



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN BOTÁNICA

FENOTIPO Y FISIOLOGÍA DE PLANTAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) SOMETIDAS AL HERBICIDA MESOTRIONA

CHRISTIAN RAMÍREZ ROJAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Fenotipo y fisiología de plantas de maíz (*Zea mays* L.) sometidas al herbicida mesotriona**, realizada por el alumno: **Christian Ramírez Rojas**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
BOTÁNICA

CONSEJERO



DR. DANIEL PADILLA CHACÓN

ASESOR (A)



DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA

ASESOR (A)



DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

ASESOR (A)



M.C. ANTONIO GARCÍA ESTEVA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, mayo de 2021

FENOTIPO Y FISIOLOGÍA DE PLANTAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) SOMETIDAS AL HERBICIDA MESOTRIONA

Christian Ramírez Rojas, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

La mesotriona [2- (4-metilsulfonil-2-nitrobenzonilo) 1,3-ciclohexanodiona] es uno de los herbicidas de mayor consumo para el control de malezas durante la pre y post-emergencia de plantas de maíz (*Zea mays* L.). El principio activo se une al sitio catalítico de la enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (4-HPPD) bloqueando indirectamente la síntesis de carotenoides y el complejo enzimático del citocromo P450. En el presente estudio se evaluó el efecto de la mesotriona en el fenotipo con imágenes en RGB en las plantas de tres genotipos de maíz (Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz) en etapa vegetativa V3-V4. Las plantas se sembraron en macetas y se mantuvieron con riego normal hasta esta etapa vegetativa, así como control en la nutrición. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones con los tratamientos siguientes: agua (control), coadyuvante, dosis comercial de mesotriona 1X y 2X. Después de 10 días, se tomaron imágenes en RGB de todas las plantas y se evaluaron con el programa LemnaGrid, el cual transformó los valores como porcentaje de pérdida de color verde que corresponden al nivel de fitotoxicidad por el herbicida. Los resultados mostraron que el crecimiento no fue alterado y el daño por mesotriona en los tres genotipos sólo se presentó en la dosis 2X, aunque en 1X también hubo síntomas característicos del herbicida; sin embargo, las imágenes de fluorescencia y Fv/Fm en el genotipo Cacahuacintle

mantuvo valores cercanos al control, mientras que en HS-2 y Vitamaíz disminuyeron. Los resultados del presente estudio establecen las bases para el fenotipo no destructivo por imágenes en RGB del nivel de del daño por herbicidas en dosis respuesta.

Palabras clave: dosis, fenotipado, fitotoxicidad, maíz, mesotriona, RGB, segmentación de color.

**PHENOTYPE AND PHYSIOLOGY OF MAIZE PLANTS (*Zea mays* L.) SUBJECTED TO
MESOTRIONE HERBICIDE**

Christian Ramírez Rojas, M.S.

Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Mesotrione [2-(4-methylsulfonyl-2-nitrobenzoyl) 1,3-ciclohexanedione] is one of the most widely used herbicides for the control of weeds at both pre- and post-emergence stages of maize (*Zea mays* L.) plants. The active substance binds to the catalytic site of the enzyme 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (4-HPPD) for indirectly blocking the synthesis of carotenoids and the enzyme complex of cytochrome P450. In this study the effect of mesotrione on the phenotype of plants of maize (Cacahuacintle, HS-2 and Vitamaiz) at V3-V4 vegetative stage was evaluated using RGB images. The plants were grown in pots and were maintained with normal irrigation until the mentioned vegetative stage. A randomized complete block experimental design with four replications was used with the treatments as follows: water (control), adjuvant and commercial mesotrione dose 1X and 2X. After 10 days, images of all the plants were taken and analyzed with the LemnaGrid software which transformed the values to percentages of green color loss that corresponds to the level of toxicity of the herbicide. Results showed that the growth was not altered and the damage of mesotrione in the three genotypes only appeared with the 2X dose, although the typical symptoms of the herbicide were also present with 1X; however, the fluorescence and Fv/Fm images in the Cacahuacintle

genotype maintained values similar to control, while in HS-2 and Vitamaíz were diminished. Results of this study establish the bases for non-destructive phenotyping by using RGB images on the level of damage by herbicides in dose-response.

Key words: color segmentation, dose, maize, mesotrione, phenotyping, phytotoxicity, RGB.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos, y muy especialmente al

Dr. Axel Tiessen Favier†

y mi tía, Luz María Campos Rodríguez†

AGRADECIMIENTOS

A mi familia que son mi motor de vida y perseverancia.

Al Dr. Daniel Padilla Chacón por su tiempo, enseñanzas y consejos.

A cada uno de los integrantes de mi consejo particular de tesis por sus valiosas aportaciones para concluir satisfactoriamente este proyecto y sobre todo por su tiempo.

Particularmente al Dr. Axel Tiessen Favier quien en vida me inspiró de muchas maneras a ser mejor persona y profesionista.

Al Dr. Víctor Conde Martínez por su amabilidad y disposición para el desarrollo del experimento.

A mis amigos: Juanjo, Cauich, Xanat, Valeria, Salvador, Alfonso, Eduardo y mis amigos de generación.

A mi persona favorita, Miguel, gracias por estar siempre conmigo en los mejores y peores momentos.

Al CONACYT y al Colegio de Postgraduados.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE CUADROS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Maíz (<i>Zea mays</i> L.).....	3
2.1.1. Usos industriales del maíz.....	3
2.1.2. Aporte nutricional	4
2.1.3. Producción de maíz en México.....	5
2.1.4. Fenología de etapas vegetativas tempranas	5
2.2. Malezas.....	7
2.2.1. Malezas en los cultivos de maíz.....	8
2.2.2. Pérdidas en maíz generadas por malezas	8
2.3. Herbicidas.....	9
2.3.1. Consumo global de herbicidas.....	11
2.3.2. Consideraciones para la aplicación de los herbicidas	12
2.3.3. Absorción, translocación y metabolismo del herbicida	13
2.3.4. Detoxificación de herbicidas en plantas.....	13
2.3.5. Herbicidas utilizados en maíz.....	15
2.4. Mesotriona.....	16
2.4.1. Efecto fisiológico y bioquímico de mesotriona	17
2.4.2. Resistencia de maíz a mesotriona y a otros herbicidas	21
2.4.3. Contaminación de mesotriona en el ambiente.....	21
2.5. Cultivares de maíces seleccionados para evaluación del efecto de mesotriona	22
2.5.1. Cacahuacintle.....	22
2.5.2. HS-2.....	23
2.5.3. Vitamaíz	24
2.6. Fenotipo	24
2.6.1. Características de sensores y softwares usados en fenotipo	25
2.6.2. Análisis de imágenes por segmentación de color	26
2.6.3. Fenotipo en maíz.....	26

