

**EFFECTO DE FITOTOXICIDAD EN MAÍZ (Zea Mays L.) CAUSADO POR EL
HERBICIDA HORMONAL 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D).**

Trabajo Final de Grado
del alumno



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 23 de Mayo del 2018.

**EFFECTO DE FITOTOXICIDAD EN MAÍZ (Zea Mays L.) CAUSADO POR EL
HERBICIDA HORMONAL 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D).**

Trabajo Final de Grado

del alumno

GHISO PILAR

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Carlos Sosa)
Co-Director

(Leandro Freggiaro)
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 23 de Mayo del 2018.

Introducción.....	6
La agricultura en Argentina	6
Generalidades del cultivo de maíz.	7
Advenimiento de los herbicidas.....	9
Generalidades del 2,4-D	10
Daño por 2,4-D en otros cultivos.....	12
Antecedentes de daño por 2,4-D en maíz.	133
Hipótesis	16
Objetivos.....	17
Materiales y métodos.....	18
Descripción	18
Aplicación herbicida	221
Diseño experimental	212
Variables en estudio.....	233
Resultados.....	299
Discusión	44
Conclusión.....	51
Bibliografía:.....	52
Anexo	609

Tablas

Tabla 1.....	Página 23
--------------	-----------

Tabla 2.....Página 27

Tabla 3.....Página 29

Tabla 4.....Página 30

Tabla 5.....Página 31

Tabla 6.....Página 32

Tabla 7.....Página 32

Tabla 8.....Página 33

Tabla 9.....Página 34

Tabla 10.....Página 34

Tabla 11.....Página 34

Tabla 12.....Página 34

Tabla 13.....Página 35

Tabla 14.....Página 35

Tabla 15.....Página 35

Tabla 16.....Página 38

Tabla 17.....Página 39

Tabla 18.....Página 40

Tabla 19.....Página 41

Tabla 20.....Página 42

Introducción

- La agricultura en Argentina.

En Argentina la actividad agrícola es uno de los pilares fundamentales de la economía. En tal sentido, la superficie estimada, destinada a actividades agropecuarias de acuerdo a los datos del INDEC en el último relevamiento agropecuario del año 2008 (Censo Nacional Agropecuario) ronda las 190 millones de hectáreas (INDEC, 2018).

La agricultura argentina está fuertemente identificada con cuatro cultivos: trigo, maíz, girasol y soja. Sin embargo, muchas de las regiones que hoy son casi exclusivamente productoras de granos, años atrás eran mixtas ya que en ellas coexistía la agricultura con la ganadería (Satorre, 2005). A pesar de la reducción de la superficie ganadera, el stock vacuno no ha disminuido: es decir esto fue acompañado por un reordenamiento territorial de la actividad (Bilello et al.; 2009)

Transformaciones experimentadas en los últimos 30 años – como la expansión de las técnicas de labranza mínima, precios internacionales de ciertos productos primarios, el cambio de escala de la empresa agrícola, la disponibilidad de capital financiero a los consorcios de siembra- relegaron la actividad ganadera y extendieron las superficies agrícolas con una modificación brusca en la participación de los cultivos: la soja (Satorre, 2005). Sin embargo, en la actualidad (campaña 2017/2018) el maíz resurge por ser un eslabón de mayor rentabilidad (efecto directo: resultados económicos) sin siquiera tomar en cuenta que la rotación con maíz ofrece beneficios a largo plazo manteniendo la estabilidad en los sistemas de producción (efecto indirecto) (La Nación; 2017)

(Agrositio; 2012).

La siembra directa (SD) como sistema productivo basado en la ausencia de labranzas, en el mantenimiento permanente de los suelos cubiertos por rastrojo y en su articulación con otras técnicas que se conocen como “Buenas Prácticas Agrícolas” (BPA), comenzó a incursionar en Argentina desde la segunda mitad de la década de 1970. Fue también durante los ´70s que se sintetizó el herbicida Glifosato y en los ´90s ingresaron al mercado los cultivos tolerantes a herbicidas (Adama-FAUBA;2015).

Fue en esa década donde la tasa de adopción de la SD creció de manera exponencial gracias a la simplificación del proceso productivo y reducción de los costos de producción generados por el lanzamiento al mercado de una variedad de soja resistente al glifosato (soja RR) (Braun 2015).

Desde ese entonces, con el advenimiento de los cultivares de soja genéticamente modificados resistente al herbicida Glifosato y con la adopción de nuevas tecnologías de manejo como la siembra directa, el sistema agrícola nacional encontró un nuevo paradigma productivo (Adama-FAUBA, 2015).

- Generalidades del cultivo de maíz.

Si se analiza a la agricultura argentina desde las ópticas del desarrollo económico y el desarrollo sustentable, el maíz y su cadena de valor pueden ser considerados los de mayor potencial en este sentido, por su capacidad de colaborar con la sustentabilidad del sistema productivo, en la producción primaria y fundamentalmente agregando valor en la conversión de este cultivo en alimento y energía (FADA, 2014).

El maíz es uno de los cereales más utilizados por el hombre y una de las

especies vegetales más productivas, tanto en su producción global (993 millones de toneladas campaña 1617) como en su productividad (8 Ton ha⁻¹ rendimiento medio nacional 2016/17 (Bolsa de cereales-2017)). El maíz, junto con el trigo y el arroz, es uno de los cereales más importantes en el mundo por ser más que un alimento. Este cultivo multifacético tiene múltiples usos en varias etapas de su desarrollo (desde mazorcas jóvenes hasta mazorcas maduras), se puede utilizar como alimento, forraje y materia prima para la industria (obtención de edulcorantes, bebidas alcohólicas, combustible, etc.) (FAO, 1993).

Botánicamente el maíz (*Zea mays*) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual dotada de un amplio sistema radicular fibroso. Existen dos hipótesis sobre el origen del maíz: la primera y más aceptada sostiene que deriva del teosinte, término usado para referirse a pastos salvajes emparentados con la especie; la segunda sugiere que el maíz cultivado actualmente proviene de una forma extinta de maíz nativo salvaje en las Alturas de México (Wheatherwax, 1954; Mangelsdorf, 1974).

Ya sea que el maíz se haya originado del teosinte o que el teosinte y el maíz se hayan originado separadamente, hay un hecho indiscutido y es que el centro de origen del maíz proviene de México (Wheatherwax, 1955; Iltis, 1983; Galinat 1988; Wilkes 1989). A partir de allí se difundió por el resto de América a través de los habitantes indígenas, y posteriormente los exploradores llevaron el cultivo a Europa, desde donde los comerciantes lo difundieron por Asia y África (Paliwal et al., 2001)

Con una superficie de 7,3 millones de hectáreas cultivadas, el maíz es el segundo cultivo de Argentina; y con una producción estimada de 39,8 millones de toneladas para la campaña 2016/17, el país es el 2° productor y el 3°

exportador mundial. Estos datos demuestran la importancia del maíz en el mapa de recursos naturales de Argentina (BCR, 2016)

Este cultivo es altamente sensible a la competencia de malezas durante las primeras etapas de su ciclo e infestaciones moderadas redundan en pérdidas marcadas de rendimiento. Con el advenimiento de la SD se incrementó, por ejemplo, la presión de gramíneas anuales. Esto condujo a la necesidad de complementar diferentes estrategias de control incluyendo la combinación de herbicidas pre emergentes y post emergentes (Ponsa et al., 2006). Hoy la problemática, por ejemplo, con *Amaranthus* spp (vulgarmente conocido como Yuyo Colorado) una maleza de hoja ancha con resistencia confirmada a Glifosato y a la familia de ALS; pone en juego el uso de nuevas estrategias y herramientas como el 2,4-D (REM; 2018)

- Advenimiento de los herbicidas

La SD está compuesto por un conjunto de prácticas como son la cobertura, las rotaciones, la fertilidad y el manejo integrado de malezas; lo que fomenta el uso de numerosos herbicidas pre y post emergencia a fin de controlar las malezas de los cultivos (Braun, 2015).

Marzocca (1993) en su Manual de Malezas define a las malezas como plantas que llegan a ser perjudiciales o indeseables en un determinado lugar y en un cierto tiempo. Al estar vinculadas a los cultivos las malezas pueden verse favorecidas o perjudicadas por las diferentes prácticas de manejo. (De la Vega, 2013).

Con más del 95% de la superficie de soja producida con soja RR en Argentina, el uso de Glifosato como principal herbicida para el control de malezas

se extendió a todo el territorio nacional (Adama-FAUBA, 2015). Se generó una dependencia casi exclusiva a este herbicida de amplio espectro - al ser capaz de ser utilizado en barbecho y en distintos momentos del cultivo - y esta práctica de manejo de no rotar principios activos provocó un aumento de la presión de selección en las malezas, generando malezas resistentes y tolerantes a este principio activo (INTA, 2014).

La agricultura ha avanzado en la última década hacia esquemas productivos más complejos, que requieren manejar mayor cantidad de especies de cultivos. Se sabe que un cultivo sin control de malezas tiene un potencial de pérdida de rendimiento del 37% (Schulz y Kabelo, 2016) y que la rotación con una gramínea como el maíz constituye una herramienta efectiva para contribuir a la estabilidad de los sistemas de producción (Satorre, 2005).

- Generalidades del 2,4-D.

El herbicida 2,4-D se desarrolló en la década de 1940 y se utilizó a gran escala durante varios períodos, hasta verse suplantado en los mercados agrícolas por herbicidas como glifosato y glufosinato de amonio. Sin embargo, la aparición de malezas resistentes a estos herbicidas ha llevado a las empresas biotecnológicas a desarrollar cultivos que confieran resistencias a 2,4-D (Lurquin, 2016)

La clasificación de herbicidas según *Herbicide Resistance Action Committee*, sitúa a todos los herbicidas auxínicos sintéticos dentro del grupo cuyo modo de acción es similar a la hormona natural auxina o ácido indolacético (AIA) pero a diferencia con el AIA endógeno las concentraciones de estos no pueden ser cuidadosamente controladas ni reguladas por las plantas (McCarthy, 2004).

Dentro de este grupo se hayan incluido 5 (cinco) subgrupos y el 2,4diclorofenoxiacético se incluye dentro de derivados del ácido fenoxiacético. Este herbicida se utiliza con éxito desde hace unos 70 años para controlar malezas de hoja ancha, principalmente en cultivos de cereales y hasta en áreas no agrícolas (Zahoor et al.; 2017).

Si bien el 2,4-D fue el primer herbicida sintetizado de este grupo, se sabe relativamente poco sobre su mecanismo de acción (es decir sobre la interferencia bioquímica o biofísica que determina el daño final a la planta). Una de las dificultades para estudiarlo es la variedad de distintos tipos de procesos fisiológicos que parecen controlar. Por lo tanto, a pesar de que ha sido estudiado durante algunas décadas su mecanismo de acción específico todavía no ha sido completamente resuelto (Di Tomaso, 2008).

Investigaciones realizadas indican que este grupo de herbicidas actúa sobre la síntesis de los ácidos nucleicos, pero el 2,4-D interfiere además en otros procesos fisiológicos de la planta como respiración, fotosíntesis, absorción de nutrientes, división celular y otros. (CIAT, 1982).

Se trata de un herbicida selectivo para gramíneas de acción sistémica que se utiliza en forma post emergente para el control de malezas de hoja ancha en distintos cultivos como cereales, sorgo, caña de azúcar y maíz, entre otros. (CASAFE, 2007).

Los herbicidas fenoxi derivados como el 2,4-D pueden ser formulados bajo la forma de sales o de ésteres. Las dos tienden a diferenciarse en varios aspectos, entre ellos se destaca la presión de vapor más alta (mayor volatilidad) y la mayor actividad en las plantas (al ser más solubles a la cutícula) por parte de la formulación éster, lo que no siempre juega como una buena característica

ya que en instancias equívocas puede generar daños al cultivo (PennState, 2017).

Conociendo la predisposición de la volatilización y/o deriva del herbicida en sus formulaciones ésteres (butílico e isobutílico) el Ministerio de Agroindustria Argentino resolvió restringir la aplicación bajo cualquier modalidad (aérea, terrestre o manual) de los herbicidas 2,4-D en formulaciones ésteres durante el 1° octubre al 31 de marzo de cada año a partir del 1° abril del 2017 (Ministerio de agroindustria; 2016).

- Daño por 2,4-D en otros cultivos.

Con la siembra directa se requiere antes de la implantación, realizar barbecho químico con herbicidas para controlar malezas que compitan con el cultivo por agua, nutrientes y luz. Para dicho barbecho es común la utilización de mezclas de herbicidas como glifosato con 2,4-D que han mostrado algunos efectos fitotóxicos en cultivos como trigo y maíz (Gancedo, 1951; Arregui et al., 2009).

Las deformaciones por 2,4-D aparecen sobre el tejido meristemático (puntos de crecimiento) o aquellos potencialmente en crecimiento.

Estudios realizados en Canadá, sobre la aplicación de dosis recomendadas de 2,4-D en distintos cultivares de trigo demostraron mermas significativas en el rendimiento (entre un 8-20%) (Ivany et al., 1990), deformaciones y efectos tóxicos en la germinación del trigo (Swati y Ratnadeep, 2016).

