Unidades térmicas acumuladas a 50% de floración masculina (P50) para cada combinación de tipo de germoplasma y tratamiento. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

El herbicida demoró el momento en el que se llega a 50% de emisión de polen en los genotipos subtropicales 1x y tropicales 1x coincidente con la respuesta observada en la evaluación de severidad en período vegetativo (Figura 11) y también en línea con lo observado en S50 (Figura 15) a excepción de los genotipos tropicales 2x que, en cambio, no mostraron diferencias con la aplicación para P50 y sí para S50. Como fuera mencionado anteriormente para P50, el tratamiento de herbicida no afectó de forma significativa en términos agronómicos el momento de antesis.

La cantidad de polen (POL) no fue afectada significativamente ($p > 0.05$) producto de la aplicación del herbicida, mientras que sí hubo un efecto significativo por el germoplasma (Valor- $p < 0.05$) (Figura 18).

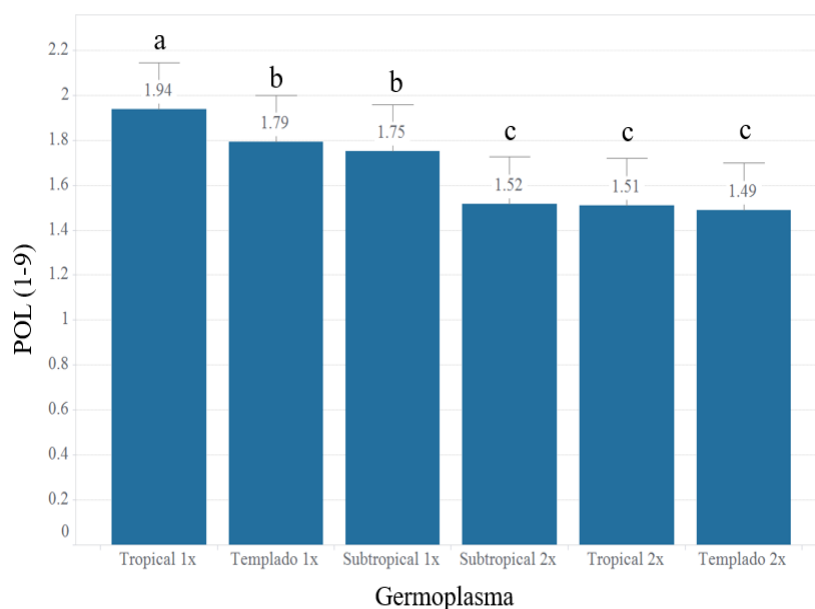


Figura 18. Cantidad de polen (POL) para los diferentes grupos de germoplasma, Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).

Contrariamente, tanto TSZ como SKLP fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) por el tratamiento de aplicación del herbicida, así como por el germoplasma (Figura 19 y 20), pero no se observó una interacción significativa entre estas fuentes de variación (Valor- $p > 0.05$). El herbicida produjo una disminución del tamaño (Figura 19) y aumento significativo de la eskeletonización de las panojas (Figura 20).

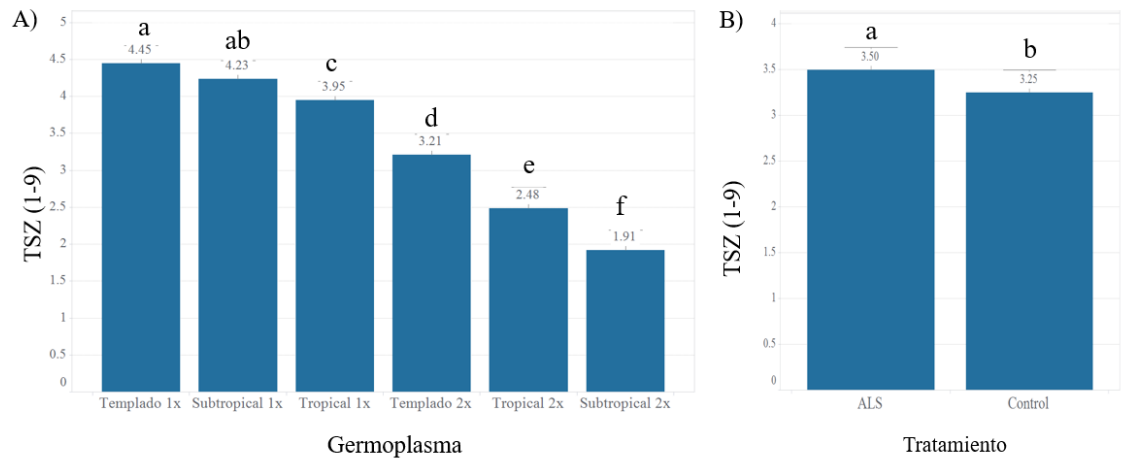


Figura 19. Tamaño de panoja (TSZ) para los diferentes grupos de germoplasma (A) y tratamiento post emergencia de herbicida (B), Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).

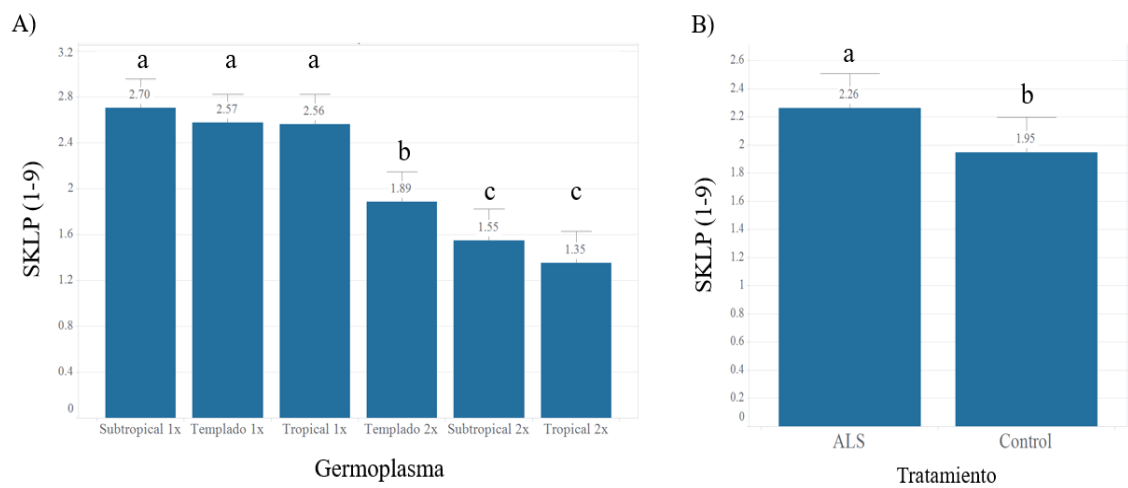


Figura 20. Esqueletonización de panoja (SKLP) para los diferentes grupos de germoplasma (A) y tratamiento post emergencia de herbicida (B), Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para la prueba t de student ($p < 0.05$).

3.1.3. Altura a floración y rendimiento

Las fuentes de variación para altura de la planta a floración y para rendimiento se pueden observar en la Tabla 5. El modelo explicó el 85% y el 79% de la variación total para altura de planta y rendimiento, respectivamente. A excepción de la interacción tratamiento $\times$ ambiente para altura de planta, el resto de las fuentes de variación fueron significativas (Tabla 5). El genotipo explicó la mayor proporción de la variabilidad para ambas variables, lo cual era esperable al consolidar todos los grupos de germoplasma (43,5 % para altura y 27,4% para rendimiento) y muestra la necesidad del análisis de los parentales segregada por gran grupo de germoplasma (i.e. Subtropical o Tropical, 1x o 2x). El tratamiento de aplicación de herbicida tuvo una interacción altamente significativa con el parental para ambas variables ($p < 0.01$), explicando en mayor proporción la variabilidad que la interacción tratamiento $\times$ ambiente y siendo de mayor significancia estadística que el efecto simple del tratamiento ($p < 0.05$). La triple interacción también resultó significativa ($p < 0.05$) por lo que planteó la necesidad del análisis en mayor profundidad de los ambientes de testeo.

Tabla 5. Fuentes de variación para altura de planta y rendimiento para los diferentes genotipos, tratamientos de aplicación y ambientes evaluados (S^2 =Varianza, %=proporción de la varianza total, Sig.=nivel de significancia estadística)

Fuente de variación	Análisis de la varianza para Altura de planta y Rendimiento					
	Altura de planta (cm.)			Rendimiento (kg./ha)		
	S^2	%	Sig.	S^2	%	Sig.
Ambiente	127,62	9,94	**	237596,4	6,2	*
Tratamiento	31,86	2,48	*	122113,7	3,2	*
Parental	558,59	43,5	**	1053427,8	27,4	**
Ambiente x Parental	95,92	7,47	**	869781,1	22,7	**
Tratamiento x Ambiente	8,58	0,7	ns	146998,5	3,8	*
Tratamiento x Parental	220,95	17,21	**	251861,3	6,6	**
Tratamiento x Ambiente x Parental	46,62	3,63	*	212470,5	5,5	*
Residual	193,99	15,11		943572,6	24,6	

ns= no significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.05$

*= significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.05$

**= significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.01$

En la Tabla 6 se detallan los resultados de los experimentos agrupados por tipo de germoplasma en cada uno de los ambientes de evaluación para la altura de la planta a floración. Como primera apreciación, la altura de planta estuvo significativamente ($p < 0.01$) ligada al genotipo como era de esperarse. En líneas generales se observó que los parentales de los grupos Subtropicales y Tropicales simples (1x) fueron los que presentaron una disminución de la altura de la planta significativa por la aplicación del herbicida en casi todos los ambientes evaluados. La diferencia porcentual de la altura de planta del nivel herbicida frente al control varió entre el 5% y el 20% de reducción (Tabla 6). Cuando se hizo el análisis dentro de cada grupo genético, la interacción tratamiento $\times$ genotipo o parental dejó de ser significativa en mucho de los casos, salvo en los genotipos Tropicales 1x, donde en 3 de los 5 sitios de evaluación considerados en este análisis hubo interacción significativa ($p < 0.05$), lo que representa la alta variabilidad de respuestas dentro de este grupo. Esto último contrastó con el grupo templado 1x para el cual no se encontraron interacciones significativas ($p > 0.05$). Es importante resaltar que en los ambientes donde hubo efecto de tratamiento sobre la altura de la planta, la magnitud de dicho efecto fue muy amplio aún dentro de un grupo de germoplasma, como por ejemplo el grupo Subtropical 1x que tuvo reducción relativa de altura desde un 5 a un 20% dependiendo el sitio. Por último, los grupos 2x fueron menos afectados siendo los Tropicales los que en 3 ambientes presentaron diferencias significativas entre control y aplicado, mientras los subtropicales presentaron reducción en 2 ambientes y los templados sólo en uno. Es decir que la conformación 1x/2x y el tipo de germoplasma guardaron relación con la respuesta al herbicida.

Tabla 6. Resumen de resultados para altura de planta a floración (cm) incluyendo la media ($\bar{x}$), número de evaluaciones (n), coeficiente de determinación (R^2) y las fuentes de variación.

Resumen de efectos fijos para la variable respuesta altura de planta a floración (cm)							
Tipo de germoplasma	Ambiente de evaluación	General			Fuente de variación		
		$\bar{x}$	n	R^2	Parental	Tratamiento	Tratamiento x Parental
Templado 1x	2007-Carmen, Santa Fé1	194	80	0.92	**	ns	ns
	2007-Carmen, Santa Fé2	181	80	0.92	**	ns	**
	2007-Quines, San Luis1	179	96	0.52	**	ns	ns
	2007-Rojas, Buenos Aires1	188	82	0.90	**	ns	ns
	2008-Carmen, Santa Fé1	176	82	0.89	**	-3%*	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	170	74	0.87	**	-3%*	ns
	2008-Villalonga, Buenos Aires1	161	80	0.73	**	ns	ns
Templado 2x	2007-Carmen, Santa Fé1	219	48	0.88	**	ns	ns
	2007-Carmen, Santa Fé2	197	48	0.78	**	-8%**	**
	2007-Rojas, Buenos Aires1	214	48	0.94	**	ns	ns
	2008-Carmen, Santa Fé1	201	48	0.95	**	ns	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	194	48	0.77	**	ns	ns
	2008-Villalonga, Buenos Aires1	185	48	0.92	**	ns	ns
Tropical 1x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	181	48	0.92	**	-14%**	**
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	206	48	0.8	**	-5%**	*
	2007-Quines, San Luis1	188	48	0.59	**	-5%*	ns
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	184	30	0.79	**	-20%**	*
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	157	32	0.93	**	-7%**	ns
Tropical 2x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	223	60	0.79	**	-7%**	*
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	230	60	0.67	**	ns	ns
	2007-Quines, San Luis1	212	59	0.67	**	ns	ns
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	200	40	0.8	**	-7%*	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	173	36	0.97	**	-7%**	*
Subtropical 1x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	194	42	0.45	ns	ns	ns
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	194	42	0.69	**	-4%**	ns
	2007-Quines, San Luis1	187	42	0.8	**	-8%**	**
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	190	20	0.85	*	-8%**	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	189	20	0.57	**	-7%**	ns
Subtropical 2x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	229	30	0.77	**	-5%*	ns
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	233	30	0.33	*	ns	ns
	2007-Quines, San Luis1	212	30	0.8	**	ns	*
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	241	20	0.88	**	ns	*
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	234	20	0.8	**	-5%**	ns

ns= no significativo para la prueba t de student con un valor-p < 0.05

*= significativo para la prueba t de student con un valor-p < 0.05

**= significativo para la prueba t de student con un valor-p < 0.01

El valor de % detallado en tratamiento es la variación porcentual del tratamiento aplicado comparado a su control

En la Tabla 7 se detallan los resultados agrupados por germoplasma en cada ambiente de testeo para el rendimiento donde, al igual que para la variable altura de planta a floración, se aprecia una relación significativa en la mayoría de los ambientes evaluados con el parental evaluado. Nuevamente, los genotipos 1x tropicales y subtropicales fueron los más afectados por el herbicida en la mayoría de las localidades (Tabla 7). El rendimiento de los genotipos Tropicales 2x fue más afectado en relación con lo que se

observó en la altura de planta a floración, con reducciones que llegaron hasta un 23% producto de la aplicación del herbicida ($p < 0.01$). La interacción parental $\times$ tratamiento fue altamente significativa en la mayoría de los sitios de evaluación. Se observó una variación muy alta de la respuesta del rendimiento por la aplicación del herbicida sobre germoplasma susceptible entre ambientes de evaluación (rango 4% a 34%).