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
4. OBJETIVOS	29
5. HIPÓTESIS	30
6. MATERIALES Y MÉTODOS	31
6.1. Material biológico	31
6.2. Sitio experimental	31
6.3. Evaluación en la etapa vegetativa V3-V4 y diseño experimental	31
6.4. Variables del fenotipo	32
6.4.1. Estimación de biomasa digital, altura y área foliar	32
6.4.2. Segmentación de color	33
6.5. Peso seco del vástago	33
6.6. Variables fisiológicas	34
6.6.1. Eficiencia fotosintética del fotosistema II	34
6.7. Análisis estadístico	36
7. RESULTADOS	37
7.1. Análisis de imágenes	37
7.2. Variables morfológicas	39
7.3. Peso en biomasa seca	41
7.4. Segmentación de color	42
7.5. Índice Fv/Fm	46
8. DISCUSIÓN	48
9. CONCLUSIÓN	53
10. LITERATURA CITADA	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Secuencia de síntesis de carotenoides y sitio de acción de mesotriona en la síntesis de plastoquinona (recuadro rojo). (Modificado de Anzalone, 2010)..... 19
- Figura 2.** Esquema de la membrana tilacoidal y afectación del herbicida a nivel de fotosíntesis. El cuadro naranja indica daño a nivel de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y clorofila *b*), además la eficiencia cuántica del PSII a través de la fluorescencia; el cuadro rojo señala el modo de acción de mesotriona involucrando la síntesis de plastoquinona. Cortesía de J. Nield (Imperial Collage London). 20
- Figura 3.** Hojas de los cultivares Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz en etapa vegetativa V3-V4 a los diez días después de la aplicación del herbicida mesotriona. Control (C), coadyuvante (A) y dosis 1X y 2X. Los recuadros rojos indican la zona recortada para el análisis de eficiencia cuántica del fotosistema II en el equipo FluorCam F-800. Barra representa 4 cm. 35
- Figura 4.** Imágenes tomadas en vista lateral y superior de plantas de maíz a los diez días de la aplicación de la mesotriona y procesadas para la obtención de parámetros morfológicos por el programa LemnaGrid. A) área proyectada, B) envolvente convexa, C) compactación, D) longitud de la pinza. La barra representa 3 cm. 38
- Figura 5.** Variables morfológicas de plantas de maíz: a) área proyectada, b) compactación, c) envolvente convexa y d) longitud de la pinza; obtenidos con cámara lateral y superior: C) control, A) coadyuvante y dosis 1X y 2X de mesotriona. Las cajas azules corresponden al cultivar Cacahuacintle, púrpuras a HS-2 y rosas a Vitamaíz. 40
- Figura 6.** Pesos en biomasa seca de tres cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz, bajo el efecto del herbicida mesotriona a los diez días después de la aplicación en cuatro tratamientos: agua (C),

coadyuvante (A), dosis comercial recomendada (1X) y doble de dosis (2X).	41
Figura 7. A. Ejemplo de imagines tomadas en vista superior de los cultivares Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz a los diez días después de la aplicación de los tratamientos: A) Agua, C) coadyuvante y las dosis a 1X y 2X de mesotriona. B. Imágenes en vista superior analizadas en el programa LemnaGrid; i) imagen original, ii) variables morfológicas y iii) segmentación de color. C. Gráfica del porcentaje de color verde de los tres cultivares. La barra representa 3 cm.	43
Figura 8. (Izquierda) Ejemplo de la vista superior de hojas analizadas a los diez días después de la aplicación de los tratamientos: A) Agua, C) coadyuvante y las dosis a 1X y 2X de mesotriona. (Derecha) Análisis de las hojas en porcentaje de color verde y amarillo con el programa LemnaGrid. La barra corresponde a 4 cm. Las líneas punteadas representan la separación de la lámina en parte basal y parte apical con los porcentajes de color verde (V) y amarillo (A).....	45
Figura 9. A. Imágenes de fluorescencia de la clorofila a en fragmentos de la tercera hoja de planta de maíz de los tres cultivares (Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz) en condiciones control (C), coadyuvante (A), 1X y 2X de mesotriona. La barra representa la escala de color mostrando la eficiencia cuántica del fotosistema II (Fv/Fm) en valores de 0 a 1.0. B. Promedio ($\pm e.e$) del rendimiento cuántico de fotosistema II (Fv/Fm) de los fragmentos de hoja.....	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estadios vegetativos y reproductivos de una planta de maíz (Fassio <i>et al.</i> , 1998; OECD, 2003)	6
--	---

1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el segundo cereal de mayor consumo en el mundo después del trigo. Estados Unidos produce aproximadamente 41% del total a nivel mundial, China (20%), Brasil (6%) (FAO, 2012). México aporta alrededor de 27,169 toneladas, ubicándose en el séptimo lugar con un rendimiento promedio anual de 3.8 t ha⁻¹ (Ruiz *et al.*, 2019).

Las pérdidas en el rendimiento por malezas son muy variables, e incluso se puede llegar a la pérdida total del cultivo, por lo que el uso de herbicidas resulta muy importante. Mesotriona es un herbicida selectivo para el cultivo de maíz que controla malezas dicotiledóneas y algunas monocotiledóneas (Ulguim *et al.*, 2013). El modo de acción consiste en la inhibición de la enzima 4-HPPD, lo que provoca una interrupción en la biosíntesis de carotenoides, manifestando lesiones blanquecinas, clorosis y finalmente necrosis (Mitchell *et al.*, 2001).

Algunas malezas han desarrollado resistencia a este herbicida. *Amaranthus tuberculatus* (var. *rudis*) crece como maleza en los cultivos de maíz y soya; su control requiere dosis altas de herbicida, lo que demostró que esa planta ha adquirido resistencia (Oliveira *et al.*, 2018). Adicionalmente, se documentó que la residualidad de mesotriona en el suelo y el agua es superior a los valores permitidos (Martinazzo *et al.*, 2011); por lo que, su uso no controlado representa un problema de contaminación al ambiente.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las dosis 1X y 2X de la mesotriona en el fenotipo y fisiología en tres cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-

2 y Vitamaíz. La hipótesis es que la respuesta a la fitotoxicidad a mesotriona depende del genotipo de maíz. El nivel de daño ocasionado en las hojas se evaluó con métodos de fenotipaje, como el que se centra en la eficiencia fotoquímica de las plantas, específicamente en el rendimiento cuántico del fotosistema II, con el índice Fv/Fm. Estos métodos se complementan con la detección cuantitativa de los cambios en variables morfológicas, como altura de la planta, grosor y anchura del tallo y color de las hojas, con la plataforma de fenotipaje Scanalyzer PL (LemnaGrid (LemnaTec, Alemania) y la cámara de detección de la fluorescencia de la clorofila FluorCam F-800. La información se analiza con el programa FluorCam7, que genera los valores de Fv/Fm. El rendimiento cuántico del fotosistema II aportó información del efecto negativo de la mesotriona en las plantas de maíz en etapas vegetativas V3-V4. Los resultados permitirán seleccionar la dosis adecuada para el manejo del cultivo al momento de la aplicación del herbicida, así como el cultivar adecuado. Este estudio mostró que los métodos utilizados recientemente en fenotipaje por medio de imágenes en RGB, en características morfológicas y de segmentación de color por la pérdida de pigmentos fotosintéticos en las hojas y de la fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm) fueron adecuados para evaluar el efecto del herbicida en maíz.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie monocotiledónea que pertenece a la familia Poaceae, tribu Maydeae. Es hermafrodita y produce inflorescencias masculinas y femeninas separadas en la misma planta; esto determina que su polinización sea fundamentalmente cruzada (Asociación Andes *et al.*, 2019).

El teosinte o teosintle es el antecesor silvestre del maíz que dio origen al maíz domesticado (Doebley, 1990; Paliwal, 2001). Con la domesticación aumentó la dominancia apical y disminuyó el número de ramas axilares (Doebley, 1997). El maíz se cultiva desde aproximadamente 7,000 a 10,000 años (Hallauer y Carena, 2009). Entre las evidencias más antiguas sobre el origen del maíz están los restos arqueológicos en México, es el caso de unas mazorcas de maíz con más de 5,000 años de antigüedad. El centro primario de origen del maíz se ubica en Mesoamérica (entre las regiones montañosas de Guatemala y México), y el segundo centro de diversificación se localiza en los Andes Centrales (Tapia y Fries, 2007; Acosta, 2009). La domesticación de las especies, y el maíz no es excepción, depende en parte de la selección por los humanos y el cultivo, lo que ha generado más de 300 razas (Acosta, 2009).