Tampoco escapa a los síntomas generados por este herbicida el cultivo del algodón. En esta oleaginosa pueden aparecer lesiones en hojas, tallos, flores

y cápsulas originadas después del tratamiento (Guevara, 1998).

- Antecedentes de daño por 2,4-D en maíz.

Hasta el 1970, el 2,4-D fue ampliamente utilizado en los cultivos de maíz y sorgo a pesar de los riesgos de lesiones. Fue durante los años 80 y 90 con el desarrollo de alternativas herbicidas (sulfoniluréas, difeniléteres) y el desarrollo de maíces tolerantes a herbicidas (glifosato y glufosinato de amonio) que ocurrió un descenso del uso de 2,4-D en maíz, pasando del 13% del herbicida total ingrediente activo utilizado a 1968 a solo el 1% en 2008 (Fernandez-Cornejo et al; 2014). Sin embargo, en la última década se presentaron diversos casos de malezas resistentes a herbicidas, entre ellos glifosato, permitiendo la expansión de otros herbicidas (como Cletodim y Haloxifop) y el aumento por lo menos hasta en un 25% del uso de 2,4-D (Bertello; 2015).

Este herbicida es selectivo en el maíz (al igual que en otras gramíneas como sorgo y trigo) solo en las etapas vegetativas, ya que las plantas son más susceptibles a los reguladores de crecimiento en épocas de intensa división celular (INIFAP, 2006). La selectividad en este cultivo se debe a la degradación del herbicida en compuestos no fitotóxicos, mecanismo que puede verse disminuido a bajas temperaturas (Arregui et al., 2009). Es decir, las gramíneas también pueden sufrir fitotoxicidad por herbicidas hormonales si se aplican en momentos no adecuados.

Cabe aclarar que se entiende por “fitotoxicidad” a los daños producidos por un tratamiento herbicida a un propio cultivo (Ministerio de Agricultura, 1986) que se puede expresar en distintos órganos de una planta (Arguissain y Gregori, 2007).

Existe una etapa óptima en maíz para la aplicación de 2,4-D y es cuando la planta tiene una altura menor de 20 cm (Lee et al., 2012). El momento de aplicación del 2,4-Diclorofenoxiacético podría ser causal de daño si no se aplica en el período óptimo para el cultivo. Fuera de esa “ventana” de aplicación causa anomalías morfológicas y fragilidad en tallos que pueden afectar negativamente a las plantas (y por ende al rendimiento en grano) como: vuelco (Ross, 2014), quebrado en verde del tallo de maíz –*green snap*- (Ferraguti et al., 2010); deformación de espigas (CIAT, 1982) (un síntoma que puede generar este fitosanitario y que afecta irreversiblemente la calidad y rendimiento del cultivo), (K-State, 2014), torcimiento y cristalización de tallos (se quiebran fácilmente), encebollamiento (enrollamiento) de hojas jóvenes, esterilidad de flores (INIFAP, 2006) y fusión de las raíces de anclaje (NRCCA, 2010).

El 2,4-D, como todos los herbicidas hormonales, en bajas concentraciones exhibe propiedades inductoras de crecimiento similares a las que poseen las hormonas naturales como el ácido indolacético con la diferencia de que la planta no puede controlar o dosificar el movimiento de esta hormona sintética provocando un crecimiento excesivo (CIAT, 1982).

Otros estudios han confirmado que el 2,4-D a mayores concentraciones puede inhibir la germinación, retardar el crecimiento de las plántulas, afectar la elongación de las raíces (UNSL, 2016; Gancedo 1951) y generar una incapacidad de desarrollar un adecuado sistema radicular (Guevara, 1998); lo que podría significar una menor posibilidad de aprovechamiento del agua y nutrientes indispensables para el buen desarrollo de la planta.

Se ha comprobado que la manifestación de fitotoxicidad generada por este herbicida hormonal puede variar según el cultivar utilizado, las condiciones

ambientales y el estrés del cultivo (OMAFRA, 2009). Según Hoshaw y Guard (1951): “la tolerancia del maíz al 2,4-D no depende del tamaño de la planta, sino de la tasa de crecimiento en el momento del tratamiento”.

Si bien las publicaciones citadas han estudiado diferentes aspectos del efecto del 2,4 D sobre diferentes cultivos, poco se sabe del efecto de 2,4 D y las posibles consecuencias de estos efectos fitotóxicos sobre el cultivo de maíz; en un sistema donde el uso del 2,4-D pareciera cada vez más frecuente ya que ante la aparición de malezas resistentes al glifosato; una de las principales recomendaciones para enfrentar a estas especies es la rotación de herbicidas con diferentes principios activos (ON24; 2014).

El presente trabajo se enfoca en estos puntos e interpreta, las variaciones genéticas en la longitud de raíces como sinónimo de alteraciones morfológicas y también su impacto en la variación de rendimiento.

Hipótesis

Las hipótesis a estudiar en la presente investigación son:

(i) Existen alteraciones morfológicas en la raíz de la planta de maíz por efecto de la aplicación de herbicida hormonal 2,4-Diclorofenoxiacético y dichos efectos varían según el genotipo.

(ii) Estas alteraciones dan origen a diferencias en el rendimiento entre los genotipos estudiados.

Objetivos

(i) Analizar cuantitativamente la variación en longitud de raíces por efecto de la aplicación de 2,4-diclorofenoxiacético y las diferencias entre 3 (tres) genotipos de interés.

(ii) Determinar si existen diferencias significativas entre genotipos de maíz para la variable rendimiento.

Materiales y métodos

Para el cumplimiento de los objetivos mencionados se obtuvo y utilizó la información generada de un ensayo conducido en el Campo Experimental de la empresa DuPont - Pioneer ubicado en Pergamino (BsAs) sobre un suelo Argiudól típico serie Pergamino, durante la campaña 2013/2014.

A continuación, se detalla el material, el tipo de diseño utilizado y las variables en estudio.

- **Descripción**

Este ensayo incluyó 26 híbridos modernos comerciales y pre comerciales de maíz Dupont Pioneer e híbridos comerciales de otras empresas (madurez relativa 118-120) sometidos a tres niveles de tratamientos o dosis de 2,4-D: testigo, 500 cc ha⁻¹ (1x) y 1000 cc ha⁻¹ (2x) en 2 repeticiones.

Los híbridos utilizados se pueden categorizar según su madurez relativa (MR). Ésta no tiene unidades y está calculada en base de un conjunto de genotipos estándar sembrados en un gran número de localidades, que definen una regresión donde la MR se estima en función de la humedad a cosecha. Esta regresión luego se utiliza para calcular la madurez relativa en los nuevos genotipos.

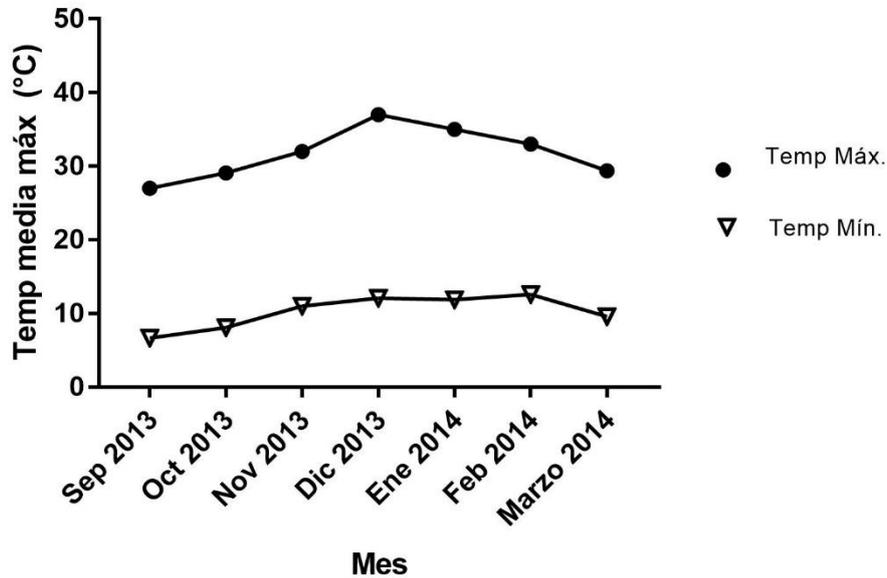
En este ensayo se utilizaron híbridos de maíz de ciclo intermedio (MR 115 A 118) y ciclo completo (MR 119 a 124).

Híbrido	MR	CICLO
AP07-YR	115	CI
AP92-R2	116	CI
AP80-HR	116	CI
AP78-YR	117	CI
AP77-08	118	CI
AP23-21	118	CI
AP05-HR	118	CI
AP47-3P	118	CI
AP87-MG	118	CI
AP33-H	118	CI
AP45-MC	118	CI
AP42-YR	118	CI

Híbrido	MR	CICLO
AP58-CL	119	CC
AP58-H	119	CC
AP56-37	120	CC
AP49-H	120	CC
AP58-YR	120	CC
AP69-YR	120	CC
AP62-CL	120	CC
AP54-HR	120	CC
AP55-H	120	CC
AP60-H	120	CC
AP95-21	122	CC
AP60-NC	122	CC
AP00-TG	124	CC

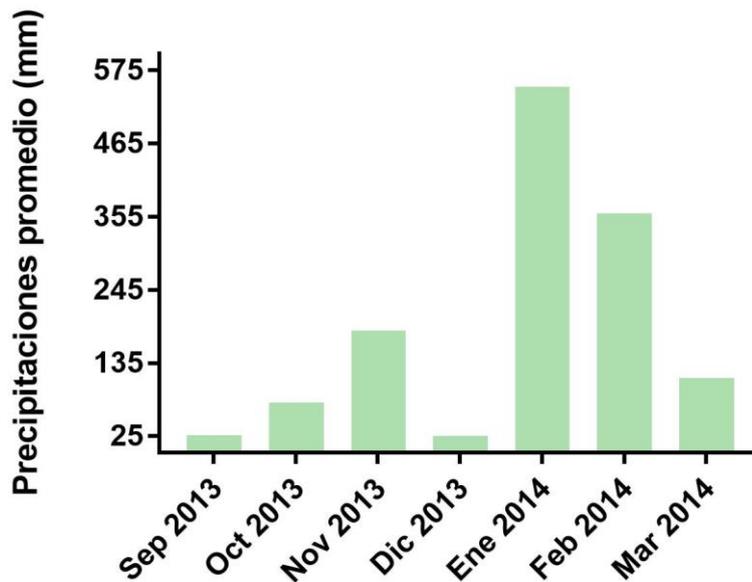
En el grafico 1 y 2 se muestran las precipitaciones y temperaturas máximas durante la campaña 2013/14.

Grafico 1: Temperaturas máximas y mínimas en °C para Pergamino, campaña 2013/2014.



(Fuente: INTA Pergamino).

Gráfico 2: Registro de lluvias mensuales (mm) en la localidad de Pergamino, campaña 2013/2014.



Las dimensiones de cada unidad experimental (parcela) fue de un surco de cuatro metros de largo con una distancia entre hileras de 0,70 metros.

El ensayo se sembró el 7 de Octubre del 2013 en siembra directa con una sembradora experimental de 8 surcos neumática Bertini-Almaco Seed Pro 360 y se fertilizó con 250 kg ha⁻¹ de urea y 120 kg ha⁻¹ de fosfato mono-amónico, ambos incorporados a la siembra. Todo el ensayo, incluyendo el nivel testigo, se mantuvo libre de malezas e insectos para no tener una variable más de estrés (Anexo I).

- Aplicación herbicida

El herbicida hormonal utilizado en el ensayo fue un 2,4-diclorofenoxiacético formulación éster butílico de marca comercial Herbifen Super con un equivalente ácido (e.a.) de 77,4g. El dato de e.a. se aclara en la etiqueta del producto ya que es la cantidad del ácido madre (el ingrediente activo), es decir, el agente fitotóxico que se libera en la planta.

Este herbicida se aplicó con el cultivo en estado vegetativo (V2), en un volumen de agua de 100 litros/ha con una mochila pulverizadora con barra de 80 cm y cuatro pastillas en abanico plano 8003, la presión de trabajo utilizada fue de 1.5 bares.

La aplicación del herbicida se hizo en función del período crítico de competencia del cultivo. A partir de este concepto se desarrolla el período crítico de control tardío (PCTA), que representa el máximo período de tiempo que un cultivo puede convivir con las malezas sin que afecte significativamente su rendimiento. Se asume que la aplicación de un herbicida post emergente no

debería demorarse más allá de la 5-6ta hoja del cultivo (20-24 días postemergencia) (Fassio et al., 1998). Pero esta ventana de aplicación se puede ver reducida en su duración para el caso de algunos herbicidas. Por ejemplo, como el caso de este ensayo, el maíz es tolerante al efecto de herbicidas hormonales para el control de malezas de hoja ancha desde emergencia hasta V2-V3 (8-12 días postemergencia) (Fassio et al., 1998), después de ese estado ontogénico su aplicación puede producir daños al cultivo (Satorre et al., 2003).

- Diseño experimental

Se realizaron tres (3) diseños completamente aleatorizados con diferencia en la dosis aplicada de 2,4-D.

