

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



**FITOTOXICIDAD DE SIGMA FORTE® SOBRE LA DEGRADACIÓN DE COLOR EN
ALFALFA (*Medicago sativa* L.)**

**TESIS:
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTA:
ALEJANDRO LÓPEZ LUGO**

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA.

FEBRERO 2015

**FITOTOXICIDAD DE SIGMA FORTE® SOBRE LA DEGRADACIÓN DE COLOR EN
ALFALFA (*Medicago sativa* L.)**

Tesis realizada por **ALEJANDRO LÓPEZ LUGO** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

INGENIERO AGRÓNOMO

CONSEJO PARTICULAR

PRESIDENTE _____
Dr. Alejandro Manelik García López

SECRETARIO _____
Dr. Manuel Cruz Villegas

-

SINODAL _____
Dr. Carlos Enrique Ail Catzim

SINODAL _____
M. en C. Juan José García Gerardo

ÍNDICE

	Página
Índice de figuras.....	IV
Índice de cuadros.....	VI
DEDICATORIA.....	VII
AGRADECIMIENTOS.....	VIII
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos.....	2
Meta.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Cultivo de la alfalfa en Baja California.....	3
Aspectos generales.....	3
MANEJO DEL CULTIVO.....	4
Preparación del terreno.....	4
Variedades.....	4
Época de siembra.....	4
Densidad y método de siembra.....	4
Inoculación.....	5
Riego.....	5
Fertilización.....	5
Malezas.....	5
Plagas.....	7
Nemátodos.....	8
Enfermedades.....	8
Cosecha.....	8
Efecto de la altura de corte.....	9

TIPOS DE HERBICIDAS POR SU MODO DE ACCIÓN.....	9
Inhibidores de la acetil coenzima-A carboxilasa (ACCase).....	9
Inhibidores de la enzima Acetolactato sintetasa (ALS).....	12
Inhibidores de la fotosíntesis en el Fotosistema II.....	15
Inhibidores del Fotosistema I.....	20
Inhibidores de la enzima Protoporfirinógeno oxidasa.....	21
Inhibidores de la biosíntesis de carotenoides.....	24
Inhibidores de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintetasa.....	26
Inhibidores de Glutamino sintetasa.....	27
Inhibidores de la 7,8-dihidropteroato sintetasa.....	29
Inhibición de la división celular (mitosis).....	30
Inhibidores de la síntesis de celulosa.....	33
Inhibición de la síntesis de lípidos.....	34
Acción similar al ácido indolacético.....	36
Inhibición del transporte de auxinas.....	39
Modo de acción desconocido.....	40
CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS.....	41
Época de aplicación.....	41
Selectividad.....	42
Tipo de acción.....	42
Sulfonilureas.....	44
Acetolactato Sintasa (ALS).....	46
Mesosulfurón metil.....	53
Iodosulfurón metil.....	54
Síntomas de fitotoxicidad en alfalfa.....	55
SPAD.....	56
Biosíntesis y degradación de clorofila y carotenoides.....	61
Biosíntesis de la clorofila.....	61
Degradación de clorofila.....	63
Biosíntesis de carotenoides.....	68
Degradación de carotenoides.....	70

MATERIALES Y MÉTODOS.....	71
Material vegetal y tratamientos.....	71
Índice de verdor.....	72
Tono.....	72
Concentración de clorofila y carotenoides totales.....	73
Modelación de dinámica de degradación.....	74
Diseño experimental y análisis estadístico.....	74
RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL.....	74
Índice de verdor.....	74
Tono.....	75
Concentración de clorofila y carotenoides totales.....	77
Dinámica de degradación.....	79
DISCUSIÓN GENERAL.....	80
CONCLUSIONES.....	81
LITERATURA CITADA.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Representación esquemática del modo de acción de un herbicida.	44
Figura 2 Estructura de las Sulfonilureas	46
Figura 3 Ruta biosintética de los aminoácidos valina, leucina e isoleucina	48
Figura 4 Herbicidas inhibidores de ALS: sulfonilurea, imidazolinona, triazolopirimidina, pirimidiniltiobenzoato y sulfonilaminocarboniltrizolinona	50
Figura 5 Eventos desde la entrada del herbicida hasta la muerte de la planta	53
Figura 6 Estructura de Mesosulfuron metil	54
Figura 7 Estructura del iodosulfuron	54
Figura 8 Ruta 5 de la biosíntesis de clorofila	62
Figura 9 Esquema de la vía de degradación de clorofila	66
Figura 10 Estructura de la clorofila a y b	67
Figura 11 Biosíntesis de carotenoides	69

Figura 12	Diagrama del sistema de notación de color L, a*, b*, cromaticidad y ángulo de matiz	72
Figura 13	Comportamiento del índice de verdor en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil	75
Figura 14	Comportamiento del tono en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil	76
Figura 15	Alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil 15 días después de la aplicación	76

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Herbicidas recomendados para el control de maleza en alfalfa	6
Cuadro 2 Control de plagas que atacan al cultivo de la alfalfa en el valle de Mexicali, producto comercial, dosis por hectárea y época de aplicación	7
Cuadro 3 Clasificación de los herbicidas por el modo de acción	51
Cuadro 4 Dosis de herbicida Sigma Forte®	71
Cuadro 5 Comportamiento de pigmentos fotosintéticos en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil	78
Cuadro 6 Dinámica de degradación del índice de verdor en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil	79
Cuadro 7 Dinámica de degradación del tono (°Hue) en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil	79

DEDICATORIA

A Dios:

Por darme la vida y fuerza para seguir adelante y no desmayar en los momentos difíciles que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad, ni desfallecer en el intento para así lograr este objetivo.

A mis padres:

Lázaro López Robles y María de los Ángeles Lugo Fuentes[†].

Por ser pilares fundamentales en mi vida y darme todo lo que soy como persona, y heredar de ellos mis valores, principios, carácter, empeño, perseverancia y coraje para conseguir mis metas, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanos (as)

Por estar siempre presentes, acompañándome en cada momento y que con su ejemplo, dedicación y palabras de aliento nunca bajaron los brazos para que yo tampoco lo hiciera, aún en los momentos más difíciles.

A mi esposa:

A mi amada esposa, **Isabel Zavala Rodríguez**, por su apoyo y ánimo que me brinda día con día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales y por ser una gran madre para mis hijos, quienes han sido la guía y el camino para poder llegar a este punto de mi carrera.

A mis hijos:

Dalia Lizeth López Zavala y Luis Genaro López Zavala, que son el motivo y la razón que me ha llevado a seguir superándome día a día, para alcanzar mis más apreciados ideales de superación, ellos fueron quienes en los momentos más difíciles me dieron su amor y comprensión para poderlos superar, quiero también dejar

a cada uno de ellos una enseñanza, que cuando se quiere alcanzar algo en la vida, no hay tiempo ni obstáculo que lo impida para poderlo **LOGRAR**.

AGRADECIMIENTOS

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**, específicamente al **INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS** por haberme formado académicamente.

Al **EMPAQUE RIO COLORADO**, por haber permitido realizar el experimento dentro de su propiedad, especialmente al **Ing. ENRIQUE CARRASCO GUTIERREZ**.

Al **Dr. ALEJANDRO MANELIK GARCÍA LÓPEZ**, por su apoyo incondicional y sus consejos en la realización de la presente tesis ya que sin su ayuda no lo hubiese logrado.

Al **Dr. MANUEL CRUZ VILLEGAS**, por su amistad, sus consejos y formar parte de este comité.

Al **Dr. CARLOS ENRIQUE AIL CATZIM**, por formar parte del comité y de la revisión de la tesis.

Al **M.C. JUAN JOSE GARCIA GERARDO**, por su amistad y formar parte del comité.

Al **Dr. JUAN FRANCISCO PONCE MEDINA**, un agradecimiento muy en especial por su amistad, apoyo incondicional y sus consejos brindados en cada etapa de mi preparación, y que con su ayuda e insistencia logró que terminara la preparatoria y posteriormente la carrera de Ing. Agrónomo, ya que siempre creyó y vio en mi un gran potencial.

Al **Dr. AGUSTIN ZARATE MARQUEZ**, al **M.C. JUAN JOSE GARCIA GERARDO**, al **M.C. FELIPE MENCHACA CEJA**, a la **M.C. TANIA ELISA SOTO GONZALEZ**, al

Ing. ROMAN VILLANUEVA FAJARDO, a todos ellos muchas gracias por su apoyo en los trabajos de campo y laboratorio, y al **Ing. ANDRES GONZALEZ RUIZ** por su amistad.

RESUMEN

Se realizó un estudio para conocer el efecto del mesosulfurón metil + iodosulfurón metil (Sigma Forte®) sobre la degradación de color en el cultivo de alfalfa a pesar que estos compuestos tiene como modo de acción la inhibición de la enzima acetolactato sintasa (ALS). Las variables evaluadas fueron, índice de verdor (unidades Spad), tono (°Hue) y concentración de pigmentos fotosintéticos en el cultivo de alfalfa. En una parcela comercial se aplicaron tres dosis: subcomercial (31.25 mg + 6.25 mg), comercial (62.5 mg + 12.5 mg), sobrecercial (125 mg + 25 mg) de ingrediente activo del producto mencionado; más un testigo (solo agua). Se realizó una sola aplicación con una pulverizadora de motor sobre el follaje del cultivar "CUF-101" con las dosis mencionadas. Se seleccionaron 10 plantas por tratamiento para las variables de índice de verdor y tono. El estudio se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y 10 repeticiones, los datos se analizaron mediante análisis de varianza y se generaron modelos no lineales que explican el efecto de las dosis del herbicida. Los resultados de esta investigación de manera general se observó que hubo una disminución del índice de verdor, así como del color y concentración de los pigmentos fotosintéticos en respuesta a las dosis del herbicida, principalmente con la sobredosis comercial. Las dosis utilizadas afectan negativamente los componentes de la fotosíntesis a pesar de que el modo de acción de este herbicida inhibe la actividad enzimática de la ALS.

ABSTRACT

Color degradation on alfalfa crop by mesosulfuron methyl + iodosulfuron methyl (Sigma Forte[®]) although they have acetolactate synthase (ALS) action mode was evaluated. Greenness index (Spad units), tone (°Hue) and photosynthetic pigments concentration in alfalfa crop were determined. Three doses in a field plot were applied: sub commercial (31.25 mg + 6.25 mg), commercial (62.5 mg + 12.5 mg), over commercial (125 mg + 25 mg) of active ingredient of the herbicide, and a control (water). Only one application by a motorized spray over the foliage of CUF-101 alfalfa cultivar with the respective doses was done. Completely randomized design with four treatments and 10 replicates was used, data were analyzed by analysis of variance and nonlinear models that explain the herbicide doses effect were generated. In general the greenness index, tone and photosynthetic pigments concentration had a decrease in response to herbicide doses, mainly by over commercial dose. Sigma Forte[®] doses applied had negative effect on photosynthesis components although action mode of this herbicide is inhibition of ALS enzymatic activity.

I. INTRODUCCIÓN

La alfalfa es el cultivo forrajero de mayor importancia en el Distrito de Riego 014, ya que para el 2010 ocupó una superficie de 29,545 hectareas sembradas. El rendimiento promedio fue de 12.8 toneladas por hectárea y su precio medio rural de \$1,725.68 por tonelada, solamente superada en superficie por el trigo con 89,152 hectareas (SIAP, 2012), sin embargo, existe un potencial de más de 25 toneladas por hectárea. Este diferencial en la producción es debido en parte a factores agronómicos tales como: preparación del suelo, alta infestación de malezas, presencia de plagas, fertilización inadecuada, fitotoxicidad por mala práctica de control de agentes bióticos en cultivos vecinos, entre otros (Anónimo, 2010). Además, con el incremento de las actividades pecuarias de la región, la demanda de forraje de calidad ha aumentado considerablemente.

En el valle de Mexicali debido a la alta infestación de malezas, se tiene la necesidad de realizar aplicaciones repetitivas de herbicidas para su control. En este sentido, el cultivo de alfalfa que se produce en el Valle de Mexicali y San Luis Río Colorado ha estado expuesto a estrés severo o muerte por la aplicación inconsciente de herbicidas para el control de malezas gramíneas y algunas de hoja ancha en trigo como cultivo vecino del mismo, ya que el herbicida, específicamente Sigma Forte[®], que tiene movilidad o arrastre causando pérdidas económicas considerables, como el replanteo que ocasiona un gasto extra a los costos de producción, así como retraso en la fecha de cosecha que por consiguiente, su precio será menor al que se espera.

El Sigma Forte[®] es uno de los herbicidas de mayor uso para el control de malezas en trigo en el Valle de Mexicali, este producto debe ser aplicado con equipo terrestre, con un volumen de agua de 250 a 300 L/ha. Se recomienda utilizar boquillas de la serie TeeJet 8002 o 11002. Los compuestos que componen a este herbicida, mesosulfurón metil + iodosulfurón metil, pertenecen al grupo de las sulfonilureas, por lo tanto su modo de acción actúa inhibiendo la actividad enzimática de la (Acetolactato sintasa E.C. 2.2.1.6) (Zhou *et al.*, 2007), ésta enzima se codifica en el núcleo y está localizada en el cloroplasto, y cataliza el primer paso en la biosíntesis de los aminoácidos valina, leucina e isoleucina en dos reacciones paralelas: 1) la

condensación de dos moléculas de piruvato para formar acetolactato (precursor de valina y leucina), y 2) la condensación de una molécula de piruvato con 2-cetobutirato para formar CO₂ y acetohidroxitirato (precursor de isoleucina) (Kogan-Alterman y Pérez-Jones, 2003).

Algunos de los síntomas característicos y alteraciones de toxicidad en plantas por el uso indebido de herbicidas son la reducción en altura, degradación de las proteínas, pérdida de color de las hojas, incremento en la producción de etileno y CO₂, producción de óxido nítrico, generación de especies reactivas de oxígeno, daño a la membrana, necrosis e inclusive la muerte (Evans, 2004). Pero en el cultivo de alfalfa no han sido documentados los efectos en el color, causados por la aplicación inconsciente de Sigma Forte[®].

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de Sigma Forte[®] (mesosulfurón metil + iodosulfurón metil) sobre la degradación del color en alfalfa.

1.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de tres dosis de Sigma Forte[®] (mesosulfurón metil + iodosulfurón metil) sobre la concentración de clorofila y carotenoides en alfalfa.

Generar modelos matemáticos que demuestren la dinámica de degradación de tres dosis de Sigma Forte[®] (mesosulfurón metil + iodosulfurón metil) en alfalfa.

1.2. META

Determinar el comportamiento de la degradación de color en alfalfa mediante las dosis del herbicida a través de los días después de su aplicación.

1.3. HIPÓTESIS

El cultivo de alfalfa presentará toxicidad por Sigma Forte[®] mediante la degradación del color.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CULTIVO DE LA ALFALFA EN BAJA CALIFORNIA.

La alfalfa es el principal cultivo forrajero del Valle de Mexicali, a nivel estatal se cuenta con una superficie sembrada promedio en los últimos cinco años de 29,000 hectáreas, distribuidas con el 97 % en el Valle de Mexicali y el 3% en la Zona Costa con producción de 428,475 toneladas de alfalfa acicalada por ciclo, con un valor de la producción de 805, 633, 279 pesos y genera alrededor de 22 jornales por hectárea.

El 75% de la producción de forraje se utiliza para alimentar aproximadamente 50 mil cabezas de ganado lechero, 15% para bovinos productores de carne y el 10% restante para la elaboración de alimentos concentrados. El bajo rendimiento del cultivo durante en invierno, ocasiona una deficiencia de forraje en la región, lo que origina se importe de los Estados Unidos (SIAP, 2010).

Aspectos generales

La alfalfa, es la planta forrajera más antigua que se conoce. Numerosos investigadores están de acuerdo que su origen es el sur-oeste de Asia (Águila, 1997). Su introducción a Europa, data de cinco siglos antes de nuestra era, llevada a Grecia por los persas en el tiempo de Darío, durante su campaña sobre Atenas, de ahí se difundió lentamente hacia accidente, hasta a España y a todos los países que formaban el imperio Romano (Águila, 1997).

Entre sus principales ventajas destacan la tolerancia a la sequía, un elevado rendimiento, alto contenido de proteínas y persistencia igual o mayor a seis años (Parga, 1994). Otra de sus características es la alta versatilidad y capacidad de soportar diferentes condiciones climáticas y edáficas, soportar la explotación continua y que presenta un alto aporte de nutrientes al suelo y al cultivo siguiente (Robles, 1994).

Es la planta mejoradora de las características del suelo, debido a su sistema radical profundizador, volumen de tierra que ocupan sus raíces superficiales y capacidad de fijación de N atmosférico a través de sus rizobios (Águila, 1997).

2.2. MANEJO DEL CULTIVO.

Preparación del terreno

Se aconseja barbechar a una profundidad mínima de 30 cm; realizar más de un paso de rastra para asegurarse que queden bien mullidos los terrones; realizar una buena nivelación con “land plane” y/o láser para asegurar una uniforme distribución de la semilla y del agua de riego, si el terreno está ligeramente desnivelado se deberá realizar una rectificación; finalmente se efectúa el bordeado trazando melgas 12 a 16 m de ancho por 250 a 300 m de largo para suelos medios, para suelos pesados con mal drenaje se recomienda efectuar un subsoleo hasta la profundidad de 50 a 60 cm cada tres o cuatro años (Inifap, 2010).

Variedades

Las variedades que se aconseja utilizar son: CUF-101, P-5888, P-5939, SUNDOR, NK-819, PIERCE, CONDOR Y UC CIBOLA. (Inifap, 2010).

Época de siembra

La fecha óptima de siembra comprende del 15 de octubre al 30 de noviembre. Sembrando en este periodo se logra un buen establecimiento del cultivo, además se evita la competencia con maleza y se consigue un buen desarrollo radicular y coronas antes del iniciar con los cortes (Inifap, 2010).

Densidad y método de siembra

Es conveniente utilizar semilla certificada por algún órgano oficial y/o particular que garantice su sanidad; se sugiere utilizar 40 kg de semilla por hectárea, con un 85 a 90 % de germinación para asegurar una buena población de plantas (Inifap, 2010).

En cuanto a los métodos de siembra, se puede sembrar de dos maneras:

- 1.-Con “drilla”, depositando la semilla a una profundidad de 1.5 a 2.0 cm.
- 2.-Con voleadora tipo “Cyclone”, tapando la semilla con un paso del “cultipacker”.

Inoculación

Es recomendable inocular la semilla con bacterias del género *Rhizobium*, específicas para alfalfa las cuales se encuentran en el mercado bajo los nombres de Pagador, Nitragin y Nitrobacter entre otros. Inocular solo la semilla que se sembrará en el día; evitar la exposición de la semilla directamente al sol, altas temperaturas y viento (Inifap, 2010). Revisar que el producto no esté caduco y seguir las instrucciones de la etiqueta al pie de la letra.

Riego

Después del riego de germinación es necesario aplicar dos o tres riegos de auxilio para obtener un primer corte; posteriormente aplicar de uno a dos riegos entre cortes, según las condiciones climatológicas y textura del suelo. En el verano es común observar que la alfalfa se “quema” al aplicar el riego con temperaturas mayores de 40 °C, para evitarlo se debe aplicar riegos muy ligeros y no dejar que el espejo de agua permanezca más de 24 horas sobre el terreno; con temperaturas altas no se debe aplicar riego inmediatamente después del corte, si no dejar que transcurra un periodo mínimo de 5 a 8 días (Inifap, 2010).

Fertilización

Se recomienda aplicar 40 kg·ha⁻¹ de nitrógeno en presiembra para alfalfares nuevos (octubre) y en febrero para alfalfas establecidas. En presiembra se debe incorporar al suelo con rastra cuando la fuente es sólido (urea y nitrato de amonio), o bien en el agua de germinación cuando sea líquida (UAN-32) o gas (NH₃). Posteriormente se requiere aplicar 100 kg·ha⁻¹ de fósforo al año, dividido en dos partes iguales, una en primavera y otra en otoño. Para lo anterior se puede utilizar fuentes líquidas y/o sólidas dependiendo la época tales como: fosfato mono amónico, fosfato diamónico ó bien ácido fosfórico y polifosfatos de amonio en el agua de riego (Inifap, 2010).

Malezas

Las especies de hoja angosta más importantes son: zacate de agua, pinto, grama, Johnson y coquillo, mismas que se presentan en primavera y verano; además de

avena y alpiste a finales del otoño. Las especies de hoja ancha son: cuscuta, gloria de la mañana, mostacilla, alfombrilla, chamizo, quelite o bledo y chuales cenizo y apestoso. Para el control de la maleza, se recomienda el uso de algunas prácticas tales como: utilizar semilla certificada, siembra a tierra venida, eliminar maleza en canales y regaderas, limpieza de la maquinaria después del corte y limpieas manuales. En cuanto al control químico en el cuadro 1 se presentan los herbicidas, dosis, y época de aplicación de las malezas aquí mencionadas (Inifap, 2010).

Cuadro 1. Herbicidas recomendados para el control de maleza en alfalfa.