2.1.1. Usos industriales del maíz

El 40% del maíz producido en los países tropicales se usa como forraje para ganado y con fin avícola (Paliwal, 2001). En contraste, el almidón de maíz tiene diversos usos industriales. A partir del embrión se extrae aceite comestible para humanos. Frente al azúcar y otros productos de elevado consumo, se ha

comercializado como edulcorante el denominado “jarabe de maíz” (FAO, 1993; Paliwal, 2001).

2.1.2. Aporte nutricional

El subproducto de la extracción de aceite u obtención de harina de maíz, conocido como germen de maíz, contiene aceites, azúcares y carbohidratos como el almidón (Paliwal, 2001), que puede representar hasta 73% del peso del grano. Otros carbohidratos presentes son azúcares, como glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 a 3% del grano (FAO, 1993), además de aminoácidos esenciales como lisina y triptófano (FAO, 1993; Vanaclocha y Folcara, 2003).

El aceite de maíz tiene nivel bajo de ácidos grasos saturados (11% de ácido palmítico, 2% de ácido esteárico), nivel alto de ácidos grasos poliinsaturados (24 % de ácido linoleico) y un 0.7% de ácido linolénico (Sánchez, 2014).

La fibra dietética que posee el grano de maíz es el cuarto componente más abundante del pericarpio y la poloriza (Sánchez, 2014). La fibra insoluble está en mayor proporción que la fibra soluble; los granos enteros tienen mayor cantidad de fibra que los granos descascarados. El fósforo y el potasio son los minerales más abundantes del grano; además, contiene dos vitaminas liposolubles, la vitamina E y la provitamina A (carotenoide). La vitamina E se localiza en el germen, principalmente (Sánchez, 2014). La mayor parte de los carotenoides se localizan en el endospermo duro del grano y en pequeñas cantidades en el germen, también contiene β -caroteno que representa alrededor del 20% del total de los carotenoides del grano, y criptoxantina equivale al 51% del total de los carotenoides. Los granos

de coloración rojiza-morada contienen principalmente antocianinas, un metabolito que actúa como antioxidante.

2.1.3. Producción de maíz en México

Sinaloa es el líder nacional en la producción nacional, con un volumen estimado de 27 millones de toneladas. Jalisco ocupa el segundo lugar y en tercer lugar está Michoacán (Ruiz *et al.*, 2019).

La superficie mexicana sembrada con la planta de maíz que se usa como pienso ganadero supera las 600 mil hectáreas, la mayor parte se localiza en Jalisco. Durante 2018, una tonelada del forraje comercializada por los agricultores jaliscienses cifró 5 mil 557 pesos en promedio, lo cual le reportó un ingreso de 13 mil 520 millones de pesos (Ruiz *et al.*, 2019).

2.1.4. Fenología de etapas vegetativas tempranas

La fenología del maíz se divide generalmente en etapas vegetativas (designadas por Vn) y reproductivas (designada por Rn) (Fassio *et al.*, 1998; Viña *et al.*, 2004) (cuadro 1). La emergencia de la plántula es el inicio de la actividad fotosintética. Es importante identificar correctamente estas etapas fenológicas, ya que, cada una de ellas optimiza el suministro de nutrientes y mantiene condiciones favorables para su desarrollo (Viña *et al.*, 2004).

Cuadro 1. Estadios vegetativos y reproductivos de una planta de maíz (Fassio *et al.*, 1998; OECD, 2003)

Vegetativo	Reproductivo
VE emergencia	R0 antesis
V1 primera hoja	R1 barba de choclo
V2 segunda hoja	R2 ampolla
V3 tercera hoja	R3 lechoso
V(n) n hoja	R4 masosa
VT panojamiento	R5 dentado
	R6 madurez fisiológica

Etapa de germinación y emergencia (VE)

La germinación de la semilla y la emergencia de la plántula (VE) son esenciales para el establecimiento del cultivo, debido a que se presenta competencia por recursos. En maíz, la emergencia y postemergencia se define cuando el coleoptilo (embrión) brota de la superficie del suelo durante los 5-7 días siguientes a la siembra (Asociación Andes *et al.*, 2019).

Etapa V3 (tres hojas verdaderas)

En V3, el ápice del tallo se encuentra por debajo de la superficie del suelo. Ocho días posteriores a la emergencia, la planta presenta dos hojas y a los 12 días tres hojas. En esta etapa, el tallo alcanza alrededor de 15 cm de altura (Asociación Andes *et al.*, 2019; Fassio *et al.*, 1998).

Etapa V5

La etapa V5 comienza aproximadamente a los 20 días después de la siembra. La formación de hojas y espigas estará completa y aparece en el extremo superior del tallo una pequeña panoja de tamaño microscópico. La planta tiene una altura total aproximada de 20 cm (Fassio *et al.*, 1998).

Etapa V6

En promedio, este estado se presenta 24 días después de la emergencia. Los entrenudos debajo de la quinta, sexta y séptima hojas han comenzado a alargarse, por lo que el extremo del tallo (punto de crecimiento) está ligeramente por encima de la superficie del suelo. El tallo comienza un período de elongación rápida. Algunos brotes de espigas o macollos son visibles. El grado de desarrollo de los macollos variará en función de la variedad, la densidad de siembra, la fertilización y las condiciones ambientales (Asociación Andes *et al.*, 2019; Fassio *et al.*, 1998; Hanway, 1996).

2.2. Malezas

Las malezas son plantas no deseadas por los humanos y afectan la producción de los cultivos, incluso los de interés comercial, compitiendo por nutrientes, espacio y luz (Redonda-Martínez, 2020). Las malezas, para su identificación agronómica práctica, se clasifican en malezas de hoja ancha y malezas de hoja angosta.

La lucha contra las malas hierbas es tan larga como la historia de la agricultura. Las malas hierbas representan colectivamente un problema agronómico global que disminuye la producción de cultivos en todo el mundo (Rani *et al.*, 2020).

2.2.1. Malezas en los cultivos de maíz

Para las regiones maiceras, las malezas se presentan en comunidades conformadas por diferentes especies, con predominio de algunas de ellas según el sistema de producción. Las malezas que prevalecen son tanto de hoja ancha como de hoja angosta (pastos principalmente). En particular, las plántulas de malezas presentes reportadas son: *Lolium multiflorum*, *Sonchus oleraceus*, *Taraxacum officinalis*, *Polygonum convolvulus*, *Lamium amplexicaule*, *Brassica* spp., *Polygonum aviculare*, *Chenopodium album*, *Conyza bonariensis*, *Veronica persica*, *Setaria* spp., *Estrumario de xantio*, *Echinochloa crus-galli*, *Amaranthus retroflexus*, *Setaria* spp., *Ambrosia artemissifolia*, *Digitaria sanguinalis*, *Amaranthus rudis* y *Sorghum halapense* (Sutton *et al.*, 2002).

2.2.2. Pérdidas en maíz generadas por malezas

En maíz, las pérdidas generadas por malezas son variables y existe escasa información al respecto. Las pérdidas pueden ser por alteraciones directas, que se producen por el efecto de interferencia (competencia y/o alelopatía) por las malezas no controladas o que no responden a las prácticas de control. Las pérdidas también pueden ser indirectas, éstas son las que afectan el proceso de cosecha del cultivo, generan disminución del rendimiento de alrededor de 3% (Bragachini *et al.*, 1995) y se relacionan directamente con el tipo y densidad de maleza presente al momento de la cosecha. Su presencia disminuye significativamente la eficiencia de las cosechadoras al intervenir durante el proceso.