La parcela principal corresponde a los distintos tratamientos de herbicida 2,4-diclorofenoxiacético (0 cc ha, 500 cc ha⁻¹ y 1000 cc ha⁻¹) y las sub-parcelas a los 26 híbridos de interés de la empresa (que serán identificados bajo un código, debido al carácter reservado de la información) que contaron con 2 repitieron dentro de cada nivel de tratamiento. La representación gráfica del diseño se muestra en el *Anexo II y III* observándose en este una faltante aleatorización de los tratamientos de herbicidas.

Es común los casos de experimentos dentro de empresas en donde se prioriza la practicidad sobre la “pureza” del diseño experimental. En este caso se optó por una simplificación por la búsqueda de homogenización de la dosis herbicida utilizada y la minimización de deriva entre bloques vecinos.

Estrictamente al no tener repeticiones reales para el factor herbicida, las dosis herbicidas estadísticamente se podrían confundir con factores del ambiente que podrían diferir entre las diferentes dosis: 2x, 1x y Testigo. Esta

limitación se puede minimizar por el conocimiento detallado que se tiene del terreno y las dimensiones acotadas del ensayo que no permiten suponer ninguna diferencia ambiental significativa entre los bloques correspondientes a cada dosis de herbicidas.

- Variables en estudio

En este experimento se consideraron 2 variables.

Longitud de raíces

Para responder al primer objetivo se analizó la longitud de raíces en milímetros de solo 3 genotipos. Hubo que seleccionar algunos genotipos, ya que no se contaba con el capital humano y tiempo necesario para el estudio de los 26 híbridos; y en esa selección se hizo hincapié en los híbridos de interés de la empresa. Por esta cuestión de recursos se limitó a realizarse a 3 genotipos de los 26: AP80-HR; AP60-NC, AP42-YR (Ver Tabla 1)

Tabla 1: Muestra los genotipos seleccionados y sus características. Tipo de híbrido, tipo de endosperma, año de lanzamiento, tiempo térmico a antesis y madurez relativa.

Genotipo	Tipo de híbrido	Tipo de endosperma	Año de lanzamiento	Tiempo térmico a antesis (°Cd)*	Madurez relativa
AP80-HR	Simple	Semidentado	2012	780	116
AP60-NC	Simple	Semidentado	2012	834	122
AP42-YR	Simple	Semidentado	Pre Comercial	811	118

*- Tiempo térmico a antesis obtenido a partir de 14 localidades balanceadas.

Para responder a la primera hipótesis, sobre la variable longitud de raíces

(en mm) se utilizó el modelo que aquí abajo se detalla:

$$L_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}, i = 1,2,3 \text{ y } j = 1,2$$

Donde:

L_{ij} : es la longitud total de raíces de la j -ésima repetición del genotipo i

μ : es la longitud promedio de las raíces

τ_i : es el efecto del i -ésimo genotipo

ϵ_{ij} : es el error aleatorio correspondiente a la j -ésima repetición del genotipo i

De los dos surcos por híbrido (dos repeticiones de un surco para cada híbrido dentro de cada nivel de tratamiento) se eligieron al azar tres (3) plantas de cada tratamiento (Testigo, 1x, 2x). Estas plantas fueron extraídas del campo manualmente en el estadio R5 (escala de Ritchie y Hanway; 1992). Luego se cortó el tallo a la altura de la base, identificándolas con una etiqueta y se procedió a lavar con agua y con sumo cuidado las raíces. Una vez acondicionadas las raíces se procedió a obtener las imágenes a través de una cámara fotográfica y someterlas bajo el análisis del Software Assess (*Anexo V*). La cámara utilizada fue una Canon Rebel 3Ti objetivo estándar, con estabilizador óptico que permite enfoques de corta distancia e imágenes nítidas. La cámara fue colocada en una caja de fondo blanco (para mayor contraste) manteniendo constante la altura focal.

Se seleccionaron, para los 3 genotipos en sus dos repeticiones, plantas representativas de cada parcela, para ello se evitó seleccionar plantas competidas o con menor desarrollo que el resto.

Una vez obtenidas las imágenes se procesaron con el programa Assess 2.0 (Software de análisis de imágenes para enfermedades de las plantas)

(Lamari, 2002). Este es un software de análisis de imágenes designado para patología vegetal y agronomía. Mayormente se utiliza para cuantificar enfermedades en plantas, pero también permite medir de una manera rápida y confiable, área foliar, lesiones, porcentaje de cobertura del suelo y longitud y densidad de las raíces. En términos generales al calibrar en el sistema una grilla a un área de dimensiones conocidas, al procesar la imagen el programa convierte automáticamente píxeles en unidades físicas (en este caso mm, unidad recomendada para analizar longitud de raíces).

Una vez obtenidos los datos, las comparaciones entre longitud de raíces por tratamientos se efectuaron realizando con Infostat la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha=0,05$. La elección de esta prueba estadística se basó en discusiones de Montgomery (2005) quien afirma que Tukey controla mejor el nivel global de error tipo I.

Antes de realizar un análisis de la varianza con la prueba de Tukey a la variable longitud, se realizaron la comprobación de supuestos para el Anova para cada nivel de tratamiento: el estudio de normalidad de los residuos con la prueba de normalidad Shapiro- Wilks Modificado y la prueba de homogeneidad de las varianzas a través de un Gráfico de Dispersión de residuos vs predichos.

Rendimiento (kg/ha).

La variable que responde al segundo objetivo es el rendimiento en grano en kilogramos por hectárea (kg/ha) corregido a 15% de humedad. Hay que aclarar que para la variable rendimiento se analizaron solo 25 de los 26 genotipos presentes por la pérdida de datos de uno de ellos. Para la variable rendimiento,

y para responder a la segunda hipótesis, el modelo utilizado fue el siguiente:

$$R_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}, i = 1,2,3 \text{ y } j = 1,2$$

Donde:

R_{ij} : es el rendimiento en kg/ha del híbrido de la j -ésima repetición del genotipo i

μ : es el rendimiento promedio de los híbridos

τ_i : es el efecto del i -ésimo genotipo

ϵ_{ij} : es el error aleatorio correspondiente a la j -ésima repetición del genotipo i

El dato de rendimiento surge de cosechar el surco de cada parcela con una cosechadora mecánica experimental. El equipo cuenta con el sistema Grain Gage HarvestMaster que permite obtener el rendimiento en kilogramos y humedad de cada parcela al momento.

En la presente tesis se reportan los rendimientos por parcela expresado en kg/ha y corregidos a 15% de humedad (*Anexo V*) de solo 25 híbridos. Hay que detallar que el híbrido AP67-H no fue incluido durante el análisis estadístico de rinde ya que se perdieron sus datos, probablemente, debido a una falla técnica de la cosechadora.

Luego de procesar los datos se analizó estadísticamente mediante la prueba de Fisher con un $\alpha=0,05$. Carmer y Swanson (1973) demostraron que esta técnica de comparaciones múltiples funciona adecuadamente luego de haberse demostrado diferencias significativas entre los promedios en el ANOVA y si se usa un nivel de significación del 5%. Si bien no controla el nivel global de error de tipo I, esto no resulta problemático si se considera que la comparación entre los genotipos es exploratoria.

Clasificación visual de raíces según escala de EWRC.

Si bien no está dentro de los objetivos, se aprovechó la presencia de raíces malformadas por la fitotoxicidad y se analizó cualitativamente mediante una clasificación (score) de fotos de las raíces tomadas del ensayo.

La sintomatología específica de daño por 2,4-D en maíz es la presencia de raíces malformadas (entre otras cosas) (UGA,2012). En este ensayo ese síntoma se evidenció muy rápidamente y se pretendió clasificarlo y obtener información de una variable cualitativa como el aspecto de la raíz. Para ello de los surcos por híbrido presentes en los tratamientos (en cada nivel de tratamiento hay dos repeticiones de los genotipos), se tomó fotografías de la raíz que representara la situación de las parcelas.

Las fotos se clasificaron según la escala de EWRC (European Weed Research Council) (Ver Tabla 2) que va del 1 al 9 (siendo 1 ausencia de fitotoxicidad- 9 perjuicio total a causa de la fitotoxicidad).

Tabla 2: Escala de fitotoxicidad según E.W.R.C (Sandral et al., 1997).

Nota	Efecto del Herbicida		
	Malezas		Cultivo
	Control (%)	Evaluación	Fitotoxicidad
1	100	Excelente	Ausencia
2	98	Muy Bueno	Síntomas muy leves
3	95	Bueno	Leve
4	90	Suficiente	Moderado
5	80	Dudoso	Dudoso
6	70	Insuficiente	Efecto leve
7	50	Malo	Perjuicio fuerte
8	30	Pésimo	Perjuicio muy fuerte
9	0	Sin efecto	Perjuicio total

En el *Anexo IV* se presentan fotos de referencia de score, lo que se considera puntaje 1 (ausencia de síntomas de fitotoxicidad), 5 (intermedio) y 8 (perjuicio muy fuerte de fitotoxicidad).

Este dato de score de fitotoxicidad es una variable ordinal y no es factible realizarle un análisis de la varianza.

Lo que se pudo analizar exploratoriamente, al tener una doble clasificación por híbrido en cada tratamiento, es la homogeneidad de las muestras a través de la prueba de Chi-cuadrado para comprobar que la distribución de raíces afectadas por tratamiento no es proporcional.

Para ello se plasmó en una tabla las clasificaciones obtenidas por híbrido en cada repetición de cada nivel de tratamiento y estas fueron re-categorizadas en 3 grandes grupos: aquellos híbridos con score del 1 al 3 pertenecían al grupo *AFECCION LEVE*; los de score de 4 a 6 a *AFECCION MODERADA* y los de puntaje 7 a 9 al grupo de *AFECCION FUERTE*. A través de una tabla de contingencia se pudo realizar la prueba de homogeneidad.

Resultados

-Longitud de raíces:

Para probar el supuesto de inhibición en la elongación de raíces por 2,4-D se sometió a los tres (3) híbridos bajo el análisis del Software Assess (Lamari, 2002). Este programa otorgó un valor de L-área que representa la longitud de las raíces en milímetros (mm).

Detalle por nivel de tratamiento:

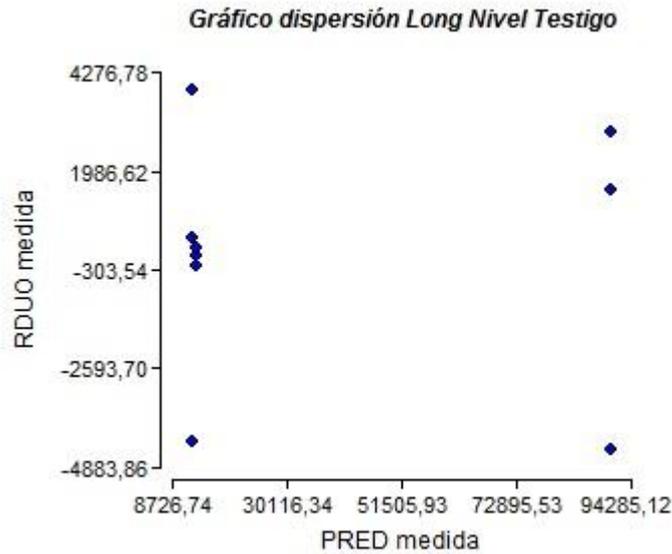
-Nivel de tratamiento Testigo:

El análisis de normalidad de Shapiro para este tratamiento (Tabla 3) con un nivel de confianza del 89% y un $\alpha=0,11$, dio un $pv=0,274$ ($>$ al nivel de significancia) aceptando H_0 y concluyendo que responde a una distribución normal.

Tabla 3: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	9	-2,6E-12	2836,5	0,89	0,274

El gráfico de dispersión muestra una distribución homogénea de las varianzas (puntos todos del mismo tamaño; que no muestran un patrón) y se termina por corroborar al observar el pv del anova.



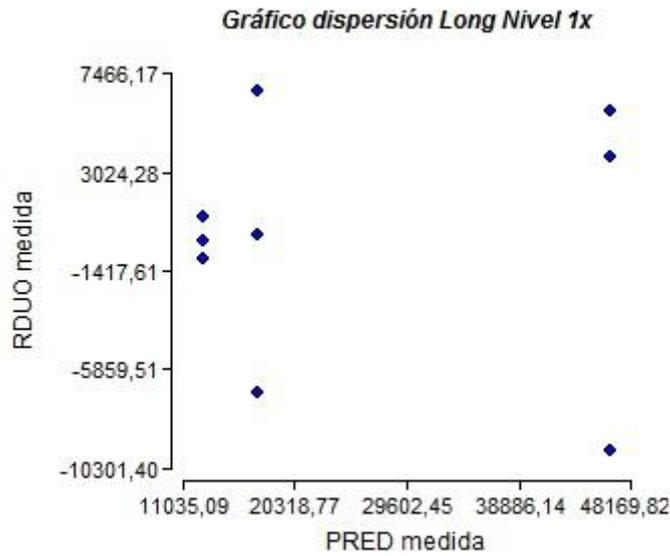
-Nivel de tratamiento 1x (500 cc):

El análisis de normalidad para este tratamiento (Tabla 4) con un nivel de confianza del 91% y un $\alpha=0,09$ nos arrojó un $pv=0,4613$ por lo que se acepta la distribución normal.

Tabla 4: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	9	0,00	5669,52	0,91	0,4613

El gráfico de dispersión también demostró a una distribución homogénea de las varianzas.