Tabla 7. Resumen de resultados para rendimiento (kg. /ha) incluyendo la media ($\bar{X}$), número de evaluaciones (n), coeficiente de determinación (R^2) y las fuentes de variación.

Resumen de efectos fijos para la variable respuesta rendimiento (kg. /ha)							
Tipo de germoplasma	Ambiente de evaluación	General			Fuente de variación		
		$\bar{X}$	n	R^2	Parental	Tratamiento	Tratamiento x Parental
Templado 1x	2007-Carmen, Santa Fé1	3563	80	0.85	**	ns	ns
	2007-Carmen, Santa Fé2	3810	80	0.63	*	ns	ns
	2007-Quines, San Luis1	2945	96	0.56	**	ns	**
	2007-Rojas, Buenos Aires1	3128	82	0.91	**	ns	**
	2008-Carmen, Santa Fé1	2743	82	0.95	**	-4%*	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	1922	74	0.66	**	ns	ns
	2008-Villalonga, Buenos Aires1	2838	80	0.96	**	-4%**	*
Templado 2x	2007-Carmen, Santa Fé1	4889	48	0.66	ns	ns	ns
	2007-Carmen, Santa Fé2	5030	48	0.52	ns	ns	ns
	2007-Rojas, Buenos Aires1	4543	48	0.83	**	ns	**
	2008-Carmen, Santa Fé1	5131	48	0.95	**	ns	**
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	2490	48	0.68	*	ns	**
	2008-Villalonga, Buenos Aires1	4071	48	0.87	**	ns	*
Tropical 1x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	2301	48	0.8	**	-16%**	ns
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	2978	48	0.89	**	-26%**	**
	2007-Quines, San Luis1	2926	48	0.78	**	ns	**
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	1444	32	0.98	*	-34%**	**
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	3142	32	0.9	**	-22%**	**
Tropical 2x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	5517	60	0.94	**	-14%**	**
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	4293	60	0.57	*	-23%**	ns
	2007-Quines, San Luis1	4969	59	0.89	**	-15%**	**
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	4494	40	0.82	**	-23%**	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	3625	36	0.98	**	-20%**	**
Subtropical 1x	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	2961	42	0.51	**	-14%*	**
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	3566	42	0.61	*	-30%*	**
	2007-Quines, San Luis1	4399	42	0.65	**	ns	ns
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	1959	20	0.98	**	-28%**	**
Subtropical 2x	2008-Villa Dolores, Córdoba1	2297	20	0.79	**	-22%**	ns
	2007-Fernandez, Santiago del Estero1	4670	30	0.97	**	-20%*	**
	2007-Puerta Grande, Catamarca1	4233	30	0.56	ns	ns	ns
	2007-Quines, San Luis1	5573	30	0.32	ns	ns	ns
	2008-Puerta Grande, Catamarca1	5840	20	0.7	**	-9%*	ns
	2008-Villa Dolores, Córdoba1	4495	20	0.8	**	-14%**	*

ns= no significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.05$

*= significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.05$

**= significativo para la prueba t de student con un valor- $p < 0.01$

El valor de % detallado en tratamiento es la variación porcentual del tratamiento aplicado comparado a su control

Para analizar el patrón de comportamiento de los grupos de parentales y los ambientes, se realizó un procedimiento jerárquico de agrupamiento normalizado por la media (Ward,

1963) para el germoplasma tropical y subtropical en función de la altura de la parcela aplicada relativa su control por un lado (Figura 21) y para el rendimiento relativo al control por el otro (Figura 22). Luego se procedió a agrupar con la misma metodología al germoplasma templado (Figuras 23 y 24). En las figuras se distinguen con rojo y azul las 2 ramas principales de agrupación que, aunque las mismas no distinguen la separación de grupos donde se da el mayor salto de distancia euclídea en todos los casos, sirven para entender la primera separación de agrupaciones (familias de nudos) contrastantes o diferenciales.

Quines, en San Luis, fue el ambiente que se diferenció del resto, asociado a reducciones de altura de planta menores por la aplicación por la aplicación del herbicida (Figura 21 resaltado en rama roja del dendograma). Puerta Grande en 2007 y 2008 parecieron tener comportamientos similares entre sí como se había visto también para las notas de severidad en estadios vegetativos (Figura 12). En relación con el germoplasma, el agrupamiento por la caída relativa de altura frente al control de cada genotipo mostró un moderado patrón de relación con el grupo origen de clasificación, pudiéndose observar una tendencia de agrupación similar en los genotipos subtropicales 2x con menores reducción frente a los tropicales 1x con mayores disminuciones, mientras que el resto no se definió claramente en ramas separadas. Adicionalmente, se observa en un mismo grupo (por ejemplo, rama roja del dendograma de parentales) distintos tipos de genotipos (1x y 2x) a pesar de diferenciarse del resto de genotipo y ser una agrupación reducida. Finalmente, a la interacción genotipo $\times$ tratamiento detallada en la Tabla 5, la Figura 21 muestra que independientemente del programa de origen y el efecto general del herbicida sobre un grupo, la variabilidad dentro de los grupos fue alta (ej. P90 y P35).

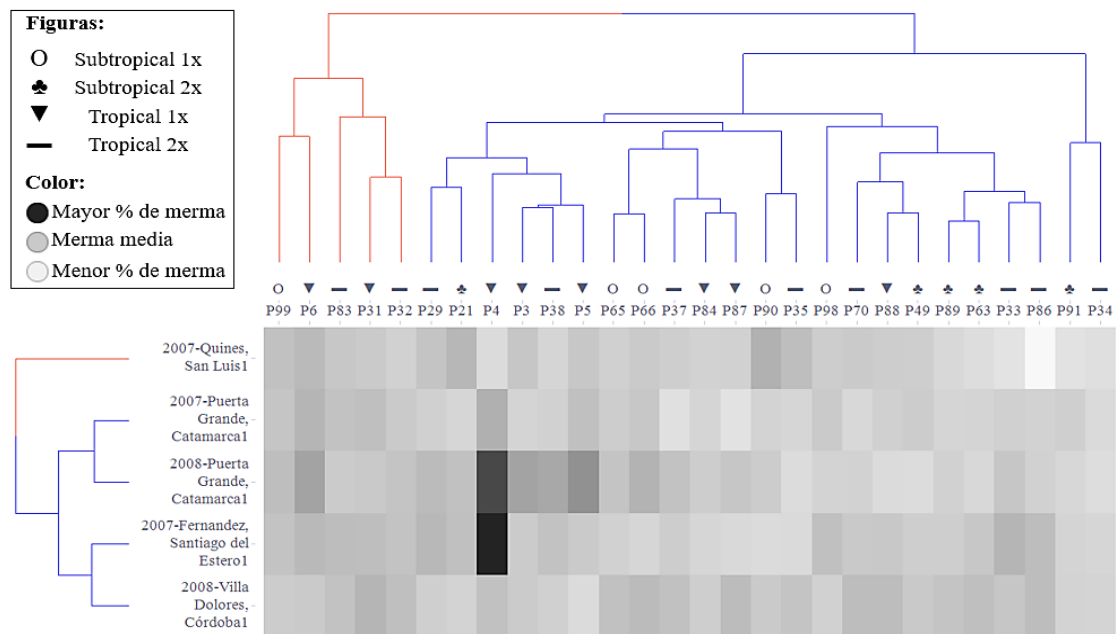


Figura 21. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura de planta frente al control sin aplicar para el germoplasma Subtropical y Tropical. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (O: Subtropical 1x, ♣: Subtropical 2x, ▼: Tropical 1x, Tropical 2x: —).

Al analizar el rendimiento relativo de la parcela aplicada frente al control en los grupos subtropicales y tropicales (Figura 22), Quines se diferencia del resto al igual que en lo hallado previamente, pero esta vez en menor medida (misma rama azul del dendrograma). Adicionalmente, Puerta Grande muestra un patrón de agrupación diferente dependiendo el año de evaluación en relación con su similitud con lugares geográficamente contrastantes como Villa Dolores, Córdoba y Fernández, Sgo. Del Estero. Esto refuerza la necesidad de ahondar en las variables ambientales post aplicación relacionadas al efecto del herbicida y cómo estas agrupan los ambientes de testeo. Por otro lado, el germoplasma no mostró un patrón de agrupación definido.

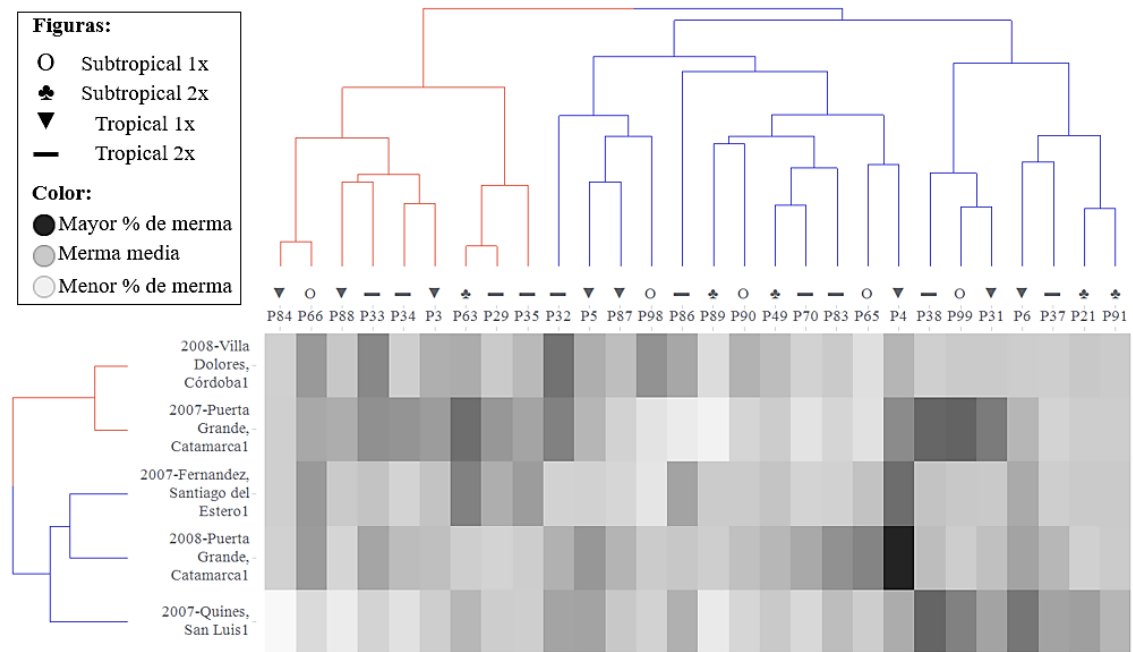


Figura 22. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa del rendimiento contra el control sin aplicar para el germoplasma Subtropical y Tropical. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (O: Subtropical 1x, ♣: Subtropical 2x, ▼: Tropical 1x, Tropical 2x: —).