El control de malezas es necesario para los productores de maíz, ya que un mal control puede impactar negativamente los rendimientos (Ritchburg *et al.*, 2019). El rendimiento en cultivos de maíz se ve afectado por otros factores, además de las malezas, y las pérdidas se calculan hasta 87% (Bulegon *et al.*, 2019).

Bedmar y Eyherabide (2002) señalaron que la información experimental de 15 años mostró que las malezas anuales (hoja ancha y angosta) pueden disminuir 65% del rendimiento de maíz. Sin embargo, la falta de control de malezas conduce a pérdida total.

Las arvenses son una forma especial de vegetación altamente exitosa en ambientes agrícolas, ya que son poblaciones vegetales que crecen en ambientes perturbados por el hombre sin haber sido sembradas. En el agroecosistema el impacto más crítico de las arvenses es el efecto negativo sobre las plantas cultivadas ejercido a través de la competencia por recursos limitados y las alelopatías (Valdes, 2016).

2.3. Herbicidas

Los herbicidas son productos químicos que alteran la fisiología y el desarrollo de la planta y causan su muerte. El herbicida actúa en un sitio específico y genera los efectos secundarios y terciarios que pueden matar a la planta (Ulzurrun, 2013). Los plaguicidas y otros productos para la protección de los cultivos se utilizan de acuerdo al conocimiento de sus características y propiedades, para obtener el máximo provecho de su acción. El modo de acción de un herbicida incluye la secuencia de eventos que ocurren desde que la planta lo incorpora a sus tejidos

hasta la aparición de síntomas de toxicidad (Ulzurrun, 2013). Dependiendo del tipo de herbicida el mecanismo de acción incluye lo siguiente:

Selectividad: se refiere al efecto de algunos herbicidas en el metabolismo y la fisiología que conduce a la muerte de ciertas especies vegetales. La selectividad de un herbicida depende de factores físicos, químicos, fisiológicos o metabólicos, por lo que, el proceso puede ser complejo y específico para un herbicida o grupo de ellos (Anzalone, 2005).

Época de aplicación: los herbicidas son efectivos sólo cuando se aplican en la etapa apropiada de crecimiento de la especie vegetal, ya sea de las malezas o del cultivo. En presembrado el herbicida es aplicado sobre el suelo y luego es incorporado a través del laboreo; en el caso de la aplicación en la presembrado el herbicida permanece sobre la superficie del suelo.

Movilidad: los herbicidas se movilizan dentro de las plantas; los que se desplazan en distancias cortas se llaman herbicidas de contacto o no translocables, ya que el daño que producen se expresa en un punto muy cercano al sitio de contacto con las plantas. Estos herbicidas pueden tomar vías de movilización de célula a célula o inclusive dentro de una misma célula, a través de la penetración de las membranas de los organelos celulares (Gauvrit, 1996). Otros herbicidas se conocen como sistémicos o translocables, éstos se incorporan a los sistemas propios de movimiento de sustancias en la planta; lo que permite que se mueva desde las raíces hasta las hojas o, en sentido contrario, desde las hojas a las raíces. Además, estos herbicidas también se mueven en distancias cortas (Anzalone, 2005).

Persistencia: esta característica se refiere al tiempo que un herbicida permanece activo en el suelo; también es denominada vida residual del herbicida en el suelo (Anderson, 1983). Es decir, el efecto fitotóxico de los residuos de un herbicida pueden presentarse en las plantas susceptibles, o debido a alguna transformación química. La persistencia de un herbicida en el suelo se define con base en: 1) factores que delimitan su adsorción-desadsorción en las micelas coloidales del suelo, 2) factores climáticos y 3) características o factores dependientes del manejo del cultivo (Anzalone, 2005).

2.3.1. Consumo global de herbicidas

Los países industrializados aplican herbicidas a 85-100% de los cultivos principales. India y la República Popular de China, están entre los primeros 12 países que comercializan herbicidas y ambos fabrican y exportan herbicidas con patente vencida. Los precios reducidos y la producción local estimularán el uso de herbicidas en los países menos desarrollados. Finney (1988) predijo que la necesidad de la intensificación de la agricultura, como consecuencia del crecimiento de la población, aumentará el uso de herbicidas. También indicó que entre 1985-1987 en los EE.UU. los precios de los herbicidas cayeron debido principalmente al incremento de la competencia por la distribución en el mercado y al vencimiento de patentes. Actualmente, el uso de herbicidas se ha incrementado significativamente (Aktar *et al.*, 2009). Sin embargo, la información del consumo de herbicidas en México, que ayude a seleccionar los más adecuados para su uso, es escasa.

2.3.2. Consideraciones para la aplicación de los herbicidas

La planificación para la aplicación de los herbicidas debe basarse en el conocimiento de varios aspectos relacionados con las condiciones climáticas, del suelo y del propio herbicida. Entre los términos que definen el éxito resaltan las características físicas del suelo (CC: capacidad de campo, PMP: punto de marchitez permanente y textura) y las características físico-químicas del herbicida (modo de acción, dosificación, solubilidad, coeficiente de Gustafson y otras) (Anzalone, 2005). El conocimiento de la cantidad de agua necesaria para aplicar los herbicidas es indispensable, ya que ese valor está estrechamente relacionado con la solubilidad del herbicida, influenciada por factores como el pH, la capacidad de disociación de la molécula y la temperatura.

La fecha de siembra frecuentemente se condiciona por razones operativas (oportunidad de labranzas y/o siembra, humedad y temperatura de suelo, disponibilidad de insumos) o estratégicas (escape a adversidades climáticas o biológicas, rotaciones, oportunidad de mercados, rentabilidad de la explotación). Las condiciones climáticas a la hora de aplicar el herbicida también pueden tener efecto en el herbicida aplicado.

El desarrollo heterogéneo del cultivo frecuentemente dificulta la aplicación de los herbicidas. Una causa que conduce a la heterogeneidad del crecimiento es la siembra con máquinas sembradoras por la distribución de las semillas, con velocidades excesivas de siembra, con distribución irregular en el surco y variación en la profundidad de siembra. Esto último provoca heterogeneidad en la emergencia y desarrollo inicial de las plantas. En estas condiciones, la aplicación de herbicida

en pre-emergencia causa afectos por los retrasos en la emergencia. Por lo que, el empleo de semilla de alto vigor, asegura el logro de la densidad deseada y uniformidad del cultivo, especialmente en siembras tempranas en las que frecuentemente ocurren temperaturas bajas para la germinación y las primeras etapas de crecimiento de las plántulas (Padilla y Otegui, 2005).

2.3.3. Absorción, translocación y metabolismo del herbicida

Las plantas absorben o incorporan a los herbicidas a través de las hojas, tallo, raíces, rizomas, bulbos u otras estructuras.

Dinelli y Catizone (2001) plantearon que existen dos procesos que definen la entrada de los herbicidas a los tejidos no subterráneos de las plantas: 1) la retención por los tejidos y 2) la penetración a las células, para lo cual, el herbicida cruza paredes celulares y membranas.

Otro factor que determina la retención de los herbicidas en las hojas es la composición química del producto y el uso de coadyuvantes. Los coadyuvantes son productos que afectan las propiedades físicas de la mezcla aplicada y pueden actuar como emulsificantes, agentes humectantes, adherentes, antiespumantes, amortiguadores de pH y activadores de superficie (Miller y Westra, 1998).