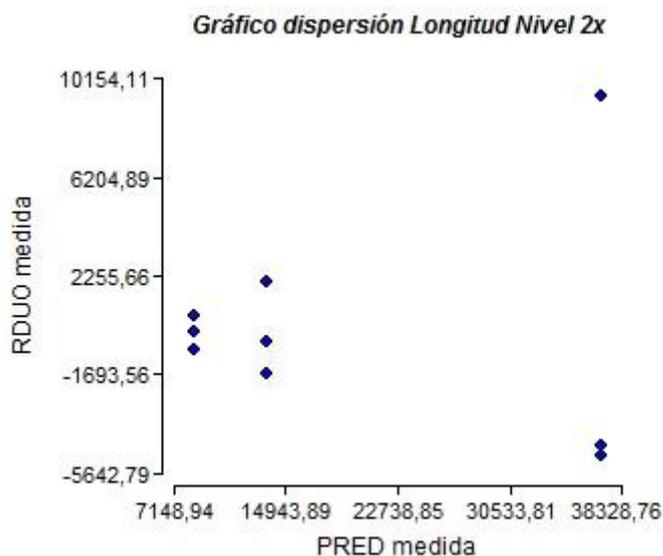
-Nivel de tratamiento 2x (1000 cc):

Para el análisis de normalidad del nivel de tratamiento (Tabla 5) con un nivel de confianza del 88% y un $\alpha=0,12$, obtuvimos un $p_v=0,2585$ lo que acepta el supuesto de distribución normal.

Tabla 5: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	9	-1,0E-12	4204,4	0,88	0,2585

El gráfico de dispersión, nuevamente, pareciera tratar una distribución homogénea de varianzas.



Habiendo probado los supuestos del ANOVA, se procedió a realizar la prueba de Tukey con un $\alpha=0,05$ para los genotipos por distintos niveles de tratamiento (Tabla 6, 7 y 8) donde:

H0: no hay diferencia significativa entre genotipos por tratamiento.

H1: hay diferencia significativa al menos en un genotipo por tratamiento.

Tabla 6: Análisis de la varianza para la variable longitud (mm) para los genotipos en el Trat. Test.

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	12031480551	2	6015740275	560,77	<0,0001
GE	12031480551	2	6015740275	560,77	<0,0001
Error	64366074,1	6	10727679		
Total	12095846625	8			

Tabla 7: Análisis de la varianza para la variable longitud (mm) para los genotipos en el Trat .1x.

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	2016489103	2	1008244551	26,23	0,0011
GE	2016489103	2	1008244551	26,23	0,0011
Error	230654034,3	6	38442339		
Total	2247143137	8			

Tabla 8: Análisis de la varianza para la variable longitud (mm) para los genotipos en el Trat. 2x.

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	1370414109	2	685207055	29,07	0,0008
GE	1370414109	2	685207055	29,07	0,0008
Error	141415923,8	6	23569320,6		
Total	1511830033	8			

En todos los casos $p_v < \alpha$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta la diferencia significativa entre genotipos a través de los tratamientos.

La comparación entre medias de genotipos muestra que la diferencia significativa está entre el híbrido AP80-HR del resto en todos los niveles de tratamiento; siendo este el único híbrido comercial del grupo.

La Tabla 9 muestra que el híbrido AP80-HR resulta ser el que cuenta con mayores diferencias en mm entre el nivel de tratamiento testigo y el resto. Este híbrido comercial pareciera responder como el AP42-YR con disminuciones en longitud de raíces ante ambos tratamientos, pero en un porcentaje bastante mayor a este último.

Es el híbrido AP60-NC quien presenta, a diferencia de los demás, una ligera acción positiva (es decir de elongación de raíces en mm) ante el primer nivel y una acción negativa (disminución en mm de longitud de raíces) ante el segundo nivel de tratamiento. Sin embargo, en todos los niveles su media es bastante similar a la del híbrido AP42-YR por lo tanto no muestra diferencias significativas con este.

Tabla 9: Longitud de raíces en milímetros (mm) por repetición y por híbrido.

Tratamiento	AP80-HR			AP60-NC			AP42-YR		
	TESTIGO	1x(500 cc)	2x (1000cc)	TESTIGO	1x(500 cc)	2x (1000cc)	TESTIGO	1x(500 cc)	2x (1000cc)
Repetición									
1	91956,05	50192,65	32400,17	16476,14	17417,66	15654,29	12866,27	13720,51	8566
2	85928,64	36988,1	46347,57	8330,26	10349,71	12027,64	13055,92	11815,44	7868,05
3	93303,63	52264,89	31986,75	13040,87	23871,51	13266,73	13245,58	12633,14	9264,56
Long Promedio (mm)	90396,11	46481,88	36911,50	12615,76	17212,96	13649,55	13055,92	12723,03	8566,20

-Rendimiento (kg/ha):

Al igual que para la otra variable, antes de comenzar con los análisis estadísticos se realizó la comprobación de supuestos para la variable rendimiento en cada nivel de tratamiento (Test, 1x y 2x).

En las tablas 10,11 y 12 se observan los resultados de la prueba de Shapiro Wilks para todos los niveles de tratamiento: Test; 1x y 2x respectivamente.

Tabla 10: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) (Test.)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	50	0,00	478,63	0,96	0,4961

Tabla 11: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) (1x)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	50	0	567,48	0,98	0,9142

Tabla 12: Prueba de normalidad Shapiro-Wilks (modificado) (2x)

Variable	N	Media	DE	W*	P
RDUO-LONG	50	0	816,81	0,92	0,0144

Para los tratamientos Test y 1x el pv (Shapiro Wilks) resultó $> \alpha$ por lo que acepta H_0 (corresponden a una distribución normal) y se procede a analizar los

ANOVAS con la prueba de comparaciones múltiples LDS Fisher con un $\alpha=0,05$. Los resultados de los análisis de varianza para los niveles de tratamiento Test y 1x permitieron rechazar H_0 ($p_v < \alpha$) es decir se presentan diferencias significativas de rendimiento entre genotipos (Tabla 13 y 14).

Tabla 13: Análisis de la varianza para Nivel Testigo.

Fuente de Varianza	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Valor F	p-valor
Modelo	36600491,4	24	1525020,48	3,4	0,0017
GE	36600491,4	24	1525020,48	3,4	0,0017
Error	11225349,2	25	449013,97		
Total	47825840,6	49			

Tabla 14: Análisis de la varianza para Nivel 1x.

Fuente de Varianza	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Valor F	p-valor
Modelo	94970903,9	24	3957121	6,27	<0,0001
GE	94970903,9	24	3957121	6,27	<0,0001
Error	15779687,3	25	631187,5		
Total	110750591	49			

Sin embargo para el nivel de tratamiento 2x (1000 cc de herbicida aplicado), el supuesto de normalidad no se cumple (Tabla 11: $p_v < \alpha$) y por lo tanto en el ANOVA con la prueba de Fisher con $\alpha=0,05$ tampoco se observan diferencias significativas entre tratamiento por genotipo ($p_v > \alpha$) (Tabla 15).

Tabla 15: Análisis de la varianza para Nivel 2x.

Fuente de Varianza	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados Medios	Valor F	p-valor
Modelo	45307973,2	24	1887832	1,44	0,1839
GE	45307973,2	24	1887832	1,44	0,1839
Error	32691839,7	25	1307674		
Total	7799812,87	49			

En el Anexo VI se observan los rindes promedios de cada genotipo en cada nivel de tratamiento.

El valor promedio de la variable rendimiento a través de los distintos niveles de tratamiento fue 12928 kg/ha en el tratamiento testigo, mientras que el

rinde de los niveles 1x y 2x fueron 13025 kg/ha y 10063 kg/ha respectivamente.

Para observar el comportamiento individual de los híbridos a lo largo de los distintos niveles de tratamiento se observó la clasificación en grupos estadísticos según la media que nos brinda la misma prueba de LDS Fisher al realizar el análisis de la varianza (Tabla 16, 17 y 18).

La tabla agrupa con letras comunes a aquellos híbridos que no son significativamente diferentes en cuanto a rendimientos promedios por nivel de tratamiento. Los primeros de la tabla serán aquellos que presentaron el rinde promedio mayor a diferencia de los que se ubican últimos.

Si observamos el intervalo de 5 híbridos con mejor rendimiento durante todos los niveles de tratamiento observamos que uno, el AP60-NC, que permanece en el grupo de las mejores medias de rendimiento en los tres niveles. Este híbrido muestra un aumento de rendimiento en comparación al rendimiento del tratamiento Testigo en el nivel 1x (+182 kg/ha) y una disminución de rendimiento durante el nivel 2x (-2700kg/ha). Es decir, se comporta como el ensayo en general (detallado más arriba).

Sin embargo, no todos los híbridos se comportaron de la misma manera. Por ejemplo, híbridos no comerciales como AP55-H y AP05-HR presentaron, en comparación con el rendimiento medio en el nivel testigo, una merma de rendimiento tanto en el nivel 1x como en el 2x.

El híbrido no comercial AP42-YR partió un de un excelente rinde promedio en el nivel testigo (14671 kg/ha) y lo aumentó para el nivel de tratamiento 1x (15112 kg/ha) siendo el primero de las listas en estos dos niveles. Ante el nivel de tratamiento 2x disminuyó su rendimiento a 10864 kg/ha.

Este híbrido se comportó como muchos otros mostrando una merma de

rendimiento ante el nivel 2x pero sin embargo su disminución de rinde significó un 25% con respecto a su rinde Testigo. Y si comparamos por ejemplo con otro híbrido no comercial que lideraba las tablas, el AP60-NC, si bien este mostró una merma de rinde en el nivel 2x el valor porcentual con respecto al nivel Testigo fue de un 19%. Estos valores porcentuales evidencian lo que también muestran los grupos estadísticos de LDS Fisher ya que, para ambos híbridos esta disminución los hace ubicarse en grupos con letras distintas a las que mantenían durante el nivel de tratamiento Testigo y 1x.

Cuando observamos los 5 híbridos de menor rinde promedio a lo largo de cada nivel de tratamiento encontramos que 3 de esos 15 híbridos se encuentran, durante los tres niveles de tratamiento, dentro de los cinco con menores rindes promedios: AP58-YR; AP87-MG y AP47-3P. Estos tres híbridos salen con rinde promedio medio aproximadamente de 11500 kg/ha del tratamiento testigo y disminuyen su rinde en los dos niveles restantes (1x y 2x). Sin embargo, el híbrido AP87-MG parece ser el más afectado ya que disminuyó en 28% durante el tratamiento 2x comparado con el Testigo.

Algunos genotipos parecen ser más susceptibles al 2,4-D que otros con mayor tolerancia o talvez mayor capacidad de detoxificación del herbicida.

Tabla 16 : Clasificación LDS Fisher en grupos estadísticos según rto medio para nivel Testigo.

GE	Medias	n	EE															
AP42-YR	14671,95	2	473,82	A														
AP55-H	14149,85	2	473,82	A	B													
AP60-NC	14100,2	2	473,82	A	B	C												
AP60-H	13714,8	2	473,82	A	B	C	D											
AP05-HR	13597,45	2	473,82	A	B	C	D											
AP45-MC	13538,75	2	473,82	A	B	C	D	E										
AP62-CL	13483,9	2	473,82	A	B	C	D	E	F									
AP54-HR	13427,65	2	473,82	A	B	C	D	E	F									
AP07-YR	13321,2	2	473,82	A	B	C	D	E	F									
AP77-08	13166,45	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP33-H	13000,1	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP78-YR	12992,9	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP58-H	12991,55	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP23-21	12958,85	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP49-H	12815,95	2	473,82		B	C	D	E	F									
AP95-21	12767,15	2	473,82			C	D	E	F									
AP58-CL	12764,75	2	473,82			C	D	E	F									
AP56-37	12647,8	2	473,82				D	E	F	G								
AP69-YR	12636,15	2	473,82				D	E	F	G								
AP80-HR	12415,45	2	473,82				D	E	F	G	H							
AP92-HR	12168,4	2	473,82					E	F	G	H							
AP58-YR	12144,05	2	473,82						F	G	H							
AP87-MG	11305,7	2	473,82							G	H							
AP00-TG	11232,6	2	473,82								H							
AP47-3P	11202,35	2	473,82								H							

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,10$)

Tabla 17 : Clasificación LDS Fisher en grupos estadísticos según rto medio para nivel 1x.

GE	Medias	n	EE																		
AP42-YR	15112	2	561,78	A																	
AP33-H	14786,9	2	561,78	A	B																
AP45-MC	14308,15	2	561,78	A	B	C															
AP60-NC	14282	2	561,78	A	B	C															
AP49-H	14228,95	2	561,78	A	B	C															
AP77-08	14043,9	2	561,78	A	B	C	D														
AP95-21	13985,1	2	561,78	A	B	C	D														
AP60-H	13819,3	2	561,78	A	B	C	D														
AP54-HR	13720,4	2	561,78	A	B	C	D														
AP80-HR	13675,6	2	561,78	A	B	C	D														
AP58-H	13606,7	2	561,78	A	B	C	D	E													
AP58-CL	13383,45	2	561,78		B	C	D	E	F												
AP23-21	13358,35	2	561,78		B	C	D	E	F												
AP05-HR	13167,85	2	561,78		B	C	D	E	F												
AP55-H	13066,9	2	561,78			C	D	E	F												
AP69-YR	12980,05	2	561,78			C	D	E	F	G											
AP56-37	12876,4	2	561,78			C	D	E	F	G											
AP62-CL	12800,8	2	561,78			C	D	E	F	G	H										
AP07-YR	12544,85	2	561,78				D	E	F	G	H										
AP00-TG	11984,85	2	561,78					E	F	G	H	I									
AP78-YR	11833,2	2	561,78						F	G	H	I									
AP58-YR	11360,05	2	561,78							G	H	I									
AP92-R2	11204,95	2	561,78								H	I									
AP47-3P	10420,1	2	561,78										I	J							
AP87-MG	9078,57	2	561,78																		J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,10$)

Tabla 18: Clasificación LDS Fisher en grupos estadísticos según rto medio para nivel 2x.