En la Figura 23 se puede observar la altura relativa del tratamiento aplicado frente al control de los genotipos templados; en este caso se observa una distinción de Carmen en 2007 frente al resto con menores disminuciones de altura y, por otro lado, no se observa una agrupación directamente relacionada con la zona agroecológica. Esto refuerza nuevamente la necesidad del entendimiento en relación con la condición agroecológica explorada post aplicación del producto. En relación con el germoplasma, se puede observar un claro patrón de agrupación de los genotipos 1x (con mayor reducción relativa en ramas rojas) contrastantes con los 2x (menor reducción relativa en ramas azules). En este caso, independientemente de no encontrar efecto significativo del herbicida, el patrón claramente está definido en la composición de las ramas, pero con distanciamiento en los nudos muy cortos dentro de las 2 grandes ramas, lo que indica una similitud en cada una. Esto resulta en información adicional muy importante a considerar en función al objetivo de entender la variabilidad dentro de un grupo (Tabla 8) en contraste con la variabilidad de entre los grupos (Figura 22).

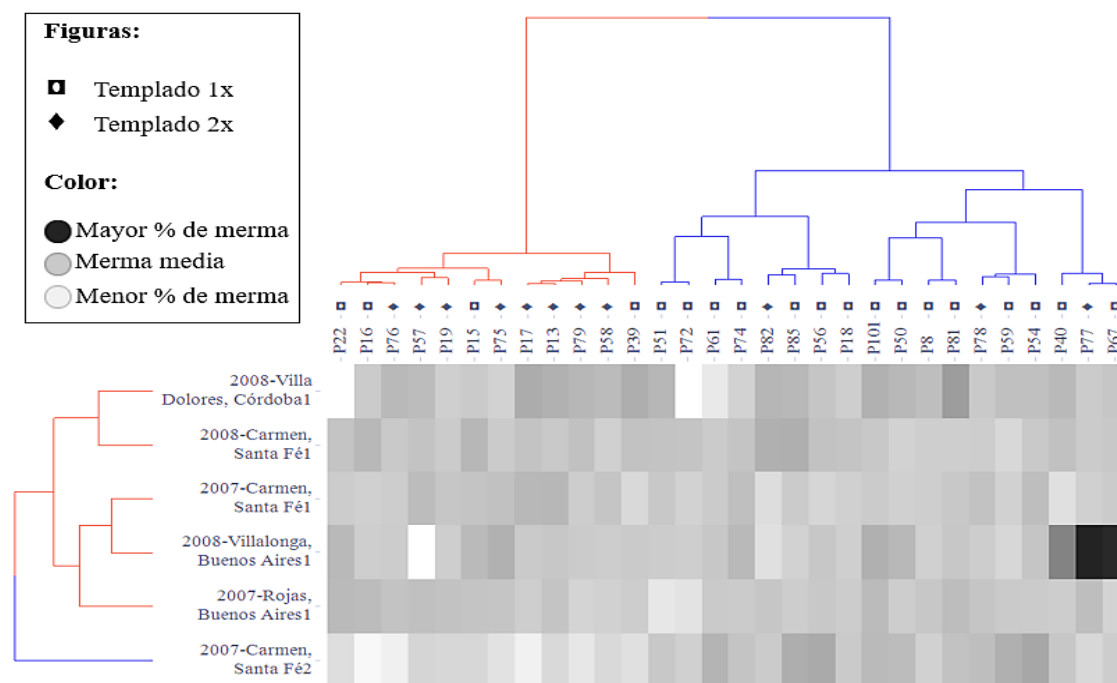


Figura 23. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura contra el control sin aplicar para el germoplasma Templado.

Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (■: Templado 1x, ◆: Templado 2x).

En relación con el rendimiento relativo al control del tratamiento aplicado para germoplasma templado (Figura 24), se observa una agrupación diferencial en lo que respecta a ambientes en relación con lo observado para altura relativa. No obstante, Carmen en 2007 mostró una diferenciación frente al resto (rama azul del dendograma de ambientes). También se observaron patrones muy ligados al efecto año, sin una clara asociación geográfica. En lo que respecta a germoplasma, no se observó un patrón de agrupación de los parentales en función a su grupo de origen como sí se observó para altura de planta en la Figura 22 para altura.

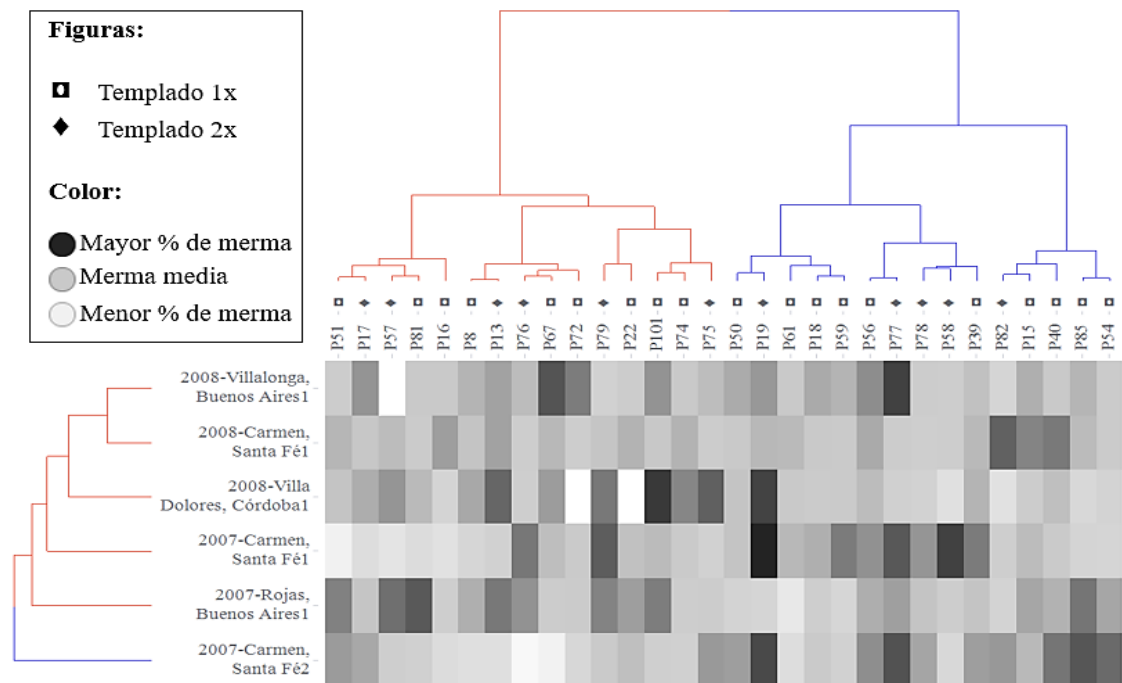


Figura 24. Doble agrupamiento en función del ambiente y el parental teniendo en cuenta la respuesta relativa de la altura contra el control sin aplicar para el germoplasma Templado. Colores más oscuros indican efectos más marcados del herbicida frente al control. Los símbolos indican los distintos grupos de germoplasma (■: Templado 1x, ◆: Templado 2x).

Es importante destacar en función a los resultados detallados en esta sección sobre la variación asociada al grupo de germoplasma; i) una mayor susceptibilidad en los grupos tropicales y subtropicales frente a los templados; ii) una variación asociada al ambiente, no estando tan claramente definido por la ubicación o año particular; iii) una gran variación entre parentales, aún dentro de cada grupo de germoplasma; y finalmente iv) una interacción significativa entre los tratamientos de aplicación del herbicida con los parentales y el ambiente.

3.1.4. Correlación entre la altura a floración y rendimiento con síntomas post aplicación del herbicida

Como se observó en el subcapítulo 3.1.1., las evaluaciones de sintomatología en estadios vegetativos mostraron una estabilización en las notas de severidad entre los 14 y los 21 días post aplicación. Asimismo, las probabilidades de tener síntomas severos (≥ 3) se evidenciaron en mayor medida en los genotipos subtropicales y tropicales 1x cuando fue aplicado el herbicida. Por otro lado, los ambientes afectaron significativamente la distribución de frecuencias de las notas de severidad. En el capítulo 3.1.2. se mostró que la aplicación tuvo un efecto significativo sobre fenología sólo en grupos Tropicales y Subtropicales, así como un efecto sobre el tamaño y esqueletonización de la panoja, pero sin tener efecto en la evaluación de cantidad de polen. En el subcapítulo 3.1.3. se observaron diferencias significativas para la interacción gemoplasma $\times$ herbicida en varios sitios de evaluación para altura de planta y rendimiento, con una asociación con las condiciones del sitio de evaluación y el germoplasma. No obstante, tener una asociación entre lo observado con las notas 3.1.1. y los valores de rendimiento y altura de planta detallados en 3.1.3 es de suma importancia para entender el valor relativo de la evaluación temprana. Para ello se procedió a analizar mediante un modelo mixto, considerando todas las fuentes de variación a la relación entre las notas de los 21 días post aplicación de las parcelas tratadas (nota estabilizada) con la altura a floración y el rendimiento de la parcela (Figura 25).

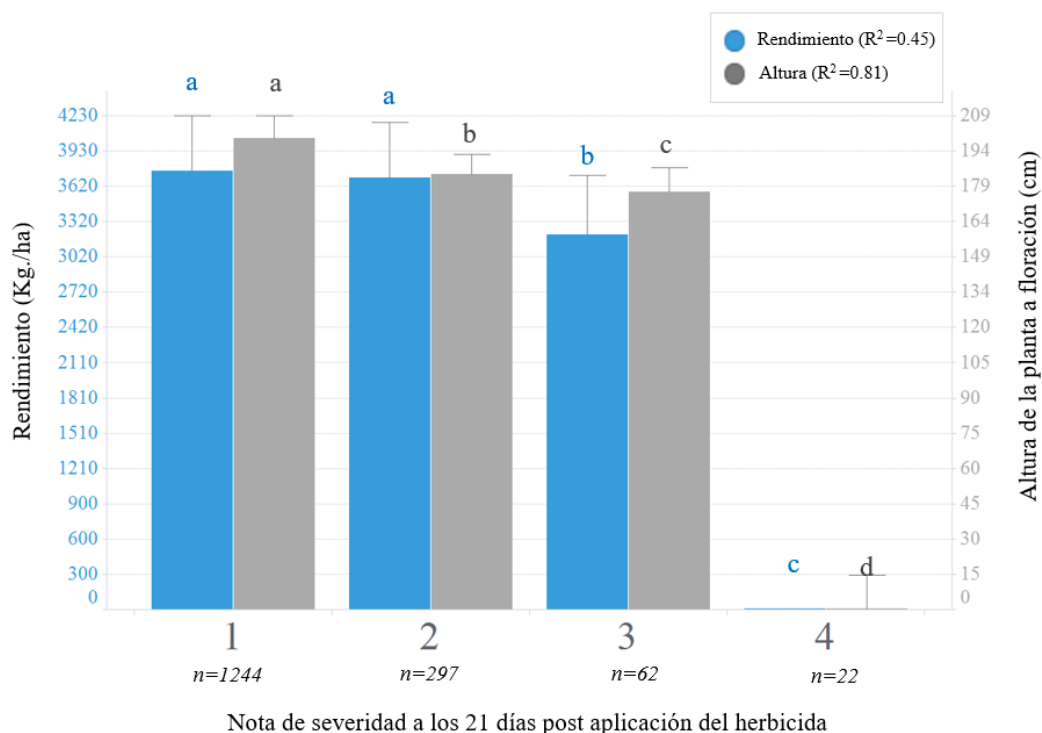


Figura 25. Resultados del modelo mixto para rendimiento en kg. ha^{-1} (barras azules, eje izquierdo) y altura de la planta a floración en centímetros (barras grises, eje derecho) en función a la nota de severidad tomada a los 21 días post aplicación. Los valores son los mínimos cuadrados medios resultantes del modelo. Letras diferentes indican valores que difieren significativamente (prueba t de student con valor- $p < 0.05$). n=número de parcelas, considerando sólo aquellas que tuvieron ambos datos presentes.

Las notas de sintomatología moderada y severa estuvieron asociadas a una menor altura a floración, mientras que el rendimiento solo difirió significativamente con notas de sintomatología severa. Para ahondar en la correlación de la sintomatología con la nota, se procedió a realizar una correlación lineal para la altura entre la parcela control y la parcela tratada de cada repetición de cada material para las parcelas sin síntomas (Figura 26.a), las parcelas con síntomas leves (Figura 26.b) y las parcelas con síntomas severos (Figura 26.c). Lo mismo se realizó para rendimiento (Figura 27.a para parcelas sin síntomas, Figura 27.b para sintomatología leve y Figura 27.c para sintomatología severa).