2.3.4. Detoxificación de herbicidas en plantas

El metabolismo de los herbicidas en las plantas está definido como el conjunto de reacciones químicas que modifican a los herbicidas después de entrar a la planta y que cambian sus características físico-químicas iniciales (Anzalone, 2010).

En general, los organismos que metabolizan los compuestos tóxicos disminuyen su capacidad tóxica, lo aíslan o expulsan. A este proceso comúnmente se le denomina “detoxificación”. Las reacciones metabólicas de los herbicidas en las plantas incluyen procesos que generan la activación de ciertos compuestos inicialmente no tóxicos (llamados “proherbicidas”) y su transformación a formas tóxicas (Asthon y Crafts, 1973; Monaco *et al.*, 2002).

La mayoría de las moléculas de herbicidas son translocadas al citoplasma a través de transportadores de membrana (Hess, 1985; Briskin, 1994; Sterling, 1994; Riechers *et al.*, 1998). La metabolización y la detoxificación de los herbicidas ocurre en cuatro fases (Kreuz *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1997). En la fase I (activación), se produce la exposición o introducción de grupos funcionales a través de reacciones, que normalmente incluye hidrólisis, oxidación o reducción, con lo que las moléculas de los herbicidas estén activas para las enzimas que van actuar en las siguientes fases (Kreuz *et al.*, 1996; Coleman *et al.*, 1997; Eerd, 2003). En la fase II (conjugación), el herbicida activado es conjugado por medio de moléculas hidrófilas endógenas (Lamoureux *et al.*, 1991; Riechers *et al.*, 1998), aminoácidos y proteínas (Kreuz *et al.*, 1996; Coleman *et al.*, 1997; Hatzios, 1997; Eerd, 2003). En la fase III (eliminación), el conjugado se transloca en la vacuola o excretada por el apoplasto, a través de transportadores ABC (*ATP-binding cassette*) y/o secundario (antiporter y symporter), impulsado por bombas de protones V-ATPasa y H⁺-PPasa (Martinoia *et al.*, 1993; Hatzios, 1997; Eerd, 2003). En la fase IV (procesamiento), los productos conjugados que fueron transportados son hidrolizados o degradados (Sandermann, 1992; Kreuz *et al.*, 1996; Coleman *et al.*, 1997).

2.3.5. Herbicidas utilizados en maíz

Los herbicidas empleados en el cultivo de maíz se eligen de acuerdo a las necesidades y estrategia de cultivo. Los efectos de los herbicidas generalmente ocurren entre los 7 a 15 días después de su aplicación (Rossi y Senigagliesi, 1985; Rossi *et al.*, 1984). En el cultivo de maíz, la mayoría de los herbicidas se aplican en etapas iniciales cuando las malezas se han desarrollado poco (dos a cuatro hojas). Entre los herbicidas recomendados para el control de malezas en maíz se encuentran los siguientes:

Atrazina es uno de los de mayor uso, es un inhibidor del fotosistema II (PSII), se ha utilizado durante más de 60 años desde su descubrimiento en 1958. La atrazina controla malezas de hoja ancha como *Xanthium strumarium* L., *Ambrosia artemisiifolia* L., especies de *Amaranthus* y otras monocotiledóneas (Richburg *et al.*, 2019).

S-metolaclo-ro es un herbicida que inhibe la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y controla el crecimiento de gramíneas anuales y las malezas de hoja ancha y porte bajo (Clewis *et al.*, 2006).

Nicosulfurón es un herbicida de la clase de las sulfonilureas y se recomienda para el control postemergentes de malezas dicotiledóneas. Los herbicidas en este grupo inhiben la acetolactato sintasa (ALS); esta es la primera enzima en la ruta de la biosíntesis de aminoácidos de cadena ramificada, como valina, leucina e isoleucina. Así, estos herbicidas interrumpen la síntesis de proteínas, lo que conduce a la inhibición de la división celular y crecimiento de las plantas (Cavalieri *et al.*, 2012).

El uso continuo de un mismo herbicida durante años puede crear resistencia en las plantas de las malezas contra ese herbicida que reducen la eficacia del producto, por lo que el uso alternado de otros herbicidas o mezclas evita el desarrollo de resistencia (Kebede, 2017).

2.4. Mesotriona

La mesotriona [2-(4-metilsulfonil-2-nitrobenzoilo) 1,3-ciclohexanediona] es otro herbicida usado ampliamente en el cultivo de maíz. Este compuesto es de la familia química de las triketonas, que se han investigado en el ámbito agroquímico y la protección de cultivos durante años (Beaudegnies *et al.*, 2009). La fórmula química de la mesotriona es $C_{14}H_{13}NO_7S$ y su peso molecular es $339.32 \text{ g mol}^{-1}$; su solubilidad en agua es moderada: 160 mg L^{-1} (a $20 \text{ }^\circ\text{C}$), y es altamente soluble en acetona, acetato de etilo, tolueno y xileno (PPDB, 2014). La mesotriona se utiliza sola o combinada con otros herbicidas en pre o post-emergencia para controlar malezas de hoja ancha en cultivos de maíz de todo el mundo (Sullivan *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2019), incluyendo el *Amaranthus retroflexus* L., *Chenopodium album* L., *Xanthium strumarium* L., *Polygonum persicaria* Mill. y *Ambrosia trifida* L. También se utiliza para controlar algunas especies de gramíneas, entre ellas *Digitaria sanguinalis* L., Scop. y *Echinochloa crus-galli* L. Beauv. (Armel *et al.*, 2003; Sullivan *et al.*, 2002). Por lo tanto, se requiere una gestión química, especialmente en el “período crítico” de competencia, entre la emergencia y la etapa V7 (Kozlowski, 2002), que corresponde a aproximadamente 42 días después de la siembra (Bulegon *et al.*, 2019). Mesotriona fue registrado en 2001 como herbicida para el control de la maleza de hoja ancha que se aplica en pre y postemergencia. La

autorización del uso de este herbicida terminó en julio de 2016, pero la Comisión Europea renovó la aprobación de la mesotriona hasta el 31 de mayo de 2017 (Barchanska *et al.*, 2014).

La mesotriona puede causar hasta 35% de fitotoxicidad en las plantas de maíz (Bulegon *et al.*, 2019). La toxicidad se caracteriza por la presencia de zonas descoloridas en las hojas nuevas. Esas zonas cloróticas cambian a necróticas con el tiempo (Barchanska *et al.*, 2014); todo esto interfiere en el desarrollo del cultivo (Ogliari *et al.*, 2014). Los síntomas descritos que provoca este herbicida en las plantas susceptibles, desde la presencia de lesiones blanquecinas en tejido meristemático, disminución del crecimiento y desarrollo de necrosis ocurre en 3 a 5 días (Soltani *et al.*, 2014). Actualmente, mesotriona es distribuido comercialmente por la empresa Syngenta® con el nombre comercial de Callisto® 450 S.

2.4.1. Efecto fisiológico y bioquímico de mesotriona

La mesotriona es inhibidora de la 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (4-HPPD) (Richburg *et al.*, 2019); esta enzima participa en la síntesis de plastoquinona (PQ), cataliza la formación de homogentisato a partir del 4-hidroxifenilpiruvato en una reacción que incluye la descarboxilación de la cadena del 4-hidroxifenilpiruvato y una hidroxilación del anillo aromático, con migración del grupo carboximetil (Duke y Dayan, 2001).

Las PQs son portadoras solubles de electrones entre ambos fotosistemas, PSII-PSI, ya que, son el vínculo entre los aceptadores primarios de electrones del PSII (QA y QB) y el citocromo b₆f (Cyt b₆f). Además, la PQ participa en la formación del

gradiente de protones en los tilacoides, necesario para la síntesis de ATP en el cloroplasto (Cramer *et al.*, 1991; Kramer *et al.*, 2003).