GE	Medias	n	EE							
AP62-CL	11601,9	2	808,6	A						
AP69-YR	11379,65	2	808,6	A	B					
AP60-NC	11330,5	2	808,6	A	B					
AP58-H	11108,05	2	808,6	A	B	C				
AP23-21	11075,9	2	808,6	A	B	C				
AP56-37	11049,75	2	808,6	A	B	C				
AP49-H	10924,45	2	808,6	A	B	C				
AP42-YR	10864,05	2	808,6	A	B	C				
AP55-H	10762,3	2	808,6	A	B	C	D			
AP05-HR	10467,5	2	808,6	A	B	C	D			
AP07-YR	10408,9	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP60-H	10136,18	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP77-08	9996,25	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP80-HR	9680,8	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP78-YR	9629,55	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP92-R2	9619,5	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP00-TG	9532,5	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP45-MC	9504,25	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP58-CL	9463,1	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP33-H	9337,85	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP54-HR	9287,15	2	808,6	A	B	C	D	E		
AP95-21	9149,6	2	808,6		B	C	D	E		
AP58-YR	8757,65	2	808,6			C	D	E		
AP47-3P	8443,5	2	808,6				D	E		
AP87-MG	8084,35	2	808,6					E		

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,10$)

-Clasificación visual de fitotoxicidad:

Este punto no responde a los objetivos del ensayo, pero se aprovechó la presencia de fitotoxicidad observada en las raíces de los distintos híbridos para analizar de una manera exploratoria, ya que una variable de clasificación ordinal como esta no permite un análisis de varianza.

Las fotos de las raíces de anclaje de los diferentes híbridos en las distintas aplicaciones de hormonal reflejaron los daños generados por 500 y 1000 ml; y permitió reconocer diferentes comportamientos entre los distintos materiales de maíz del mercado utilizados.

Tabla 19: Resultados de la clasificación visual promedio de los distintos materiales en todos los tratamientos según la escala de E.W.R.C.

GE	Testigo	500 cc/ha (1x)	1000 cc/ha (2x)
AP60-H	1.0	3	5.0
AP33-H	1.0	6.0	7.0
AP23-21	1.0	7.0	8.0
AP87-MG	1.0	8.0	8.0
AP56-37	1.0	7.0	8.0
AP80-HR	1.0	7.0	8.0
AP58-CL	1.0	8.0	8.0
AP58-YR	1.0	7.0	8.0
AP45-MC	1.0	8.0	8.0
AP49-H	1.0	7.0	7.0
AP55-H	1.0	7.0	8.0
AP62-CL	1.0	8.0	8.0
AP78-YR	1.0	8.0	8.0
AP42-YR	1.0	6.0	8.0
AP05-HR	1.0	7.0	7.0
AP77-08	1.0	6.0	6.0
AP95-21	1.0	8.0	8.0
AP92-R2	1.0	5.0	8.0
AP58-H	1.0	8.0	8.0
AP54-HR	1.0	8.0	8.0
AP67-H	1.0	7.0	8.0
AP60-NC	1.0	2.0	4.0

AP07-YR	1.0	8.0	8.0
AP69-YR	1.0	8.0	8.0
AP00-TG	1.0	8.0	8.0
AP47-3P	1.0	3.0	3.0

Los híbridos coloreados de la Tabla 19 (AP60-H, AP60-NC y AP47-3P) fueron los que demostraron un excelente comportamiento en su aspecto ante ambas dosis del herbicida como se muestra en el *Anexo VII*. Resultaron ser híbridos de dos empresas diferentes: dos materiales que aún no son comerciales (AP60-H y AP60-NC) y un tercer híbrido transgénico muy difundido en la zona (AP47-3P).

Con los valores de clasificación por híbrido en sus dos repeticiones por nivel de tratamiento se realizó una tabla de contingencia (Tabla 20). En las columnas se pusieron las variables de categorización (1 Afección Leve; 2 afección moderada y 3 afección fuerte) y en las filas los niveles de tratamientos (Test, 1x y 2x). Los valores de la Tabla 19 corresponden a las clasificaciones obtenidas de las fotos de las raíces.

Tabla 20: Tabla de contingencias

Trat	1 Leve	2 Moderada	3 Fuerte	Total
1x	7	13	32	52
2x	2	5	45	52
Test	52	0	0	52
Total	61	18	77	156

La prueba nos arroja un valor de Chi cuadrado de Pearson: $p_v < 0,0001$ y para este caso con un $\alpha = 0,05$ lo que indica que el comportamiento de las raíces no es proporcional para cada tratamiento.

Estadístico	Valor	gl	P
Chi Cuadrado Pearson	130,72	4	<0,0001

Las clasificaciones de las raíces muestran que las mayorías de las

afecciones fuertes, puntajes 7 a 9, se observaron en el nivel de tratamiento de 1000 cc de 2,4-D; mientras que las afecciones leves, puntajes del 1 a 3, fueron en su mayoría las del tratamiento testigo.

Discusión

Los genotipos AP80-HR y AP42-YR mostraron una inhibición en la longitud de raíces ante los dos niveles de tratamiento, mientras que sus rindes aumentaron ante la dosis de 500 cc y disminuyeron ante la segunda aplicación (1000cc). Esto coincide con lo que afirma Gancedo (1951) que las raíces del maíz son más sensibles, tanto a la acción inhibidora como estimulante del crecimiento del 2,4-D.

Sin embargo el tercer genotipo, AP60-NC, se comportó de distinta manera. Tuvo una respuesta positiva en longitud de raíces y rendimiento en grano ante el primer nivel de tratamiento y una respuesta negativa a ambos aspectos durante el segundo nivel.

La interacción entre genotipo y dosis de herbicida podría explicar las diferencias observadas en longitud (cm) de las raíces. Esta respuesta entonces, podría variar según la cantidad utilizada del herbicida hormonal y según el grado de tolerancia o capacidad de detoxificación del 2,4-D por parte del genotipo.

De seguir una línea de investigación sería ideal evaluar la posibilidad de vuelco de planta (ante presencia de raíces adventicias malformadas), la interacción entre rendimiento en granos y la altura de la planta, capacidad de búsqueda y absorción de nutrientes por parte de las raíces nodales (ante un acortamiento en su longitud), entre otras.

De los 25 híbridos de los cuales se analizaron los rindes, el 72% mostró un aumento en kilos ante la dosis de 500 cc y el 100% presentó una merma de kilos ante la dosis de 1000cc. Esto se podría correlacionar a lo que dicen Guzman y Wolf (1953) sobre el 2,4-D: en bajas concentraciones puede ser usado como un estimulador de crecimiento (por la elongación y división celular) pero en

altas concentraciones puede causar anomalías y hasta una significativa pérdida de rendimiento.

No hay que olvidar a la temperatura como factor predisponente a la fitotoxicidad del cultivo por este herbicida hormonal. Con todas las formulaciones (éster o amina) los riesgos de daño al cultivo son mayores cuando estos crecen en condiciones de alta temperatura y humedad en suelo (Peterson et al., 2016); ya que en condiciones de alta radiación y temperaturas (pero no extremadamente cálidos) el maíz está en situación favorable para un mejor crecimiento y rendimiento, es decir, situación de activo crecimiento y división celular.

Para cotejar esta idea se exportaron los datos de temperatura y precipitaciones de la campaña 2013/2014 del INTA Pergamino desde la página de Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica (SIGA) y AFA respectivamente (Gráfico 1 y 2).

De los 75 mm del mes de octubre, cercano a la fecha de aplicación del herbicida tuvimos entre unos 5-10 mm que pudieron haber facilitado la absorción por parte del suelo y su movilización hacia las raíces. Lo ideal sería realizar un análisis de concentración de auxinas en las raíces para corroborar si efectivamente el producto o los productos de metabolización del 2,4-D se movilaron hacia las raíces y actuaron como auxinas endógenas promoviendo el enraizamiento y ver las diferencias en concentraciones con los otros genotipos.

Los datos muestran que durante el mes de octubre en donde se llevó a cabo la siembra, la temperatura media máxima fue 29°C y la aplicación del herbicida se realizó en V2-V3. En octubre no hubo bajas temperaturas como para

suponer que disminuyó la tasa de detoxificación por parte del maíz.

A los defectos de determinar en cuanto afecta la aplicación de este herbicida hormonal a un cultivo no susceptible como es el maíz (si se utiliza en concentraciones adecuadas y aplicado en el momento correcto), las investigaciones deberían profundizarse en un amplio aspecto.

Entre ellas destaco alguna de las afirmaciones de ciertos autores. Arregui et al. (2009); señalan que la fitotoxicidad puede ser a causa de una baja detoxificación del 2,4-D por parte del maíz ante bajas temperaturas; o por lo que dicen Peterson et al. (2016); al saber que las formulaciones éster tienen una mayor captación (más rápida) por parte de las cutículas de las hojas, podría causar una mayor lesión por exceder la capacidad de este cultivo para metabolizar el herbicida a moléculas no tóxicas.

En este ensayo, se presentaron síntomas de fitotoxicidad (fusión de raíces de anclaje) por el herbicida hormonal y se vieron con claridad ante el aumento de la dosis del herbicida.

Híbridos como AP60-H; AP60-NC y AP47-3P fueron los que se mostraron más estables, casi sin sintomatología de fitotoxicidad en todos los niveles de tratamiento, resultado sobre el que se podría ahondar para advertir si tiene correlación con una menor probabilidad de vuelco (Rodríguez, 2015).

Analizando los scores que obtuvo cada genotipo, se ve mayoritariamente una susceptibilidad ante la mayor dosis de herbicida hormonal (1000 ml).

Las fotos tomadas a las raíces por tratamiento y su posterior análisis descriptivo demostraron que el 62% de los genotipos sufrió un alto perjuicio (clasificación 3: afección fuerte) en las raíces de anclaje ante los 500 ml de 2,4-diclorofenoxiacético y el 87% de ellos ante una aplicación de 1000 ml (Tabla 19).

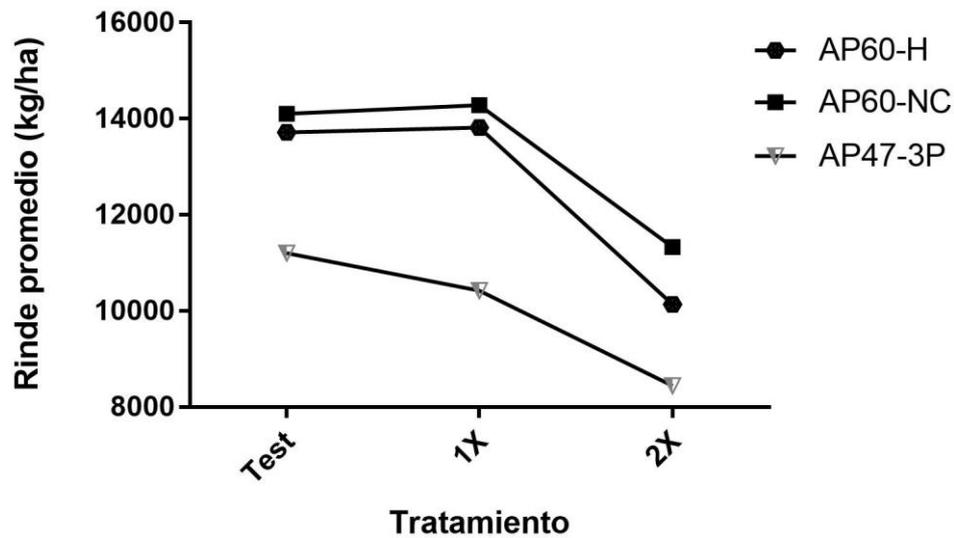
Muchos estudios han demostrado que cuando diferentes concentraciones de 2,4-D son esparcidas sobre plantas saludables, especialmente si se usa una dosis demasiado grande, la mayoría de ellas exhibe algún tipo de cambio fisiológico como decoloración de las hojas y hasta su muerte (Swati y Ratnadeep, 2016). Sin embargo, la lesión sobre el cultivo podría ser mayor si la pulverización ocurre durante el tiempo en que la especie cultivada es sensible al herbicida (Swati y Ratnadeep, 2016).