Tipo de maleza	Ingrediente Activo	Nombre Comercial	Dosis Kg o L/ha	Época de aplicación
Hoja Ancha	Trifluralina	Archer 10G	22*	Preemergente
		Archer 480	2.0	
		Trifluralina 480	2.0	Preemergente
		Tetrox 480	2.0	Preemergente
		Treflan CE	2.0	Preemergente
	Imazethapyr	Pivot	0.1	Postemergente
	Nicosulfuron	Accent	0.05	Postemergente
	EPTC	Eptam 840-E	2.5-3.0	Preemergente
	Simazina ***	Simanex 50	1.5-2.0	Postemergente
Hoja Angosta	Nicosulfuron	Accent	0.05	Postemergente
	Oxifluorfen	Goal	1.0	Preemergente
	Sethoxidym	Poast	2.0	Postemergente
	Clethodim	Select	2.0	Postemergente
	Trifluralina	Archer 10G	22*	Preemergente
		Archer 480	2.0	
		Trifluralina 480	2.0	Preemergente
		Tetrox CE	2.0	Preemergente
		Treflan 480	2.0	Preemergente
Coquillo	EPTC	Eptam 840-E	2.5	Preemergente a la maleza
Maleza Perene	Glifosato**	Faena	2.0	Postemergente
		Herbipol	2.0	Postemergente
		Rival	2.0	Postemergente
		Belfosato	2.0	Postemergente
		Machetazo	2.0	Postemergente

* *Kilogramos de producto comercial granulado*

** *Aplicaciones a manchones de cuscuta, Gloria de la Mañana y Zacate Johnson.*

*** *No aplicar en suelos arenosos y alfalfas menores de un año.*

Plagas

Las principales plagas que atacan el cultivo de alfalfa son el pulgón verde, picudo egipcio, gusano verde, soldado, chinche lygus, chicharritas de varias especies, thrips, periquito tricornudo, pulgón manchado y pulgón azul. En el cuadro 2 se presentan éstas plagas y su control. (Inifap, 2010)

Cuadro 2. Control de plagas que atacan al cultivo de la alfalfa en el valle de Mexicali, producto comercial, dosis por hectárea y época de aplicación.

Plaga	Insecticida	Dosis (L/ha)	Época de aplicación
Pulgón verde y azul	Carbofurán	2.0	Cuando se encuentren más de 10 pulgones por tallo, 28 días antes del corte (DAC).
Pulgón manchado	Metasystox LM 50 Malatión CE 84 Carbofuran 3% GR	0.4 1.0 40-50 kg	21 días antes del corte Sin límite de días 28 días antes del corte
Picudo egipcio	Metamidofos LM 50 Malatión CE 84 Metidatión CE 40	0.5	Al encontrar cinco o más larvas por redada, 10 DAC. Malation, sin límite de días.
Gusano verde	Endosulfán CE 35 Malatión CE 84	1.5 1.0	Al encontrar de 30 a 75 larvas en 100 redadas, 21 DAC
Chinche lygus	Metidation CE 40	0.5-0.75	Aplicar en plantas pequeñas e infestaciones muy altas.
Chicharritas	Endosulfán CE 35 Carbofurán	1.5 1.5	500 adultos por 100 redadas, 21 y 28 DAC respectivamente.
Thrips	Carbicrón 100 Diazinon 25%. CE	0.4 1.0-1.5	Aplicar solo con infestaciones altas 7 días antes del corte
Gusano soldado	Metomilo PS 90 Clorpirifos etil 44.44%. CE	0.4 kg 0.75-1.0	Al encontrar de 20 a 25 larvas por 100 redadas, 7 DAC. Clorpirifos 21 DAC
Periquito tricornudo	Malatión 1000 E	1.0	Al encontrar 60 adultos en 100 redadas, sin límite de días.

Nemátodos

La alfalfa puede ser atacada por nemátodos de la raíz y del tallo, ocasionando deformaciones en la corona y raíz que evitan el desarrollo de nuevos brotes; el follaje de las plantas atacadas se torna amarillento y las plantas parecen aletargarse. La infestación con estos microorganismos es más común en suelos arenosos, las principales especies de nemátodos que causan daño a la alfalfa son los de la raíz (*Meloidogyne* spp.) y el del tallo (*Ditylenchus dipsaci*). Otros nemátodos de la raíz menos importantes son *Pratylenchus* spp. y *Trichoderus* spp. Para control de nemátodos se sugiere rotar el suelo con cultivos como sorgo, trigo y cebada; o utilizar variedades resistentes (Inifap, 2010).

Enfermedades

Las enfermedades en coronas, tallos y raíces, ocasionan una fuerte reducción en la densidad de plantas; favoreciendo la aparición de maleza y el decremento en la producción y calidad del forraje. Las principales enfermedades que se presentan son: pudrición texana, cenicilla vellosa, chahuixtle y pudrición de la corona (Inifap, 2010).

Cosecha

Desde el punto de vista económico la producción de un alfalfar dura de 3-5 años; realizándose de 8 a 9 cortes al año, es de suma importancia realizar los cortes en el momento oportuno para mantener una buena población de plantas y evitar la proliferación de maleza. La mejor época de realizar los cortes es con un 10 % de floración, debido a que la planta posee un mayor número de hojas que son reservorio de altos contenidos de proteína cruda, y al mismo tiempo la corona y raíz tienen suficientes reservas para mantenerse durante el periodo de desarrollo de nuevos órganos vegetativos. En invierno, cuando la alfalfa no llega a floración, el criterio para efectuar el corte se basa cuando alcance una altura mínima de 35 cm y presente rebrotes de 3 a 5 cm de longitud. En los meses de julio y agosto los cortes se deben efectuar con un 20 a 30 % de floración y una altura de planta de 40 a 50 cm (Inifap, 2010).

Efecto de la altura de corte

El momento óptimo para realizar el corte durante la temporada de crecimiento, se produce con una frecuencia variable, debido a las condiciones de clima, producto de la interacción temprana – disponibilidad hídrica en el suelo (Smith, 1969). El corte realizado en fases tempranas de desarrollo afecta la persistencia de la alfalfa. Además, los cortes muy frecuentes reducen el tamaño y vigor de la corona, producto de la disminución de los carbohidratos de reserva, que provocan una reducción del número y vigor del rebrote. (Muslera y Ratera, 1984). Arevalillo (1971), evaluó el efecto de distintas frecuencias de corte en la densidad y rendimiento de la alfalfa. Observó que las frecuencias de corte previas a la floración no permitían la recuperación de las reservas de carbohidratos, afectando la persistencia y el rendimiento.

2.3. Tipos de herbicidas por su modo de acción.

Inhibidores de la acetil coenzima-A carboxilasa (ACCase) (HRAC-A) (WSSA-1)

Sitio y mecanismo de acción.

Inhiben la enzima acetil-CoA carboxilasa, enzima plastídica que cataliza el primer paso en la biosíntesis de ácidos grasos, componentes esenciales para la producción de lípidos (Harwood, 1999). Los lípidos son fundamentales para la integridad de las membranas celulares y el crecimiento de la planta.

Síntomas

Los síntomas son de lento desarrollo (7 a 14 días), comenzando por clorosis en los tejidos jóvenes (principal sitio de división y de síntesis de ácidos grasos en las plantas), seguido por coloraciones violáceas y finalmente necrosis (De Prado *et al.*, 2009; Devine, 2002). Las hojas de las gramíneas tratadas pueden desprenderse con facilidad del tallo debido al efecto fitotóxico generado en el meristemo por acción del herbicida.

Absorción y movimiento en la planta

Son absorbidos por el follaje y se mueven principalmente por floema hacia las zonas de nuevo crecimiento (Burton, 1997).

Usos

Se aplican en postemergencia de las malezas, controlan especies gramíneas, afectando la enzima ACCasa homomérica presente en cloroplastos de dichas especies. La base de la selectividad en especies latifoliadas se debe a que la enzima heteromérica presente en especies dicotiledóneas es insensible a los herbicidas inhibidores de la ACCasa (Délye, 2005). Es por ello que son utilizados para el control selectivo de malezas gramíneas en cultivos de hoja ancha (Collavo, 2008; Shaner, 2003). Además, ciertos herbicidas de este grupo (clodinafop, diclofop, cyhalofop, entre otros) pueden ser utilizados en cereales como trigo y cebada, ya que los mismos poseen mayor metabolismo del herbicida. Otros, como pinoxaden, son selectivos a trigo y cebada y la tolerancia se obtiene por adición de un protector como cloquintocet-mexyl a la formulación que provoca la síntesis de un degradante del herbicida en los cereales y no en las malezas gramíneas (Hofer, *et al.*, 2006).

Comportamiento en el suelo

No poseen residualidad en el suelo.

Familias químicas

Dentro de los inhibidores de la ACCasa se diferencian 3 familias químicas:

- Ariloxifenoxipropionatos (FOP's)
- Ciclohexanodionas (DIM's)
- Fenilpirazolinás (DEN)

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G	OTROS	
Arlloxfenoxipropionatos (FOP's)	Clodinafop-propargil	*			*				*			Topik 24 EC, Proa 24 EC
	Cyhalofop-butil	*			*						Arroz	Clincher EC
	Diclofop-metil	*	*		*				*		Lino, Lenteja	
	Fenoxaprop-P-etil	*	*		*				*		Cebada, algodón, maní, papa.	Isomero 11 EW Puma
	Fluazifop-P-butil	*			*		*			*	Algodón, maní, papa, poroto, caña de azúcar.	
	Haloxifop-R-metil	*			*		*			*	Algodón, maní poroto.	Focus ultra Galant HL Galant R LPU Verdict R
	Propaquizafop	*			*		*			*	Algodón, maní, poroto.	AGIL
	Quizalofop-P-etil	*			*		*			*	Alfalfa algodón, maní, poroto.	Sheriff Sheriff Max
Ciclohexanodionas (DIM's)	Aloxidim	*			*		*					
	Butroxidim	*			*					*	Alfalfa, algodón, maní, poroto.	
	Cletodim	*			*		*			*	Alfalfa, algodón, maní, papa, poroto.	Select Centurion Arrow Latium
	Ciclofidim	*			*		*				Arroz, poroto.	
	Profoxidim	*			*		*				Arroz.	Aura
	Setoxidim	*			*					*	Alfalfa, algodón, arveja, lino, maní, papa.	Poast
	Tepaloxidim	*			*		*				Algodón.	
	Tralkoxidim	*			*					*	Cebada	Splendor Splendor 25 SC
Fenilpirazoles (DEN)	Pinoxaden	*			*					*	Cebada	Axial

Inhibidores de la enzima Acetolactato sintetasa (ALS) (HRAC – B) y (WSSA – 2)

Sitio y mecanismo de acción

Los herbicidas de este grupo inhiben la enzima cloroplástica Acetolactato sintetasa (ALS), también llamada acetohidroxibutirato sintetasa (AHAS), que cataliza la síntesis de aminoácidos de cadena ramificada como valina, leucina e isoleucina (Duggleby, 2000). La deficiencia de dichos aminoácidos provoca una disminución en la síntesis de proteínas que conduce a una caída drástica en la tasa de división celular (Rost, 1984; Shaner, 1993).

Síntomas

El desarrollo de síntomas es lento (7-14 días), y se presenta principalmente en los tejidos meristemáticos, donde se lleva a cabo la biosíntesis de aminoácidos. Las plantas tratadas detienen su crecimiento, se marchitan y adquieren un color rojizo debido a la acumulación de antocianinas inducidas por el estrés. En gramíneas se observan clorosis o amarillamientos internervales, y coloraciones rojizas en las hojas nuevas, en tanto, en latifoliadas se observa clorosis, acortamiento de entrenudos y coloraciones moradas en las nervaduras (Arregui, 2008; Zita-Padilla, 2012).

Absorción y movimiento en la planta

Son herbicidas sistémicos, se translocan por xilema y floema a las zonas de nuevo crecimiento y pueden ser absorbidos tanto por vía foliar como radical.

Usos

Se utilizan en tratamientos de pre y postemergencia de las malezas. Son selectivos, controlan especies latifoliadas y gramíneas tanto anuales como perennes. Algunos cultivos y malezas, son tolerantes de manera natural debido a la rápida degradación del herbicida.

Comportamiento en el suelo

Presentan una alta residualidad en el suelo la cual varía dependiendo del compuesto específico, del pH del suelo, la temperatura y del momento de aplicación.

Familias químicas

Dentro de los inhibidores de la ALS se diferencian 5 familias químicas:

- Imidazolinonas
- Sulfonilureas
- Triazolopirimidinas
- Pirimidilotiobenzoatos
- Sulfonil-amino carbonil triazolinona

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G	OTROS		
Sulfonilureas	Clorimuron-etil	*			*		*					Pasturas	Classic
	Clorimuron-etil + sulfometuron-metil	*		*		*							Ligate
	Clorsulfuron + metsulfuron metil	*		*	*	*			*				Finesse
	Foramsulfuron + iodosulfuron metil sodio	*			*			*					Equip WG
	Halosulfuron	*		*	*		*	*					Sempra
	iodosulfuron	*			*				*				
	iodosulfuron + mesosulfuron + metsulfuron metil	*			*				*			Cebada	Hussar Plus
	Metsulfuron-metil	*			*	*			*			Cebada	Escort
	Nicosulfuron	*			*			*					Challenger Pack Nicogan 4 SC
	Oxasulfuron	*			*		*	*					
	Primisulfuron	*			*			*					
	Prosulfuron	*			*			*	*			Sorgo	Peak 75 WG
	Triasulfuron	*			*				*				Logran
Trifloxysulfuron	*			*							Algodón	Envoke	

⁰ A soja STS

¹ A soja STS o no, según condiciones climáticas y de suelo (ver marbete)

² Solo previo a la siembra (ver marbete)

Imidazolinonas	Imazamox	*			*		*			P *		Sweeper 70 DG Trigosol	
	Imazamox + imazapir	*			*						* CL	Clearsol plus	
	Imazapic	*		*	*							Caña de azúcar ³ , maní	Cadre 70 DG Panoramic Metolan
	Imazapic + Imazapir	*		*	*				*	CL		Arroz CL, Caña de azúcar.	Onduty Kifix Mayoral
	Imazapir	*			*	*					* CL	Caña de azucar	Arsenal Arsenal Forestal Clearsol Sunshine Imatron Forestal
	Imazapir + Imazetapir	*			*	*			*	CL	* CL		Lightning DG Interfield
	Imazaquin	*		*	*		*						Scepter Scepter 70 DG Topgan Topgan 20 Topgan 70 WG
	Imazetapir	*			*	*			*	CL		Alfalfa, arveja, maní	Dinamaz Pivot Pivot 70 DG Pivot H Vezir Vezir 70 WG Honor
Triazolpirimidinas	Cloransulam-metil	*			*	*							Pacto
	Diclosulam	*		*		*						Maní	Spider
	Flumetsulam	*		*	*	*	*	*				Caña de azúcar ⁶ , pasturas, poroto ⁷	Preside Preside 80 WDG Perdure
	Penoxsulam	*			*							Arroz	Ricer
	Bispyribac sodico	*	*		*							Arroz	Nominee 40 SC
Pirimidinotiobenzoatos										*			
	Flucarbazone sódico	*			*						*		

³ Solo antes de la plantación (ver marbete)

⁴ Solo en presiembra ó preemergencia (ver marbete)

⁵ Solo en presiembra ó preemergencia (ver marbete)

⁶ Solo en preemergencia (ver marbete)

⁷ Solo en preemergencia (ver marbete)

Sulfonil- amino carbonil-triazolinona	Tiencarbazono metil + Iodosulfuron metil	*		*		* A ocpa d matl						Percutor 51WG
Triazolopirimidinas + Sulfonilurea	Pyroxulam + Metsulfuron	*			*				*			Merit

Inhibidores de la fotosíntesis en el Fotosistema II (HRAC-C1, C2, C3) (WSSA-5, 7, 6)

Sitio y mecanismo de acción

Interrumpen el flujo de electrones en el Fotosistema II por inhibición de la actividad de una proteína receptora y transportadora de electrones (D1). El bloqueo del flujo de electrones genera una gran cantidad de moléculas de clorofila excitadas cuyos electrones reaccionan con oxígeno generando formas altamente tóxicas (peróxidos de hidrógeno y superóxidos). Se produce destrucción de la clorofila y los carotenoides, las especies reactivas de oxígeno peroxidan los lípidos de la membrana del cloroplasto causando destrucción de la integridad de las mismas, desorganización celular y pérdida de componentes plasmáticos (Anderson, 1996; Arregui, 2008).

Síntomas

Los síntomas de aplicaciones postemergentes se observan como manchas cloróticas internervales en las hojas, que posteriormente se necrosan. Los síntomas comienzan

en los márgenes de las hojas. En condiciones de alta iluminación, las hojas tratadas se marchitan 2-3 horas después de la aplicación (Zita Padilla, 2012). En aplicaciones preemergentes, las hojas verdaderas de las plántulas se muestran cloróticas, posteriormente se necrosan y mueren (Cobb, 2010; Duke, 2011).

Absorción y movimiento en la planta

Existen herbicidas sistémicos y de contacto dentro de este grupo. Los herbicidas sistémicos incluyen las familias químicas de las triazinas, triazinonas, triazolinonas, fenilureas, ureas y uracilos y los de contacto a los nitrilos, benzonitrilos, benzotiadizoles y amidas (Cobb, 2010).

Usos

Los herbicidas sistémicos se aplican al suelo en preemergencia se absorben por raíces y se translocan por xilema. En tanto los herbicidas de contacto se aplican en postemergencia, y se absorben por el follaje (Arregui, 2008).

Comportamiento en el suelo

Poseen residualidad limitada en el suelo, que varía de acuerdo al producto. Las triazinas, ureas y uracilos controlan principalmente especies latifoliadas, con cierto efecto en gramíneas anuales. En tanto, las benzotiadiazinas y benzonitrilos controlan básicamente malezas latifoliadas (Arregui, 2008).

Familias químicas

Poseen varias familias químicas:

C1-5:

- Triazinas
- Triazinonas
- Triazolinonas
- Uracilos
- Piridazinonas
- Fenilcarbamatos

C2-7:

Ureas

Amidas

C3-6:

Nitrilos

Benzotiadiazinonas

Fenilpiridazinas

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos				OTROS		
							S	M	T	G			
Triazinas	Ametrina	*		*	*							Caña de azúcar	Ametrex FW Ametrex 80 WG Gesapax 50 FW Gesapax 80 WG Krismat
	Atrazina	*		*	*			*				Caña de azúcar, sorgo granífero	Atranex FW Atrazina Dow Agrosciencas Atrazina Equipagro Atranex 90 WG Gesaprim 90 WDG
	Prometrina	*		*	*		*			*		Algodón ¹⁰ , arveja ¹¹	Gesagard 50 Prometrex FW
	Simazina	*		*				*				Alfalfa, caña de azúcar	Simanex 50 FW Simanex 90 WG
	Terbutilazina	*	*										Agan Tyllanex 50 FW
	Terbutrina	*		*	*				*			Caña de azúcar	Terbutrex
Triazinonas	Metribuzin	*		*	*		*		*		Arveja, caña de azúcar ¹⁴ , cebada ¹⁵ , papa ¹⁶	Sencorex 48 Sencorex 75 WG Tribune Tribune 48 SC Sencormax	
Uracilos	Bromacil	*		*									Hyvar X
	Lenacil	*		*									Venzar
	Terbacil	*		*								Caña de azúcar	
Piridazinonas	Cloridazon	*		*									Pyramin

⁸ Solo en preemergencia (ver marbete)

⁹ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹⁰ Aplicaciones en postemergencia solo en forma dirigida (ver marbete)

¹¹ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹² Solo en preemergencia (ver marbete)

¹³ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹⁴ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹⁵ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹⁶ Solo en preemergencia (ver marbete)

Fenilcarbamatos	Fenmedifan	*	*		*														
Ureas	Diuron	*			*			*			*							Algodón, caña de azúcar, lino, papa	Diurex 80 FW Diurex 90 WG Karmex SC Karmex WG
	Fluometuron	*			*													Algodón	Cottonex
	Linuron			*	*	*			*	*								Algodón, Arveja ¹⁸ , caña de azúcar ¹⁹ , papa ²⁰ , poroto ²¹	Afalon Linurex Linuron 50 FW
	Metabenzthiazuron	*			*	*													
	Tebutiuron	*			*													Caña de azúcar	
Amidas	Propanil		*		*													Arroz	
Nitrilos	Bromoxinil		*		*			*		*								Alfalfa, caña de azúcar, lino, maní, pasturas.	Bromotril
Benzotiadiazinonas	Bentazon		*		*			*	*									Arveja, arroz, lino, sorgo, maní, papa, pasturas, poroto.	Basagran 60

¹⁷ Aplicaciones en postemergencia solo en forma dirigida (ver marbete)

¹⁸ Solo en preemergencia (ver marbete)

¹⁹ Aplicaciones en postemergencia solo en forma dirigida (ver marbete)

²⁰ Solo en preemergencia (ver marbete)

²¹ Solo en preemergencia (ver marbete)

Inhibidores del Fotosistema I (HRAC-D) (WSSA-22)

Sitio y mecanismo de acción

El mecanismo de acción de los bipiridilos es la intercepción de electrones en el fotosistema I y la formación de compuestos de oxígeno que destruyen las membranas celulares (Duke, 2011). Son herbicidas fuertemente catiónicos con un elevado poder reductor. Los cationes reaccionan con la ferredoxina presente en los cloroplastos, y se reducen, reaccionando posteriormente con moléculas de agua y oxígeno, formando superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (Duke, 2011). Las formas reactivas de oxígeno formadas reaccionan rápidamente con los lípidos de las membranas del cloroplasto causando daños irreversibles (Arregui, 2008; Zita Padilla, 2012).

Familias químicas

Pertencen a la familia química de los bipiridilos.