La PQ también participa en la fotoprotección como depósito de “secuestradores” de oxígeno singlete (Ksas *et al.*, 2018) y regula la transición de estado, mediante la unión de PQ reducida (PQH₂) al Cyt b₆f que desencadena una señal de transducción para la activación de la cinasa del LHCII, lo que permite que las antenas del LHCII pasen del PSII al PSI (Allen *et al.*, 1981; Horton y Black, 1981; Zito *et al.*, 1999).

Además, la PQ es un cofactor esencial de la fitoeno desaturasa y de la ζ-desaturasa de caroteno que interviene en la vía de la biosíntesis de carotenoides (Xu *et al.*, 2019) (Figura 1). La inhibición de la enzima 4-HPPD por herbicidas como mesotriona es irreversible, ya que se une al centro catalítico de la enzima. Al inhibirse la formación de la PQ durante el crecimiento de la planta, los niveles de este compuesto se reducen, y disminuye la disponibilidad del cofactor de la fitoeno desaturasa. Además de lo anterior, los niveles de tirosina, que es el precursor inmediato del 4-hidroxifenilpiruvato, aumentan. Por lo que, los herbicidas con este mecanismo de acción son inhibidores indirectos de la síntesis de carotenoides (Anzalone, 2005) (Figura 1).

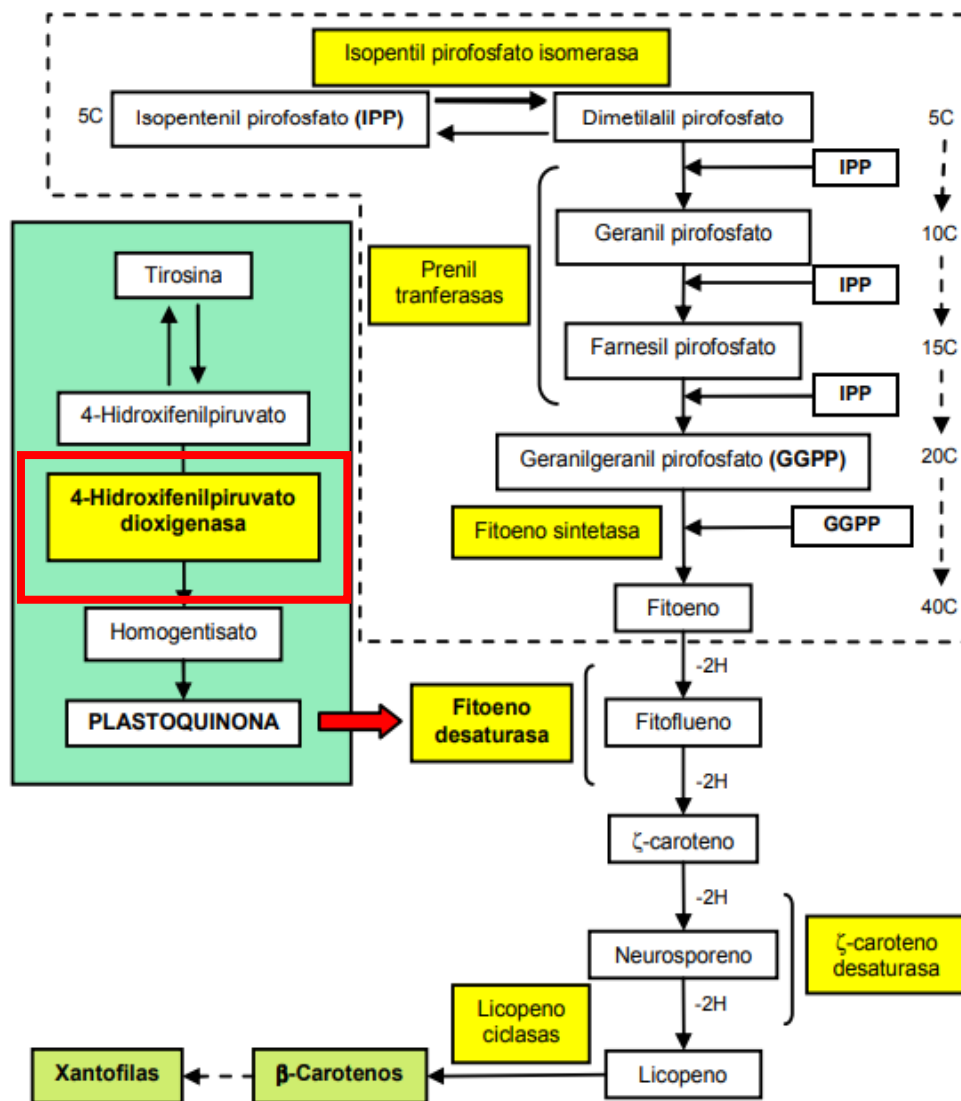


Figura 1. Secuencia de síntesis de carotenoides y sitio de acción de mesotriona en la síntesis de plastoquinona (recuadro rojo). (Modificado de Anzalone, 2010)

Los herbicidas que inhiben la 4-HPPD, generan síntomas y daños entre los que destaca el blanqueamiento (Anzalone, 2010). El efecto de blanqueo de los inhibidores de la 4-HPPD en las plantas, parece vinculado a un contenido bajo de PQ (Lee *et al.*, 1997); ya que, los carotenoides son pigmentos fotoprotectores y pueden prevenir la degradación de la clorofila (Frank y Cogdell, 1996) (Figura 2).

La disminución de las concentraciones de carotenoides puede amplificar la sensibilidad de los organismos fotosintéticos al estrés oxidativo. Además, los pigmentos carotenoides especiales, como las xantofilas, participan en la disipación del exceso de energía a través del ciclo de las xantofilas (Yamamoto, 1979; Allorent *et al.*, 2013). El estrés por alta luminosidad oxida la violaxantina a anteraxantina y finalmente en zeaxantina. Estas modificaciones producen cambios conformacionales del complejo de captación de luz del PSII (LHCII), que disipan el exceso de energía en forma de calor; lo que permite reducir la fotoinhibición (Demmig-Adams y Adams, 1992).

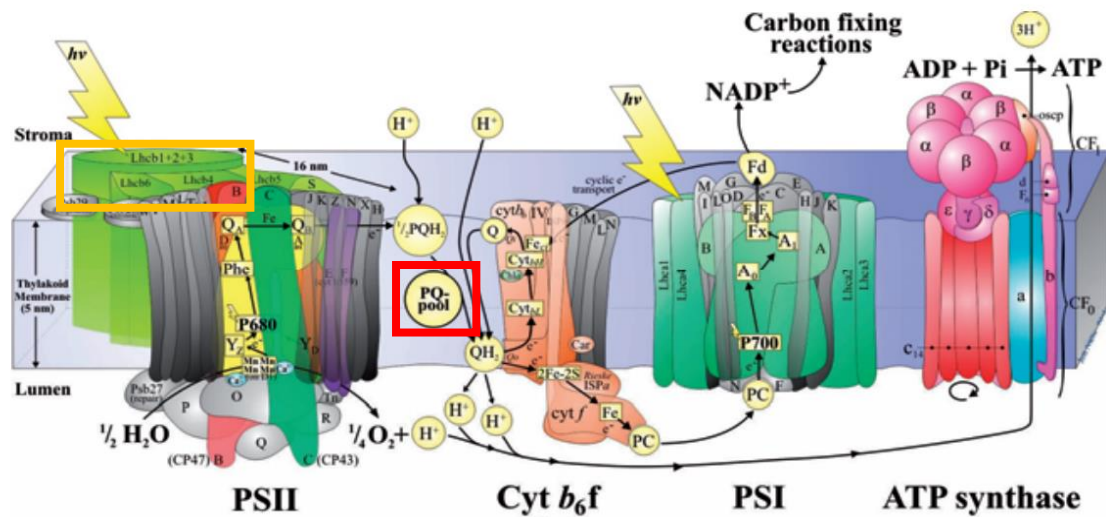


Figura 2. Esquema de la membrana tilacoidal y afectación del herbicida a nivel de fotosíntesis. El cuadro naranja indica daño a nivel de pigmentos fotosintéticos (clorofila a y clorofila b), además la eficiencia cuántica del PSII a través de la fluorescencia; el cuadro rojo señala el modo de acción de mesotriona involucrando la síntesis de plastoquinona. Cortesía de J. Nield (Imperial Collage London).