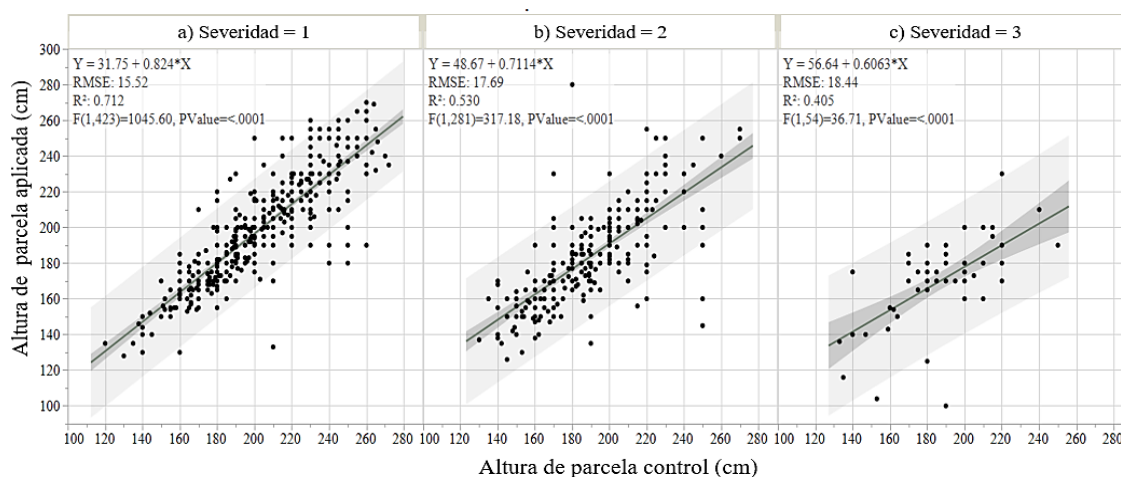


Figura 26. Correlaciones entre las alturas de las parcelas controles y las aplicadas para cada repetición de cada material para los casos que no tuvieron síntomas de severidad a los 21 días post aplicación o nota “1” (a), para aquellas parcelas con síntomas leves o nota “2” (b) y las parcelas con nota “3” o nota severa (c). En cada gráfico se incluye la ecuación lineal ajustada, el error cuadrático medio (del inglés RMSE), el R^2 , y el valor-p. Gris oscuro se resalta el intervalo de confianza y en gris claro el intervalo de predicción.

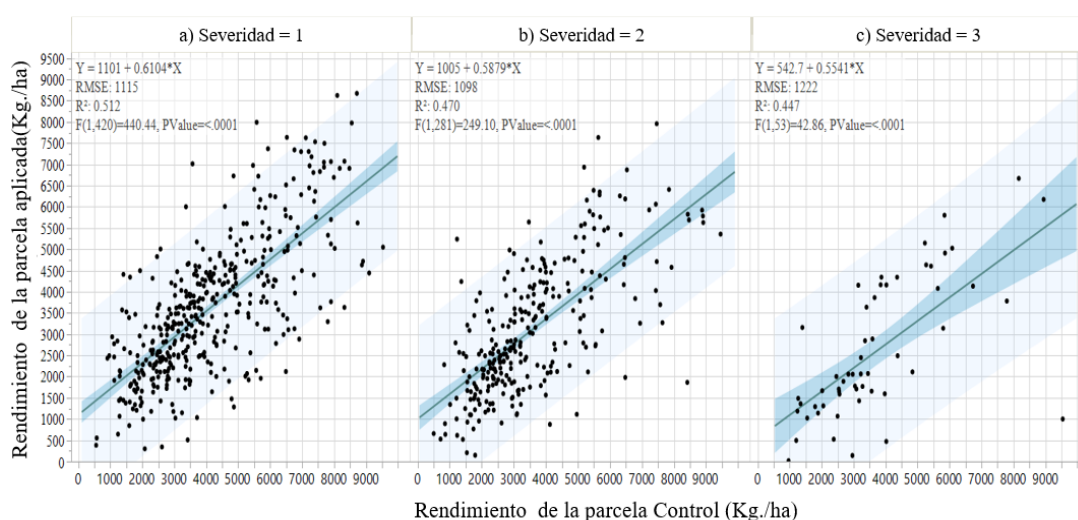


Figura 27. Correlaciones entre los rendimientos de las parcelas control y las aplicadas para cada repetición de cada material para los casos que no tuvieron síntomas de severidad a los 21 días post aplicación o nota “1” (a), para aquellas parcelas con síntomas leves o nota “2” (b) y las parcelas con nota “3” (c). En cada gráfico se incluye la ecuación, el error cuadrático medio (del inglés RMSE), el R^2 , y el valor-p. Celeste oscuro se resalta el intervalo de confianza y en celeste claro el intervalo de predicción.

Las correlaciones de altura y rendimiento entre la parcela aplicada frente a su control se vieron afectadas en función a la nota de severidad tomada a los 21 días post aplicación del herbicida. En la Figura 26 se puede observar que a medida que se observó mayor

severidad de la nota; i) la pendiente de relación lineal entre la altura del control y la parcela aplicada disminuye (Sev 1=0.82, Sev 2=0.71 y Sev 3=0.60) y ii) el coeficiente de determinación disminuye, en este caso también asociado a un menor n (Sev 1 = 0.71, Sev 2 = 0.53 y Sev 3 =0.40). Para el caso de rendimiento, la diferencia de la pendiente de la ecuación lineal no es alta entre el grupo de parcelas tratadas con valores 1 y 2 pero si para las parcelas con Severidad 3 (Sev 1 = 0.61, Sev 2 = 0.59 y Sev 3 = 0.55), mientras sus coeficientes de determinación disminuyeron con el aumento de la nota también asociado a menor n (Sev 1 = 0.51, Sev 2 = 0.47 y Sev 3 = 0.44). Es decir que a medida que aumenta la severidad en la parcela tratada, se encontró una menor altura de planta que el control, pero también una mayor variabilidad. Finalmente, para rendimiento se observó que los menores valores frente al control se dieron cuando condiciones de severidad de 3, reforzando el resultado del modelo de la Figura 25 con un aporte adicional sobre el entendimiento en término cuantitativo de que esperar entre tratamientos a medida que se observa severidad en período vegetativo.

3.2. Condiciones meteorológicas post aplicación del herbicida: su relación con la sintomatología

En general, dado la variación interanual y dispersión geográfica, se observó gran variabilidad de condiciones meteorológicas. En la Tabla 8 se pueden observar los valores de temperatura mínima (T_{min}) y máxima (T_{max}), el déficit de presión de vapor (DPV), la radiación incidente (Rad Inc), la humedad relativa (HR) y la amplitud térmica (AT) para todos los ambientes de evaluación obtenidos a través de las medias de los 2, 7, 14 y 21 días posteriores a la aplicación del herbicida.

Tabla 8. Medias de variables ambientales para los 2, 7, 14 y 21 días post aplicación: Temperatura mínima (Tmin, °C) y máxima (Tmax, °C), el déficit de presión de vapor estimado (DPV, mmHg), la radiación incidente (Rad Inc, Kw.m²), la humedad relativa (HR, %) y la amplitud térmica (AT, °C).

Tabla de medias para las variables ambientales post aplicación												
Ambiente	48 hs post aplicación						7 días post aplicación					
	Tmin	DPV	Rad Inc	HR	AT	Tmax	Tmin	DPV	Rad Inc	HR	AT	Tmax
2007-Carmen, Santa Fé1	11.4	5.8	7.7	61.0	13.7	25.1	11.6	6.8	7.9	58.0	15.3	26.9
2007-Carmen, Santa Fé2	12.5	6.0	9.2	64.6	14.8	27.3	15.3	6.3	9.1	65.8	13.2	28.5
2007-Fernandez, Santiago del Estero1	20.8	12.3	7.2	54.1	14.7	35.5	18.4	14.4	7.4	41.9	15.7	34.1
2007-Puerta Grande, Catamarca1	10.3	12.0	6.7	25.1	16.5	26.9	11.4	14.1	6.6	22.6	17.9	29.3
2007-Quines, San Luis1	15.6	11.2	6.7	45.0	14.8	30.4	12.0	10.3	7.1	38.6	15.4	27.4
2007-Rojas, Buenos Aires1	15.4	6.0	8.7	67.9	13.2	28.6	14.9	6.0	9.0	66.3	13.0	27.9
2008-Carmen, Santa Fé1	16.4	6.1	8.3	67.9	12.4	28.7	11.4	5.7	8.5	60.2	12.9	24.3
2008-Puerta Grande, Catamarca1	10.3	10.0	5.6	30.0	14.3	24.5	10.0	6.9	5.9	48.9	13.6	23.6
2008-Villa Dolores, Córdoba1	15.5	12.0	8.0	46.2	17.0	32.5	14.2	10.7	8.2	45.7	16.0	30.2
2008-Villalonga, Buenos Aires1	15.9	9.4	8.4	42.1	9.6	25.5	15.6	9.3	8.7	47.3	11.6	27.3
Ambiente	14 días post aplicación						21 días post aplicación					
	Tmin	DPV	Rad Inc	HR	AT	Tmax	Tmin	DPV	Rad Inc	HR	AT	Tmax
2007-Carmen, Santa Fé1	11.2	7.1	8.1	55.1	15.1	26.4	12.7	8.2	8.1	53.0	15.3	27.9
2007-Carmen, Santa Fé2	16.5	7.7	9.0	62.5	14.1	30.6	16.0	6.9	8.9	65.5	13.9	29.8
2007-Fernandez, Santiago del Estero1	19.9	15.9	7.4	40.6	15.7	35.6	20.2	14.4	7.6	44.2	14.6	34.8
2007-Puerta Grande, Catamarca1	12.2	13.5	6.5	26.7	17.0	29.3	13.6	13.3	6.6	32.3	16.6	30.2
2007-Quines, San Luis1	13.6	11.5	7.3	38.5	15.6	29.3	13.5	12.1	7.4	36.0	16.0	29.5
2007-Rojas, Buenos Aires1	16.5	7.9	8.9	60.6	13.6	30.1	16.5	7.3	8.9	63.3	13.4	29.9
2008-Carmen, Santa Fé1	11.6	6.9	8.5	56.7	14.9	26.4	11.7	7.6	8.6	54.6	15.8	27.5
2008-Puerta Grande, Catamarca1	10.1	9.1	6.3	41.1	16.2	26.3	12.1	9.1	6.4	45.6	15.2	27.4
2008-Villa Dolores, Córdoba1	13.0	10.8	8.4	42.0	16.3	29.2	12.2	10.1	8.6	42.0	15.8	28.0
2008-Villalonga, Buenos Aires1	15.5	8.4	8.9	50.5	10.9	26.5	16.4	8.9	8.7	49.7	10.7	27.1

Para comprender como las variables ambientales definen a un ambiente post aplicación determinado, se agruparon los ambientes por sus variables meteorológicas tomadas los 4 períodos de tiempo (Figura 28).

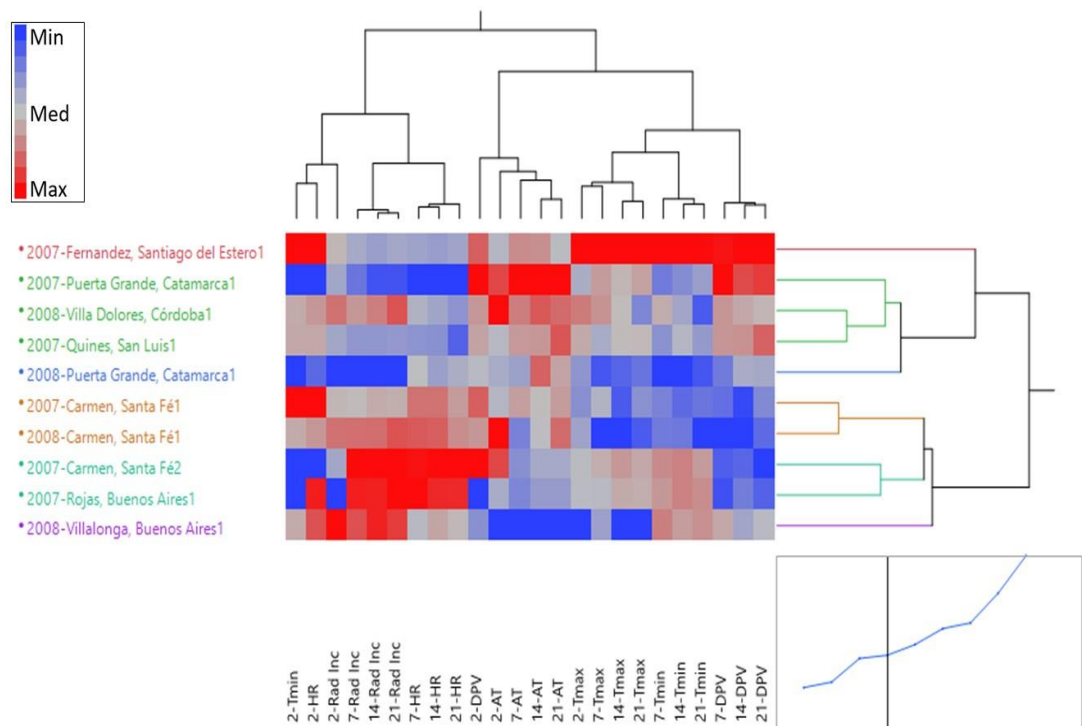


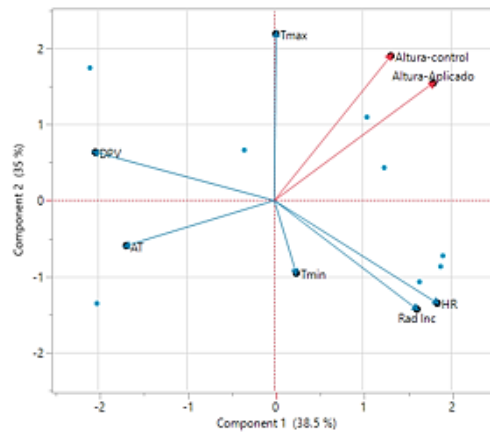
Figura 28. Doble agrupamiento jerárquico de los ambientes de evaluación considerando las diferentes mediciones meteorológicas estandarizadas a los 2, 7, 14 y 21 días post aplicación del herbicida

El agrupamiento por variables meteorológicas de la Figura 28 separó los ambientes templados de los subtropicales. Las principales características ambientales que definieron esta separación fueron, por un lado, una mayor radiación incidente en los ambientes templados con relación a los subtropicales (asociado esto con la latitud) y, por el otro, a una mayor humedad relativa y menor temperatura (lo que combinadamente también se puede observar a través del DPV). Por otra parte, observando las distancias de las bifurcaciones de las ramas del dendograma, se logra apreciar una mayor variabilidad dentro del gran grupo de ambientes subtropicales relacionado principalmente a la localidad de Fernández, Sgo. del Estero. Asimismo, dentro del grupo de ambientes templados, Villalonga fue la localidad que más se diferenció del resto (Figura 28).