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos	Nombres comerciales
		S	C	PRE	POST		
Bipiridilos	Diquat		*		*	*	Reglone
	Paraquat		*		*	*	Gramoxone super Herboxone Secafol

Inhibidores de la enzima Protoporfirinógeno oxidasa (PPO) (HRAC-E) (WSSA-14)

Sitio y mecanismo de acción

Su mecanismo de acción es la inhibición de la enzima cloroplástica PPO que actúa en la formación de porfirinas, moléculas precursoras de clorofila y grupos hemo. La inhibición de dicha enzima causa acumulación de protoporfirina, la cual es excitada a un estado de triplete, interactuando con las moléculas de oxígeno para producir oxígeno simple y peróxido de hidrógeno que causa la destrucción de las membranas celulares (Grossmann, 2000; Peterson *et al.*, 2001).

Síntomas

Los síntomas incluyen clorosis y posterior necrosis de hojas y tallos, los cuales se observan cuando la planta se expone a la luz.

Absorción y movimiento en la planta

Son absorbidos por el follaje, y actúan como herbicidas de contacto, si bien pueden tener una limitada movilidad vía apoplasto (Devine, 2002).

Usos

Son aplicados generalmente en postemergencia de las malezas, excepto algunos como oxadiazón y sulfentrazone que se pueden aplicar en preemergencia (Arregui, 2008; Duke, 2011), al igual que flumioxazin. Controlan básicamente malezas latifoliadas anuales, aunque algunos como oxadiazón también tienen efecto sobre gramíneas anuales (Grossmann, 2000).

Comportamiento en el suelo

El efecto residual es variable según el activo, algunos no poseen efecto residual en el suelo ya que son adsorbidos a la materia orgánica y arcillas del suelo y son sensibles a la descomposición microbiana, mientras que otros pueden permanecer activos durante 3-8 semanas (Arregui, 2008; Oliveira; *et al.*, 2011).

Familias Químicas

Están compuestos por 7 familias químicas:

- Difeniléteres
- Fenilpirazoles
- N-fenilftalimidas
- Tiadiazoles
- Triazolinonas
- Oxadiazoles
- Oxazolidindiona
- Pirimidindionas

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G	OTROS		
Difenileteres	Acifluorfen		*		*		*						Blazer
	Fluoroglicofen		*		*		*					Maní	Super Blazer
	Fomesafen		*		*		*					Maní, poroto	Flex
	Lactofen		*		*		*						
	Oxifluorfen		*	*	*		*					Algodón ²³ , caña de azúcar	Galigan Koltar EC
Fenilpirazoles	Piraflufen-etil		*	*		*							Stagger
N-feniltalimidias	Flumiclorac-pentil		*	*	*		*						
	Flumioxazin		*	*	*	*	*	*		*		Sorgo	Sumisoya Flo
Oxadiazoles	Oxadiazon		*	*	*							Arroz	
Triazolimonas	Carfentrazone etil		*	*	*		*	*	*	*			Affinity Shark
	Sulfentrazone	*		*		*	*			*		Maní	Authority Boral
Pirimidindionas	Butafenacil		*		*							Defoliante algodón.	
	Saflufenacil		*	*			*	*	*			Cebada, maní, sorgo	HEAT

²⁴ Solo en preemergencia (ver marbete)

²⁵ Solo en preemergencia (ver marbete)

²⁶ Solo en preemergencia (ver marbete)

Inhibidores de la biosíntesis de carotenoides (HRAC-F1, F2, F3) (WSSA-12, 27, 11 y 13)

Sitio y mecanismo de acción

La inhibición de la síntesis de carotenos se puede producir por bloqueo de varias rutas biosintéticas, tales como la inhibición de la enzima fitoeno desaturasa (PDS), inhibición de la enzima 4 hidroxifenil piruvato dioxigenasa (HPPD), e inhibición de la enzima licopeno ciclasa, entre otras (Oliveira, 2011). Los carotenoides son pigmentos que están asociados con la clorofila y la protegen de la fotooxidación, al disipar el exceso de energía en las reacciones luminosas de la fotosíntesis (Devine, 2002). Sin la presencia de carotenoides, la clorofila excitada a estado de triplete se degrada y las plantas mueren por no poder realizar fotosíntesis (Oliveira, 2011).

Síntomas

Los síntomas se observan por falta de pigmentación en los cotiledones y/o hojas nuevas, seguida por necrosis de las hojas y tallos (Arregui, 2008).

Absorción y movimiento en la planta

Se absorben principalmente por las raíces, excepto el herbicida mesotrione que se absorbe en el follaje y se emplea en postemergencia (Ferhatoglu, 2005). Poseen movimiento apoplástico.

Usos

Se utilizan en preemergencia de las malezas, para el control de malezas latifoliadas y gramíneas anuales.

Residualidad en el suelo

Estos herbicidas pueden tener alta residualidad en el suelo y causar daños a cultivos sembrados en la rotación (Ferhatoglu, 2005).

Familias químicas

Este grupo de herbicidas incluye a las familias químicas:

- Difenileteres

- isoxazoles
- isoxazolidinonas
- piridazinonas
- pirazoles
- piridincarboxamidas
- triazoles
- triketonas

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G		OTROS
Piridin carboxamidas	Diflufenican	*		*		*			*		Pasturas	Brodal 50 SC Legacy
Pirazoles	Topramezone	*			*			*				Convey
Otros	Flurocloridona	*		*					*	*	Avena, caña de azúcar, cebada, papa.	Defender Rainbow
	Flurtamone	*		*							Algodón	
Triketonas	Mesotrione	*		*	*			*			Arroz	Callisto
Isoxasoles	Isoxaflutole	*		*				*			Caña de azúcar.	Fordor Merlin 75 WG Evolution
Isoxazolidinonas	Clomazone	*		*		*					Arroz, maní, papa.	Command 36
Difenil éteres	Aclonifen		*		*				*			Prodigio 60 SC

Inhibidores de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS) (HRAC-G) (WSSA-9)

Sitio y mecanismo de acción

El modo de acción de glifosato es a través de la inhibición competitiva de la enzima cloroplástica EPSPS, impidiendo la biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano, los cuales son precursores de importantes metabolitos secundarios como lignina, flavonoides, alcaloides, ácidos benzoicos y fitohormonas (Gressel, 2002; Pérez-Jones *et al.*, 2007).

Síntomas

Los síntomas se observan por aparición de clorosis leve en los tejidos jóvenes que se transforma en necrosis 7-14 días después de la aplicación. Pueden observarse coloraciones rojizas. Genera también descomposición de órganos subterráneos (Shaner, 1993).

Absorción y movimiento en la planta

Se absorbe a través de la superficie de la hoja, y sus propiedades fisicoquímicas posibilitan su translocación vía floema (Pérez-Jones, *et al.*, 2007). Posee acción sistémica con elevada translocación a los tejidos que son destinos metabólicos de sacarosa tales como los meristemos apicales, radicales y órganos reproductivos subterráneos de especies perennes (Shaner, 2009; Wakelin, 2006).

Usos

Se utiliza en postemergencia. Es un herbicida no selectivo y de amplio espectro, que controla especies vegetales mono y dicotiledóneas, tanto anuales como perennes (Shaner, 2000).

Residualidad en el suelo

No posee residualidad en el suelo.

Familias químicas

Pertenece a la familia química de las Glicinas.

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G		OTROS
Glicinas	Glifosato	*		*	*	*	*	*	*	*	Algodón RR, pasturas	Glifosato DuPont Premium HL Glifosato DuPont Premium Max Panzer gold Panzer Plus Roundup Full II Roundup UltraMax Sulfosato Touchdown Touchdown Hi Tech

²⁷ Solo en presembrado (ver marbete)

²⁸ Solo en presembrado (ver marbete)

Inhibidores de Glutamina sintetasa (HRAC-H) (WSSA-10)

Sitio y mecanismo de acción

El glufosinato es un herbicida de amplio espectro que inhibe la enzima cloroplástica glutamina sintetasa involucrada en la asimilación de amonio y la producción del aminoácido glutamina (Duke, 2011). La acumulación de amonio causa un rápido desacoplamiento de la fotofosforilación, así como inhibición de la fijación fotosintética de carbono y interrupción de la síntesis de aminoácidos (Vencill, 2002).

Síntomas

Los síntomas se observan de 3 a 5 días después de la aplicación mediante clorosis y marchitamiento, seguido por necrosis a los 7-14 días (Griffin, 2005).

Absorción y movimiento en la planta

Posee un transporte limitado dentro de la planta y su acción es básicamente de contacto.

Usos

Es un herbicida no selectivo con acción postemergente en malezas latifoliadas y gramíneas (Zita-Padilla, 2012).

Residualidad

No posee acción residual en el suelo.

Familias químicas

Pertenece a la familia química de los Ácidos fosfínicos.

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales		
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G		OTROS	
Ácidos fosfínicos	Glufosinato	*	*		*	*		*				Desecante alfalfa	Basta SL Liberty

Inhibición de la división celular (mitosis) (HRAC-K1, K2, K3) (WSSA-3, 23, 15)

Sitio y mecanismo de acción

Existen varios grupos de acuerdo al proceso afectado en la inhibición de la división celular. Así, las dinitroanilinas, piridinas, ácidos benzoicos, benzamidas y fosforoamidatos (K1/3) inhiben la formación o ensamblaje del huso acromático, impidiendo la síntesis de los microtúbulos por el bloqueo en la polimerización de las tubulinas en los meristemas radicales (Senseman, 2007). El grupo de los carbamatos (K2/23) inhiben la división celular, y la formación y polimerización de microtúbulos. En tanto, el subgrupo integrado por las familias químicas cloroacetamidas, acetamidas, oxiacetamidas y tetrazolinonas (K3/15) son herbicidas que inhiben la síntesis de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA), componentes de las ceras cuticulares (Trenkamp *et al.*, 2004).

Síntomas

Los síntomas de las dinitroanilinas, piridinas, ácidos benzoicos, benzamidas y fosforoamidatos (K1/3) se observan por engrosamientos en los ápices radiculares, y menor desarrollo de raíces secundarias. Se detiene el crecimiento de las raíces, y las plántulas mueren antes de emerger por no poder absorber agua y nutrientes (Oliveira *et al.*, 2011). En gramíneas los síntomas de cloroacetamidas, acetamidas, oxiacetamidas y tetrazolinonas (K3/15) se observan por atrofia y malformación de las hojas que emergen del coleoptilo. En tanto, en latifoliadas se observan hojas malformadas con acortamiento de la nervadura central. Detienen el crecimiento de los tallos, y como consecuencia provocan la muerte de las plántulas antes de emerger.

Absorción y movimiento en la planta

Los herbicidas del grupo K1/3 no se translocan en la planta. Se absorben por radículas y/o coleoptilo. Los herbicidas del grupo K3/15 se absorbe principalmente por los tallos (coleoptilo, e hipocótilo) y en menor medida por las raíces y semillas.

Usos

Los herbicidas del grupo K1/3 se aplican en presiembra o preemergencia, en algunos casos deben ser incorporados debido a la fotodescomposición (trifluralina) (Arregui, 2008). Controlan malezas gramíneas principalmente y ciertas latifoliadas anuales. Los herbicidas del grupo K3/15 se aplican en preemergencia, sin necesidad de ser incorporados al suelo. Controlan malezas gramíneas anuales y algunas latifoliadas

Residualidad

Poseen de moderada a alta residualidad en el suelo.

Familias químicas

Están formados por varias familias químicas

K1/3

- Dinitroanilinas
- Fosforoamidatos
- Piridinas
- Benzamidas
- Acidos benzoicos

K2/23

- Carbamatos

K3/15

- Cloroacetamidas
- Acetamidas
- Oxiacetamidas
- Tetrazolinonas

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G	OTROS		
Dinitroanilinas	Dinitramina		*	*			*				*	Algodón, maní	
	Orizalin	*		*	*								
	Pendimetalin	*		*			*	*	*	*		Algodón, arveja, arroz, caña de azúcar, maní, poroto, sorgo	Herbadox 33E, Herbadox H2O OK Clin 33
	Trifluralina	*		*			*			*		Alfalfa, algodón, arveja, colza, maní	Treflan Triflurex Premerge
Benzamidas	Propizamida	*		*								Alfalfa	Kerb 50 W
Carbamatos	Clorprofan	*		*								Inhibidor brotación en papa Alfalfa, algodón.	
Cloroacetamidas	Acetoclor	*		*			*	*		*		Algodón, caña de azúcar, maní.	Acetoclor 90 Guardian Harness Acierto Surpass Ec Trophy
	Alaclor	*		*			*	*		*		Algodón, caña de azúcar, poroto	
	Dimetenamida	*		*	*		*	*		*		Algodón, maní, poroto, sorgo.	Frontier
	S- Metolaclo; Metolaclo	*		*			*	*		*		Algodón, arveja, maní, papa, poroto, sorgo con antídoto	Produce Dual gold Agan-metolachlor
	Propacloro			*						*			
Acetamidas	Napropamida	*		*						*		Colza	
Oxiacetamidas	Flufenacet	*	*	*				*					

Inhibidores de la síntesis de celulosa (HRAC-L) (WSSA-20, 21, 26, 29)

Sitio y mecanismo de acción

Los herbicidas de este grupo inhiben directa o indirectamente la biosíntesis de celulosa, generando pérdida de integridad de la estructura celular, detención del crecimiento y muerte de la planta. La inhibición se produce en diferentes rutas de la biosíntesis de acuerdo al herbicida involucrado (García-Angulo *et al.*, 2012). Actúan en las zonas meristemáticas y ápices radiculares (Duke, 2011; Zita-Padilla, 2012).

Síntomas

Los síntomas incluyen detención del crecimiento y engrosamiento de las raíces.

Absorción y movimiento en la planta

Se absorben por raíces y se transportan principalmente por xilema hacia los tallos.

Usos

Se utilizan mayormente en preemergencia de las malezas (Zita-Padilla, 2012). Controlan especies de malezas latifoliadas y algunas gramíneas anuales. Poseen control sobre algunas especies bianuales o perennes.

Residualidad

La residualidad es baja a moderada dependiendo del herbicida y tipo de suelo.

Familias químicas

Incluyen las siguientes familias químicas:

- Alkylazina
- Nitrilos
- Benzamidas
- Triazolcarboxamidas
- Ácidos quinolin carboxílicos

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G		OTROS
Ácidos quinolin carboxílicos	Quinclorac	*			*						Arroz	Facet DF Facet FC Facet PM

Inhibición de la síntesis de lípidos (HRAC-N) (WSSA-8)

Sitio y mecanismo de acción

Inhiben la síntesis de ácidos grasos y lípidos por bloqueo de diversas enzimas como las elongasas de ácidos grasos, que intervienen en la formación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA). Se producen disminuciones de las ceras cuticulares y suberinas (Zita-Padilla, 2012).

Síntomas

Los síntomas observados en gramíneas incluyen enrollamiento, y engrosamiento de las hojas, las cuales toman coloraciones verde oscuro. En latifoliadas se observan hojas plegadas, menor crecimiento de la nervadura central y pobre desarrollo de las plántulas.

Absorción y movimiento en la planta

Poseen acción sistémica. Se absorben por las raíces y el coleoptile de las plántulas. Se translocan por xilema (Vencill, 2002).

Usos

Se aplican al suelo en pree y postemergencia de las malezas y deben ser incorporados debido a la alta presión de vapor (Arregui, 2008). Controlan malezas gramíneas anuales y perennes y algunas latifoliadas.

Residualidad

La residualidad en el suelo es baja.

Familias químicas

Comprenden las siguientes familias químicas:

- Tiocarbamatos.
- Ácidos cloro carbónicos.

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G		OTROS
Tiocarbamatos	Butilato	*		*							Alfalfa, algodón	
	EPTC	*		*							Alfalfa, caña de azúcar, lino, papa	
	Molinate		*	*	*						Arroz	
Ácidos cloro carbónicos	Dalapon	*		*	*	*					Caña de azúcar	

Acción similar al ácido indolacético (auxinas sintéticas) (HRAC-O) (WSSA-4)

Sitio y mecanismo de acción

Dichos herbicidas actúan de forma similar a las auxinas o fitohormonas vegetales, de los cuales el principal en plantas superiores es el ácido indolacético (IAA). Las auxinas estimulan procesos tales como la elongación y división celular, diferenciación de los meristemas florales, fototropismo, senescencia, dominancia apical y formación de raíces (Kende, 1997; Grossmann, 2000). La aplicación de herbicidas auxínicos genera incrementos en las concentraciones celulares de dichos reguladores, induciendo anormalidades en el crecimiento. Aunque el sitio primario de acción es aún desconocido se sabe que desencadenan una serie de eventos, que se pueden dividir en tres fases. El primer efecto es la estimulación de crecimiento anormal y de la expresión génica, generando un rápido incremento en la producción de etileno y un aumento de la biosíntesis de ácido abscísico (ABA). En segundo lugar, la inhibición de crecimiento (aéreo y radicular) y de respuestas fisiológicas, tales como el cierre de los estomas; y finalmente, la senescencia y muerte celular (Grossmann, 2000; Kelley, 2007). Los mayores niveles de ABA inhiben el crecimiento de plantas mediante el cierre de los estomas, que posteriormente limitan la asimilación de dióxido de carbono y conducen a la acumulación de peróxido de hidrógeno. La acumulación de especies reactivas del oxígeno es un factor clave en el daño de tejidos y la muerte celular (Grossmann, 2003; Grossmann, *et al.*, 2001).

Síntomas

Los síntomas observados en dicotiledóneas comienzan por detención de crecimiento y clorosis leve en las hojas nuevas. Posteriormente, provocan un rápido crecimiento, caracterizado por malformaciones en tallos, hojas y raíces, ej., hiponastia de tallos y hojas (Grossmann, 2003; Grossmann *et al.*, 2001). Los ácidos quinolincarboxílicos también controlan algunas especies gramíneas, los síntomas consisten en la detención del crecimiento, clorosis, marchitamiento y necrosis. Las aplicaciones en cultivos de cereales con dosis muy elevadas o fuera de la ventana de aplicación

pueden generar daños. Los mismos se observan por aparición de hojas enrolladas o tipo “cebolla”, y malformación de órganos reproductivos (Arregui, 2008).

Absorción y movimiento en la planta

Son herbicidas sistémicos. Se absorben principalmente por el follaje, aunque también pueden absorberse en menor medida por las raíces. Se transportan por floema y xilema hacia los puntos de crecimiento (Sterling, 1997).

Usos

Se aplican en postemergencia de las malezas. Controlan especies dicotiledóneas anuales y perennes. En general, las gramíneas son tolerantes a estos herbicidas debido a un transporte restringido, un metabolismo más eficiente y la ausencia de cambium vascular en su floema. Sin embargo, los ácidos quinolincarboxílicos controlan algunas especies de malezas gramíneas.

Residualidad

La residualidad varía desde 1 semana a meses, según la familia química en cuestión, contenido de materia orgánica del suelo, textura, y humedad, entre otras.

Familias químicas

Están formados por 4 familias químicas:

- Ácidos benzoicos.
- Ácidos piridín-carboxílicos.
- Ácidos fenóxi-carboxílicos.
- Ácidos quinolín-carboxílicos

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos						Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G	OTROS		
Ácidos fenoxi-carboxílicos	2,4 D	*			*	*		*	*			Avena, arroz, caña de azúcar, cebada, papa, pasturas de gramíneas, sorgo	DMA 48 DMA 72 DMA ultra Dolphin Plus Esteron 2,4 D Esteron ultra 2,4 D AMINA MAGAN 2,4 D ester MAGAN
	2,4 DB	*			*		*					Alfalfa, maní, pasturas (gramíneas)	2,4 DB MAGAN Basf DB 100
	MCPA	*			*			*	*			Arroz, avena, cebada, lino, maní, papa, sorgo	
Ácido benzoico	Dicamba	*			*			*	*			Avena, cebada, caña de azúcar, lino, sorgo, pasturas de gramíneas	Banvel Caiman Stargan
Ácidos piridín carboxílicos	Aminopyralid	*			*							Pasturas	Tocon
	Aminopyralid + fluoroxipir	*			*							Pasturas	Pastar
	Clopiralid	*			*	*		*	*			Avena, cebada, sorgo	Lontrel
	Fluroxipir	*			*	*			*			Avena, cebada, caña de azúcar	Starane Tomahawk
	Picloram	*			*			*	*			Avena, cebada, caña de azúcar, lino, sorgo, pasturas de gramíneas	Tordon 24 K Paso 24 SL
	Picloram + Triclopir	*			*							Pasturas	Togar Bt

Ácidos fenoxi-carboxílicos+ Ácidos piridin carboxílicos	2, 4 D + Picloram	*			*			*	*		Cebada, caña de azúcar, sorgo, pasturas	Tordon D 30
Ácidos quinolin- carboxílicos	Quinclorac	*			*						Arroz	Facet Df Facet SC Facet PM
Otros	Benazolin	*			*			*	*			

Inhibición del transporte de auxinas (HRAC-P) (WSSA-19)

Sitio y mecanismo de acción

Inhiben el flujo polar de las auxinas vegetales desde el citoplasma al periplasma, produciendo acumulación de las mismas en los meristemas de las raíces (Subramanian *et al.*, 1997).

Síntomas

Los síntomas se observan por reducción del crecimiento y pérdida del geotropismo de las raíces (giro de las puntas de las raíces hacia arriba) (Gardner, 1989). Impiden la germinación.

Absorción y movimiento en la planta

Se absorben por las raíces.

Usos Controlan especies dicotiledóneas y algunas gramíneas anuales y perennes. Se aplican en preemergencia (naptalam).

Residualidad. Posee acción residual.

Familias químicas

Están integrados por las familias químicas de los Ftalamatos y Semicarbazonas

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales	
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos					
							S	M	T	G		OTROS
Ftalamato	Naptalam	*		*			*					Maní

Modo de acción desconocido (HRAC-Z) (WSSA-17)

El modo de acción de los siguientes herbicidas se desconoce aún y es probable que difieran entre las distintas familias químicas.