2.4.2. Resistencia de maíz a mesotriona y a otros herbicidas

En América del Norte y Europa, la resistencia de malezas en el cultivo de maíz se ha convertido en un factor particularmente para dos clases de herbicidas, las triazinas y los inhibidores de la ALS. Los cultivos de maíz en los EE. UU. y Europa están infestados por diversas gramíneas anuales de verano y malezas de hoja ancha. Los biotipos de malezas *Sonchus oleracea* L. y *Xanthum strumarium* L. son resistentes a herbicidas inhibidores de la ALS que se aplican a los cultivos de maíz; en combinaciones con mesotriona se obtuvo un control significativo respecto a aplicaciones de los herbicidas aislados. En otras pruebas con mezclas de mesotriona y triazina mostraron un control sinérgico efectivo para las malezas: *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium* spp. y *Solanum* spp; que son resistentes a triazina (Sutton *et al.*, 2002).

Recientemente, una de las malezas que ha desarrollado resistencia a herbicidas de la familia de las triketonas (mesotriona, tembotriona y topramezona), que inhiben la enzima 4-HPPD, es *Amaranthus tuberculatus* (var. *rudis*), presente en cultivos de maíz (Olivera *et al.*, 2018).

El maíz es tolerante a la mesotriona a través de una reacción de hidroxilación, catalizada por la actividad P450, en combinación con una absorción más lenta en relación con las malezas sensibles y una forma menos sensible de la enzima 4-HPPD en pastos en relación con dicotiledóneas (Ma *et al.*, 2013).

2.4.3. Contaminación de mesotriona en el ambiente

El aumento de la productividad a menudo se obtiene con métodos que alteran el ambiente, principalmente debido al manejo inadecuado del suelo y al uso masivo

de agroquímicos. Según las características físico-químicas del herbicida y del suelo, además de las condiciones del suelo y clima, los herbicidas pueden o no degradarse durante el ciclo de cultivo. El período de permanencia de estos compuestos en el suelo depende de la lixiviación, el potencial de adsorción, su transformación química y degradación biológica (Mendes *et al.*, 2015).

Mesotriona tiene un efecto favorable en el ambiente y su perfil toxicológico con una toxicidad relativamente baja para mamíferos, aves y especies acuáticas (Sullivan *et al.*, 2002). Sin embargo, se ha demostrado el riesgo alto de que mesotriona tiene potencial de contaminación de las aguas subterráneas y el riesgo potencial intermedio de contaminación de las aguas superficiales (Martinazzo *et al.*, 2011).

Estudios realizados en Ontario, Canadá, demostraron que la remolacha (*Beta vulgaris* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), guisante (*Pisum sativum* L.) y soya (*Glycine max* L.) son especies bioindicadoras, eficaces para detectar residuos de mesotriona en suelo con 5% de arcilla, en campo e invernadero (Riddle *et al.*, 2013).

2.5. Cultivares de maíces seleccionados para evaluación del efecto de mesotriona

2.5.1. Cacahuacintle

Cacahuacintle es una raza de maíz de grano grande y harinoso, predomina el grano blanco, aunque también puede presentar coloraciones rosas o azules. Los cultivares de esta raza se cultivan principalmente en los valles altos centrales del país, en gran parte de los estados de México, Ciudad de México, Tlaxcala y algunas

zonas templadas de Puebla, en partes altas y con temperaturas bajas (Wellhausen *et al.*, 1951). Por sus hojas péndulas (caídas) tolera las granizadas, característica que también se presenta en otras razas del grupo Cónico (CONABIO, 2010).

El grano de maíz Cacahuacintle se consume como elote y usa para preparar pozole, pinole, atole, galletitas y harina. Dada su calidad de grano, el kilogramo de este adquiere valores mayores al maíz blanco común (Wellhausen *et al.*, 1951).

2.5.2. HS-2

El HS-2 es un híbrido trilineal, desarrollado en el área de mejoramiento y control de calidad genética de la orientación académica en Producción de Semillas del Colegio de Postgraduados (Carballo-Carballo & Regalado-López, 2016).

El cv. HS-2 es un híbrido con potencial productivo para grano y forraje, es resistente al acame y hasta el momento no ha presentado el problema de la enfermedad conocida como carbón de la espiga producido por *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae* (Kühn). De acuerdo con resultados comerciales de lotes ubicados en el Estado de México, Hidalgo, Puebla y Tlaxcala, su rendimiento promedio de grano con manejo adecuado es de 12 ton ha⁻¹; aunque su potencial es de 15 ton ha⁻¹ en condiciones óptimas de manejo (Cueto-Wong *et al.*, 2006). El grano presenta calidad para nixtamalización y elaboración de tortilla. La producción de forraje verde es de 90 ton ha⁻¹ (30 ton ha⁻¹ de materia seca y 1.9 ton ha⁻¹ de proteína) (Carballo-Carballo & Regalado-López, 2016). Las zonas de adaptación del cv. HS-2 son los Valles Altos Centrales de la República Mexicana como el Valle de México, y los Valles de Puebla, Tlaxcala, Hidalgo y Ciudad de México (Cueto-Wong *et al.*, 2006).

2.5.3. Vitamaíz

Vitamaíz es un cultivar mejorado de maíz azul, desarrollado en el Departamento de Ingeniería Genética del Cinvestav, Unidad Irapuato. Este cultivar conjuga las propiedades nutraceuticas de los maíces criollos azules con las características agronómicas y fenotípicas de variedades denominadas variedades élite (Cubedo, 2016).

El proceso que se ha llevado a cabo para la obtención de las nuevas variedades de maíz azul ha sido mediante procedimientos tradicionales de mejoramiento. Para esto, se emplearon cruces entre variedades de maíz azul criollo, así como su alto contenido de antocianinas en el grano con líneas de maíces blancos y amarillos del CIMMYT, seleccionadas por sus propiedades agronómicas y nutraceuticas (Cubedo, 2016).

2.6. Fenotipo

El fenotipo moderno, se define como el conjunto de métodos no invasivos con tecnologías digitales que provee información esencial sobre la interacción genotipo con el medio, usados con propósitos de mejoramiento genético y/o de análisis de alteraciones visuales en plantas (Costa *et al.*, 2019). Estos métodos permiten evaluar un número mayor de plantas en menos tiempo que los métodos tradicionales, además las plantas no se destruyen (Chen *et al.*, 2014). La cantidad de información que se genera permite calificar estas caracterizaciones como fenotipo de alto rendimiento, o en inglés *High throughput Phenotyping*. El interés por el uso de dichos métodos se basa en las características de las plantas con algún tipo de estrés y su respuesta variada al ambiente (como cambios en la

pigmentación) relacionadas con su fisiología, morfología y forma. Las velocidades de los cambios son determinados mediante el análisis de protocolos conocidos como fenotipaje o *Phenotyping*, los cuales define la interacción del genotipo con el ambiente: $G \times A = F$, donde G es el genotipo, A el ambiente y F el fenotipo (Tuberosa, 2012) y analizados en alto número de datos.