Estos efectos de fitotoxicidad se vieron claramente reflejados en este ensayo con la formación de callos en las raíces de anclaje –principalmente- y junto con estos otros síntomas que si bien se observaron no se sometieron a análisis, como curvatura de tallos y torcimiento de espigas (efecto denominado vulgarmente como pico de loro) (Fotografías en Anexo VIII)

En este ensayo los efectos morfológicos no parecieran ser directamente proporcionales al rinde de los híbridos. Un ejemplo es el caso del híbrido AP47-3P que, si bien no presenta casi síntomas visuales de fitotoxicidad, demostró una merma de rinde de 2700 kg entre el tratamiento testigo y el 2x (1000 cc ha -1) (Gráfico 3).

Gráfico 3: *Rinde promedio por tratamiento para los tres genotipos de*

mejor clasificación visual: AP60-H, AP60-NC Y AP47-3P.



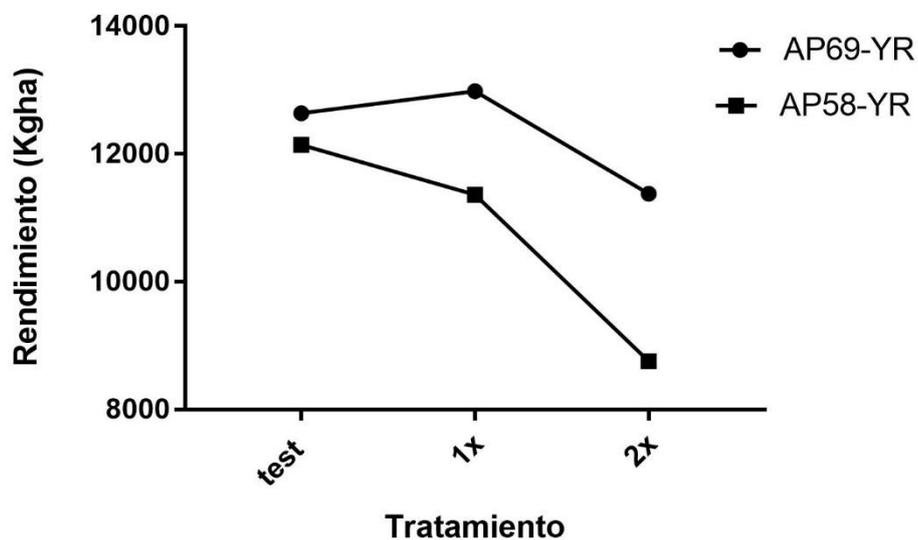
Cuando comparamos los genotipos que mejor clasificación visual obtuvieron nos encontramos con dos situaciones. Los híbridos AP60-NC y AP60-H se comportaron de forma similar presentando un aumento de rinde ante la primera dosis de herbicida (181 y 104 kg respectivamente) y una disminución ante la segunda aplicación de 2,4-D (-2769 y -3578 kg respectivamente). Siendo más específicos se puede decir que AP60-NC se comportó un poco mejor ante los síntomas y los rendimientos por tratamiento que AP60-H; es decir se correlaciona con observado en la Tabla 18.

No así el híbrido AP47-3P. Este genotipo de gran aceptación en todos los tratamientos herbicidas (casi sin sintomatología de fitotoxicidad en las raíces de anclaje) presentó una disminución de rinde tanto para 500 como 1000 cc de 2,4-D (gráfico 3), mostrando una curva de pendiente negativa pronunciada, es decir, comportándose como un híbrido más susceptible. Podríamos estar en presencia de una fitotoxicidad subclínica, en donde la sintomatología por parte del material no es evidente pero los resultados, en este caso de rendimiento, muestran que

sí resultó afectado por el herbicida.

En el gráfico 4 vemos la comparación entre un híbrido estable AP69YR (diferencia entre tratamiento testigo y 2x: 1256 kg) que presenta una curva mucho más plana que un híbrido muy susceptible como el AP58-YR (diferencia entre tratamiento testigo y 2x: 3386 kg).

Gráfico 4: Comparación de rindes durante todos los tratamientos entre dos genotipos: AP69-YR y AP58-YR.



Teniendo la clasificación de los híbridos según su ciclo, se observó la respuesta de rendimiento en los distintos niveles de tratamiento:

CICLO	RINDE PROM		
	TEST	1X	2X
COMPLETO	12990,49	13238,07	10344,83
INTERM	12861,63	12794,53	9759,37

Los de ciclo completo fueron los que alcanzaron el máximo rendimiento en el nivel TEST del tratamiento. Considerando que las limitantes hídricas,

nutricionales y sanitarias estaban controladas, se podría suponer entonces que la radiación y temperatura habrían sido decisivas para la fijación de un buen número de granos.

Ambos ciclos mostraron disminución de rinde en el nivel 2X, sin embargo, muestran comportamientos dispares para los niveles 1X.

El estudio de estos comportamientos excede los objetivos de este trabajo, pero deja latente la idea para trabajos futuros y ahondar en estas respuestas.

Lo que limita la presencia de síntomas de fitotoxicidad por 2,4-D es que por lo general este herbicida se aplica en combinación con otros, lo que amplía el espectro de actividad, permite utilizar tasas bajas de aplicación y así reducir las posibilidades de daños al cultivo por herbicidas hormonales.

Hay que destacar que a pesar de haber sido descubierto hace más de 70 años, el 2,4-D sigue siendo de gran ayuda. Las investigaciones generadas por la década de 1940 y 1950 junto con los estudios realizados en este período proporcionarán una nueva visión ante el mecanismo de acción del 2,4-D y la función de las auxinas vegetales; ayudando a abordar los problemas relacionados con su uso y extendiendo así su vida útil hacia un futuro.

Conclusión

A partir de los resultados obtenidos en este ensayo se concluye que:

-Existen alteraciones morfológicas en las raíces de los híbridos de maíz utilizados a causa del herbicida 2,4-diclorofenoxiacético y estas se expresaron claramente cuando la cantidad aplicada del herbicida superó la recomendada por marbete (100cc).

-Bajo las condiciones en que se realizó este ensayo, no es factible determinar si las alteraciones en las raíces se correlacionan con una diferencia de rendimiento en los distintos niveles de aplicación de 2,4-D.

-La longitud de las raíces, de los tres genotipos estudiados, se vieron disminuidas ante la aplicación de 1000 cc de 2,4-D (nivel de tratamiento 2x). Los efectos de longitud ante la dosis de 500 cc de 2,4-D fueron dispares: 2 de 3 genotipos presentaron disminución de longitud y 1 tuvo una elongación comparándolo con el nivel testigo. Los efectos de variación de longitud variaron según el genotipo.

-Por cómo fue realizado este ensayo no fue posible analizar la interacción entre Long*Trat para los 3 genotipos a los que se les estudió la longitud de raíces.

-Hay diferencias entre los genotipos utilizados en la variable rendimiento tanto en el nivel Testigo como en el nivel 1x. El nivel 2x no presentó diferencias significativas entre rendimientos, sin embargo comparados con el nivel rendimiento testigo los 25 híbridos presentaron un rendimiento menor.

Bibliografía:

Adama-Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires (FAUBA). (2015). Impacto económico macro y micro de malezas resistentes en el agro argentino.

Agrositio. (2012). Maíz un cultivo imprescindible en la rotación. Disponible en: <http://www.agrositio.com/vertext/vertext.php?id=73521&se=>

Arguissain, G., Gregori, L. (2007). Fitotoxicidad de herbicidas hormonales en trigo. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de concepción del Uruguay.

Arregui, M.C., Scotta, R., Sánchez, E. (2009). Fitotoxicidad del barbecho químico en trigo y maíz. UNL, Argentina.

Bertello, F. (2015). Creció 9% el Mercado de agroquímicos por la expansion de las malezas. La Nación. Disponible en <https://www.lanacion.com.ar/1795901-crecio-9-el-mercado-de-agroquimicos-por-la-expansion-de-las-malezas>

Biblioteca digital Universidad Nacional de San Luis (UNSL). (2016). 3.1: Reguladores de crecimiento. Cátedra Protección Vegetal.

Bilello, G., Puppi, N.; González, M. (2009). La nueva Ganadería. Cambios en la actividad a partir de la expansión agrícola. Relocalización e intensificación productiva. Un estudio comparativo en dos provincias argentinas. Revista interdisciplinaria de Estudios Agrarios N°31.

Bolsa de Cereales. (2017). Panorama agrícola de cereal. Relevamiento al 24/08/2017. ISSN 2408-4344.

Bolsa de Comercio de Rosario (BCR). (2016). Anuario Estadístico 2016. Dirección de Informaciones y Estudios Económicos. Rosario, Santa Fe,

Argentina.

Braun, Martín. (2015). La siembra directa y el manejo integrado de malezas: Hacia las buenas prácticas. UNS, Argentina.

Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE). (2007). Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Insecticidas, funguicidas, productos varios. Tomo II. Buenos Aires, Argentina.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (1982). Los herbicidas modos de actuar y síntomas de toxicidad. 2da Edición. p.28.

De la Vega, Marcelo. (2013). Resistencia de malezas a herbicidas. UNT, Argentina.

Di Tomaso, J. (2008). Herbicide Mode of Action. Department of Plant Sciences, University of California, Davis, CA.

Fassio, A., Carriquiry, A., Tojo, C., Romero, R. (1998). Maíz: aspectos sobre fenología. Serie técnica número 101. INIA, Montevideo, Uruguay.

Fernandez-Cornejo, J., Osteen, C., Nehring, R., Wechsler, S.J. (2014). Pesticide Use Peaked in 1981, Then Trended Downward, Driven by Technological Innovations and Other Factors. Washington, DC: US. Department of Agriculture Economic Research Service.

Ferraguti, F., Castellarín, J., Papa, J.C., Rubin, D. (2010). ¿Qué es el green snap o quebrado en verde del tallo del maíz? Para mejorar la producción. 44. INTA. EEA Oliveros.

Fundación agropecuaria para el desarrollo de Argentina (FADA). (2014). La cadena del valor del maíz. Un modelo para el desarrollo. Rio Cuarto, Córdoba, Argentina.

Galinat, W.C. (1988). The origin of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley,

eds. *Corn and corn improvement*, p.1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.

Gancedo, A. (1951). Efectos comparados del 2,4-D y la naftalenacetamida sobre la germinación del *Triticum vulgare* Vill. var. Mentana. Madrid, España.

Guevara, G. (1998). Efecto del 2,4-D sobre el algodón. INTA. EEA Sáenz Peña.

Guzman, V., Wolf, A. (1953). Effect of 2,4-D on four sweet corn hybrids at different stages of growth. Florida State Horticultural Society

Hoshaw, R., Guard A. (1951). Morphological and anatomical effects of 2,4-D on young corn plants. *Botanical Gazette*, p. 71.

Ittis, H.H. (1983). From teosinte to maize: the catastrophic sexual transmutation. *Science*, 222: 886-894.

InfoStat. (2008). Software estadístico. Manual del usuario. Versión 2008.

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). (2018). El futuro de las raíces. Censo Nacional Agropecuario 2018. Ministerio de Agroindustria. Consejo Federal Agropecuario. Buenos Aires, 5 de marzo 2018.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (2006). Clasificación y uso de los herbicidas por su modo de acción. Folleto N° 35. Río Bravo, México.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (2014). Los problemas actuales de malezas en la región sojera núcleo Argentina: Origen y alternativas de manejo. Oliveros, Santa Fe, Argentina.

Ivany, J. A.; Nass, H. G. and Sanderson, J. B. (1990). Effect of time of application of herbicides on yield of three Winter wheat cultivars.

K-State Research and Extension. (2014). Espigas anormales en maíz. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.

Kuehl, R. (2001). Diseño de experimentos: principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. Segunda Edición. México DF.

Lamari L. (2002). ASSESS 2.0: Image Analysis Software for Plant Disease Quantification. 2008, St Paul, MN: Amer Phytopathological Society
Disponibile en <http://www.plant-image-analysis.org/software/assess>.

La Nación. (2017). Maíz 2017/2018: en la carrera de los márgenes tiene una ventaja sobre la soja. Disponible en : <https://www.lanacion.com.ar/2056445-maiz-201718-en-la-carrera-de-los-margenes-tiene-una-ventaja-sobre-la-soja>

Lee, D., Hanna, W., Buntin, G., Dosier, W., Timper, P., Wilson, J. (2012). Pearl Millet for Grain. Bulletin 1216. Athens, GA: University of Georgia. Extension Service. 8p.

Lurquin, Paul F. (2016). Production of a toxic metabolite in 2,4-D-resistant GM crop plants. Washington State University.

Mangelsdorf, P.C. (1974). Corn, its origin, evolution and improvement. Cambridge, MA, USA, Belknap Press, Harvard University Press.

Marzocca, A. (1993). Manual de malezas: Plantas indeseables y perjudiciales, cuyos frutos o semillas son impurezas de los granos de cereales de oleaginosas y forr. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

McCarthy Suárez, I. (2004). Herbicida auxínico 2,4-D y metabolismo oxidativo en plantas de guisante: un estudio en hojas, tallo y peroxisomas de hoja. Granada, España.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1986). Riesgo de la

utilización de herbicidas I. Cultivos herbáceos. Madrid.

Ministerio de Agroindustria (2016). Resolución (MA) 167/16. Agroquímicos, Herbicidas. Disponible en: <http://argentinambiental.com/legislacion/buenos-aires/resolucion-16716-restriccion-aplicacion-24-d-formulaciones-esteres/>

Montgomery D.C (2005). Diseño y análisis de experimentos (2a. ed.). Mexico: Limusa Wiley.