Familia	Principio activo	Acción		Momento de aplicación		Usos					Nombres comerciales		
		S	C	PRE	POST	B	Cultivos						
							S	M	T	G		OTROS	
Órgano arsenicales	MSMA		*	*	*		*					Algodón ²⁹ , caña de azúcar ³¹	MSMA Dow Agrosience, Arsonex
Otros	Dazomet		*	*									
	Metam sodio		*	*									

²⁹ Solo en presembrado (ver marbete)

³⁰ Aplicaciones en postemergencia solo en forma dirigida (ver marbete)

³¹ Aplicaciones en postemergencia solo en forma dirigida (ver marbete)

CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS

Los herbicidas pueden ser clasificados de acuerdo a su época de aplicación, selectividad, tipo, familia química y modo de acción.

Época de aplicación

De acuerdo a su época de aplicación los herbicidas pueden clasificarse en forma general como preemergentes (PRE) y postemergentes (POST). Por lo general, los herbicidas PRE se aplican después de la siembra, pero antes de que emerjan la maleza y el cultivo. Los herbicidas PRE requieren de un riego o precipitación para situarse en los primeros 5 cm de profundidad del suelo, donde germina la mayoría de las semillas de maleza. Este tipo de herbicidas elimina a las malas hierbas en germinación o recién emergidas, lo que evita la competencia temprana con el cultivo. Por lo general la semilla de los cultivos se coloca por debajo de la zona de suelo con alta concentración de herbicida y la selectividad al cultivo puede ser tanto posicional como fisiológica. Los herbicidas PRE presentan una gran interacción con algunas características del suelo como son: textura, pH y materia orgánica que pueden afectar la cantidad de herbicida disponible en el suelo para controlar la maleza. Por lo general la dosis de este tipo de herbicidas se ajusta según el tipo de suelo y materia orgánica, requiriendo una mayor dosis en suelos arcillosos y con alto contenido de materia orgánica (Anderson, 1996).

Los herbicidas POST se aplican después de la emergencia del cultivo y la maleza. En la mayoría de los casos, la aplicación de herbicidas POST debe realizarse sobre malezas en sus primeros estados de desarrollo cuando son más susceptibles a los herbicidas y su competencia con el cultivo es mínima. Los herbicidas POST pueden ser más económicos para el productor al utilizarse sólo donde se presenta la maleza. La actividad de los herbicidas POST depende de factores como su grupo químico, especies de maleza presentes y condiciones de clima como velocidad del viento, temperatura del aire, humedad relativa y presencia de lluvia (Buhler, 1998).

Selectividad

De acuerdo a su selectividad los herbicidas pueden ser clasificados como:

Selectivos: herbicidas que a ciertas dosis, formas y épocas de aplicación eliminan a algunas plantas sin dañar significativamente a otras, por ejemplo, atrazina es un herbicida selectivo en maíz y sorgo.

No selectivos: aquellos herbicidas que ejercen su toxicidad sobre toda clase de vegetación y deben utilizarse en terrenos sin cultivo o bien evitando el contacto con las plantas cultivadas. El glifosato es un ejemplo de herbicida no selectivo (Caseley, 1996).

Tipo de acción

Por su tipo de acción los herbicidas pueden ser:

De contacto: herbicidas que eliminan sólo las partes de la planta con las que entran en contacto y tienen un transporte limitado dentro de la planta, por lo que se recomiendan para el control de maleza anual.

Sistémicos: herbicidas que se aplican al suelo o al follaje y son absorbidos y transportados a toda la planta incluyendo sus raíces y otros órganos subterráneos. Debido a lo anterior, los herbicidas sistémicos son utilizados para el control de maleza perenne (Ross y Lembi, 1985).

Familia química: La clasificación de los herbicidas en familias químicas se basa en la composición de los diferentes compuestos usados como herbicidas. Los herbicidas dentro de una familia química tienen propiedades químicas similares y generalmente tienen el mismo modo de acción (Retzinger y Mallory-Smith, 1997). Algunos ejemplos de las principales familias químicas de herbicidas son: las triazinas, las dinitroanilinas, los fenoxiacéticos, las cloroacetamidas, las ciclohexanodionas, las sulfonilureas y los bipiridilos (Hance y Holly, 1990). En Estados Unidos en la

actualidad existen alrededor de 200 ingredientes activos utilizados en la fabricación de aproximadamente 800 herbicidas comerciales (Vencill, 2002). En México, existen 65 ingredientes activos en alrededor de 300 herbicidas comerciales (Anónimo, 2007).

Modo de acción: La forma más útil de clasificación de los herbicidas es según su modo de acción (Duke y Dayan, 2001; Schmidt, 2005). El modo de acción es la secuencia de eventos que ocurren desde la absorción del herbicida hasta la muerte de la planta. Los herbicidas con el mismo modo de acción tienen el mismo comportamiento de absorción y transporte y producen síntomas similares en las plantas tratadas (Gunsolus y Curran, 1996). Además la clasificación de los herbicidas según su modo de acción permite predecir, en forma general, su espectro de control de maleza, época de aplicación, selectividad a cultivos y persistencia en el suelo (Ashton y Crafts, 1981). Finalmente este tipo de clasificación permite diseñar los programas de control químico de maleza más eficientes y evitar los posibles efectos negativos del uso de herbicidas como son la residualidad en el suelo, el cambio de especies de maleza y el desarrollo de biotipos de maleza resistentes a herbicidas (Heap, 2001; Regehr y Morishita, 1989). Aunque es común que los términos modo y mecanismo de acción de los herbicidas sean usados como sinónimos, existen claras diferencias entre estos términos. El modo de acción se refiere a los eventos que provocan los herbicidas y el mecanismo de acción al sitio o proceso bioquímico específico que es afectado (Baumann *et al.*, 1998; Gunsolus y Curran, 1996)., (Cobb y Reade ,2010), distinguen siete grandes grupos, dentro de los cuales a su vez se incluyen uno o más mecanismos de acción.

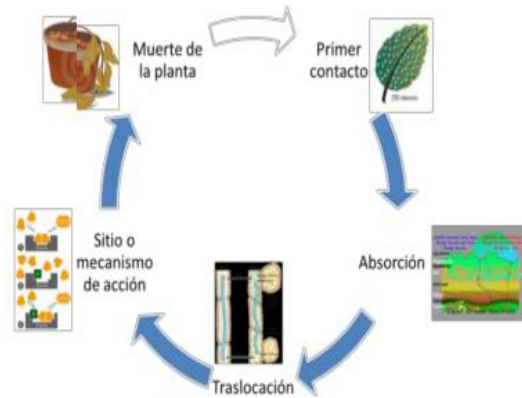


Figura 1. Representación esquemática del modo de acción de un herbicida.

2.6. Sulfonilureas.

Las sulfonilureas es la primera familia de herbicidas inhibidores de la ALS, descubierta por DuPont, en 1975 (Levitt, 1978). El clorsulfurón metil fue el primer herbicida comercialmente disponible para el control de malezas de hojas anchas en cereales, como el cultivo de trigo. Es la primera familia herbicida con muy alta actividad específica a bajas dosis agrícolas (gramos/ha.) de ingrediente activo, baja toxicidad en mamíferos, amplio espectro de control de especies malas hierbas y altamente selectivos en varias especies cultivadas de importancia alimenticia (trigo, arroz, avena, cebada, soja, maíz, etc.). Se aplican vía foliar para el control preemergente, postemergente de malas hierbas de hojas anchas anuales y perennes, gramíneas y ciperáceas (Beyer *et al.*, 1988).

Muchos herbicidas miembros de esta familia tienen diferente estructura química y grados de selectividad muy diferentes en las plantas. Las sulfonilureas tienen la estructura química $R_1(-R_3)-SO_2-NH-C=O-NH-R_2$, en la que la sustitución orto (R_3) en el anillo es clave para producir cambios importantes de selectividad en la planta cuando se asperjan con diferentes sulfonilureas que presentan estas sustituciones estructurales. La mayoría de las sulfonilureas son rápidamente absorbidas por las

hojas y las raíces. Comúnmente, el patrón de distribución de los herbicidas del grupo sulfonilureas ocurre tanto por vía apoplástica como simplástica. El sitio de absorción es crítico en el patrón de movimiento y distribución en la planta. La absorción radicular influye en el patrón de translocación y los síntomas del daño observado, diferente a cuando el sitio de absorción es vía foliar. Una vez absorbido, el herbicida rápidamente se transloca a las aéreas de crecimiento activo (zonas meristemáticas y ápices), donde ejerce su efecto inhibitorio en plantas sensibles.

Estos herbicidas se unen en algún sitio de la enzima acetolactato sintasa (ALS) de plantas muy sensibles, inhibiendo la ruta biosintética de aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina, generando una deficiencia de proteínas, que causa la muerte de la planta por inanición, reforzado por los efectos secundarios desencadenados (producción de 2-ketobutirato, alteración del transporte de fotosintatos y interrupción de la síntesis de proteínas indispensables en el crecimiento de la planta. Existen otras familias inhibitoras de la ALS, como las triazoloprimidines, pirimidinil-tiobenzoatos y sulfonil-aminocarbonil-triazolinonas e imidazolinonas, que a excepción de esta última son relativamente nuevas en el mercado. Ambas, poco después de la aplicación cesan el crecimiento en las especies susceptibles, debido a que la falta de proteínas por la carencia de aminoácidos interrumpe la división y elongación celular.

La base de la selectividad de los herbicidas sulfonilureas entre especies de plantas surge de alteraciones en el metabolismo y en el sitio de unión del herbicida, que confieren resistencia en las plantas. Las especies de plantas tienen diferentes mecanismos de detoxificación metabólica, en correspondencia con los diferentes miembros de esta familia de herbicidas.

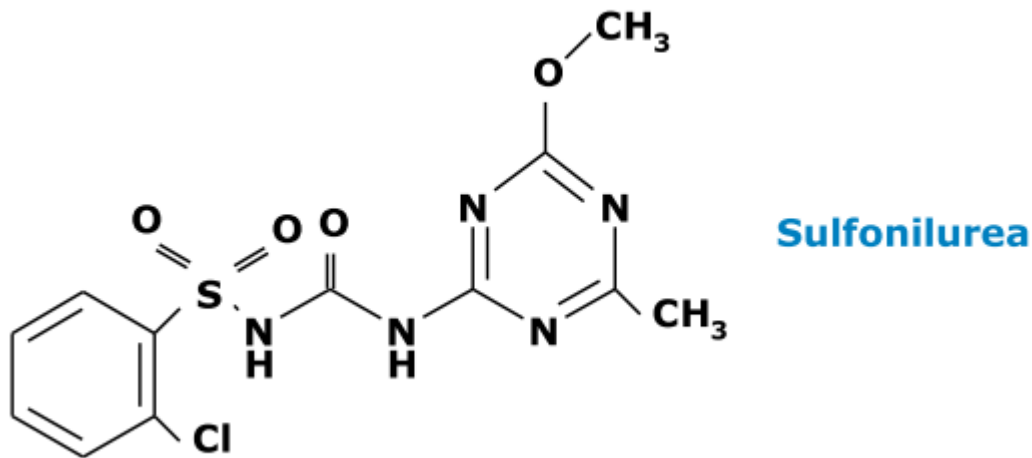


Figura 2. Estructura de las Sulfonilureas

Acetolactato Sintasa (ALS)

La acetolactato sintasa (ALS, acetohidroxiácido sintasa, AHAS, E.C.2.2.1.6) cataliza el primer paso común en la biosíntesis de los aminoácidos de cadena ramificada valina, leucina e isoleucina en plantas y microorganismos (Figura 3), (Saari y Mauvais, 1996; Powles y Yu, 2010). Cuatro de las enzimas de la ruta son comunes a la síntesis de los tres aminoácidos de cadena ramificada. La acetolactato sintasa condensa dos moléculas de piruvato para formar CO_2 y 2acetolactato, que es el precursor de valina y leucina. La ALS también puede desarrollar la misma reacción con piruvato y 2-ketobutirato para formar CO_2 y 2acetohidroxibutirato, un precursor de isoleucina. La ALS requiere FAD, tiaminapirfosfato (TPP), y Mg o Mn para su actividad, y la enzima produce hidroxietil-TPP ((HETPP) como un producto intermedio. En presencia de FAD, la ALS es predominantemente de forma tetramérica. Esta enzima es regulada mediante la inhibición del feedback o resíntesis de los tres productos aminoácidos. Existen dos formas de ALS en alguna, si no en todas, las plantas superiores. Cada forma tiene sensibilidad característica a los aminoácidos de cadena ramificada y a los herbicidas inhibidores de ALS. La ruta completa puede ser encontrada en los plastidios, aunque las enzimas son codificadas en el núcleo con péptido de tránsito para movimiento propio hacia el

plastidio. Los genes que codifican para la síntesis de ALS han sido aislados y caracterizados en tabaco y *Arabidopsis thaliana*, con casi 85% de homología entre los 667 y 670 productos aminoácidos de la proteína, respectivamente (Devine *et al.*, 1993). El estudio de esta ruta de biosíntesis en plantas es importante debido, entre otras razones: por ser la ruta donde se catalizan tres de los 10 aminoácidos esenciales y por presentar gran valor nutricional, y ser precursores de metabolitos secundarios, como glucosinolatos y glicósidos. La inhibición de esta enzima causa la desnutrición de la planta por falta de síntesis de estos aminoácidos. Este mecanismo primario, junto a los efectos secundarios de producción de 2 ketobutirato, alteración del transporte de fotosintatos y la disminución de la síntesis de proteínas se considera el mecanismo general causante de la muerte de las plantas sensibles a inhibidores de la ALS (Tranel y Wright, 2002).

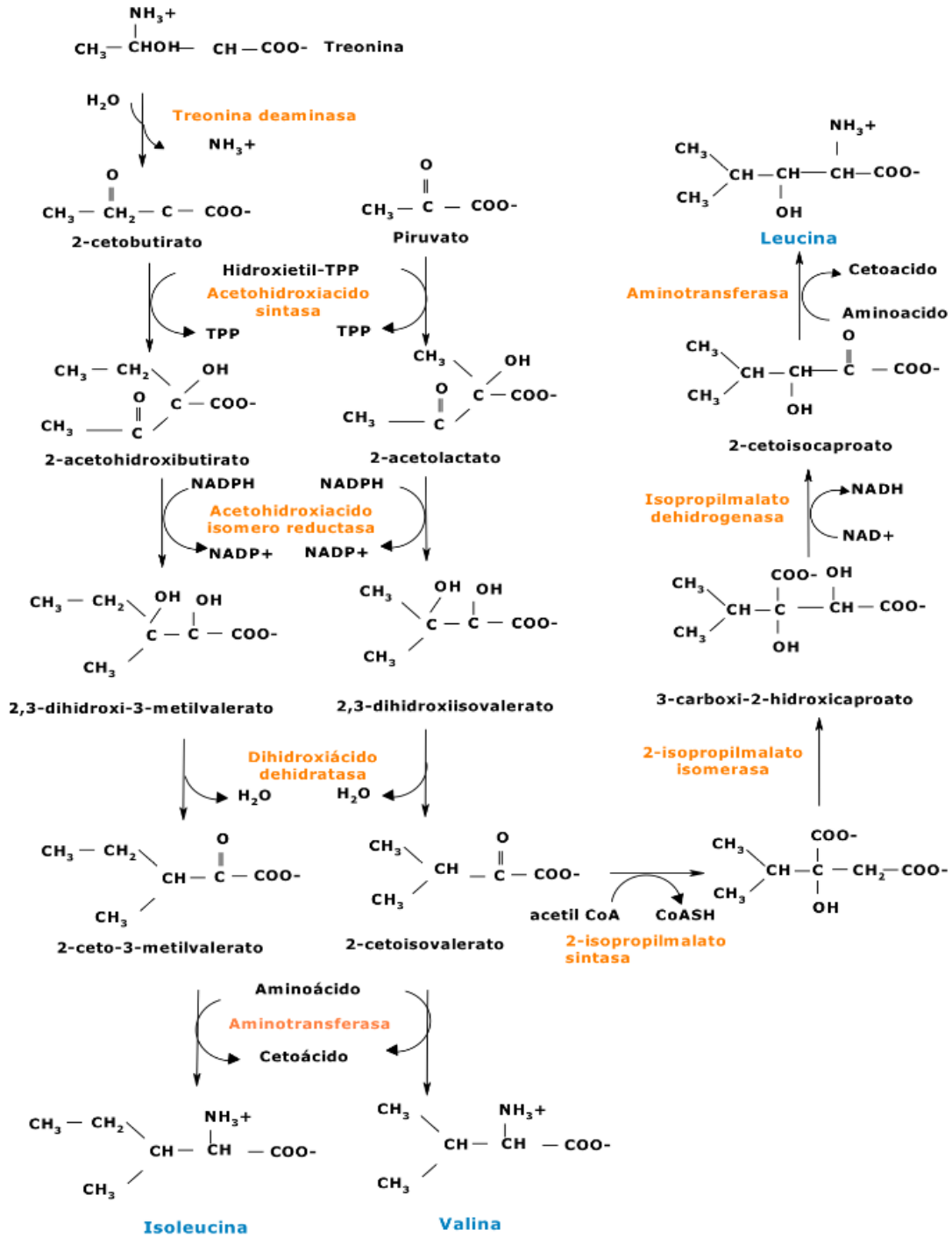


Figura 3. Ruta biosintética de los aminoácidos valina, leucina e isoleucina (Coruzzi y Last, 2000).

En esta ruta existen varios pasos paralelos en los que están involucradas estas cuatro enzimas: acetolactato sintasa (ALS), acetohidroxiácido isomeroreductasa, dihidroxiácido dehidratasa y aminotransferasa. El precursor común para estos aminoácidos es el piruvato. Además para la síntesis de isoleucina se requiere un segundo precursor, el 2-cetobutirato. Este compuesto proviene de treonina que es deaminada por una treonina deaminasa. La reacción que cataliza la ALS incluye la descarboxilación irreversible del piruvato y la condensación del radical acetaldehído con una segunda molécula de piruvato para dar 2-acetolactato, o con una molécula de 2-cetobutirato para dar 2-acetohidroxibutirato. En ambas reacciones se forma un intermediario entre el piruvato y el TPP. La descarboxilación de este intermediario conlleva la formación de un anión de hidroxietil-TPP (HET-PP) el cual actúa como un nucleófilo en el grupo 2 -ceto de una segunda molécula de piruvato o 2-oxobutirato, resultando TPP y acetolactato o acetohidroxibutirato.

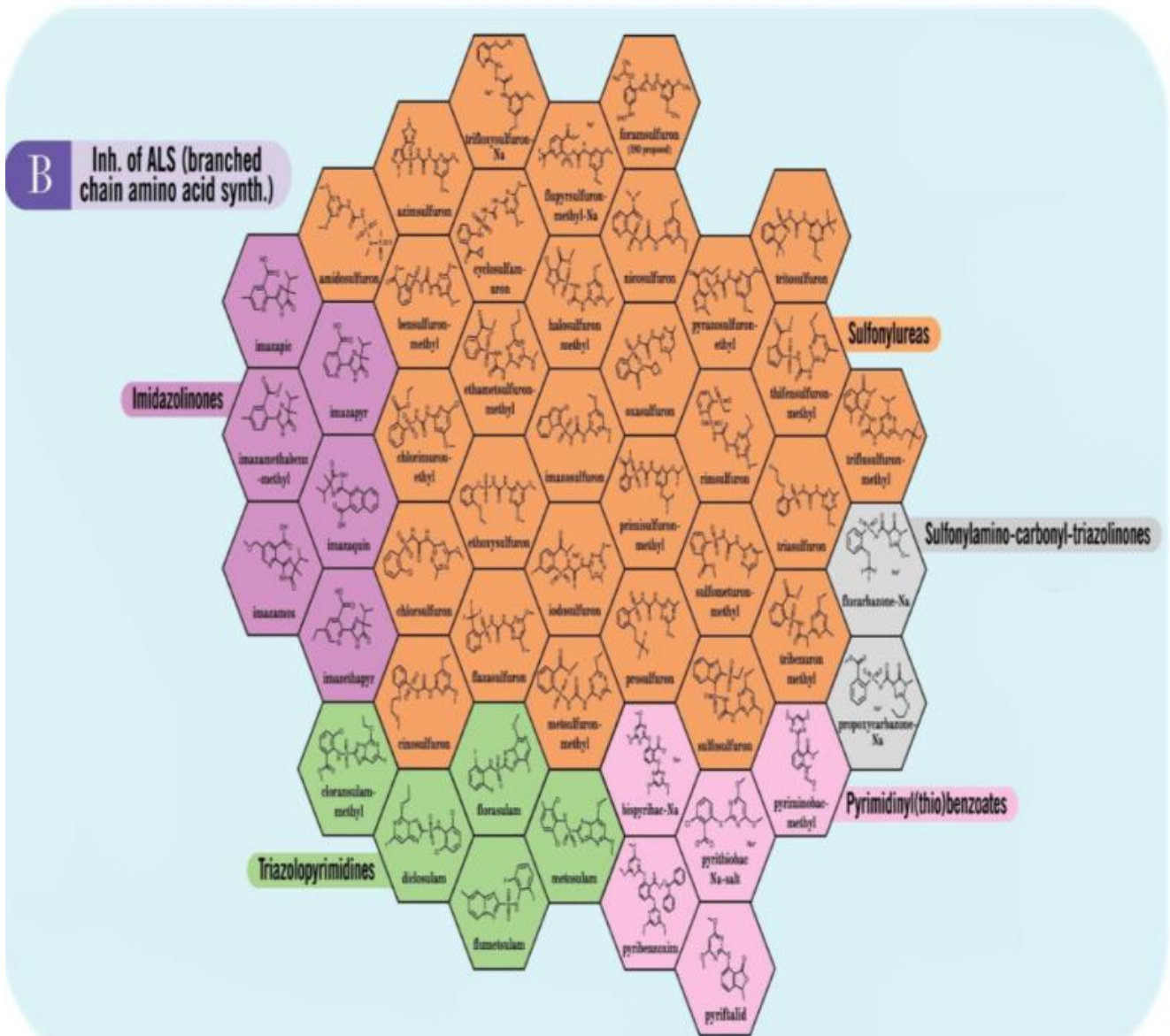


Figura 4. Herbicidas inhibidores de ALS: sulfonilurea, imidazolinona, triazolopirimidina, pirimidiniltiobenzoato y sulfonilaminocarboniltriazolinona (Heap, 2002).