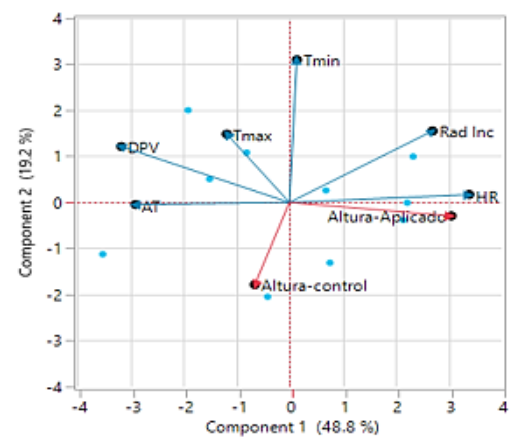
Para comprender las posibles variables relacionadas a la interacción ambiente $\times$ tratamiento, se procedió a realizar un análisis de componentes principales para altura de

planta (Figura 29) y rendimiento (Figura 30), incluyendo en ambos casos los valores del modelo mixto para cada ambiente considerando el resto de las fuentes de variación.

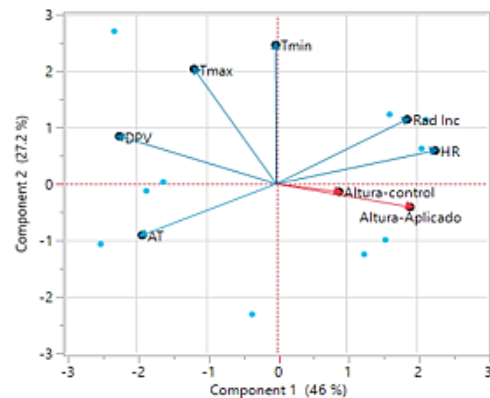
a) 2 días post aplicación



b) 7 días post aplicación



c) 14 días post aplicación



d) 21 días post aplicación

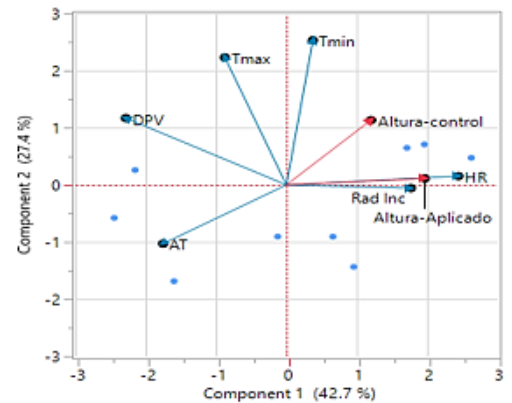
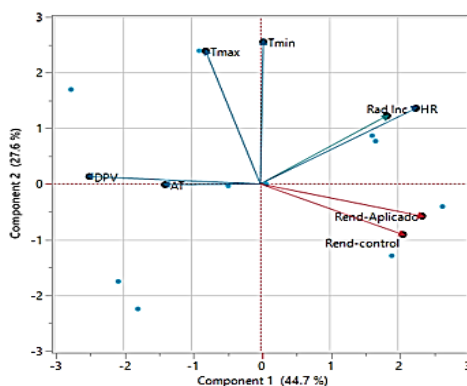


Figura 29. Análisis de componentes principales a través de bi-plots considerando las medias ambientales de DPV, Tmax, Tmin, Rad Inc, HR y AT de los 2 (a), 7 (b), 14 (c) y 21 (d) días post aplicación frente a la altura de las parcelas control y las aplicadas con el herbicida.

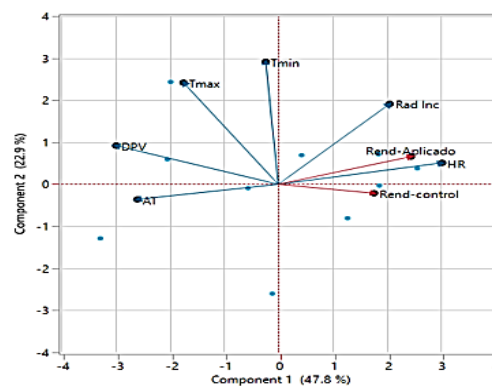
En lo que respecta a altura, en la Figura 29.a se observa un ángulo muy agudo y largo de vectores equivalentes de la altura para ambos tratamientos al analizar las medias ambientales de los 2 días post aplicación. Como tendencia general de la Figura 29 se ve una correlación de las alturas con Tmax directamente proporcional e inversamente proporcional a AT. En el resto de los períodos de medición, los ángulos de los vectores de altura con la temperatura se empiezan a acercar a 90° lo que indica ausencia de correlación. Por otro lado, se observa a los 7 días una asociación diferencial de la altura del tratamiento aplicado y el control frente Rad Inc y HR, así como a Tmin; los ambientes

con mayor humedad relativa y radiación estuvieron más positivamente asociados a las alturas de las parcelas tratadas que al control y esto se mantuvo en el resto de los períodos, más allá de conservar ángulos agudos las alturas de ambos tratamientos entre sí para todos los períodos. También hubo una relación diferencial al observar DPV y AT; el control pareció ser más independiente a estas variables (ángulo próximo a 90 °), mientras que la altura del tratamiento aplicado se correlacionó negativamente a estas variables.

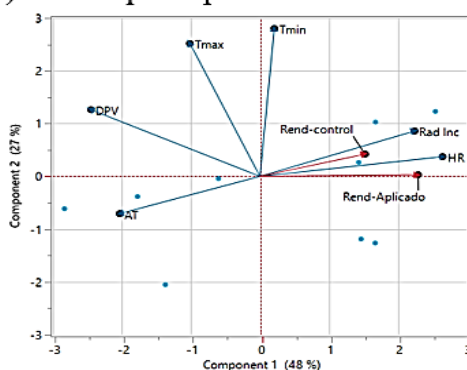
a) 2 días post aplicación



b) 7 días post aplicación



c) 14 días post aplicación



d) 21 días post aplicación

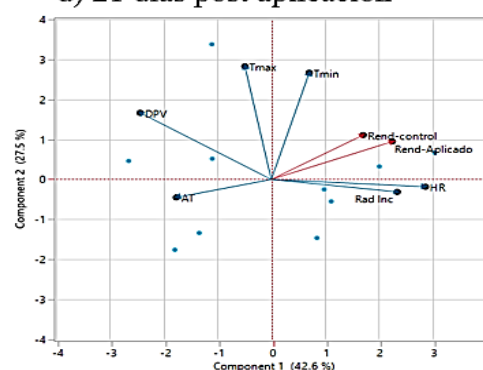


Figura 30. Análisis de componentes principales a través de bi-plots considerando las medias ambientales de DPV, Tmax, Tmin, Rad Inc, HR y AT de los 2 (a), 7 (b), 14 (c) y 21 (d) días post aplicación frente al rendimiento de las parcelas control y las aplicadas con el herbicida.

En la Figura 30 se observa como tendencia general la relación directa entre el rendimiento de ambos tratamientos, pero un patrón claro para todos los períodos que se puede resumir en; i) ausencia de correlación fuerte con las temperaturas, ii) correlación inversa a DPV y AT y iii) correlación directa con HR y Rad Inc. No obstante, la fuerza de la asociación no parece ser la misma dependiendo del periodo y el tratamiento.

Para corroborar la existencia de variables ambientales que incidieron sobre la susceptibilidad al herbicida, se procedió a la ejecución de un análisis de correlaciones

múltiples entre las variables ambientales con la altura a floración (Figura 31) y con el rendimiento (Figura 32) para el tratamiento control y el aplicado por separado considerando las medias ambientales de los 4 períodos post aplicación del herbicida (2, 7, 14 y 21 días). Lo importante de este análisis es comparar la diferencia entre tratamientos y no los valores absolutos ya que se concentran sólo en un período muy específico del cultivo.

En lo que respecta a los coeficientes de correlación entre las variables meteorológicas y la altura de planta a floración, se puede observar en la Figura 31 que la mayor humedad relativa estuvo asociada positivamente a la altura del tratamiento aplicado mientras que el control no correlacionó con HR con las mediciones desde los 7 a los 21 días post aplicación (Figura 31.b, c, y d.). Asimismo, la altura se correlacionó positivamente a mayor radiación desde los 7 a los 21 días al tratamiento aplicado y sin estarlo con los valores de los controles. Las temperaturas no tuvieron un impacto tan marcado, pero sí en combinación con la HR a través el DPV; donde mayores valores de DPV impactaron más negativamente al tratamiento aplicado que al control (Figura 31. a, c y d)

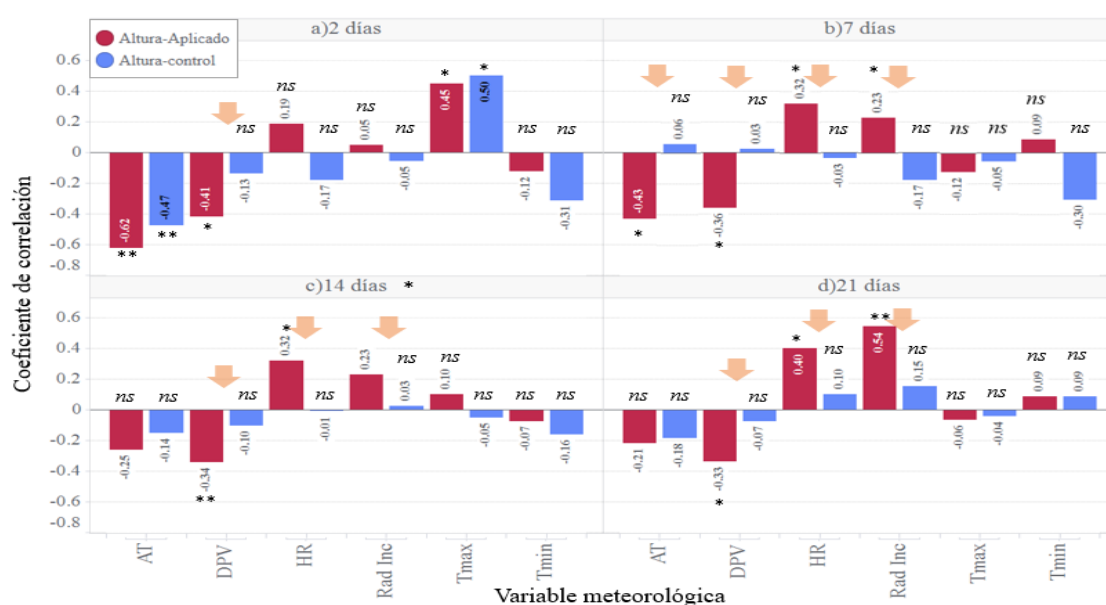


Figura 31. Correlaciones entre la Altura a floración de las parcelas aplicadas con herbicidas (barras rojas) y el control (barras azules) frente a las diferentes variables ambientales medias de los a) 2 días, b) 7 días, c) 14 días y d) 21 días post aplicación (*correlación significativa valor- $p < 0.05$; **correlación significativa valor- $p < 0.01$; ns: correlación no significativa). Las flechas naranjas indican donde hubo un cambio de correlación entre tratamientos.