Northeast Region Certified Crop Adviser (NRCCA). Study Resources. (2010). Competency Area 2: Weed Management. Disponible en <http://nrcca.cals.cornell.edu/pest/CA2/CA0219.php>

On24. (2014). Hay que tener cuidado con el 2,4-D. Disponible en <http://www.on24.com.ar/negocios/agro/hay-que-tener-cuidado-con-el-24d/>

Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (OMAFRA). (2009). Agronomy guide for field crops. Publication 811.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO). (1993). El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición, n° 25. Roma, Italia.

Paliwal, R.L., Granados, G., Lafitte, H.R., Violic, A. (2001). El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. FAO.

PennState Extension. (2017). Amines or Esters; Which Should You Use?. The Pennsylvania University.

Peterson, M., McMaster, S., Riechers, D., Skelton, J., Stahlman, P. (2016). 2,4-D Past, Present and Future: A Review. Weed Science Society Of America (WSSA).

Ponsa, J.C., Couretot, L., Ferraris, G. y Mousegne, F. (2006).

Estrategias de control de malezas con herbicidas preemergentes y postemergentes en maíz. Centro Regional Buenos Aires Norte: EEA Pergamino, EEA General Villegas.

Red de conocimiento malezas resistentes (REM). (2017). Alertas: Resistencias acumuladas en Argentina. Disponible en: <http://www.aapresid.org.ar/rem/alertas/>

Ritchie, S.W., J. Hanway, and G.O. Benson. (1992). How a Corn Plant Develops. Special Report No. 48 (rev). Iowa State University, Cooperative Extension Service, Ames, IA.

Rodriguez, N. (2015). Control de malezas, Agroconsultas Online. Disponible en: https://www.agroconsultasonline.com.ar//ticket.html?op=v&ticket_id=11833

Ross, F. (2014). Maíz en ambientes someros, genotipo y densidad. INTA. EEA Barrow.

Sandral, G. H., B. S. Dear, J. E. Pratley and B. R. Cullis (1997). Herbicide Dose Response Rate Response Curve in Subterranean Clover Determined by a Bioassay. Australian Journal of Experimental Agriculture, 37:67-74.

Satorre, E. (2005). Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. Volumen 15, N° 87. Facultad de agronomía, UBA. Buenos Aires, Argentina.

Satorre, E., Arnold, R., Slafer, G., De la fuente, E., Miralles, D., Otegui, M., Savin, R. (2003). Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.

Schulz, B., Kabelo, S. (2016). 2,4-D transport and herbicide resistance in

weeds. University of Maryland, USA.

Swati, M., Ratnadeep, D. (2016). Analysis of Effects of 2,4-D Amine on Chlorophyll Content in Crops. Volume 6 Issue N° 6.

Trucco, Victor. Agricultura en foco, AAPRESID. (2015). Disponible en:
<http://www.aapresid.org.ar/blog/agricultura-en-foco/>

University of Georgia (UGA). (2012). Corn diagnostic Guide. A Comprehensive Guide for Troubleshooting Problems in Corn. Bulletin 1221.

Weatherwax, P. (1954). Indian corn in old America. New York, NY, USA, MacMillian Publishing.

Weatherwax, P. (1955). History and origin of corn. I. Early history of corn and theories as to its origin. In G.F. Sprague, ed. Corn and corn improvement, 1st ed., p. 1-16. New York, NY, USA, Academic Press.

Wilkes, H.G. (1989). Maize: domestication, racial evolution and spread. In D.R Harris & G.C. Hillman, eds. Forage and farming, p. 440-454. London, Unwin Hyman.

Zahoor, A., Amit J. (2017). Interaction of 2,4-D or Dicamba with Glufosinate for Control of Glyphosate-Resistant Giant Ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in Glufosinate-Resistant Maize (*Zea Mays* L.). University of Nebraska-Lincoln, United States.

Anexo I: Aplicaciones pre emergentes y post emergentes aplicados al ensayo.

PEE

Gesaprim 90 WG	1500 gr/ha
Dual Gold	1000 cc/ha
Roundup full	3000 cc/ha
Control R	1000 cc/ha
Figther	60 cc/ha
Rizospray	40 cc/ha

POE

Gesaprim 90 WG	1000 gr/ha
Dual Gold	800 cc/ha
Callisto 480 SC	300 cc/ha
Control R	1000 cc/ha
Figther	60 cc/ha
Rizospray	40 cc/ha

P.A	Producto
Atrazina 90%	Gesaprim W90
S-Metalaclor 96%	Dual Gold
Glifosato	Round Up Full II
Gamma C Halotrina	Fhighther Plus
Aceite Aromatico	Control R
Ácido Metilen Fosforico	Rizospray Corrector

Anexo II

45					45
44					44
43					43
42					42
41					41
40					40
39	TRATAMIENTO 2X				39
38	1000 cc/ha 2,4-D				38
37					37
36					36
35					35
34					34
33					33
32					32
31					31
30					30
29					29
28					28
27					27
26					26
25					25
24	TRATAMIENTO 1X				24
23	500 cc/ha 2,4-D				23
22					22
21					21
20					20
19					19
18					18
17					17
16					16
15					15
14					14
13					13
12					12
11					11
10					10
9	TESTIGO				9
8	0 cc/ha 2,4-D				8
7					7
6					6
5					5
4					4
3					3
2					2
1					1

Anexo III

45	Tratamiento 2x:				45
44	AP77-08	AP62-CL	AP80-HR	AP23-21	44
43	AP58-CL	AP49-H	AP45-MC	AP54-HR	43
42	AP60-H	AP92-R2	AP47-3P	AP05-HR	42
41	AP67-H	AP00-TG	AP69-YR	AP58-YR	41
40	AP78-YR	AP60-NC	AP33-H	AP42-YR	40
39	AP58-H	AP55-H	AP87-MG	AP07-YR	39
38	AP69-YR	AP58-H	AP56-37	AP95-21	38
37	AP77-08	AP56-37	AP62-CL	AP80-HR	37
36	AP60-H	AP33-H	AP58-CL	AP87-MG	36
35	AP78-YR	AP47-3P	AP00-TG	AP92-R2	35
34	AP58-YR	AP54-HR	AP95-21	AP55-H	34
33	AP60-NC	AP23-21	AP67-H	AP45-MC	33
32	AP42-YR	AP07-YR	AP05-HR	AP49-H	32
31					31
30	Tratamiento 1x:				30
29	AP62-CL	AP58-H	AP00-TG	AP80-HR	29
28	AP45-MC	AP77-08	AP58-CL	AP92-R2	28
27	AP60-H	AP55-H	AP67-H	AP33-H	27
26	AP05-HR	AP23-21	AP95-21	AP56-37	26
25	AP42-YR	AP69-YR	AP47-3P	AP58-YR	25
24	AP87-MG	AP54-HR	AP60-NC	AP78-YR	24
23	AP33-H	AP62-CL	AP49-H	AP07-YR	23
22	AP47-3P	AP60-NC	AP07-YR	AP77-08	22
21	AP23-21	AP95-21	AP69-YR	AP00-TG	21
20	AP54-HR	AP78-YR	AP05-HR	AP87-MG	20
19	AP49-H	AP80-HR	AP58-CL	AP42-YR	19
18	AP60-H	AP55-H	AP58-H	AP67-H	18
17	AP45-MC	AP92-R2	AP56-37	AP58-YR	17
16					16
15	Tratamiento 0:				15
14	AP49-H	AP23-21	AP77-08	AP42-YR	14
13	AP78-YR	AP00-TG	AP92-R2	AP69-YR	13
12	AP54-HR	AP60-H	AP67-H	AP80-HR	12
11	AP95-21	AP07-YR	AP58-YR	AP58-CL	11
10	AP33-H	AP05-HR	AP87-MG	AP60-NC	10
9	AP55-H	AP58-H	AP56-37	AP62-CL	9
8	AP00-TG	AP47-3P	AP47-3P	AP45-MC	8
7	AP67-H	AP60-NC	AP07-YR	AP69-YR	7
6	AP95-21	AP92-R2	AP58-H	AP54-HR	6
5	AP78-YR	AP42-YR	AP05-HR	AP77-08	5
4	AP45-MC	AP49-H	AP55-H	AP62-CL	4
3	AP56-37	AP80-HR	AP58-CL	AP58-YR	3
2	AP60-H	AP33-H	AP23-21	AP87-MG	2
1					1

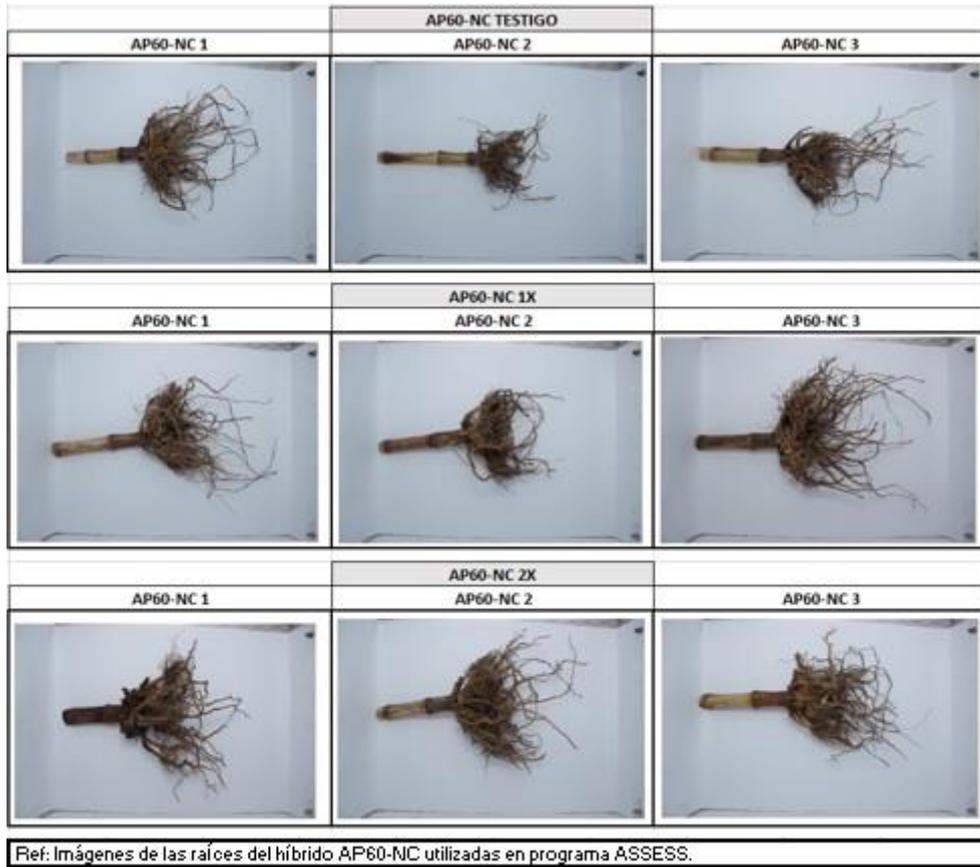
Anexo IV: Referencias de puntajes (Score).

AP62-R2		
<p>SCORE 1 TESTIGO</p> 	<p>SCORE 5 1x</p> 	<p>SCORE 8 2X</p> 

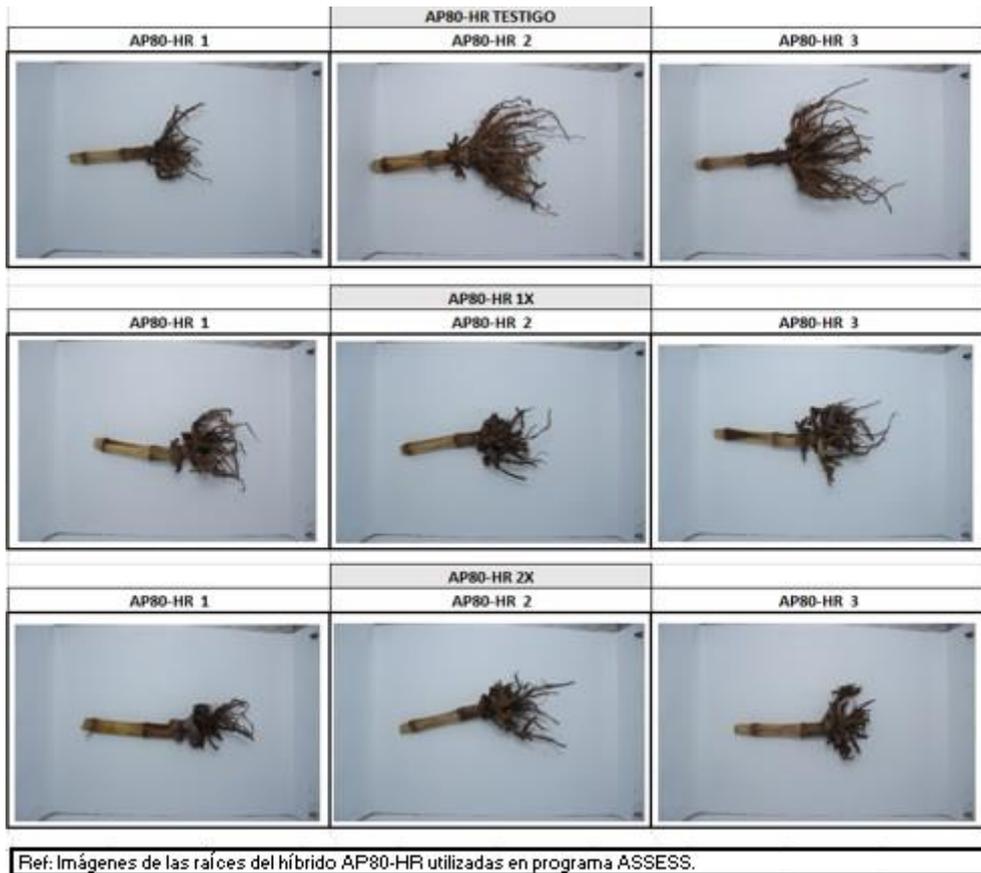
Anexo V: Imágenes de raíces de los tres genotipos obtenidas en cada tratamiento.