Cuadro 3. Clasificación de los herbicidas por el modo de acción. (HRAC, 2008)

Grupo	Modo de acción	Familia química
A	Inhibición de la acetil CoA carboxilasa (ACCase)	Ariloxifenoxipropionatos, ciclohexanodionas, fenilpirazolinas
B	Inhibición de la acetolactato sintasa (ALS)	Imidazolinonas, sulfonilureas, triazolopirimidinas, pirimidiniltiobenzosatos, sulfonilaminocarboniltriiazolinonas
C1	Inhibición de la fotosíntesis en el fotosistema II	Triazinas, triazinonas, uracilos, piridazinona, fenil-carbonatos
C2	Inhibición de la fotosíntesis en el fotosistema II	Ureas, amida
C3	Inhibición de la fotosíntesis en el fotosistema II	Nitrilos, benzotiadiazol, fenil-piridazina
D	Desviación del flujo electrónico en el fotosistema I	Bipiridilos
E	Inhibición del protoporfirinógeno oxidasa (PPO)	Difeniléteres, N-fenil-ftalamidas, tiadiazoles, oxadiazol, triazolinona
F1	Decoloración: inhibición de la síntesis de carotenoides a nivel de la fitoeno desaturasa (PDS)	Piridazinona, nicotinanilida, otros
F2	Decoloración: inhibición de la 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa (4-HPPD)	Trikenona, ixosazol, pirazol
F3	Decoloración: inhibición de la síntesis de carotenoides (punto desconocido)	Triazol, isoxazolidinona, urea
G	Inhibición de la EPSP sintetasa	Glicinas
H	Inhibición de la glutamino sintetasa	Acido fosfínico
I	Inhibición del DHP (dihidropterato) sintetasa	Carbamato
K1	Inhibición de la unión de los microtúbulos de la mitosis	Dinitroanilinas, fosforoamidatos, piridazina, ácido benzoico
K2	Inhibición de la mitosis	Carbamatos, benzileter
K3	Inhibición de la división celular	Cloroacetamidas, carbamato, acetamida, benzamida, oxiacetamida
L	Inhibición de la síntesis de la pared celular (celulosa)	Nitrilos, benzamida
M	Desacopladores (alteración de la membrana)	Dinitrofenoles
N	Inhibición de la síntesis de los lípidos (no ACCase)	Tiocarbamatos, fosforoditioato, benzofurano, ácidos clorocarbónicos
O	Auxinas sintéticas (como la acción del ácido indolacético, AIA)	Acidos fenoxi-carboxílicos, ácido benzoico, ácido piridin-carboxílico, ácido quinolin-carboxílico, otros
P	Inhibición del AIA	Ftalamato, diflufenzopir
R/S/T/Z	Desconocido	Acido arilamino propiónico, organoarsenicales, otros

Desde el punto de vista más simple el modo acción de un herbicida en la planta se resume como las interacciones bioquímicas y fisiológicas del herbicida con la planta. Sin embargo, el modo de acción de un herbicida es algo más que estas interacciones; implica todo un proceso de etapas relacionadas con la entrada, movimiento y llegada del herbicida hasta el sitio donde ejercerá el efecto fitotóxico en la planta (Devine *et al.*, 1993). La mayoría de los herbicidas resultan letales para las

plantas debido a su acción sobre un sitio primario de trascendental importancia biológica. Esta acción puede producir efectos fitotóxicos secundarios y terciarios que producen la muerte de la planta. (Figura 5), se resumen los pasos desde la entrada de los herbicidas en la planta hasta ocasionar la muerte. El sitio primario es el lugar donde se une el herbicida o interfiere de alguna forma, causando la muerte de la planta. La acción del herbicida se puede estudiar en dos fases: la primera fase, que conlleva el movimiento del herbicida al sitio de acción, mientras la segunda fase conlleva las consecuencias metabólicas resultantes de la interacción en el sitio de acción (Devine *et al.*, 1993).

La primera fase empieza con la entrada del herbicida en la planta, bien por vía foliar o por vía radical. La entrada en la planta es seguida rápidamente por una serie de pasos que preceden la llegada del herbicida a su sitio de acción. Aquí se incluye la entrada a las células, la difusión en distancias cortas, el transporte a largas distancias, la conversión metabólica del herbicida y la entrada en organelos subcelulares. La interacción del herbicida con el sitio de acción se puede considerar el primer paso de la segunda fase; esto está seguido por una serie de consecuencias tóxicas que producen la muerte de la planta.



Figura 5. Eventos desde la entrada del herbicida hasta la muerte de la planta.

2.7.1. Mesosulfuron metil.

Es activo como pirimidinilsulfonilurea, inhibiendo la ALS, con lo que se detiene el desarrollo y se produce la muerte de la planta. Es de aplicación en postemergencia en cereales, para control de malas hierbas gramíneas y hojas anchas. Algunas de las malas hierbas que controla en postemergencia temprana son *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Apera spica-venti*, *Avena sterilis*, *Bromus sp.*, *Lolium spp.*, *Amaranthus sp.*, *Anagallis arvensis*, *Sinapis arvensis* y *Stellaria media*, entre otras. En España, este herbicida es formulado con iodosulfuron metil y se utiliza en siembra de trigo (Senseman, 2007).

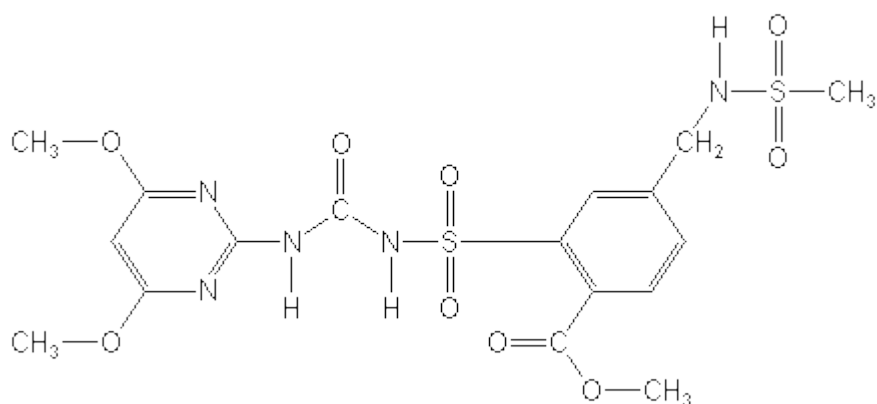


Figura 6. Estructura de Mesosulfuron metil

2.7.2. Iodosulfuron metil.

Iodosulfuron es un herbicida sulfonilurea inhibidor de la ALS, de aplicación en postemergencia para control de malezas de hojas anchas en cereales a 10 g i.a./ha. Es fabricado por Aventis, y el formulado viene en mezcla con mefenpir-dietil. Es absorbido por el follaje y las raíces, y la translocación ocurre por el floema. El mecanismo de resistencia es un sitio de acción alterado (ALS) (Senseman, 2007).

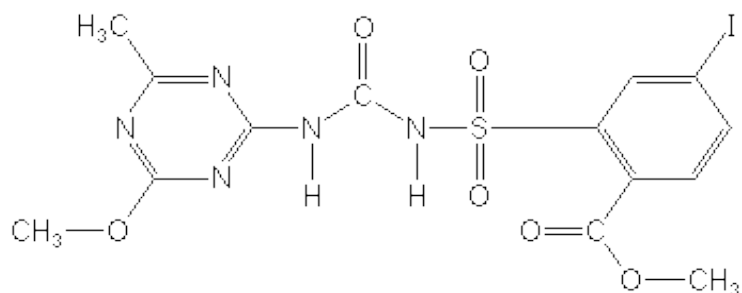


Figura 7. Estructura del iodosulfuron.

Algunas de las propiedades físicas y químicas del producto puro son:

- Masa molecular: 529.24
- Estado físico: color blanco ligero y polvo cristalino
- Densidad: 0.7 g mL

- pKa: 3.22

2.8. Síntomas de fitotoxicidad en alfalfa.

En el estado de Baja California y Sonora, en los que resaltan el Valle de Mexicali y San Luis Río Colorado, el cultivo de alfalfa es el más importante dentro de las especies forrajeras, el cual está expuesto a estrés severo o muerte por la aplicación inconsciente de herbicidas para el control de malezas gramíneas y algunas de hoja ancha en trigo como cultivo vecino del mismo, ya que el herbicida, específicamente Sigma Forte[®], tiene movilidad o arrastre causando pérdidas económicas considerables, como el replanteo que ocasiona un gasto extra a los costos de producción, así como retraso en la fecha de cosecha que por consiguiente, su precio será menor al que se espera.

Dado a la falta de información sobre el efecto fitotóxico que se han venido presentando en diferentes lotes, algunos productores han manifestado su denuncia a estancias gubernamentales ya que sus predios presentan problemas de desarrollo provocado por el arrastre de herbicida desde un predio vecino donde se aplicó este producto para el control de malezas en trigo. Los daños causados por el herbicida se manifiestan entre severo con alteraciones fisiológicas y plantas muertas (Imagen: A, B, C) en condiciones similares a las ocasionadas por la aplicación del producto; sin embargo, la única manera de determinar las causas que provocaron estas alteraciones, es mediante el análisis del follaje que permita identificar el compuesto químico causante del problema. Considerando la dificultad que se ha presentado por la carencia de servicios especializados que requiere este análisis, se sugiere otra opción, en la que un técnico especialista en el manejo de este tipo de producto, pueda reproducir el efecto del herbicida del cual se sospecha es el causante del problema en el cultivo de la alfalfa.

A



B



C



D



2.9. SPAD.

El medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Japón) es un instrumento que proporciona un método para una respuesta rápida y no destructiva para la estimación de la clorofila y otras variables relacionadas, proporcionando así una vía para evaluación inmediata de las variables fisiológicas y el seguimiento de los cambios fisiológicos en el tiempo (Hawkins *et al.*, 2009).

Los medidores de clorofila se utilizan ampliamente en la agricultura para la estimación de la clorofila en numerosas especies vegetales (Hawkins *et al.*, 2009). Por otra parte, algunos investigadores han presentado pruebas de las limitaciones inherentes a la utilización de medidores de clorofila, encontrando que las relaciones matemáticas entre las lecturas SPAD-502 y la clorofila foliar pueden variar con la etapa del crecimiento de las plantas (Chapman y Barreto, 1997), las condiciones de crecimiento (Campbell *et al.*, 1990), la estimación de crecimiento (Bullock y Anderson, 1998) y el genotipo (Sibley *et al.*, 1996). También se ha encontrado que los valores predictivos de las lecturas del SPAD-502 son de utilidad limitada cuando se aplica en todas las especies (Hawkins *et al.*, 2009).

Los valores SPAD se basan en el principio que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada, y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh *et al.* 1994).

Sin embargo, el SPAD provee sólo un índice simple del contenido de pigmentos de la hoja y la determinación de la composición de pigmentos requiere de valores de calibración con mediciones reales de pigmentos usando métodos destructivos (Mielke *et al.*, 2010). Las relaciones matemáticas entre los valores SPAD y el contenido de pigmentos varía entre especies (Marenko *et al.*, 2009) o entre variaciones ambientales como la luz. Mielke *et al.* (2010) encontraron que los ambientes de luz afectan significativamente los valores SPAD de *Eugenia uniflora* así como el contenido de Clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) y clorofila total (Chl a+b).

De igual forma la correspondencia de las lecturas del SPAD con la cantidad de clorofila presente en una hoja puede presentar derivas que son causadas por diferentes cultivos, periodo vegetativo (Karele, 2001), diferentes abonados (Furlani *et*

al., 2001), estrés de agua (Bauerle *et al.*, 2001), temperatura ambiental, etc. En definitiva por cualquier estrés medioambiental, fitosanitario o de fertilización que afecte al propio metabolismo de la hoja.

El medidor de clorofila es una herramienta promisoría para monitorear el status de N a través del índice de verdor (IV) del cultivo que es expresado en unidades Spad (US). Específicamente permite medir la concentración relativa de clorofila por medio de la luz transmitida a través de la hoja en 650 nm (longitud de onda fotosintéticamente activa) y 940 nm. La intensidad de color verde de las hojas se relaciona con la concentración de clorofila y el contenido de N en la hoja. Esto permite caracterizar el estado nitrogenado de una manera no destructiva, rápida y fácil de utilizar, permitiendo muestreos frecuentes y la posibilidad de explorar la variabilidad en un sitio, además de la ventaja de realizar la lectura “in situ” y decidir medidas correctivas a corto plazo. Para otras regiones, a través de esta determinación se pudo predecir el porcentaje de proteína del grano midiendo el contenido de N en la hoja bandera, ya que es un estimador del aumento de la proteína por la fertilización nitrogenada en floración (Falótico *et al.*, 1999; Echeverría *et al.*, 2000).

La respuesta del SPAD a la concentración de N foliar se debe a que buena parte del N reducido en la hoja está asociado a los cloroplastos (Hageman, 1986; Grindlay, 1997). Además, hay una respuesta curvilínea del SPAD con la concentración de N foliar, con un plateau a altos niveles de N. Esto último puede deberse a que en situaciones en las que existe un alto nivel de nitrógeno foliar, se produce un aumento en la proporción de nitratos, con respecto al N total; estos nitratos no son detectados por el SPAD.

Además del híbrido, el cultivar y el lugar, todos los estudios reconocen que varios tipos de estrés, como la deficiencia de nutrientes diferentes al N, enfermedades y daños por insectos pueden modificar el nivel de clorofila foliar, y así afectar la lectura del SPAD (Blackmer *et al.*, 1993).

En la actualidad, existe una amplia gama de sensores remotos y espectrales los cuales permitirían caracterizar, de forma rápida y no destructiva, el estatus nitrogenado durante el ciclo del cultivo. El medidor de clorofila Minolta SPAD® 502 es una alternativa para el monitoreo, y se basa en que existe una estrecha relación entre el índice de verdor (IV) de la hoja y el contenido de clorofila y, entre ambos y la concentración de N en hoja (Schepers *et al.*, 1992; Waskom, 1996). No obstante, el IV presenta el inconveniente de estar afectado por numerosos factores tales como el genotipo, el estado de crecimiento del cultivo, las enfermedades, la disponibilidad hídrica, otros nutrientes, etc. (Blackmer y Schepers, 1995; Gandrup *et al.*, 2004). Por lo tanto, para minimizar los errores ocasionados por dichos factores se recomienda calibrar las mediciones de SPAD con áreas de referencia sin limitaciones de N.

A partir de las lecturas de SPAD en las áreas de referencia se determina un índice de suficiencia del nutriente (ISN), que surge del cociente entre la lectura del lote y el IV del área sin limitaciones nutricionales. Los valores calculados por el SPAD-502, se basan en la cantidad de luz transmitida por la hoja en dos longitudes de onda, en las cuales la absorción de clorofila es diferente. Las fuentes de luz del SPAD-502 son dos diodos, uno que permite en la longitud del rojo (650 nm, pico de absorbancia de la clorofila) y otro en la de infrarrojo (940 nm, absorbancia no debida a la clorofila) a través de la hoja. El medidor tiene dos fotodiodos detectores, uno sensible a la radiación roja y otro a la infrarroja. La luz recibida se transforma en corrientes eléctricas que, son recibidas por un microprocesador que calcula un valor SPAD (Soil Plant Analysis Development) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{SPAD} = A (\log I_{or}/I_r) - \log (I_{of}/I_f) + B$$

Donde **A** y **B** son constantes, I_r e I_f son las corrientes de los detectores rojo e infrarrojo con muestra, I_{or} e I_{of} son las corrientes recibidas de estos mismos receptores cuando no existe muestra (blanco) (Wood *et al.*, 1993).

Relación con la clorofila extraíble. Limitaciones del método.

Las lecturas de clorofila de las hojas realizadas *in vivo* por el medidor clorofílico, pueden ser una alternativa a los métodos colorimétricos *in vitro*, ya que estos son seguros, pero son destructivos, requieren un sofisticado equipo de laboratorio y además son lentos.

Las concentraciones de la clorofila extraíble de las hojas han sido comparadas con lecturas del método clorofílico en numerosos estudios. En la mayoría de ellos, las relaciones entre la clorofila extraíble y las lecturas del SPAD es lineal. Por ejemplo, en estudios realizados en fresa por Himelrick *et al.* (1993) se obtuvo un coeficiente de regresión $r^2 = 0.92$.

Sin embargo en algunos estudios, se han encontrado con una serie de limitaciones: (Yadava, 1986) comparó la clorofila extraíble de hojas de 22 especies bajo diversas condiciones de crecimiento, con lecturas SPAD. Se concluyó que tanto las diferentes especies de plantas, como las condiciones ambientales afectan a esta relación.

En otros estudios realizados en manzanos (Campbell *et al.*, 1990; Kaakeh *et al.*, 1992) y en vid (Fanizza *et al.*, 1991), se ha demostrado que las condiciones bajo las que han crecido las plantas (fertilidad del suelo, condiciones de agua, daños por pesticidas, etc.) afectan también a la relación entre las medidas de clorofila *in vivo* e *in vitro*.

En estudios realizados por Monje y Bugbee (1992) sobre trigo, arroz y soja, observaron que el coeficiente de correlación entre las unidades SPAD y las extracciones de clorofila realizada era mejor al hacer una regresión curvilínea ($r^2 = 0,97$) que una regresión lineal ($r^2 = 0,93$).

También observaron que el SPAD-502 sobrestima las concentraciones de clorofila cuando están en muy bajas o muy altas concentraciones; de ahí la relación curvilínea. Ellos lo atribuyeron a la dispersión de luz, a la reflexión de la superficie de las hojas y a variaciones en la distribución de pigmentos en las hojas. Monje y Bugbee (1992), apuntaron además otras limitaciones a los métodos clorofílicos

existentes. Estos aparatos son instrumentos válidos para la medida de clorofila de la hoja in vivo, si: están adecuadamente calibrados para un conjunto dado de condiciones de crecimiento, se toman múltiples lecturas, se evitan los nervios de las hojas.

2.10. Biosíntesis y degradación de clorofila y carotenoides.

Biosíntesis de la clorofila.

La clorofila es sintetizada en el cloroplasto. La biosíntesis de clorofila (Figura 8) está directamente influenciada por la expresión de genes para las proteínas de los plastidios, particularmente en el nivel post-transcripcional (Howard,1996). La estructura de la molécula de clorofila tiene dos partes: un anillo de porfirina sustituida con pequeños grupos enlazados, sustituyentes y una cadena larga llamada fitol. El anillo de porfirina es un tetrapirrol con cuatro anillos pentagonales de pirrol enlazados para formar un anillo conjugado de dobles enlaces, que interviene en la absorción de la luz, función primordial en la fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2002). La clorofila tiene el potencial para diversos mecanismos de reacción en la absorción lumínica. Los pigmentos porfirinicos requieren luz para su síntesis. El último paso en la síntesis de clorofila, la reducción de la protoclorofila a clorofila, se lleva a cabo a expensas de energía lumínica absorbida por la propia molécula de protoclorofila (Bidwell, 2002).

La biosíntesis de las clorofilas es un proceso complejo, desconocido todavía parcialmente. Sin embargo, diversos estudios sobre el metabolismo del grupo hemo de las clorofilas y la biosíntesis de porfirinas han aportado información importante. En la primera fase, el aminoácido ácido glutámico, sintetizado a partir de esqueleto del 2-oxoglutarato (2-OGA), es convertido en ácido δ -aminolevulinico (5-ALA) para la síntesis de clorofila. A partir de ahí, varias fases metabólicas son requeridos para la formación de los cuatro anillos que forman los tetrapirroles. La presencia de luz es necesaria durante la producción de la protoporfirina IX y los tetrapirroles. Otras enzimas de los cloroplastos pueden insertar en el centro del tetrapirrol ya sea Mg^{2+} para iniciar la síntesis de clorofila, o bien Fe^{2+} para la síntesis de grupos hemo. La

protoporfirina IX puede ser exportada del cloroplasto hacia la mitocondria, donde es utilizada para producir citocromos. Esta ruta biosintética es también importante porque los grupos hemo son sustrato para la síntesis del fitocromo, una molécula fotosensible esencial para la fotomorfogénesis. Por lo tanto, los productos de los tetrapirroles están involucrados tanto en la fotosíntesis (clorofilas y citocromos en los cloroplastos), como en la respiración (citocromos en las mitocondrias) y (fitocromo) en el desarrollo de la planta (Hans-Walter, 1997, Kannangara y Gough, 1978, Beale, 1999).