En lo que respecta a los coeficientes de correlación entre las variables meteorológicas y el rendimiento diferencial entre tratamientos, al igual que para altura, hubo un cambio de coeficiente de correlación a favor del tratamiento aplicado a mayor HR (Figura 32.a., b., c. y d.) y Radiación (Figura 32. b., c. y d.). Por otro lado, la Tmax media de los 7 días post aplicación estuvo positivamente asociada a un mayor rendimiento en el tratamiento aplicado en contraste con el control sin aplicar (Figura 32.c.). Mayor amplitud térmica contrastó en cuanto a su correlación entre el tratamiento aplicado y el control, siendo negativa en el primero y no significativa en el segundo para lapsos de 2, 7 y 14 días (Figuras 32.a., b. y c.). El DPV tuvo una relación diferencial con el rendimiento a excepción del valor medio del lapso de los 14 días post aplicación (Figura 32. c.)

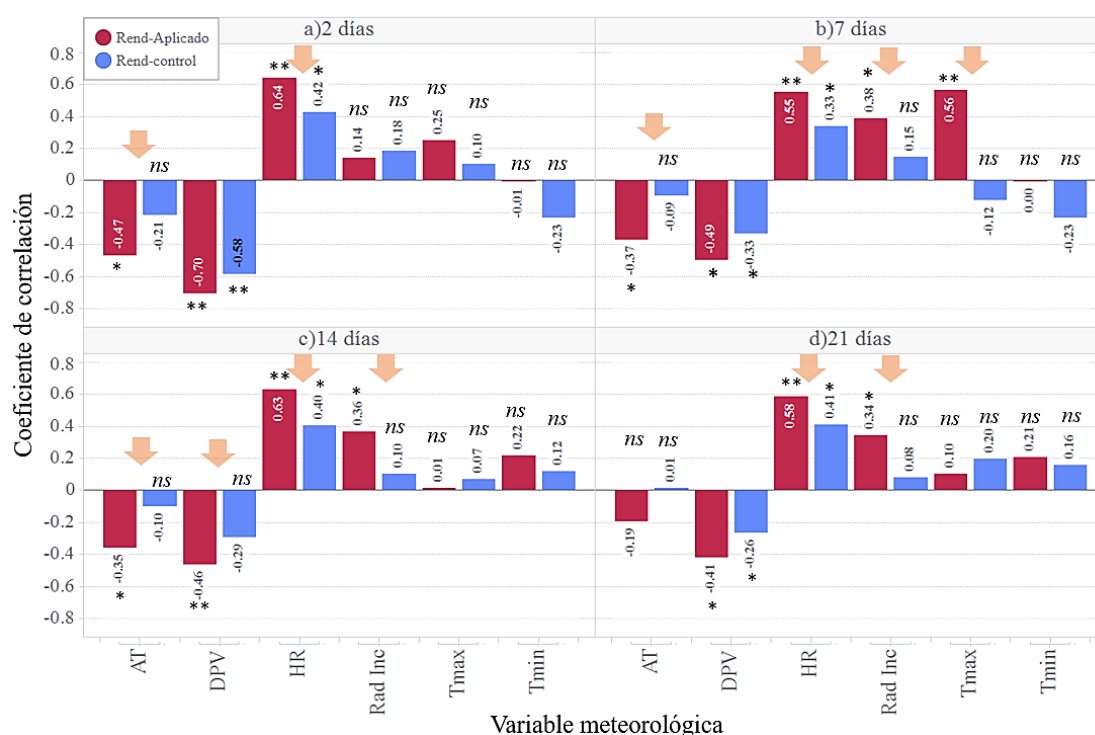


Figura 32. Correlaciones entre el rendimiento de las parcelas aplicadas con herbicidas (barras rojas) y el control (barras azules) frente a las diferentes variables ambientales medias de los a) 2 días, b) 7 días, c) 14 días y d) 21 días post aplicación (*correlación significativa valor- $p < 0.05$; **correlación significativa valor- $p < 0.01$; ns: correlación no significativa). Las flechas naranjas indican donde hubo un cambio de correlación entre tratamientos.

En la Tabla 9 se puede observar el resumen de los coeficientes de correlaciones. A grandes rasgos, aumentos en la amplitud térmica y el DPV tuvieron un impacto desfavorable en la parcela tratada y, contrariamente, la humedad relativa y la radiación

incidente tuvieron un impacto favorable, así como la temperatura máxima, pero de manera aislada sólo en altura de planta considerando los 7 días. Por otra parte, se observa que usando las variables medias de los 2 días post aplicación se hallaron menos cambios en las correlaciones que con las medias de lapsos más largos de tiempo.

Tabla 9. Resumen de los cambios de significancia de correlaciones del rendimiento y la altura de planta entre parcelas aplicadas con el herbicida frente al control. “Pos” (en verde): indica que la variable respuesta tuvo un aumento del coeficiente frente al control para esa variable ambiental, “Neg” (en rojo): indica que la variable respuesta tuvo una disminución del coeficiente frente al control para esa variable ambiental

Resumen de cambios de correlaciones frente a la aplicación del herbicida							
Variable respuesta	Lapso (días)	Variable ambiental					
		AT	DPV	HR	Rad Inc	Tmax	Tmin
Rendimiento (Kg.ha ⁻¹)	2	Neg	-	Pos	-	-	-
	7	Neg	-	Pos	Pos	Pos	-
	14	Neg	Neg	Pos	Pos	-	-
	21	-	-	Pos	Pos	-	-
Altura (cm)	2	-	Neg	-	-	-	-
	7	Neg	-	Pos	Pos	-	-
	14	-	Neg	Pos	Pos	-	-
	21	-	Neg	Pos	Pos	-	-

4. Discusión

4.1. Sintomatología causada por el herbicida: variación genotípica y ambiental

En este trabajo se pudo observar una dinámica de recuperación y posteriormente de estabilidad de la severidad relevada durante crecimiento vegetativo que indicarían que los cambios en la severidad se manifiestan fundamentalmente entre los 7 y los 14 días post aplicación del herbicida, para posteriormente fijarse entre los 14 y 21. Los tiempos de recuperación están en línea con trabajos previos en híbridos de maíz con el mismo herbicida (Bunting et al., 2004a) y también con rimsulfuron en el mismo cultivo (Fuentes & Leroux, 2002). Sin embargo, la dinámica de recuperación varió entre genotipos, siendo los genotipos 2 vías subtropicales y templados los que mayor recuperación mostraron posteriormente a los primeros registros de daño a los 7 días post aplicación. La variabilidad entre genotipos también estuvo relacionada con las variables específicas de producción de semillas medidas durante el período reproductivo, siendo los genotipos tropicales y subtropicales 1x los que mostraron una demora, aunque sutil, en alcanzar el momento de 50 % de estigmas visibles y de emisión de polen producto de la aplicación del herbicida. No obstante, no fueron encontradas diferencias en S50 en genotipos templados 1x. Los genotipos tropicales 2x tuvieron una demora en S50 por la aplicación del herbicida, no siendo así para P50. Lo hallado es de sumo valor para entender la relación de las variables y el potencial impacto en la coincidencia de floración cuando se recomiendan los diferimientos de siembra para alcanzar los cruzamientos en la producción de semilla híbrida, aun cuando no se presentan síntomas visibles previamente.

La aplicación del herbicida impactó negativamente sobre características del tejido reproductivo, lo cual se evidenció en una mayor esqueletonización y tamaño de panojas en antesis. Evidencias previas también hallaron reducciones en el tamaño de las panojas en maíz en líneas endocriadas de maíz aplicadas con primisulfuron-methyl o rimsulfuron (Stefanovic et al., 2004 y 2010). Este hallazgo es de suma relevancia para el proceso de caracterización de las líneas para las recomendaciones de manejo en producción de semilla híbrida, donde claramente variables como estas deben ser consideradas para la

toma de decisiones de aplicación desde el punto de vista del parental polinizador en el esquema de cruzamiento, pero considerando al mismo tiempo que la variable de cantidad de polen no se ve afectada por la aplicación. Finalmente, la ponderación del efecto sobre cada una de las variables podría ser complementado con un índice que integre más de una característica en un solo valor para una mejor caracterización fenotípica de los parentales polinizadores. Dicho de otra forma, en el presente trabajo se analizaron las variables POL, TSZ, SKLP y Alt por separado, pero sería provechoso generar índices integrados que ponderen cada una estas características para entender el impacto en la aptitud final como polinizador de los parentales que cumplan dicha función en el esquema de producción de semilla híbrida de maíz y que puedan ser afectados por un herbicida.

La altura de planta a floración y el rendimiento se vieron afectados por el herbicida en ciertos genotipos y ambientes y no en otros, con una clara prevalencia de genotipos sensibles al herbicida dentro del grupo subtropical y tropical y más aún en los parentales simples. La interacción genotipo $\times$ tratamiento explicó el 17,2 y 6,6 % de la variación para altura de planta y rendimiento respectivamente, mientras que el ambiente (definido por el sitio de testeo y campaña agrícola) en interacción con el parental explicó 0,7% de la variabilidad de altura y un 3,8% del rendimiento. Por otro lado, la triple interacción genotipo $\times$ tratamiento $\times$ ambiente explicó un 3,6% la altura de planta y un 5,5% de la variación del rendimiento. El grupo subtropical 1x fue el que experimentó la mayor reducción en altura de planta frente a la aplicación del herbicida a través de los ambientes, mientras que el tropical 2x fue el que lo tuvo para rendimiento. Es importante destacar la alta interacción genotipo $\times$ tratamiento del herbicida dentro de los grupos subtropicales y tropicales, en contrastante con lo hallado con los genotipos templados. Esto último estaría indicando una mayor homogeneidad en el segundo grupo frente al primero en lo que respecta a la tolerancia al herbicida.

La agrupación de genotipos por la respuesta relativa a la aplicación del herbicida contra el control tuvo relación con el programa de origen, sobre todo contrastando el germoplasma tropical y subtropical 1x, pero al observar los genotipos 2-vías en estos mismos 2 grupos, dicha separación no fue tan clara. Contrastantemente, en los genotipos templados, donde la susceptibilidad fue menor, sí se vio la separación 2x vs 1x. Esto demuestra una primera causa mayor relacionada al programa / grupo origen y segunda causa relacionada a la conformación / heterosis. El hecho de encontrar mucha

variabilidad de los genotipos 1x y 2x dentro de las ramas con mayor o menor reducción en los programas subtropicales y tropicales, es un fuerte indicio de codominancia / dominancia intermedia del carácter (Pataky et al., 2008) ante la presencia del alelo mayor susceptible, mientras que, sin ese alelo presente, la heterosis marcó las agrupaciones como en el caso de los genotipos templados. Estos hallazgos son de relevancia para su consideración en programas de mejoramiento considerando el carácter de tolerancia/resistencia, que es fundamental para el avance de híbridos de estadios pre comerciales a comerciales. Finalmente, conocimiento de la interacción del herbicida con el genotipo es de mucha relevancia para su correcta caracterización en cuanto a la tolerancia genética al herbicida, y el hecho de haber ambientes donde se expresa dicha interacción y otros en los que no, plantea una necesidad de entendimiento más profundo para seleccionar los sitios de evaluación, así como la posibilidad de estudiar la tolerancia en relación con el parentesco para trabajar activamente sobre la selección genética.

El primer objetivo de la presente tesis fue **analizar como variables relacionadas a fitotoxicidad en tejido vegetativo, la fenología, afecciones en órganos reproductivos, la altura de planta a floración y el rendimiento responden frente a la aplicación del herbicida en los distintos genotipos y ambientes de evaluación**, desprendiéndose la primer hipótesis que establecía que *hay distinta respuesta al herbicida con relación a las características vegetativas y reproductivas exploradas para los distintos genotipos y ambientes*. De esta manera, y por los resultados hallados en los capítulos 3.1.1, 3.1.2 y 3.1.3 es posible aceptar esta hipótesis.

En esta tesis se halló una relación entre la altura de la planta a floración y el rendimiento con las notas de severidad medida a los 21 días post aplicación; se afectaron los parámetros de la correlación lineal entre el tratamiento aplicado frente al control al considerar las parcelas que tuvieron sintomatología leve para altura, y más aún con las parcelas de sintomatología severa para altura y rendimiento (Figuras 26 y 27). El presente trabajo permitió evaluar un elevado número de parentales, escenario probable de hallar en distintos programas de la industria semillera. La asociación entre valores de sintomatología leve con reducciones de altura, y valores de sintomatología severa con reducciones en el rendimiento en distintos parentales, permitiría identificar de forma temprana aquellos parentales que no debieran ser considerados para el uso del herbicida usado en este estudio para control químico de malezas en la industria de semillas. Así, genotipos que manifiesten valores de sintomatología leve, debieran manejarse con sumo

cuidado en relación con las condiciones que favorezcan la mayor susceptibilidad al herbicida que se discutirá más adelante, ya que son los que mostraron reducción significativa en la altura de la planta a floración, pero no en el rendimiento (Figura 25). La ausencia de una relación directa entre la disminución de la altura de planta por la aplicación con un impacto en el rendimiento coincide con trabajos previos en líneas de maíz (Stefanovic et al., 2004 y 2010).