Anexo V: Imágenes de raíces de los tres genotipos obtenidas en cada tratamiento (continuación).



Anexo V: Imágenes de raíces de los tres genotipos obtenidas en cada tratamiento (continuación).



Anexo VI: Rinde (kg/ha) por Genotipo, Tratamiento y Repetición.

GE	Rep	Trat	Rend (kg/ha)
AP42-YR	1	Testigo	15141,7
AP42-YR	2	Testigo	14202,2
AP42-YR	1	2,4D 1x	15216,2
AP42-YR	2	2,4D 1x	15007,8
AP42-YR	1	2,4D 2x	10629,6
AP42-YR	2	2,4D 2x	11098,5
AP78-YR	1	Testigo	13878,3
AP78-YR	2	Testigo	12107,5
AP78-YR	1	2,4D 1x	12792,2
AP78-YR	2	2,4D 1x	10874,2
AP78-YR	1	2,4D 2x	10111,6
AP78-YR	2	2,4D 2x	9147,5
AP80-HR	1	Testigo	12856,4
AP80-HR	2	Testigo	11974,5
AP80-HR	1	2,4D 1x	13376,7
AP80-HR	2	2,4D 1x	13974,5
AP80-HR	1	2,4D 2x	10241,1
AP80-HR	2	2,4D 2x	9120,5
AP45-MC	1	Testigo	13606,3
AP45-MC	2	Testigo	13471,2
AP45-MC	1	2,4D 1x	14670,6
AP45-MC	2	2,4D 1x	13945,7
AP45-MC	1	2,4D 2x	10960,9
AP45-MC	2	2,4D 2x	8047,6
AP58-YR	1	Testigo	12313,9
AP58-YR	2	Testigo	11974,2
AP58-YR	1	2,4D 1x	11973,6
AP58-YR	2	2,4D 1x	10746,5
AP58-YR	1	2,4D 2x	9560,9
AP58-YR	2	2,4D 2x	7954,4
AP60-NC	1	Testigo	13622,2
AP60-NC	2	Testigo	14578,2
AP60-NC	1	2,4D 1x	13576,5
AP60-NC	2	2,4D 1x	14987,5
AP60-NC	1	2,4D 2x	11764,5
AP60-NC	2	2,4D 2x	10896,5
AP62-CL	1	Testigo	14508,3
AP62-CL	2	Testigo	12459,5
AP62-CL	1	2,4D 1x	14122,1

Anexo VI: Rinde (kg/ha) por Genotipo, Tratamiento y Repetición (continuación).

GE	Rep	Trat	Rend (kg/ha)
AP62-CL	2	2,4D 1x	11479,5
AP62-CL	1	2,4D 2x	10461,3
AP62-CL	2	2,4D 2x	12742,5
AP54-HR	1	Testigo	13847,5
AP54-HR	2	Testigo	13007,8
AP54-HR	1	2,4D 1x	13466,2
AP54-HR	2	2,4D 1x	13974,6
AP54-HR	1	2,4D 2x	10448,7
AP54-HR	2	2,4D 2x	8125,6
AP33-H	1	Testigo	13500,7
AP33-H	2	Testigo	12499,5
AP33-H	1	2,4D 1x	14126,6
AP33-H	2	2,4D 1x	15447,2
AP33-H	1	2,4D 2x	10223,1
AP33-H	2	2,4D 2x	8452,6
AP55-H	1	Testigo	14820,8
AP55-H	2	Testigo	13478,9
AP55-H	1	2,4D 1x	13464,3
AP55-H	2	2,4D 1x	12669,5
AP55-H	1	2,4D 2x	11046,1
AP55-H	2	2,4D 2x	10478,5
AP05-HR	1	Testigo	13769,1
AP05-HR	2	Testigo	13425,8
AP05-HR	1	2,4D 1x	13857,2
AP05-HR	2	2,4D 1x	12478,5
AP05-HR	1	2,4D 2x	10989,5
AP05-HR	2	2,4D 2x	9945,5
AP07-YR	1	Testigo	13644,9
AP07-YR	2	Testigo	12997,5
AP07-YR	1	2,4D 1x	13631,5
AP07-YR	2	2,4D 1x	11458,2
AP07-YR	1	2,4D 2x	10897,6
AP07-YR	2	2,4D 2x	9920,2
AP77-08	1	Testigo	13884,4
AP77-08	2	Testigo	12448,5
AP77-08	1	2,4D 1x	14089,3
AP77-08	2	2,4D 1x	13998,5
AP77-08	1	2,4D 2x	10947
AP77-08	2	2,4D 2x	9045,5
AP56-37	1	Testigo	12399,1
AP56-37	2	Testigo	12896,5

Anexo VI: Rinde (kg/ha) por Genotipo, Tratamiento y Repetición (continuación).

GE	Rep	Trat	Rend (kg/ha)
AP56-37	1	2,4D 1x	12705,2
AP56-37	2	2,4D 1x	13047,6
AP56-37	1	2,4D 2x	10574,7
AP56-37	2	2,4D 2x	11524,8
AP58-H	1	Testigo	12978,1
AP58-H	2	Testigo	13005
AP58-H	1	2,4D 1x	13216,4
AP58-H	2	2,4D 1x	13997
AP58-H	1	2,4D 2x	10410,8
AP58-H	2	2,4D 2x	11805,3
AP95-21	1	Testigo	12660,1
AP95-21	2	Testigo	12874,2
AP95-21	1	2,4D 1x	14099,7
AP95-21	2	2,4D 1x	13870,5
AP95-21	1	2,4D 2x	9872,6
AP95-21	2	2,4D 2x	8426,6
AP60-H	1	Testigo	13184
AP60-H	2	Testigo	14245,6
AP60-H	1	2,4D 1x	14091,1
AP60-H	2	2,4D 1x	13547,5
AP60-H	1	2,4D 2x	10826,3
AP60-H	2	2,4D 2x	9446,05
AP69-YR	1	Testigo	12349,9
AP69-YR	2	Testigo	12922,4
AP69-YR	1	2,4D 1x	12955,5
AP69-YR	2	2,4D 1x	13004,6
AP69-YR	1	2,4D 2x	10957,3
AP69-YR	2	2,4D 2x	11802
AP58-CL	1	Testigo	13088,5
AP58-CL	2	Testigo	12441
AP58-CL	1	2,4D 1x	13294,4
AP58-CL	2	2,4D 1x	13472,5
AP58-CL	1	2,4D 2x	10920,7
AP58-CL	2	2,4D 2x	8005,5
AP49-H	1	Testigo	13153,4
AP49-H	2	Testigo	12478,5
AP49-H	1	2,4D 1x	14483,4
AP49-H	2	2,4D 1x	13974,5
AP49-H	1	2,4D 2x	11299,3
AP49-H	2	2,4D 2x	10549,6

Anexo VI: Rinde (kg/ha) por Genotipo, Tratamiento y Repetición (continuación).

GE	Rep	Trat	Rend (kg/ha)
AP92-R2	1	Testigo	12861,2
AP92-R2	2	Testigo	11475,6
AP92-R2	1	2,4D 1x	11498,9
AP92-R2	2	2,4D 1x	10911
AP92-R2	1	2,4D 2x	10817,5
AP92-R2	2	2,4D 2x	8421,5
AP00-TG	1	Testigo	11469,5
AP00-TG	2	Testigo	10995,7
AP00-TG	1	2,4D 1x	11025,2
AP00-TG	2	2,4D 1x	12944,5
AP00-TG	1	2,4D 2x	10056,7
AP00-TG	2	2,4D 2x	9008,3
AP87-MG	1	Testigo	10971,2
AP87-MG	2	Testigo	11640,2
AP87-MG	1	2,4D 1x	9451,5
AP87-MG	2	2,4D 1x	8705,63
AP87-MG	1	2,4D 2x	9046,2
AP87-MG	2	2,4D 2x	7122,5

Anexo VI: Rinde promedio (kg/ha) por Genotipo y tratamiento.

GE	Trat	Rend Prom (kg/ha)
AP23-21	Testigo	12958,85
AP23-21	2,4D 1x	13358,35
AP23-21	2,4D 2x	11075,9
AP42-YR	Testigo	14671,95
AP42-YR	2,4D 1x	15112
AP42-YR	2,4D 2x	10864,05
AP78-YR	Testigo	12992,9
AP78-YR	2,4D 1x	11833,2
AP78-YR	2,4D 2x	9629,55
AP80-HR	Testigo	12415,45
AP80-HR	2,4D 1x	13675,6
AP80-HR	2,4D 2x	9680,8
AP45-MC	Testigo	13538,75
AP45-MC	2,4D 1x	14308,15
AP45-MC	2,4D 2x	9504,25
AP58-YR	Testigo	12144,05
AP58-YR	2,4D 1x	11360,05
AP58-YR	2,4D 2x	8757,65
AP60-NC	Testigo	14100,2
AP60-NC	2,4D 1x	14282
AP60-NC	2,4D 2x	11330,5
AP62-CL	Testigo	13483,9
AP62-CL	2,4D 1x	12800,8
AP62-CL	2,4D 2x	11601,9
AP54-HR	Testigo	13427,65
AP54-HR	2,4D 1x	13720,4
AP54-HR	2,4D 2x	9287,15
AP33-H	Testigo	13000,1
AP33-H	2,4D 1x	14786,9
AP33-H	2,4D 2x	9337,85
AP55-H	Testigo	14149,85
AP55-H	2,4D 1x	13066,9
AP55-H	2,4D 2x	10762,3
AP05-HR	Testigo	13597,45
AP05-HR	2,4D 1x	13167,85
AP05-HR	2,4D 2x	10467,5
AP07-YR	Testigo	13321,2
AP07-YR	2,4D 1x	12544,85
AP07-YR	2,4D 2x	10408,9

Anexo VI: Rinde promedio (kg/ha) por Genotipo y tratamiento (continuación).

GE	Trat	Rend Prom (kg/ha)
AP77-08	Testigo	13166,45
AP77-08	2,4D 1x	14043,9
AP77-08	2,4D 2x	9996,25
AP56-37	Testigo	12647,8
AP56-37	2,4D 1x	12876,4
AP56-37	2,4D 2x	11049,75
AP58-H	Testigo	12991,55
AP58-H	2,4D 1x	13606,7
AP58-H	2,4D 2x	11108,05
AP95-21	Testigo	12767,15
AP95-21	2,4D 1x	13985,1
AP95-21	2,4D 2x	9149,6
AP60-H	Testigo	13714,8
AP60-H	2,4D 1x	13819,3
AP60-H	2,4D 2x	10136,175
AP69-YR	Testigo	12636,15
AP69-YR	2,4D 1x	12980,05
AP69-YR	2,4D 2x	11379,65
AP58-CL	Testigo	12764,75
AP58-CL	2,4D 1x	13383,45
AP58-CL	2,4D 2x	9463,1
AP49-H	Testigo	12815,95
AP49-H	2,4D 1x	14228,95
AP49-H	2,4D 2x	10924,45
AP92-R2	Testigo	12168,4
AP92-R2	2,4D 1x	11204,95
AP92-R2	2,4D 2x	9619,5
AP00-TG	Testigo	11232,6
AP00-TG	2,4D 1x	11984,85
AP00-TG	2,4D 2x	9532,5
AP87-MG	Testigo	11305,7
AP87-MG	2,4D 1x	9078,565
AP87-MG	2,4D 2x	8084,35
AP47-3P	Testigo	11202,35
AP47-3P	2,4D 1x	10420,1
AP47-3P	2,4D 2x	8443,5

Anexo VII: Híbridos de mejor comportamiento visual ante los diferentes niveles de tratamiento.

AP60-H		
SCORE 1 TESTIGO 	SCORE 3 1X 	SCORE 5 2X 

AP60-NC		
SCORE 1 TESTIGO 	SCORE 2 1X 	SCORE 4 2X 

AP47-3P		
SCORE 1 TESTIGO 	SCORE 3 1X 	SCORE 3 2X 

Anexo VIII: Efectos de fitotoxicidad causados por el 2,4-D observados en el ensayo.



Imagen: Buggy Whipping o cogollos retorcidos provocados por el herbicida hormonal 2,4-D. Campo Experimental Dupont-Pioneer, Pergamino.

Anexo VIII: Efectos de fitotoxicidad causados por el 2,4-D observados en el ensayo (continuación).



Imagen: Curvatura de los tallos (epinastia) de maíz, síntoma de la aplicación de 2,4-D. Campo Experimental Dupont- Pioneer, Pergamino.