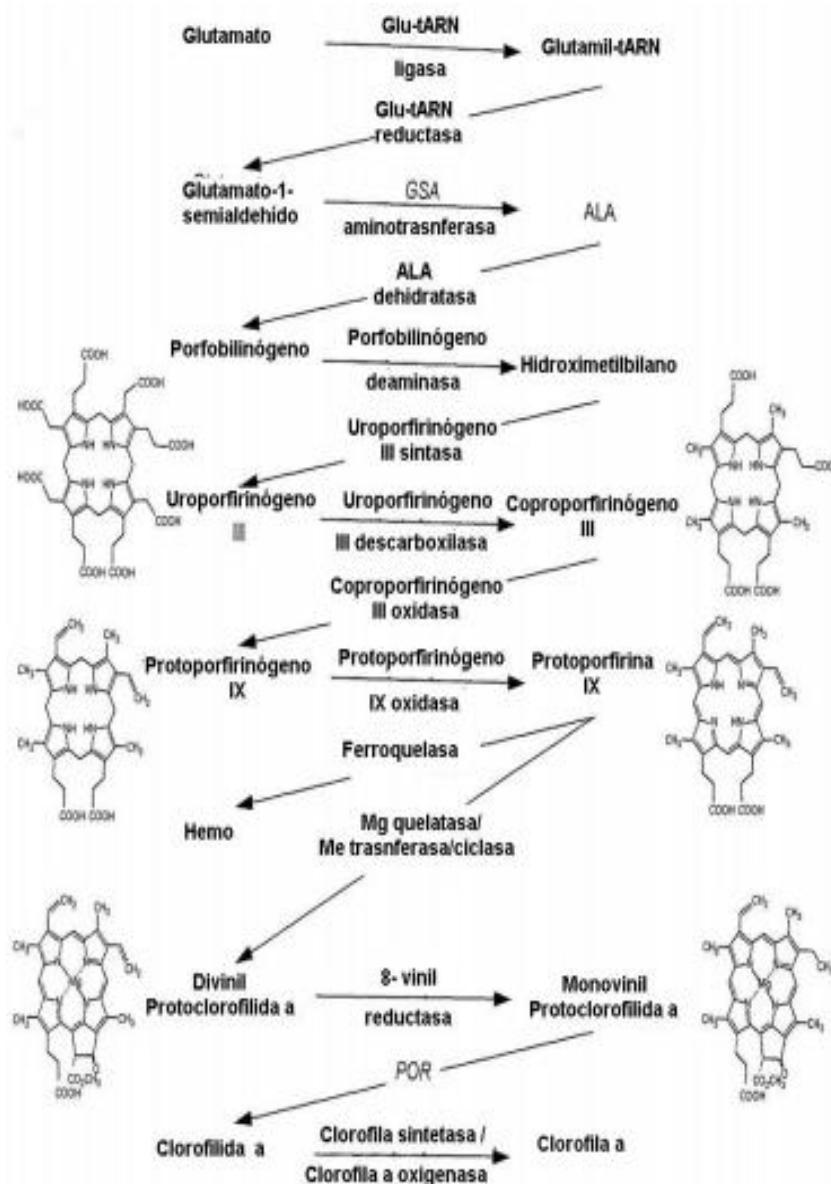


FIGURA 8. Ruta 5 de la biosíntesis de clorofila (imagen modificada de Howard, 1997)

Degradación de clorofila

La clorofila es uno de los compuestos orgánicos más abundantes de la naturaleza (Matile *et al.*, 1996) y también uno de los más importantes. De ella dependen, directa o indirectamente, la mayoría de los organismos vivos en la biosfera puesto que la clorofila es esencial para la fotosíntesis (Takamiya *et al.*, 2000). Más de 109 toneladas de clorofila se degradan al año mundialmente (Hendry *et al.*, 1987). La degradación de clorofila, y de las proteínas del aparato fotosintético, ocurre con especial intensidad durante la senescencia foliar (Thomas, 2002). La degradación de clorofila tiene lugar durante la senescencia de las hojas en el otoño, en la maduración de frutos, el deterioro post-cosecha de vegetales verdes, en respuesta al ataque por patógenos y en etapas iniciales del desarrollo de flores (Matile *et al.*, 1999). En especies de cultivo, la senescencia prematura del follaje puede ser una importante limitante del rendimiento. Asimismo el mantenimiento de la actividad fotosintética por un período más prolongado puede aumentar el rendimiento de diversos cultivos de interés (Borrell & Hammer 2000; He, P. *et al.*, 2004).

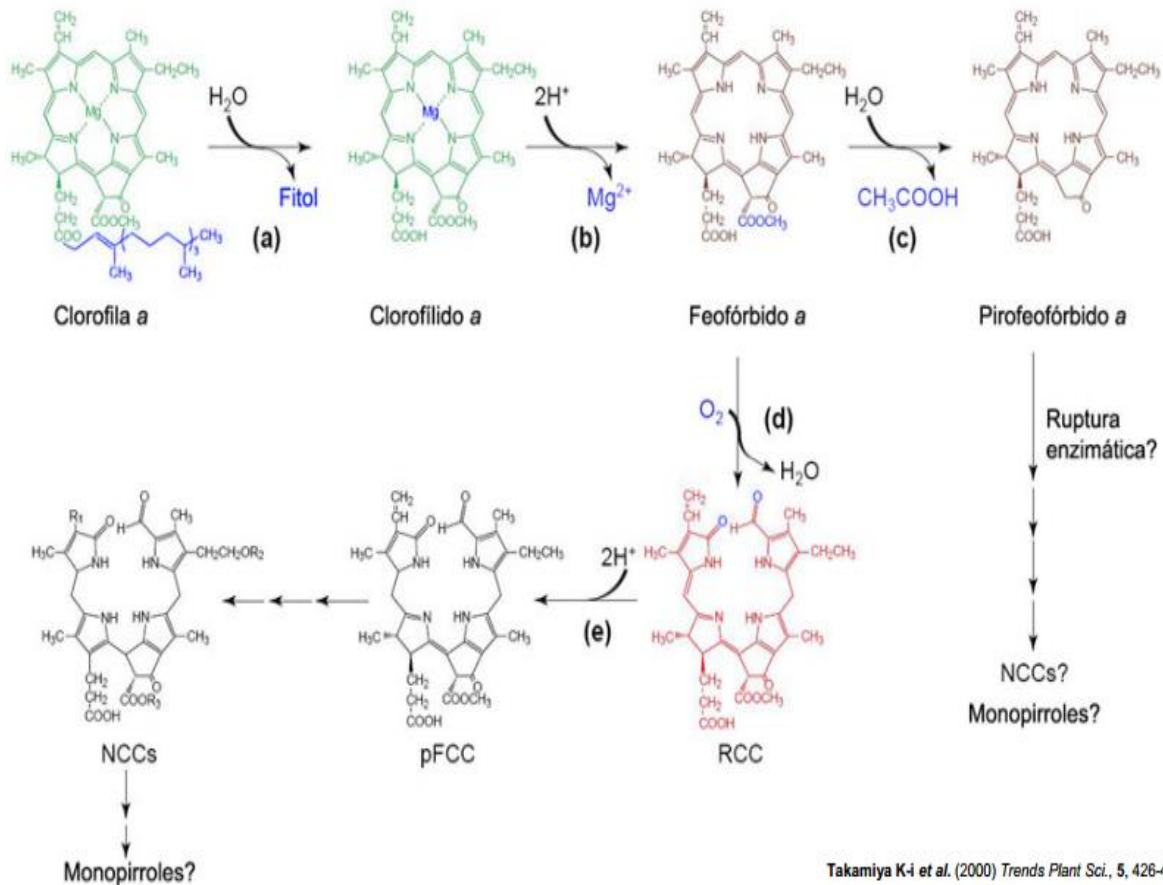
La degradación de clorofila es un proceso que requiere un alto grado de control y regulación puesto que los compuestos que se forman inicialmente son altamente fototóxicos (Mach *et al.*, 2001). En este sentido, la degradación de la clorofila involucra varias etapas (Figura 9) en las cuales se destruyen las propiedades foto-dinámicas de los compuestos intermediarios por la disrupción del sistema conjugado de electrones π (Hörtensteiner, 2004). Por otro lado, la formación de estos compuestos podría ser beneficiosa para la planta bajo ciertas circunstancias como por ejemplo el ataque de organismos patógenos ya que aumentarían indirectamente la formación de compuestos aún más tóxicos para el organismo invasor (especies reactivas de oxígeno) (Kariola *et al.*, 2005; Reinbothe *et al.*, 2009). Asimismo, se postula actualmente un rol anti-oxidativo de los catabolitos finales de la clorofila (Müller *et al.*, 2007).

A pesar de que la primera enzima involucrada en el catabolismo de clorofila, la clorofilasa, fue descubierta hace un siglo por A. Stoll durante su trabajo doctoral bajo la dirección del posteriormente premio Nobel R. Willstätter (Willstätter y Stoll, 1911), y es además la primera enzima aislada y purificada, sólo recientemente se ha conseguido avanzar sobre su conocimiento y el de enzimas involucradas en etapas posteriores del proceso. Con el avance de la biología molecular y la ingeniería genética en las últimas décadas, se han conseguido identificar varios de los genes correspondientes a las enzimas involucradas en el catabolismo de la clorofila (Takamiya *et al.*, 2000). Sin embargo, gran parte del proceso permanece desconocido, y existen incertidumbres sobre el posible funcionamiento de vías alternativas de degradación de clorofila (Takamiya *et al.*, 2000). Durante la senescencia se desencadenan una serie de eventos que varían notablemente según cuales sean las causas que la iniciaron (Buchanan-Wollaston *et al.*, 2005). Varios estudios transcriptómicos muestran que distintos sets de genes se expresan en hojas que “senescen” normalmente adheridas, o separadas de la planta, o en respuesta a hormonas que aceleran la senescencia (Buchanan-Wollaston *et al.*, 2003; He, Y. *et al.*, 2001) Por tanto no es extraño que exista más de una vía de degradación de la clorofila y sus complejos proteicos, y más aún que la verdadera función de las diversas isoformas de las clorofilasas en muchas especies aún sea desconocida (Chen L.-F.O. *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2007) . El primer paso en el proceso catabólico de la clorofila corresponde a la defitilación de la misma catalizada por la clorofilasa [clorofila-clorofílido hidrolasa, E.C. 3.1.1.14].

En *Arabidopsis thaliana* se han encontrado dos genes (ATCLH1 y ATCLH2) cuyos productos dan enzimas con esta actividad catalítica. Estas isoenzimas difieren en varias características, como ser su secuencia de aminoácidos, señales de tránsito y localización, e incluso señales de activación hormonales y externas (Benedetti *et al.*, 1998; Liao *et al.*, 2007). En especial, es interesante que, mientras ATCLH2 posee una secuencia típica de un péptido de tránsito para localización cloroplástica, ATCLH1 estaría dirigida a la vía secretoria. Algo similar ocurre con los correspondientes genes ortólogos en *Citrus sinensis* (Jacob-Wilk *et al.*, 1999) y

Chenopodium album (Tsuchiya *et al.*, 1999). Se desconoce actualmente el significado de la existencia de estas isoformas de la clorofilasa y sus roles ponderados en el proceso de degradación. Aún menos conocido es el proceso por el cual la clorofila, que se encuentra formando parte de complejos proteicos en los fotosistemas, se pone en contacto con la clorofilasa. En estudios de fraccionamiento subcelular, la clorofilasa cloroplástica aparece localizada en la membrana externa del cloroplasto, separada de las clorofilas de las membranas tilacoidales (Matile y Schellenberg, 1996), y en experimentos de expresión transiente que las clorofilas aparecen en estructuras esféricas, no caracterizadas hasta el momento, pero claramente fuera de los cloroplastos (Schenk *et al.*, 2007). Es decir que la etapa previa al primer paso catabólico que es la defitilación mencionada precedentemente, requiere el desmantelamiento de los fotosistemas y desensamblaje de la clorofila de sus complejos, y el transporte de las clorofilas al menos hasta la membrana externa del cloroplasto (Matile, 2001) o alguna estructura extra-plastídica (Guiamét *et al.*, 1999).

Los conocimientos de los procesos de degradación de clorofila son potencialmente útiles en la industria, agricultura, farmacéutica y horticultura, donde puede ser necesario retrasar o acelerar la degradación de clorofila, ya sea por ingeniería genética o por otros métodos. Por ejemplo, el retraso podría mantener el color verde de las hojas y por tanto la apariencia fresca de los vegetales, o podría incrementar el rendimiento de cereales y oleaginosas. Su aceleración podría aumentar la facilidad con que se elimina la clorofila o sus derivados contaminantes en productos elaborados a partir de vegetales, resultando en un incremento de su valor comercial (Takamiya *et al.*, 2000).



Takamiya K-i et al. (2000) Trends Plant Sci., 5, 426-431.

Figura 9. Esquema de la vía de degradación de clorofila.

Se indican con color azul las modificaciones enzimáticas en cada etapa para el compuesto correspondiente.

Entre paréntesis se indican las enzimas involucradas en cada etapa:

(a) Clorofilasa; (b) Magnesio de-quelatasas; (c) Feoforbidasas;

(d) Feofórbido a oxigenasa; (e) RCC Reductasa.

Abreviaciones: RCC, Red Chlorophyll Catabolite; pFCC, primary

Fluorescent Chlorophyll Catabolite; NCCs, Nonfluorescent Chlorophyll Catabolites.

(Takamiya et al., 2000).

Las clorofilas son los pigmentos responsables del color verde de las plantas, los cuales se localizan junto a los carotenoides en los plastidios. Las clorofilas son moléculas fotorreceptoras que transforman la energía lumínica en energía química. Están constituidas, básicamente, por cuatro anillos pirrólicos sustituidos, y se hallan coordinados con un ion magnesio, siendo una molécula planar. En la naturaleza se encuentran comúnmente dos tipos de clorofilas, a y b; la clorofila (a) contiene un grupo metilo en el carbono 3, mientras que la (b) posee un grupo formilo (Figura 10); las demás clorofilas (c, d, e) se encuentran únicamente en algas, junto a la clorofila a. A estas moléculas se encuentra unido un alcohol isoprenoide monoinsaturado de 20 átomos de carbono, denominado fitol, el cual le confiere el carácter hidrofóbico a esta molécula.

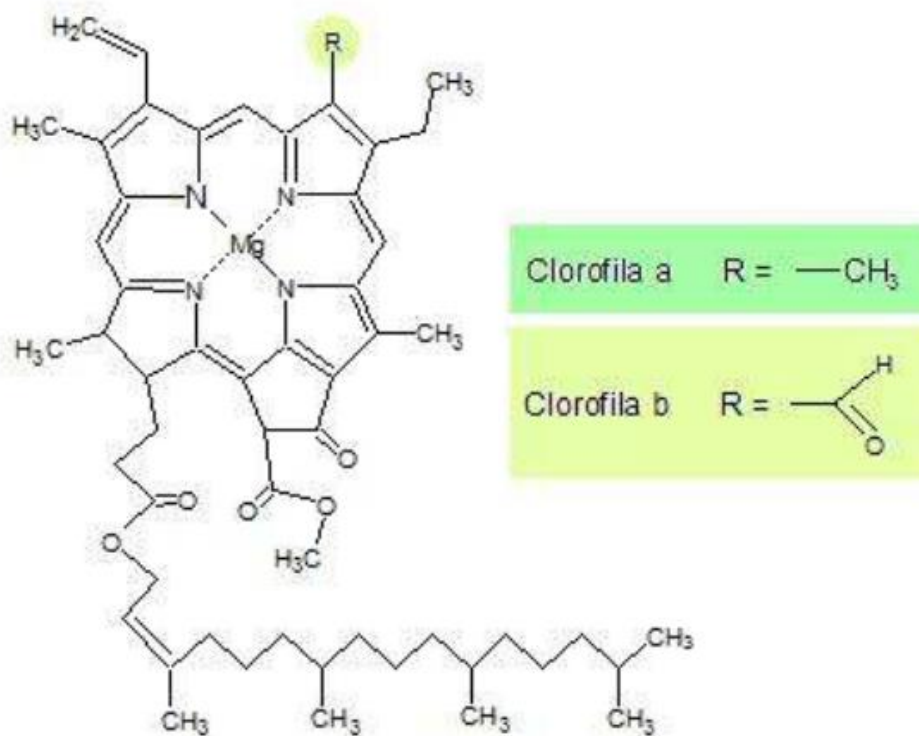


Figura 10. Estructura de la clorofila a y b.

Biosíntesis de carotenoides.

La biosíntesis de los carotenoides se realiza en los plástidos, cloroplastos o cromoplastos, todos los carotenoides son derivados del isopentenil difosfato (IPP) y de su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) (Matthews y Wurtzel, 2007; Otles y Cagind, 2007). (Figura 11) Primeramente, se tiene la condensación del piruvato y el gliceraldehído-3-fosfato (Ga3P) para la obtención de 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP) por medio de 2 enzimas (Bramley, 2002). A partir de la reducción de la molécula de MEP se obtiene el hidroximetil butenil difosfato (HMBPP). Este origina los isómeros IPP y DMAPP que están continuamente interconvirtiéndose (Cuttriss *et al.*, 2006). Cuatro moléculas de IPP y una de DMAPP producen el geranil geranil pirofosfato (GGPP). Dos moléculas de GGPP se convierten a fitoeno, el primer carotenoide incoloro (Cazzonelli y Pogson, 2010). Este es un paso limitante regulado por estímulos externos como la temperatura, sequias, fotoperiodo y alta exposición a la luz (Cuttriss *et al.*, 2006; Cazzonelli y Pogson, 2010). La molécula de fitoeno pasa por una serie de reacciones de desaturación por dos enzimas que crean enlaces dobles extendiendo el cromóforo (Otles y Cagind. 2007). Por último, se obtiene el licopeno por la acción de la caroteno isomerasa (CRTISO) (Cazzonelli y Pogson, 2010). Una vez que se obtiene el licopeno (primer carotenoide con color) se pueden tomar vías para la posterior ciclación de los compuestos (Cazzonelli *et al.*, 2010). Con la acción de la ϵ -licopeno ciclasa (ϵ -LCY) se cicla uno de los extremos (Cazonelli *et al.*, 2010). Con la acción de la ϵ -licopeno ciclasa (ϵ -LCY) se cicla uno de los extremos del licopeno y con una segunda reacción por parte de la β -licopeno ciclasa (β -LYC) se cicla el otro extremo, obteniéndose el α -caroteno (Cuttriss *et al.*, 2006). Por la otra vía, se ciclan los dos extremos con la ayuda de la β -LYC, para la obtención del β -caroteno. A partir de estos dos compuestos se dan reacciones de hidroxilación para la obtención de xantofilas como la luteína y la zeaxantina (Cazonelli *et al.*, 2010). Los demás pigmentos, como la violaxantina y neoxantina, se derivan de estas mismas vías por la acción de numerosas enzimas.

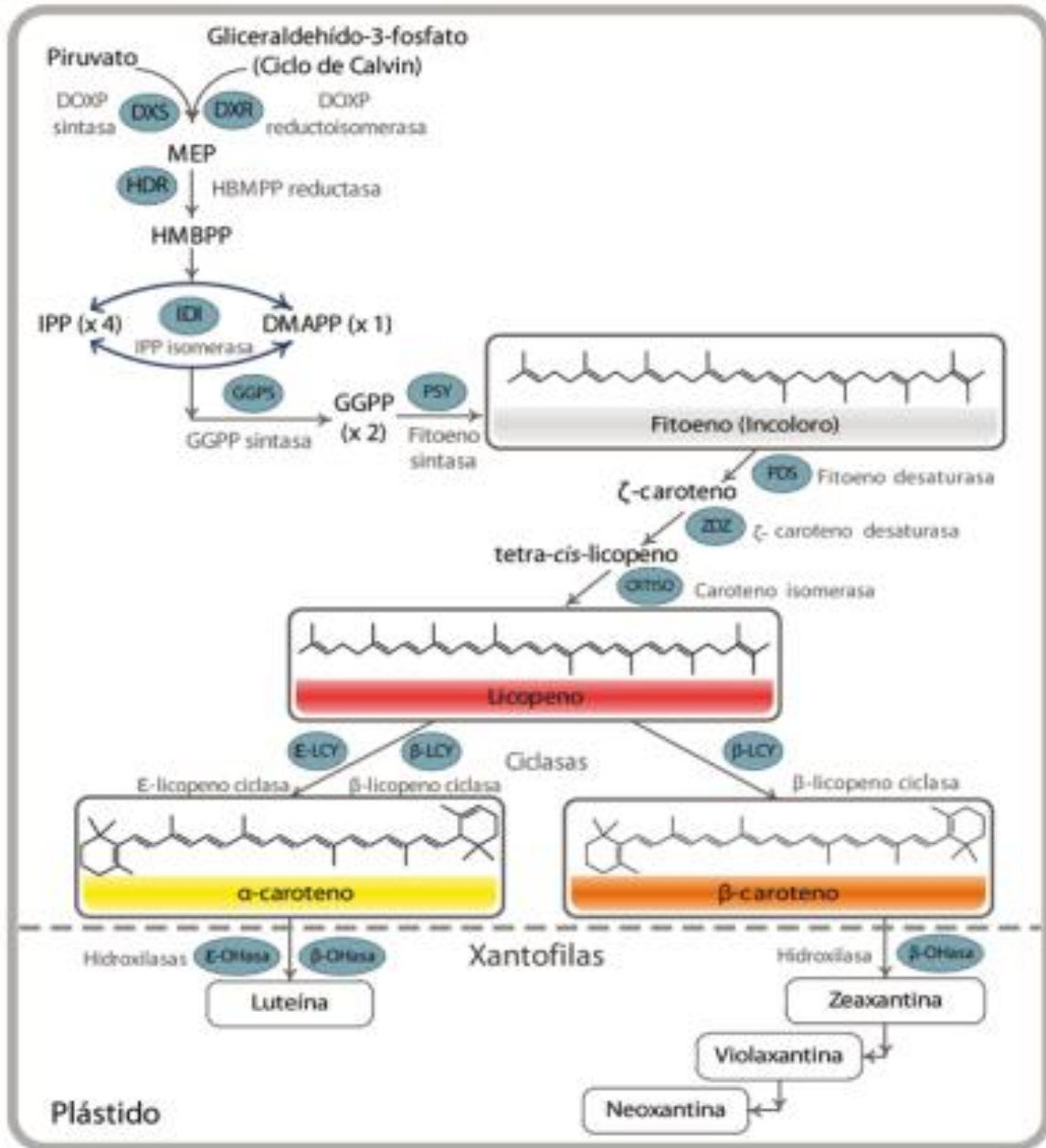


Figura 11. Biosíntesis de carotenoides.