Claramente en un programa donde se requiera trabajar en la tolerancia al principio activo estudiado en el presente trabajo sería deseable seleccionar en contra de los genotipos con valores mayores a 2 de severidad o, pensando en las recomendaciones de producción de semilla, evitar el uso del herbicida en genotipos con valores de severidad también mayores a 2. En la industria de semilla son extremadamente costosos los procesos de caracterización de germoplasma. Los resultados de esta tesis plantean sobre un proceso de caracterización de líneas endocriadas para focalizarse en la sintomatología del daño en tejidos vegetativos, y no en rendimiento, altura de planta y otras variables asociadas con la fenología del cultivo, como P50 y S50, permitiendo en una eficiente redistribución de recursos para tal fin.

El segundo objetivo de esta tesis planteaba **estudiar la correlación de la respuesta entre variables vegetativas y reproductivas**, mientras que la hipótesis que se desprendía mencionaba que *existe una asociación entre el mayor daño foliar observado en el período post aplicación, con una menor altura de planta a floración y el rendimiento*. Por lo visto en el capítulo 3.1.4 es posible parcialmente aceptar la segunda hipótesis de este trabajo.

4.2. Condiciones meteorológicas post aplicación y su efecto sobre la expresión de la sintomatología del herbicida

Las condiciones ambientales post aplicación se pudieron agrupar, según las variables meteorológicas registradas, en 2 grandes grupos: subtropical y templado. Estos quedaron definidos por la combinación contrastante de radiación y temperatura; alta radiación y baja temperatura en templados y lo inverso en el grupo subtropical. Asimismo, se encontró gran variabilidad dentro de estos dos grupos. Dicha variabilidad permitió encontrar condiciones ambientales específicas que tuvieron una correlación diferencial cuando se comparó el efecto sobre el tratamiento aplicado comparado al del control sobre variables como la altura de las plantas a floración y el rendimiento. Estas fueron principalmente: i) la radiación y la humedad relativa impactando positivamente de manera diferencial a la parcela tratada frente al control, y ii) el déficit de presión de vapor y la amplitud térmica impactando negativamente. El patrón de correlaciones cambia para ambas variables respuesta usando las medias ambientales de los 2 días posteriores a la aplicación frente a lapsos de los 7 a 21 días post aplicación (Tabla 10), siendo las medias del segundo grupo las que más tuvieron cambios de correlaciones entre los tratamientos de herbicidas. Esto refuerza la conveniencia de usar esos lapsos como ya fue planteado en estudios previos (Brankov et al. 2014 y Dragicevic et al. 2018), así como posiblemente, en relación específica a HR, la absorción del antídoto inmediata si bien es importante (Bunting, 2004b) sea vea más afectada por episodios como lavado producto de riego o precipitaciones y no en relación con la humedad relativa del ambiente. En ese mismo sentido, lo hallado en relación con esta última variable ambiental (mayor humedad relativa, más beneficio relativo en las parcelas tratadas frente al control) difiere de trabajos realizados con rimsulfuron en híbridos de maíz (Fuentes y Leroux, 2003) en donde se evaluó el impacto de la HR combinadamente con temperatura en 4 situaciones o con trabajos sobre malezas con principios activos como glufosinato de amonio donde la mayor humedad relativa mejoró la eficacia (Anderson et al., 1993). No obstante, la integración de la variable temperatura y HR a través del DPV es un concepto interesante para considerar, ya que la misma tuvo una fuerte relación con la respuesta diferencial entre tratamientos (mayor DPV, mayor disminución de altura y rendimiento en el tratamiento aplicado frente al control) y plantea un interrogante acerca de condiciones de stress que censa el cultivo en un ambiente post aplicación. Asimismo, estos hallazgos

están en línea con las hipótesis de metabolización o detoxificación que serían importantes vías de recuperación posterior a la aplicación del herbicida, como ya se ha encontrado en maíz y otras especies para varias sulfonilureas (Goatley et al., 1990; Gallaher, 1999; Fuentes y Leroux, 2003). Por otro lado, es importante resaltar que el ambiente explorado en términos térmicos debe relativizarse a los óptimos térmicos del tipo de germoplasma, para lo cual se ha reportado variabilidad (Hunter, 1973). En este sentido, el ambiente de producción de semillas de siembras de agosto en la zona del noroeste de Argentina presenta, desde el punto de vista térmico, una condición mucho más desfavorable cuando esto se relativiza a los óptimos térmicos que pueden tener genotipos tropicales y subtropicales frente a los templados, siendo importante este contraste en etapas iniciales del cultivo por sus efectos fenotípicos (Hardacre y Eagles, 1989). Por dicho motivo, realizar un testeo de genotipos templados junto a los subtropicales / tropicales en zonas subtropicales y templadas respectivamente podría ser de mucha utilidad para el conocimiento de las interacciones germoplasma x ambiente de tratarse de genotipos que puedan adaptarse en ciclo. Finalmente, tener este tipo de balance de germoplasma podría ayudar a observar las correlaciones en términos absolutos y no solo las comparaciones entre aplicado y control. De esta forma, el tercer y último objetivo planteado en esta tesis fue de **profundizar acerca de que variables ambientales tienen mayor impacto en la respuesta a la aplicación del herbicida en los distintos parentales de maíz híbrido.** La tercer y última hipótesis mencionaba que *existe mayor probabilidad de hallar impacto en tejido vegetativo y órganos reproductivos ante condiciones de menor humedad relativa, mayor déficit de presión de vapor, mayor amplitud térmica y menor radiación durante los 21 días posteriores a la aplicación del herbicida.* De esta manera, y por los resultados hallados en el capítulo 3.2 es posible aceptar la última hipótesis.

5. Conclusiones

En la presente tesis se encontró una gran variabilidad ambiental y genotípica en la sintomatología causada por foramsulfuron + iodosulfuron aplicado en post emergencia. Fue muy evidente la mayor probabilidad de tener daños severos en germoplasma subtropical y tropical frente al templado, y particularmente en ambientes de evaluación específicos que estuvieron asociados con una mayor posibilidad de encontrar síntomas moderados a severos en período vegetativo. Asimismo, la aplicación del herbicida tuvo un efecto leve ($p < 0.05$) pero significativo sobre el tamaño de la panoja, aumentó la esqueletonización, y no logró impactar en la cantidad de polen.

Se pudo observar variabilidad en el rendimiento y altura de planta a floración por la aplicación del herbicida para los distintos tipos de germoplasma. A su vez, dentro de cada grupo de origen de germoplasma, se encontró variabilidad significativa entre los parentales. Los genotipos tropicales fueron los más afectados, seguido por los subtropicales y siendo los menos afectados los templados, en marco de germoplasma diverso perteneciente a una sola empresa y programa de mejoramiento de maíz. Los genotipos 1-vía fueron más afectados que los 2-vías para estas 2 variables dentro de cada grupo, a excepción de los genotipos tropicales 2x para rendimiento que mostraron reducciones significativas. Se encontró una mayor interacción genotipo $\times$ tratamiento en los grupos tropicales y subtropicales frente a los templados, siendo esta diferencia de comportamiento un aspecto que futuros trabajos podrán determinar en cuanto a causas directas o interacciones.

Hubo asociación entre la severidad de los síntomas post aplicación con el rendimiento y la altura de la planta a floración. Se halló una relación de valores de severidad mayores con alturas a floración menores, mientras que para el rendimiento no hubo diferencias entre las notas leves a moderadas de severidad relevadas en período vegetativo, pero sí para las parcelas con severidad severa que se correlacionó con valores significativamente menores de rendimiento.

Se encontraron variables meteorológicas asociadas a un mayor impacto en altura de planta y rendimiento en las parcelas que mostraron alguna sintomatología en período vegetativo: i) las condiciones de mayor radiación y humedad relativa medidas desde los 7 a los 21 días post aplicación tuvieron coeficientes de correlación positivos comparando

la parcela tratada frente al control y ii) el déficit de presión de vapor estimado y la amplitud térmica tuvieron coeficientes de correlación negativos sobre altura y rendimiento comparando la parcela aplicada con herbicida frente al control.

La Figura 33 resume en forma esquemática los resultados de la presente tesis:

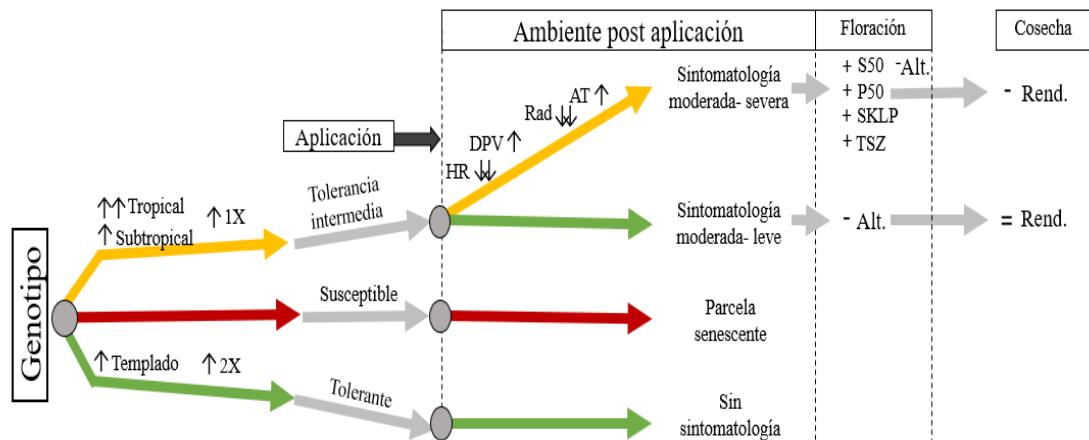


Figura 33. Esquema conceptual resumiendo el aporte del presente trabajo en relación con la aplicación del herbicida, el genotipo y la ambiente post aplicación. 1x: líneas endocríada, 2x: parentales dobles, ↑/↓: aumenta/disminuye la probabilidad del siguiente estado por el aumento de la variable, ↑↑/↓↓: aumenta/disminuye mucho la probabilidad del siguiente estado por el aumento de la variable. (-): efecto negativo sobre la variable, (+): efecto positivo sobre la variable / HR: Humedad Relativa, DPV: déficit de presión de vapor, Rad: radiación incidente, AT: amplitud térmica). S50: momento de 50% de floración femenina (°C. día), P50: momento de 50% de floración masculina ((°C. día), SKLP: esqueletonización de panoja (1 “menor severidad”- 9 “mayor severidad”), TSZ: tamaño de panoja (1 “grande”-9 “pequeña”), Rend.: Rendimiento (kg. ha⁻¹) y Alt: Altura de la planta a floración (cm)

5.1. Trabajos futuros

A partir de los hallazgos obtenidos en la presente tesis se derivan líneas de investigación que podrían ayudar al entendimiento de la interacción Genotipo $\times$ Ambiente $\times$ Tratamiento para mejorar los métodos de evaluación de parentales para la producción de semilla híbrida de maíz, seleccionar germoplasma tolerante y mejorar las recomendaciones agronómicas generales. Las mismas podrían ser:

- i) Estudios de similitud genética para QTLs o haplotipos que controlan el carácter
- ii) Realizar estudios sobre familias segregantes para corroborar la herencia del carácter de resistencia / tolerancia mediante variables fenotípicas ya validadas.
- iii) Utilización de índices para caracterizar polinizadores que integren varias mediciones con diferente ponderación en función al impacto en la producción de semilla y entender el impacto del uso de inhibidores de la ALS sobre estos índices.
- iv) Generar un análisis para evaluar el riesgo asociado a falta de sincronía de la floración y riesgos en la producción y pureza de semillas de maíz
- v) Estudiar variables relacionadas a la viabilidad y germinación de polen ante aplicaciones tardías de inhibidores de la ALS.
- vi) Realizar estudios basados en series de años extensas de información meteorológica para robustecer y profundizar el entendimiento de las variables ambientales en relación con la respuesta a los herbicidas.

Bibliografía

Aaron L., A.R. Waltz, F.W. Martin, W. Roeth y J.L. Lindquist. 2004. "Glyphosate Efficacy on Velvetleaf Varies with Application Time of Day," *Weed Technology* 18:931-939.

Allen R.G., L.S. Pereira, D. Raes, M. Smith.1998. "Crop evapotranspiration – Guidelines for computing crop water requirements," *Food and Agriculture Organization of the United Nations - Irrigation and drainage paper* 56, fórmulas 12 y 19. URL https://appgeodb.nancy.inra.fr/biljou/pdf/Allen_FAO1998.pdf

Anderson D. M., C. J. Swanton, J. C. Hall y B. G. Mersey. 1993. "The influence of temperature and relative humidity on the efficacy of glufosinate - ammonium," *Weed Research* 33:139–147.