Las elipses azules simbolizan las enzimas involucradas en el proceso.

DOXP: 1-deoxi-D-xilulosa-5-fosfato, MEP: 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato, HMBPP: hidroximetil butenil difosfato, IPP: isopentenil difosfato, MAPP: geranil geranil pirofosfato.

Los carotenoides se clasifican principalmente en dos grupos: carotenos y xantofilas. Presentan una estructura que solo contiene carbono e hidrógeno; en tanto que las

xantofilas, además de poseer carbono e hidrógeno, contienen oxígeno, en forma de grupos sustituyentes como hidroxilo, carbonilo y epóxido. Adicionalmente, existen otros carotenoides de menor tamaño denominados apocarotenoides, obtenidos a partir de rupturas de los tetraterpenoides en los carbonos 6, 9, 6' o 9'; por ejemplo, la crocetina y la bixina. En general los carotenoides en sus extremos pueden ser lineales o cíclicos; por lo tanto diferentes combinaciones de estas características estructurales ha llevado a detectar más de 600 carotenoides en plantas. (Britton, 1995; Krinsky, 2005). Entre los carotenoides más comunes se encuentran el β -caroteno, licopeno, cantaxantina, astaxantina, β -criptoxantina, capsantina, zeaxantina, luteína, entre otros.

Degradación de carotenoides.

Debido a su naturaleza altamente insaturada, los carotenos tienen tendencia a oxidarse rápidamente, particularmente en las dobles ligaduras. Existen algunos indicios en cuanto a la oxidación y desintegración de los carotenoides, se inicia en un extremo de la molécula y no ocurre al azar; el proceso siempre ocurre en el extremo abierto antes que en el anillo terminal de ionona. A medida de que se saturan las dobles ligaduras y finalmente se rompen, el color característico de los carotenoides va desapareciendo. El factor individual, más importante en la degradación de los carotenoides es la presencia de oxígeno o reactivos fuertemente oxidantes. La destrucción es más rápida a temperaturas altas. La pérdida de color es mucho más rápida en ausencia de agua. (Braverman, 1980)

La oxidación de los carotenoides es debida al oxígeno y esta catalizada por enzimas como las lipoxigenasas. La oxidación es también acelerada por los iones metálicos, oxidantes químicos y la luz es disminuida por la aplicación de antioxidantes, como el ácido ascórbico, (Alzamora *et al.*, 200). En la degradación de los carotenoides, los pasos iniciales envuelven pasos de oxigenación de la molécula. Este proceso de reacciones de oxigenación que ocurre a lo largo de la estructura del anillo y resulta en la formación de xantofilas. El sistema enzimático de degradación de carotenoides ha sido encontrado en cloroplastos y mitocondrias. Los dobles enlaces en la porción

interior de la molécula están sujetos al ataque por lipoxigenasas y su actividad es acelerada por la disponibilidad de oxígeno, luz y ciertos metales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal y tratamientos.

Se utilizó semilla de alfalfa de la variedad CUF-101 que fue sembrada el 15 de octubre de 2013, El estudio se realizó de los meses de octubre de 2013 a febrero de 2014, en una parcela ubicada en la colonia Esperanza del Valle de San Luis Río Colorado (32° 19' 23.1" N; 114° 58' 32.9" O), con una superficie de 200 m², se efectuaron de 10 a 12 riegos al cultivo, así como una dosis de fertilización de 50 kg de ácido fosfórico en los 5 primeros riegos de auxilio (Anónimo, 2010).

A los 2.5 meses después de siembra, se realizó la aplicación de las siguientes dosis Sigma Forte[®], que sirvieron como tratamientos:

Cuadro 4. Dosis de herbicida Sigma Forte[®]

Tratamiento	Dosis de Ingrediente Activo (gr)	
	Mesosulfurón metil	Iodosulfurón metil
1. Testigo	0	0
2. Dosis subcomercial	31.25	6.26
3. Dosis comercial	62.5	12.5
4. Sobredosis comercial	125.0	25.0

Se utilizó una bomba aspersora motorizada marca Forza 25 K2P2L, con una boquilla 8002 a una presión de 40 PSI, con una gasto de agua de 200 L·ha⁻¹.

Cada tercer día después de haber sido aplicado los tratamientos, se realizó muestreo *in situ* donde se seleccionaron 10 plantas por tratamiento sobre las cuales se evaluaron las variables de índice de verdor y tono.

3.2. Índice de verdor.

Se determinó por medio de un medidor de clorofila portátil SPAD-502 (Minolta), previamente calibrado, donde se tomaron tres lecturas por muestra de alfalfa de cada tratamiento por cada día de muestreo (García-López, 2004). Los resultados se expresaron en unidades Spad.

3.3. Tono.

Se utilizó un espectrofotómetro de esfera X-Rite 62 previamente calibrado, donde se tomaron tres lecturas por muestra de alfalfa de cada tratamiento por cada día de muestreo, en base al disco de color (Figura 12) publicado en el manual de operación del mismo para la interpretación de los datos. Los resultados se expresaron en tono ($^{\circ}$ Hue) según Little (1975).

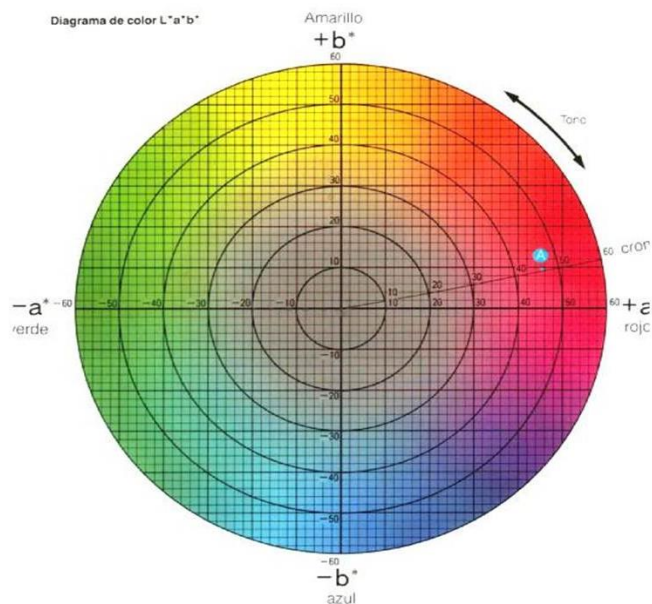


Figura 12. Diagrama del sistema de notación de color L, a*, b*, cromaticidad y ángulo de matiz.

3.4. Concentración de clorofila y carotenoides totales.

Se determinó el contenido de clorofila y carotenoides totales de las hojas de 10 muestras por tratamiento siguiendo la metodología de la AOAC (1998). Se pesó 0.1 g de tejido vegetal fresco de las hojas de las parte superior, posteriormente se colocó el tejido en tubos de vidrio donde se le agrego primeramente 5 mL de acetona fría al 80% v/v y se trituro la muestra en un homogenizador de tejidos (IKA[®] T18 basic) ULTRA-TURRAX. Después se le agrego nuevamente otros 5 mL de acetona para posterior homogenización. A continuación se centrifugó la muestra a 5 400 xg durante 10 minutos a 4 °C en una centrifuga EPPENDORF 5702R. Una vez clarificadas las muestras se determinó la absorbancia a 645 (clorofila a), 663 (clorofila b) y 470 nm (carotenoides totales) en un espectofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, donde como blanco fue acetona al 80%. Todo esto se hizo en oscuridad.

La cantidad de clorofila que se encuentra en el extracto se calculó de acuerdo con los siguientes modelos matemáticos:

$$\text{mg de clorofila total} \cdot \text{g}^{-1} \text{ de peso fresco} = [7.15 (A_{663}) + 18.71 (A_{645})] \times V / (1000 \times W)$$

Dónde:

A = Lectura de absorbancia

V = Volumen final del extracto clorofila – acetona 80%

W = peso fresco en g del tejido

La cantidad de carotenoides totales presentes en el extracto se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{mg de carotenoides totales} \cdot \text{g}^{-1} \text{ de peso fresco} = (1000 \times A_{470}) - (1.82 \times \text{CCa}) - (85.02 \times \text{CCb}) / 198$$

Dónde:

A = Lectura de absorbancia

CCa = Contenido de clorofila a

CCb = contenido de clorofila b

3.5. Modelación de dinámica de degradación.

Para generar los modelos matemáticos que nos expliquen la dinámica de degradación de las dosis de Sigma Forte[®] utilizadas, se realizó primeramente un análisis gráfico exploratorio que nos permita ver el tipo de línea o modelo, después mediante regresión no lineal se obtuvo el modelo de cada una de las dosis de herbicida para el índice de verdor y tono a través del tiempo (Montgomery *et al.*, 2005).

3.6. Diseño experimental y análisis estadístico.

El estudio se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y con 10 repeticiones para todas las variables; la unidad experimental fue una planta. Las fechas de muestreo fueron el día inicial (aplicación de los tratamientos), así como posteriormente cada tercer día por 15 días. Se realizó análisis de varianza y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), mediante el programa estadístico STATISTIX 8 (2004).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION GENERAL

4.1. Índice de verdor.

Con la aplicación de la mezcla de mesosulfuron metil + iodosulfuron metil se vio un efecto negativo en el índice de verdor. Conforme la dosis de esta mezcla aumentó, el índice de verdor disminuyó más rápidamente (Figura 13), siendo la sobredosis comercial la que a partir de los nueve días después de la aplicación tuvo el valor más

bajo del índice de verdor (28 unidades Spad) y que finalmente las plantas de alfalfa no sobrevivieron a los 15 días.

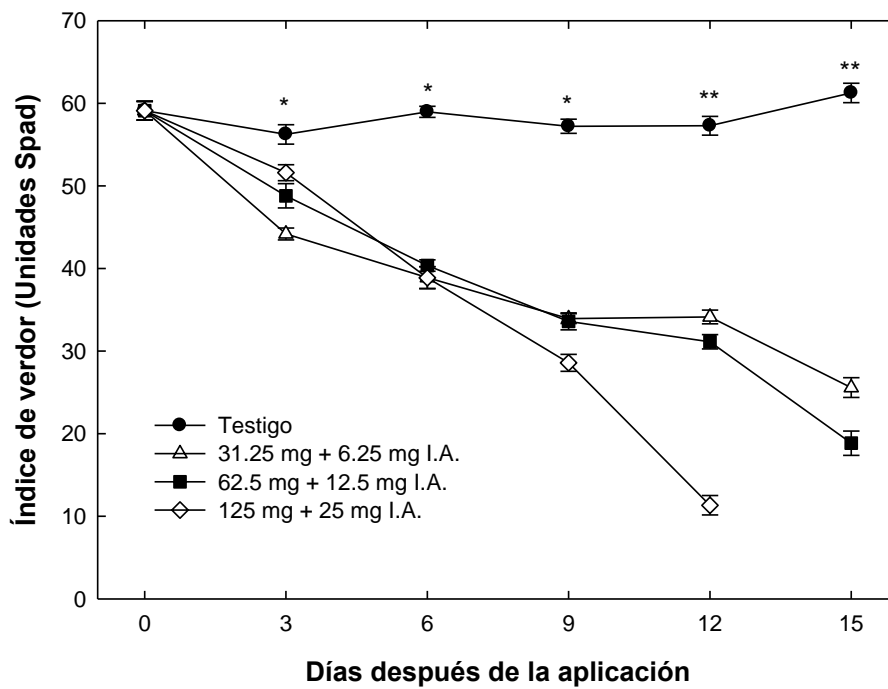


Figura 13. Comportamiento del índice de verdor en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil.

4.2. Tono.

De manera general, el comportamiento del tono a través de los días después de la aplicación fue similar al del índice de verdor. Conforme la dosis de esta mezcla aumentó, el tono disminuyó más rápidamente (Figura 14), siendo la sobredosis comercial la que a partir de los nueve días después de la aplicación tuvo el valor más bajo (97 °Hue) y que finalmente las plantas de alfalfa no sobrevivieron a los 15 días. Finalmente, para las plantas de alfalfa tratadas con cualquier dosis del herbicida, se observó que pasaron de una tonalidad verde a un color verde claro o amarillo.

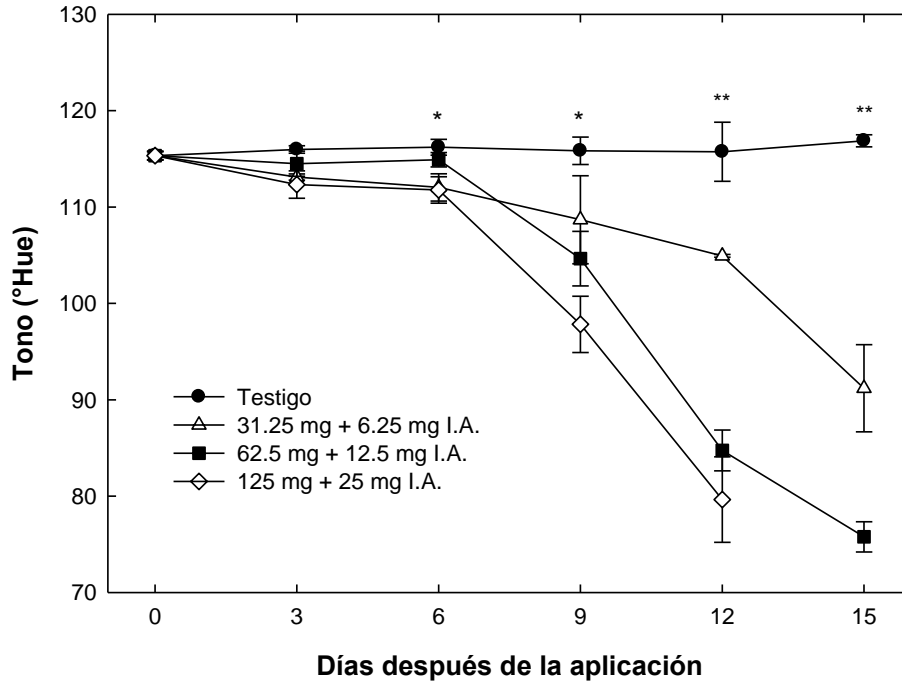


Figura 14. Comportamiento del tono en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil.

Se puede apreciar de manera visual en la figura 15, como afectó el Sigma Forte al índice de verdor como el tono.



Figura 15. Alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil 15 días después de la aplicación.

4.3. Concentración de clorofila y carotenoides totales.

Con relación al efecto de las dosis de herbicida sobre alfalfa, se observó que tanto la concentración de clorofila como de carotenoides totales en la dosis subcomercial disminuyeron al día seis y posteriormente al día nueve tuvo un ligero aumento, para después descender nuevamente. Mientras que para la dosis comercial y sobredosis durante todo el estudio, se observó una disminución en la concentración de estos pigmentos fotosintéticos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Comportamiento de pigmentos fotosintéticos en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil.

	Clorofila total (mg·g ⁻¹ de peso fresco)*					Carotenoides totales (mg·g ⁻¹ de peso fresco)*				
	Días después de la aplicación					Días después de la aplicación				
	3	6	9	12	15	3	6	9	12	15
Testigo	2.14 ^{a‡}	2.13 ^a	2.71 ^a	2.37 ^a	2.87 ^a	9.53 ^a	9.78 ^a	12.85 ^a	11.09 ^a	12.88 ^a
Dosis subcomercial	2.31 ^a	1.59 ^b	1.74 ^b	1.04 ^b	0.90 ^b	8.46 ^a	6.80 ^b	8.13 ^b	6.02 ^b	5.40 ^b
Dosis comercial	2.27 ^a	1.75 ^{ab}	1.40 ^b	0.94 ^b	0.85 ^b	9.60 ^a	8.28 ^{ab}	6.83 ^b	5.35 ^b	3.58 ^b
Dosis sobrecomercial.	1.97 ^a	1.16 ^c	1.05 ^b	0.91 ^b	-	8.78 ^a	6.46 ^b	6.16 ^b	6.00 ^b	-
CV (%)	14.79	11.51	22.05	11.80	13.73	18.04	11.28	16.96	9.89	8.98

* Valor promedio de clorofila total al día 0 = 2.22 mg·g⁻¹ de peso fresco.

¥ Valor promedio de carotenoides totales al día 0 = 10.23 mg·g⁻¹ de peso fresco.

‡ Diferencia de medias dentro de columnas con prueba de Tukey, P≤0.05.

4.4. Dinámica de degradación.

Para la variable de índice de verdor se obtuvieron tres polinomios de tercer grado (modelos no lineales) que ayudan a explicar a los cuantos días se presenta la degradación o pérdida por efecto de las dosis del herbicida en plantas de alfalfa sobre el índice de verdor (Cuadro 6), y se consideró que en base a los análisis de prueba de falta de ajuste y R^2 son buenos modelos para su uso.

Cuadro 6. Dinámica de degradación del índice de verdor en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil.

Tratamiento	Símbolo	Modelo	R^2
Dosis subcomercial	Δ	$y = 59.081 - 6.694x + 0.677x^2 - 0.0252x^3$	0.98
Dosis comercial	\blacksquare	$y = 59.524 - 5.117x + 0.427x^2 - 0.0176x^3$	0.98
Sobredosis comercial	\diamond	$y = 59.363 - 2.875x - 0.00928x^2 - 0.007x^3$	0.98

Del mismo modo que para el índice de verdor, también se obtuvieron tres modelos, pero en este caso fueron cuadráticos, que también ayudaron a explicar el efecto de las dosis del herbicida en alfalfa sobre la degradación o pérdida del tono (Cuadro 7) y del mismo modo en base al análisis de sus estadísticos de prueba se puede afirmar que son buenos modelos para su uso.

Cuadro 7. Dinámica de degradación del tono ($^{\circ}$ Hue) en alfalfa tratada con diferentes dosis de mesosulfurón metil + iodosulfurón metil.

Tratamiento	Símbolo	Modelo	R^2
Dosis subcomercial	Δ	$y = 114.15 + 0.6162x - 0.1366x^2$	0.96
Dosis comercial	\blacksquare	$y = 115.53 + 0.7786x - 0.2406x^2$	0.96
Sobredosis comercial	\diamond	$y = 114.25 + 1.2654x - 0.3442x^2$	0.98

DISCUSION GENERAL

De manera general se observó que hubo una disminución del índice de verdor y el tono, así como de la concentración de los pigmentos fotosintéticos en respuesta a las dosis del herbicida utilizados, a partir del tercer día. Estos efectos fueron más severos en la sobredosis comercial., lo que concuerdan con lo realizado en plantas de *Isatis indigotica* Fort. en que los componentes de la fotosíntesis, así como la concentración de clorofila en hojas, disminuyeron mientras más gramos de ingrediente activo fue utilizado, causando supresión en la actividad del PSI y la transferencia de electrones fue bloqueada a nivel de receptor (Yuang *et al.*, 2013), a pesar que el mesosulfurón metil + iodosulfurón metil tienen un modo de acción de supresión de la actividad enzimática de la ALS (Zhou *et al.*, 2007).

V. CONCLUSIONES

Existe una degradación del índice de verdor por efecto de las dosis utilizadas de Sigma Forte® en alfalfa, así como en el tono y en la concentración de pigmentos fotosintéticos, a pesar de que este herbicida inhibe a la ALS.

La dosis sobrecomercial presenta una mayor degradación de los componentes de la fotosíntesis y color en alfalfa.

Las dosis del herbicida utilizadas afectan el índice de verdor y tono una vez realizada la aplicación en alfalfa.

VI. LITERATURA CITADA

- Aguila, H. 1997. Pastos y empastadas. Octava Edición. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. pp: 235-244.
- Alzamora, M.S., Tapia, S.M., Lopez, M.A., 2000, Minimally Processed Fruits and Vegetables Fundamental Aspects and Applications, An Aspen publications, pp. 111-125.
- Anderson, W. P. 1996. Weed Science: Principles. 3rd. edition. West Publishing Co., St. Paul, MN. 338 p.
- Anónimo. 2007. Diccionario de Especialidades Agroquímicas PLM. 17ª Edición. Thompson PLM, S.A. de C.V. Versión en CD.
- Anónimo. 2010. Guía técnica para el área de influencia del campo experimental Valle de Mexicali. Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo experimental Valle de Mexicali. Primera edición. Mexicali, B.C. 148 p.
- Arevalillo, A. 1971. Persistencia, rendimiento de alfalfa (ecotipo aragon) sometida a distintas frecuencias de siega. Pastos. España. 1(2): 235-238.
- Arregui, M.C.; Puricelli. E. 2008. Mecanismos de Acción de Plaguicidas. Dow Agrosciences, 208p.
- Bauerle, W.L., Weston, D.J., Bowden, J.D. Dudley, J.B. and Toler, J.E. 2004. Leaf absorptance of photosynthetically active radiation in relation to chlorophyll meter estimates among woody plant species. Scientia Horticulturae 101:169-178.
- Beale S. I. 1999. Enzymes of chlorophyll biosynthesis. Photosynthesis Research 60: 43-73.
- Benedetti, C.E., Costa, C.L., Turcinelli, S.R. and Arruda, P. 1998. Differential Expression of a Novel Gene in Response to Coronatine, Methyl Jasmonate, and Wounding in the Coi1 Mutant of Arabidopsis. Plant Physiol. 116:1037-1042.
- Bidwell, R.G.S. 2002. Fisiología Vegetal. Mexico. 784 p
- Borrell, A.K. and Hammer, G.L. 2000. Nitrogen dynamics and the physiological basis of stay-green in Sorghum. Crop Sci. 40:1295-1307.
- Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T. and Pink, D. 2003. The molecular analysis of leaf senescence – a genomics approach. Plant Biotechnol. J. 1: 3-22.

- Buchanan-Wollaston, V., Page, T., Harrison, E., Breeze, E., Lim, P.O., Nam, H.G., Lin, J.-F., Wu, S.-H., Swidzinski, J., Ishizaki, K. and Leaver, C.J. 2005. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in Arabidopsis. *Plant J.* 42:567-585.
- Bullock, D. G., and Anderson, D. S. 1998. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. *Journal of Plant Nutrition.* 21:741-755.
- Burton, J. D. 1997. Acetyl-Coenzyme A carboxylase inhibitors. In: (Eds. Roe RM, Burton JD and Kuhr RJ). *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology*, IOS Press, Amsterdam, Netherlands, 187-205.
- Blackmer, T.M., J.S. Schepers y M.F. Vigil (1993). Chlorophyll meter readings in corn as affected by plant spacing. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 24: 2507-2516.
- Blackmer, T.M. y J.S. Schepers. 1995. Use of chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. *J. Prod. Agric.* 8:56-60.
- Bramley, Peter M. 2002. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *Journal of Experimental Botany* 53(377):2107-2113.
- Braverman, J.B.S. 1980. Introduccion a la Bioquímica de los Alimentos, El Manual Moderno, pp. 207-218.
- Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. 1998. Carotenoids. Biosynthesis and Metabolism, volumen 3. Birkhäuser Verlag, Berlin, Alemania. pp. 14-15.
- Britton, G. 1995. Structure and propeerties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal* 9:1551-1558.
- Campbell, R. J., Mobley, K. N., Marini, R. P, and Pfeiffer, D. G. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-502 values and apple leaf chlorophyll. *Hort Science* 25:330-331.
- Cazzonelli, C.I.; Nisar, N.; Hussain, D.; Carmody, M.E. and Pogson, B.J. 2010. Biosynthesis and regulation of carotenoids in plants-micronutrientes, vitamins and health benefits. In *Plant Developmental Biology- Biotechnological perspectives*. Volume 2. (pp. 117-137). Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Cazzonelli, Christopher I. and Pogson, Barry J. 2010. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plant. *Trends in Plant Science.* 15(5):266-274.

- Cobb, A.; Reade, J. 2010. *Herbicides and plant physiology*. 2nd ed. Wiley-Blackwell. Singapore. 286 p.
- Collavo, A. 2008. Resistance to graminicides in monocotyledons weeds. Case studies of *Lolium* spp. and *Phalaris paradoxa* in Italy. Thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy in the Doctórate School of Crop Science. University of Padova. Italia. pag 176.
- Coruzzi, G.; Last, R. 2000. Amino acids. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (eds. B Buchanan, W. Gruissem y RL Jones), pp 358-411, John Wiley & Sons, New York.
- Chapman, S. C., and Barreto, H. J. 1997. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*. 809:557-562.
- Chen, L.-F.O., Lin, C.-H., Kelkar, S.M., Chang, Y.-M. and Shaw, J.-F. (2008) Transgenic broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) with antisense chlorophyllase (BoCLH1) delays postharvest yellowing. *Plant Sci.*, 174:25-31.
- Cuttriss, Abby J.; Mimica, Joanna L.; Howitt, Crispin A. and Pogson, Barry J. 2006. Carotenoids. In *The structure and function of plastids*. (pp. 315-334). *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Volumen 23. The Netherlands: Springer Netherlands.
- De Prado, J. L.; Cruz Hipólito, H.; De Prado, R. 2009. Mecanismos de resistencia de las malezas a los herbicidas. Seminario Internacional "Manejo y diagnóstico de la resistencia a herbicidas". 3-4 noviembre 2009. Centro Regional de Investigación INIA, Carillanca. Temuco, Chile.
- Délye, C. 2005. Weed resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. *Weed Sci*. 53:728-746.
- Devine, M.D.; Duke, S. O.; Fedtke, C. 1993. *Physiology of herbicide action*, (eds. Prentice Hall), Englewood Cliffs, USA. 441 pp.
- Devine, M. 2002. Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors. pp. 103-113. In: *Herbicide Classes in Development. Mode of Action, Targets, Genetic Engineering, Chemistry*. Böger, Peter; Wakabayashi, Ko; Hirai, Kenji (Eds.). 364 p.
- Duggleby, R. G.; Pang, S. S. 2000. Acetohydroxyacid synthase. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 33:1–36.
- Duke, S. O. 1996. *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical Aspects*. CRC Press, Lewis Publ. Boca Raton, FL. 420p.

- Duke, S.; Dayan, F. 2011. Bioactivity of herbicides. p. 23-35. In: Moo-Young, M. (ed.). Comprehensive biotechnology. 2nd ed. Vol. IV. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands. 452 p.
- EPA, 1995. R.E.D. Facts. En línea [<http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/0265fact.pdf>]. Consultado 24/01/13.
- Evans D. E. 2004. Programmed cell death in response to abiotic stress. *In: Programmed Cell Death*. Gray J. (ed.). Blackwell Publishing Ltd. p. 194.
- Falótico, J., G.A. Studdert & H.E. Echeverría. 1999. nutrición nitrogenada del trigo bajo siembra directa y labranza convencional en condiciones de agricultura continua. *Ciencia del Suelo* 17:9-20.
- Fanizza, G., Ricciardi, I., y Bagnulo, C.1991. Leaf greenness measurements to evaluate water stressed genotypes in *Vitis vinifera*. *Euphytica*. 55:27-31.
- Ferhatoglu Y.; Avdiushko, S.; Barret, M. 2005. The basis for the safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s. *Pestic Biochem Physiol* 81(12):59-70.
- Furlani, E., Lazarini, E., Paulo, E.M., and Furlani, R.C.M. 2001. Nitrogen levels and its correlation with the chlorophyll content in three coffee cultivars. *Plant Nutrition - Food security and sustainability of agro-ecosystems* 718-719.
- Garcia Angulo, P.; Alonso Simón, A.; Encina, A.; Alvarez, J. M.; Acebes, J.L. 2012. Cellulose Biosynthesis Inhibitors: Comparative Effect on Bean Cell Cultures. *Int J Mol Sci*. 2012; 13(3): 3685–3702.
- Gardner, G.; Sanborn, J. R. 1989. Aryl-Substituted alpha-Aminooxycarboxylic Acids: A New Class of Auxin Transport Inhibitors. *Plant Physiol*. 90(1):291-295.
- Gandrup, M.E., F.O. García, K.P. Fabrizzi, y H.E. Echeverría. 2004. Evolución de un índice de verdor en hoja para evaluar el status nitrogenado en trigo. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)*, 33(3):105-121.
- Guiamét, J.J., Pichersky, E. and Noodén, L.D. 1999. Mass Exodus from Senescing Soybean Chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 40, 986-992.
- Gressel J. 2002. *Molecular Weed Biology*. London/New York: Taylor & Francis. 420 p.
- Grindlay, D.J.C. 1997. Towards an explanation of crop nitrogen demand based on the optimization of leaf nitrogen per unit leaf area. *Journal of Agricultural Science* 128: 377-396.

- Grossmann, K. 2000. Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. *Trends Plant Sci.* 5:506–508.
- Grossmann, K. 2003. Mediation of herbicide effects by hormone interactions. *J. Plant Growth Regul.* 22:109–122.
- Grossmann, K.; Kwiatkowski, J.; Tresch, S. 2001. Auxin herbicides induce H₂O₂ overproduction and tissue damage in cleavers (*Galium aparine* L.). *J Exp Bot* 52: 1811–1816.
- Hageman, R.H. 1986. Nitrate metabolism in roots and leaves. En: Shannon, J.C., D.P. Knievel y C.D. Boyer (eds). pp.105-116. Regulation of carbon and nitrogen reduction and utilization in maize. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, USA.
- Hans-Walter H. 1997. *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Harwood, J. L. 1999. Graminicides which inhibit lipid synthesis. *Pesticide outlook*, 10:154-158.
- Heap, I. 2002. International survey of herbicide resistant weeds. Annual Report Internet. <http://www.weedscience.com>
- Heap, I. 2002. International survey of herbicide resistant weeds. Annual Report Internet. <http://www.weedscience.com>
- He, P., Zhou, W. and Jin, J. 2004. Carbon and Nitrogen Metabolism Related to Grain Formation in Two Different Senescent Types of Maize. *J. Plant Nutr.* 27:295-311.
- He, Y., Tang, W., Swain, J.D., Green, A.L., Jack, T.P. and Gan, S. 2001. Networking Senescence-Regulating Pathways by Using Arabidopsis Enhancer Trap Lines. *Plant Physiol.*, 126:707-716.
- Hendry, G.A.F., Houghton, J.D. and Brown, S.B. 1987. The Degradation Of Chlorophyll — A Biological Enigma. *New Phytol.*, 107:255-302.
- Hewertson, N. A.; Collin, H. A. 1984. Mechanism of action of asulam in celery tissue cultures. *Weed Research* 24(2):79–83.
- Himelrick, D.G., Dozier, Jr.W.A, y Wood, C.W. 1993. Determination of Strawberry nitrogen status with SPAD chlorophyll meter. *Advances in Strawberry Research*. 12: 49 - 53.

- HRAC. 2008. Classification of herbicides according their mode of action. <http://www.plantprotection.org/HRAC>.
- Hofer, U.; Muehlebach, M.; Hole, S.; Zoschke, A. 2006. Pinoxaden-for broad spectrum grass weed management in cereal crops. *J. of Plant Diseases and Protection* 20:989-995.
- Hörtensteiner, S. 2004. The loss of green color during chlorophyll degradation—a prerequisite to prevent cell death. *Planta* 219:191-194.
- Howard T. 1996. Chlorophyll: a symptom and regulator of plastid development. *Tansley Review No. 92. New Phytology* 136:163-181.
- Jacob-Wilk, D., Holland, D., Goldschmidt, E.E., Riov, J. and Eyal, Y. 1999. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gene from ethylene-treated Citrus fruit and its regulation during development. *Plant J.* 20:653-661.
- Kaakeh, W., Pfeiffer, D.G., y Marini, R.P. 1992. Combined effects of spirea and nitrogen fertilization on net photosynthesis, total chlorophyll content, and greenness of apple leaves. *J. Econ. Ent.* 85:939 – 946.
- Kannagara C.G., Gough S.P. 1978. Biosynthesis of d-aminolevulinic acid in greening barley leaves. Glutamate 1-semialdehyde aminotransferase. *Carlsberg Research Communicationes* 43:185-194.
- Karele, I. 2001. Chlorophyll content distribution in leaves, stems, and ears in winter wheat. *Plant Nutrition - Food security and sustainability of agro-ecosystems* 720-721.
- Kariola, T., Brader, G., Li, J. and Palva, E.T. 2005. Chlorophyllase 1, a Damage Control Enzyme, Affects the Balance between Defense Pathways in Plants. *Plant Cell*, 17:282-294.
- Kelley, K. B.; Riechers, D. E. 2007. Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. *Pest Biochem Physiol* 89:1–11.
- Kende, H., Zeevaart, J.A.D., 1997. The five “classical” plant hormones. *Plant Cell* 9: 1197-1210.
- Krinsky, N.I.; Johnson, E.J. 2005. Review Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine* 26:459–516.
- Kogan A. M.; Pérez J. A. (2003) *Herbicidas. Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción*. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 333 p.

- Liao, Y., An, K., Zhou, X., Chen, W.-J. and Kuai, B.-K. 2007. AtCLH2, a Typical but Possibly Distinctive Chlorophyllase Gene in Arabidopsis. *J. Integr. Plant Biol.* 49:531-539.
- Lum, P. Y.; Armour, C. D.; Stepaniants, S. B.; Cavet, G.; Wolf, M. K.; Butler, J. S.; Hinshaw, J. C.; Garnier, P.; Prestwich, G. D.; Leonardson, A.; Garrett-Engele, P.; Rush, C. M.; Bard, M.; Schimmack, G.; Phillips, J. W.; Roberts, C. J.; Shoemaker, D. D. 2004. Discovering Modes of Action for Therapeutic Compounds Using a Genome-Wide Screen of Yeast Heterozygotes. *Cell* 116:121–137.
- Mach, J.M., Castillo, A.R., Hoogstraten, R. and Greenberg, J.T. 2001. The Arabidopsis-accelerated cell death gene ACD2 encodes red chlorophyll catabolite reductase and suppresses the spread of disease symptoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98, 771-776.
- Marquard, R.D. y J.L. Tipton. 1987. Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *HortScience* 22:327.
- Matile, P. 2001. Senescence and Cell Death in Plant Development: Chloroplast Senescence and its Regulation. In *Regulation of Photosynthesis* (Aro, E.-M. and Andersson, B. eds). Dordrecht, The Netherlands: Springer / Kluwer Academic Press, pp. 277-297.
- Matile, P., Hortensteiner, S. and Thomas, H. 1999. Chlorophyll Degradation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:67-95.
- Matile, P., Hortensteiner, S., Thomas, H. and Krautler, B. 1996. Chlorophyll Breakdown in Senescent Leaves. *Plant Physiol.* 112:1403-1409.
- Matile, P. and Schellenberg, M. 1996. The cleavage of phaeophorbide a is located in the envelope of barley gerontoplasts. *Plant Physiol. Biochem.* 34:55-59.
- Matthews, Paul D. and Wurtzel, Eleanore T. 2007. Biotechnology of food colorant production. In *Food colorants: chemical and functional properties*. pp. 303-426. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Monje, O.A. y Bugbee, B. 1992. Inherent limitations of nondestructive chlorophyll meters: a comparison of two types of meters. *HortScience* 27:69–71.
- Müller, T., Ulrich, M., Ongania, K.-H. and Kräutler, B. 2007. Colorless Tetrapyrrolic Chlorophyll Catabolites Found in Ripening Fruit Are Effective Antioxidants. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 8699-8702.
- Muslera, P. y Ratera, G. 1984. Praderas y forrajes. Producción y aprovechamiento. Editorial Mundi prensa. Madrid, España. 702p.

- Oliveira, R. S.; Constantin, J.; Inoue, M. H. 2011. *Biología e Manejo de Plantas Daninhas Omnipax* (Ed.). Curitiba. 348 p.
- Perez Jones, A.; Polge, ParK, K. W.; N.; Colquhoun, J.; Mallory-Smith, C. A. 2007. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta* 226(2):395404.
- Parga, J. 1994. Consideraciones técnicas para el establecimiento y manejo de la alfalfa. En: Torres y Bartelomeolli (Ed.) *seminario de utilización de alfalfa de la décima región*. Estación Experimental Ramehue. (INIA). Osorno, Chile, pp: 3-23.
- Peterson, D. E.; Thompson, C. R.; Regehr, D. L.; Al-Khatib. K. 2001. *Herbicide mode of action*. Kansas State University. C-715. 24 p.
- Powles, S. B; Yu, Q. 2010. Evolution in action: Plants resistant to herbicides. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61:317-347.
- Reeves, D.W., P.L. Mask, C.W. Wood y D.P. Delaney. 1993. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of management practices. *Journal of Plant Nutrition* 16:781-796.
- Reinbothe, C., Springer, A., Samol, I. and Reinbothe, S. 2009. Plant oxylipins: role of jasmonic acid during programmed cell death, defence and leaf senescence. *FEBS J.*, 276:4666-4681.
- Robles, R. 1994. *Producción de granos y forrajes*. Quinta Edición. Editorial Noriega. Mexico. 661p.
- Rost, T. L. 1984. The comparative cell cycle and metabolic effects of chemicals treatment on root tips meristems. III. Chlorsulfuron. *Journal of Plants Growth Regulation* 3:51-63.
- Saari, L. L.; Mauvais, C. J. 1996. Sulfonylurea herbicide resistant-crops. In: *Herbicide Resistant Crops* (ed. SO Duke), pp. 127-143, CRC Press, Boca Raton.
- Senseman, S. 2007. *Herbicide Handbook*, 9th Edition. Weed Science Society of America, Lawrence KS. 458 p.
- Sibley, J.L., Eakes, D.J., Gilliam, C.H. 1996. Foliar SPAD-502 meter values, nitrogen levels, and extractable chlorophyll for red maple selections. *HortScience* 31:468-470.
- Schepers, J., T. Blackmer, y D. Francis. 1992. Predicting N fertilizer needs for corn in humid regions: Using chlorophyll meters. In B. Bock y K. Kelly (ed). *Predicting fertilizer needs for corn in humid regions*. NFERC, Bull. Y-226. Muscle Shoals, AL, EE.UU. pp. 105 - 114.

- Schenk, N., Schelbert, S., Kanwischer, M., Goldschmidt, E.E., Dörmann, P. and Hörtensteiner, S. 2007. The chlorophyllases AtCLH1 and AtCLH2 are not essential for senescence-related chlorophyll breakdown in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.*, 581:5517-5525.
- Shaner, D. L. 2000. The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. *Pest Manag. Sci.* 56:320-326.
- Shaner, D. L. 2003. Herbicide safety relative to common targets in plants and mammals. *Pest. Manag. Sci.* 60:17-24.
- Shaner, D. L.; Singh, B. K. 1993. Phytotoxicity of acetohydroxyacid synthase inhibitors is not due to the accumulation of 2-ketobutyrate and/or 2-aminobutyrate. *Plant Physiol.* 103:1221-1226.
- SIAP. 2012. Subsecretaria de Agricultura. SAGARPA. México.
- Smith, D. 1969. Influence of temperature on the yield and chemical composition of "Vernal" alfalfa at first flower. *Agron. J.* 61:470-472.
- Sterling, T. M.; Hall, J. C. 1997. Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides. In: Roe RM, *et al.*, editors. *Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology*. Amsterdam: IOS Press. 111–141 p.
- Subramanian, M. V.; Brunn, S. A.; Bhavesh, C. P.; Reagan, J. D. 1997. Revisiting Auxin Transport Inhibition as a Mode of Action for Herbicides. *Weed Sci.* 45:621-627.
- Taiz L. & Zeiger E. 2002. *Plant Physiology* (3rd ed.). Sinauer, New York.
- Takamiya, K.-i., Tsuchiya, T. and Ohta, H. 2000. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends Plant Sci.* 5:426-431.
- Turner, F.T., y Jund, M.F. 1991. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidrawf rice. *Agronomy Journal.* 83(5):926–928.
- Thomas, H. 2002. Ageing in plants. *Mech. Ageing. Dev.* 123:747-753.
- Tranel, P. J.; Wright, T. R. 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What have we learned? *Weed Sci.* 50:700-712.
- Trenkamp, S.; Martin, W.; Tietjen, K. 2004. Specific and differential inhibition of very-longchain fatty acid elongases from *Arabidopsis thaliana* by different herbicides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(32):11903–11908.

- Tsuchiya, T., Ohta, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., Shimada, H., Masuda, T. and Takamiya, K. 1999. Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: Finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:15362-15367.
- Veerasekaran, P.; Kirkwood, R. C.; Fletcher, W. W. 1977. Studies on the mode of action of asulam in bracken (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn) I. Absorption and translocation of [¹⁴C] asulam. *Weed Research* 17:33–39.
- Vencill, W. K. 2002. *Herbicide Handbook*. Eighth Edition. Weed Science Society of America. Lawrence, KS. 493 p.
- Wakelin, A.M. and Preston, C. 2006. A target-site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Res.* 46:432-440.
- Waskom, R. M. 1996. A review of use of chlorophyll meters to assess crop N status in the Great Plains. *Proceedings Great Plains Soil Fertility Conference*. J. Havlin (ed.). Kansas State University, Manhattan, KS, EEUU. pp. 36 - 43.
- Willstätter, R. and Stoll, A. 1911. Untersuchungen über Chlorophyll. XI. Über Chlorophyllase. *Liebigs Ann. Chem.* 378: 18-72.
- Wood, C.W., Tracy, P.W., Reeves, D.W., y Edmisten, K.L. 1992. Determination of cotton nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter. *Journal of Plant Nutrition*. 15(9):1435–1448.
- Yadaba, U.L.1986. A rapid nondestructive method to determinate chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 21(6):1449–1500.
- Yuang, Y., Guo P., Qi X., Ning N., Wang H., Wang X., Wang X., Yang Y. 2013. Safety of herbicide Sigma Broad on *Radix Isatidis* (*Isatidis indigotica* Fort.) seedlings and their photosynthetic physiological responses. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106:45-50.
- Zita Padilla, G. A. 2012. Resistencia de malas hierbas a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa. Universidad de Córdoba, España. Tesis Doctoral. 211 p.
- Zhou, Q., Liu W., Zhang Y., Liu K. 2007. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89:89-96.