Arisnabarreta S. y F. Solari. 2017. "Hybrid Maize Seed Production Yield Associations with Inbred Line Performance in Multi-environment Trials," *Crop Science* 57:3203-3216.

Barrett M. 1995. "Metabolism of herbicides by cytochrome P450 in corn," *Drug Metabol. Drug interacts* 12 :299-315.

Becker H. C.1993. "Pflanzenzüchtung," *Stuttgart : Ulmer* pp.146.

Benzécri, J.1979. "Sur le calcul des taux d'inertie dans l'analyse d'un questionnaire", *Cahiers de l'Analyse des Données* 3 :55–71.

Berkson. J.1953. "A Statistically Precise and Relatively Simple Method of Estimating the Bio-Assay with Quantal Response, Based on the Logistic Function", *Journal of the American Statistical Association* 48(263):565-599.

Boerboom C. 2005. "Herbicide Mode of Action Key for Injury Symptoms," *Integrated Pest Management Program, manual de extension Universidad de Wisconsin*.

Brankov M., V. Dragicevic, M. Simic y I. Spasojevic. 2014. "Dynamics of soluble protein content and grain yield in maize inbred lines influenced by foramsulfuron," *Fifth International Scientific Agricultural Symposium*," 497-500.

Bunting J. A., C. L. Sprague y D.E. Riechers. 2004a. "Corn Tolerance as Affected by the Timing of Foramsulfuron Applications," *Weed Technology* 18 (3):757-762.

Bunting J. A., C.L. Sprague y D.E. Riechers. 2004b. "Physiological basis for tolerance of corn hybrids to foramsulfuron," *Weed Science* 52:711-717.

Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C. W. Robledo. 2008. "InfoStat," *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*.

Dragicevic V., M. Simic, K. Jovanovic-Radovanov, M Brankov y J. Srdić. 2017. "Reaction of susceptible maize inbred lines to herbicides," *Genetika* 49: 765-774.

Frascaroli E. y D.D. Songstad. 2001. "Pollen genotype selection for a simply inherited qualitative factor determining resistance to chlorsulfuron in maize," *Theoretical and Applied Genetics* 102:342-346.

Fuentes C.L. y G.D. Leroux. 2002. "Effect of air temperature, relative humidity and growth stage on rimsulfuron tolerance in selected field maize hybrids," *Agronomía Colombiana* 3:21-30.

Fuentes C.L. y G.D. Leroux. 2003. "Rimsulfuron uptake, translocation, metabolism and ALS sensitivity to rimsulfuron in two maize hybrids," *Agronomía Colombiana* 21 (1-2):17-27.

Gallaher, K., T. Mueller, R. Hayes, O. Schwartz y M. Barrett. 1999. "Absorption, translocation, and metabolism of primisulfuron and nicosulfuron in broadleaf signalgrass (*Brachiaria platyphylla*) and corn," *Weed Science* 47(1):8-12.

Gilmore E.C. Jr y J.S. Rogers. 1958. "Heat units as a method of measuring maturity in corn", *Agronomy Journal* 50:611-615

Goatley J.M., A.J. Powell, M. Barret y W.W. Witt. 1990. "Absorption, Translocation, and Metabolism of Chlorsulfuron in Kentucky Bluegrass and Tall Fescue," *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115(5):771-774.

Good, R.L., y A. R. Hallauer. 1977. "Inbreeding Depression in Maize by Selfing and Full-sibbing 1," *Crop Science*. 17:935-940.

Green J.M. y J.F. Ulrich. 1993. "Response of Corn (*Zea Mays* L.) Inbreds and Hybrids to Sulfonylurea Herbicides," *Weed Science* 41(3):508–516.

Grey T.L., D.C. Bridges, P. Raymer, D. Day y D.S. Nesmith. 2000. "Differential Tolerance of Fresh Market Sweet Corn Cultivars to the Herbicides Nicosulfuron and Primisulfuron," *HortScience* 35(6):1070-1073.

Hardacre A. K. y H. A. Eagles. 1989. "The temperature response of young hybrid maize plants adapted to different climates," *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 17(1): 9-17.

Harm C.T., A.L. Montoya, L.S. Privalle y R.W. Briggs. 1990. "Genetic and biochemical characterization of corn inbred lines tolerant to the sulfonylurea herbicide primisulfuron," *Theoretical and Applied Genetics* 80: 353-358.

Hatzios K.K. y N.R. Burgos. 2004. "Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners," *Weed Science* 52:454-467.

Heap I. 2019. "International Survey of Herbicide-Resistant Weeds - HRAC codes," *Weed Science* URL <http://www.weedscience.org/>.

Hinz J.R.R, y M.D.K. Owen. 1996. "Nicosulfuron and Primisulfuron Selectivity in Corn (*Zea Mays*) and Two Annual Grass Weeds," *Weed Science* 44(2): 219–223.

Hunter R.B., L. A. Hunt y L. W. Kannenberg. 1973. "Photoperiod and temperature effects on corn," *Canadian Journal of Plant Science* 54:71-78.

Johnson B.C. y B.G. Young. 2002. "Influence of temperature and relative humidity on the foliar activity of mesotrione," *Weed Science* 50: 157-161.

Jones D.F.1939. "Continued Inbreeding in Maize," *Genetics* 24: 462-473.

Jordan T.N. 1977. "Effects of temperature and relative humidity on the toxicity of glyphosate to bermudagrass (*Cynodon dactylon*)," *Weed Science Society of America* 25 (5) 448-451.

Kidnie M. J. 1998. "A growth-room bioassay for predicting the field tolerance of corn hybrids to rimsulfuron," *Tesis de graduación de maestría, Universidad de Guelph, Canada*.

Kleffmann & Partner SRL – KLEFFMANNGROUP. 2012. “Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios,”.

Koeppel M. K., C.M. Hirata, H.M. Brown, W.H. Kenyon, D.P. O’Keefe, S.C. Lau, W.T. Zimreducciónn y J.M. Green. 2000. “Basis of Selectivity of the Herbicide Rimsulfuron in Maize,” *Pesticide biochemistry and Physiology* 66:170-181.

Kreuz K., R. Tommasini y E. Martinoia. 1996. “Old Enzymes for a New Job,” *Plant Physiology* 111: 349-353.

Lourenço Nass L. y J.B. de Miranda Filho. 1995. “Inbreeding depression rates of semi-exotic maize (*Zea mays* L.) populations,” *Brazilian Journal of Genetics* 18(4): 585-592.

McMullan P.M. 1996. “Grass Herbicide Efficacy as Influenced by Adjuvant, Spray Solution PH, and Ultraviolet Light,” *Weed Technology* 10(1): 72–77.

Meghji, M. R., J. W. Dudley, R. J. Lambert, y G. F. Sprague. 1984. “Inbreeding Depression, Inbred and Hybrid Grain Yields, and Other Traits of Maize Genotypes Representing Three Eras,” *Crop Science* 24:545-549.

Morton C. A. y R. G. Harvey. 1992. “Sweet Corn (*Zea Mays*) Hybrid Tolerance to Nicosulfuron,” *Weed Technology* 6(1): 91–96.

Nielsen B. 2000. “Scrambled Silks in Corn,” *Corny News Network, Agronomy Department, Purdue University. West Lafayette, IN*.

Nocelli Pac S. 2018. “Evolución y retos de la Siembra Directa en Argentina,” *Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa (Aapresid)*.

Nordby J. N., M. M. Williams II, J. K. Pataky, D. E. Riechers y J. D. Lutz. 2008. “A Common Genetic Basis in the Sweet Corn Inbred Cr1 for Cross-Sensitivity to Multiple Cytochrome P450-Metabolized Herbicides,” *Weed Science* 56(3): 376-382.

O’Sullivan, J., P. H. Sikkema, y R. J. Thomas. 2000. “Sweet corn (*Zea mays*) cultivar tolerance to nicosulfuron,” *Canadian Journal of Plant Science* 80:419–423.

Oerke E-C. 2006. “Crop losses to pests,” *The Journal of Agricultural Science* 144:31–43.

Pataky J.K., J.N. Nordby, M.M. Williams II y D.E. Riechers. 2006. "Inheritance of cross-sensitivity in sweet corn to herbicides applied post emergence," *Journal of the American Society for Horticultural Science* 131:744-751.

Pataky J. K., M. D. Meyer, J. D. Bollman, C. M. Boer-boom y M. M. Williams II. 2008. "Genetic Basis for Varied Levels of Injury to Sweet Corn Hybrids from Three Cytochrome P450-Metabolized Herbicides," *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133:438-447.

Phillips McDougall. 2017. "An Analysis of Historical Application Rate and Volume Trends in the Crop Protection Industry," estudio de consultoría para *CropLife International*.

Reising-Rechner S., A. Santana, M. Stahl y S. Calhoun. 2014. "Evaluation of Pollen Density on Male Inbreds Used in Hybrid Maize Production," *Department of Crop Sciences, College of Agriculture and Environmental Sciences, University of Illinois, Urbana-Champaign*, Poster de reunión annual de la Sociedad Americana de Agronomía (ASA).

Riechers D.E., K. Kreuz y Q. Zhang. 2010. "Detoxification without Intoxication: Herbicide Safeners Activate Plant Defense Gene Expression," *Plant Physiology* 153(1): 3-13.

Ritchie, S.W., J.J. Hanway, y G.O. Benson. 1986. "How a corn plant develops," Iowa State University, *Special report* 48.

Robineau T., Y. Batard, S. Nedelkina, F. Cabello-Hurtado, M. LeRet, O. Sorokine, L. Didierjean y D. Werck-Reichhart. 1998. "The Chemically Inducible Plant Cytochrome P450 CYP76B1 Actively Metabolizes Phenylureas and Other Xenobiotics," *Plant Physiology*, 118:1049-1056.

Saleh G. B., R. Mohd y C. Thoo. 1993. "Inbreeding Depression and Heterosis in Sweet Corn Varieties Manis Madu and Bakti-l," *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science* 16(3): 209-214.

SAS Institute.2018. JMP versión 14.1.0 (64-bit), *SAS Institute Inc.*, Cary, NC.

Shekoofa, A., J.T. Brosnan, J.J. Vargas, D.P. Tuck y M.T. Elmore. 2020. "Environmental effects on efficacy of herbicides for postemergence goosegrass (*Eleusine indica*) control". *Scientific reports* 10: 20579.

Shull G. H. 1908. "The Composition of a Field of Maize," *Journal of Heredity* 4 (1): 296–301.

Shull, G H. 1948. "What Is "Heterosis?," *Genetics* 33(5): 439-46.

Shumway C.R. y B. Scott. 2006. "Herbicide symptomology training manual," *manual de extensión, College of Agriculture, Arkansas State University*.

Siminszky B. 2006. "Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism," *Phytochemistry Reviews* 5:445-458.

Stackhouse P.W, Jr, Taiping Zhang, D. Westberg, J. Barnett, T. Bristow y B. Macpherson, J. M. Hoell. 2016. "POWER", NASA Langley Research Center; 2SSAI/NASA Langley Research Center; Booz Allen Hamilton, Norfolk, VA 8.0.1.

Stefanovic, L., M. Milivojevic, I. Husic, M. Simic y Z. Hojka. 2004. "Selectivity of the sulfonylurea herbicide group in the crop of commercial KL-maize inbred lines," *Herbologia* 5:53-63.

Stefanovic, L., M. Simic y V. Dragicevic. 2010. "Studies on maize inbred lines susceptibility to herbicides," *Genetika-Belgrade* 42:155-168.

Trigo E. 2011. "Fifteen Years of Genetically Modified Crops in Argentine Agriculture," Argentine Council for Information and Development of Biotechnology – *ArgenBio*.

Tuesca D. 2011. "Malezas: Tolerancia a herbicidas," Congreso Mundo Soja Maíz-Centro de convenciones UCA, Puerto Madero.

Ustarroz D. 2013. "Control de *Sorghum halepense* "sorgo de Alepo" resistente a glifosato con herbicidas inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS)," *Boletín estación Experimental Agropecuaria INTA Manfredi* ISSN: 1851-4987

Ward, J. H., Jr. 1963. "Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function," *Journal of the American Statistical Association* 58:236–244.

Williams M.M., J.K. Pataky, J.N. Nordby, D.E. Riechers, C.L. Sprague, J.B. Masiunas. 2005. "Cross-sensitivity in sweet corn to nicosulfuron and mesotrione applied post emergence," *HortScience* 40(6):1801-1805.

Wold, H. 1966. "Estimation of principal components and related models by iterative least squares," Krishnaiah, P.R. (ed.). *Multivariate Analysis*, New York Academic Press 391-420.

World Health Organization. 2009. "The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification," pp. 5.

Zhao C.C., J.R. Teasdale y C.B. Coffman. 1990. "Factors Affecting the Activity of Thifensulfuron," *Weed Science* 38 (6):553-557.