2.6.1. Características de sensores y softwares usados en fenotipo

Las bases de datos generados forman parte de las tecnologías del “*Omics*”, con las siguientes características: 1) uso de plataformas de fenotipaje adaptadas para obtener imágenes con longitudes de ondas del espectro visible (VIS) e infrarrojo (IR), con sensores para cuantificar la fluorescencia (FLUO). En conjunto, se obtiene información de caracteres morfológicas y de segmentación de color que a simple vista no se detectan y con gran número de copias (Kwon *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2015). Además de la captura de cientos de imágenes con los diferentes sensores con diversas longitudes de onda, la extracción de caracteres fenotípicos requiere programas de cómputo especializados, diseñados para generar datos cuantitativos en la medición de altura, espesor, anchura y cambios de color (Padilla-Chacón *et al.*, 2019).

Entre los programas que se han diseñado para la extracción de caracteres morfo fisiológicos resaltan los simples y que no es necesario conocimiento avanzado en programación, este es el caso de PlantCV (Gehan *et al.*, 2017), OpenStart (Haselimashhadi *et al.*, 2020), Phenotiki (Minervini *et al.*, 2017). Además, de programas diseñados por compañías que fabrican las plataformas de fenotipaje con los programas integrados como la compañía alemana LemnaTec® que ofrece el

programa LemnaGrid y Photosystem Instrument® de la compañía de la República Checa.

2.6.2. Análisis de imágenes por segmentación de color

El análisis de segmentación de color con programas que separan los colores de una imagen en RGB, es una de las herramientas útiles para evaluar el daño en tejidos con pigmentación como hojas, tallos, flores y frutos (Hartmann *et al.*, 2011). Estos análisis se han utilizado en investigación (Araus *et al.*, 2012). Los resultados permiten diagnosticar con precisión los cambios ocasionados por el ambiente o patógenos en las plantas.

2.6.3. Fenotipo en maíz

Actualmente, existe investigación para analizar el fenotipo como respuesta de la interacción genotipo x ambiente (Tuberosa, 2012). Existen evaluaciones en maíz en respuesta al estrés abiótico (Masuka *et al.*, 2012), en relación con variación genética en respuesta al ambiente (Muraya *et al.*, 2017) con hojas con cámaras hiperespectrales (Ma *et al.*, 2013), acumulación de biomasa (Chen *et al.*, 2014) y en sistemas remotos para el análisis (Liebisch *et al.*, 2015).

La fluorescencia es un fenómeno foto-físico de las moléculas de clorofila, que permite estudiar la función del fotosistema II (PSII) durante el transporte electrónico en la fotosíntesis y la sensibilidad del PSII al daño que puede sufrir por efecto de diferentes estreses, y las consecuencias que esto tiene en el proceso global de la fotosíntesis (Fiorani y Schurr, 2013).

La detección de la fluorescencia permite evaluar los daños en el aparato fotosintético a nivel de la eficiencia cuántica del fotosistema II (Fiorani y Schurr, 2013). Recientemente, se han desarrollado cámaras que cuentan con sensores a la longitud de onda de absorción de la fluorescencia, que permite evaluar las afectaciones causadas en la fotosíntesis debido al estrés biótico y abiótico. Las investigaciones de fluorescencia en hojas de maíz son escasas, Cardona *et al.* (2015) evaluaron los cambios en la fluorescencia de la clorofila *a* en hojas de maíz debidos al daño por la infección del hongo *Stenosclerotinia macrospora*. Adicionalmente, en plántulas de varias especies, entre ellas maíz se evaluó el efecto de la exposición a bisfenol A en la fluorescencia de la clorofila (Zhing *et al.*, 2015).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, el éxito del control químico en las malezas, en forma selectiva, radica en el proceder que tienen los herbicidas en cambiar el metabolismo de las malezas, de tal manera que impidan su crecimiento y desarrollo, sin afectar a los cultivos. Todo herbicida actúa sobre alguno de los procesos fisiológicos de la planta. Sin embargo, muchas veces los herbicidas dañan en cierto grado a las plantas cultivadas, afectando el desarrollo y crecimiento e incluso el rendimiento final. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto de los herbicidas en las plantas cultivadas, por lo que resulta necesario evaluar los efectos de herbicidas y el impacto en diversos genotipos con el propósito de poseer conocimiento del manejo adecuado y evitar uso excesivo que podría afectar el ambiente.

Determinar la tolerancia o susceptibilidad de estos herbicidas en cultivares de maíz para realizar algún tipo de mejoramiento genético, tomando en cuenta las dosis y los mecanismos de aplicación, podría disminuir el uso de estos agroquímicos y ser una gran aportación al medio ambiente, así como disminuir los costos de producción. Con el uso y aplicación de nuevas tecnologías de fenotipaje aportará a la solución a problemas en el manejo de malezas en maíz.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos concentraciones del herbicida mesotriona en el fenotipo y fisiología de plantas de maíz (Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz) en la etapa V3-V4.

4.1.1. Objetivos particulares

- Determinar los cambios morfo fisiológicos y fenotipo en plantas de maíz tratadas con mesotriona por medio de imágenes digitales en RGB.
- Cuantificar en imágenes digitales el porcentaje de daño en hojas de plantas de maíz expuestas a la mesotriona en color verde (saludable) y amarillo (senescencia).
- Determinar el daño de la mesotriona sobre la eficiencia fotoquímica del PSII representados en imágenes de fluorescencia y valores F_v/F_m .

5. HIPÓTESIS

La mesotriona es un herbicida que altera componentes esenciales para la fotosíntesis, por lo que su efecto en el fenotipo y fisiología de las plantas de maíz difiere significativamente entre cultivares.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Material biológico

Para esta investigación se evaluaron los cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz E3E4. Los cultivares Cacahuacintle y HS-2 los donó el Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados. El cultivar Vitamaíz E3E4 lo donó el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav), Unidad Irapuato.

6.2. Sitio experimental

La investigación se realizó en instalaciones del Programa de Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. México (Valles Altos, entre 19° 29' N y 98° 53' O y 2,250 m de altitud), en condiciones de invernadero con una temperatura promedio de 28 °C durante los meses de marzo - junio del 2020.

6.3. Evaluación en la etapa vegetativa V3-V4 y diseño experimental

Semillas de los tres cultivares se sembraron en macetas de plástico de 1.2 kg de capacidad, con turba vegetal (PRO-MIX®). En cada maceta se mantuvo una planta con riego a capacidad de campo hasta la etapa V3 o tercera hoja expuesta. Cada maceta se fertilizó al inicio de la formación de la primera hoja y así cada ocho días hasta la etapa V3 con una solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984).

Las plantas se distribuyeron en un diseño experimental en bloques completos al azar con un arreglo factorial (A × B), donde el primer factor (A) representa al herbicida mesotriona (Callisto® 480 SC, Suiza) y el segundo factor (B) a los tres cultivares de maíz. Los tratamientos estuvieron representados por los cultivares y dosis de mesotriona, más dos controles (agua y coadyuvante). El factor A tiene tres

niveles, que representan el tratamiento con coadyuvante, y los tratamientos a dosis 1X y 2X. El factor B representa tres niveles, que son los cultivares; y como tratamientos adicionales fueron tres, un control con agua para cada cultivar. La unidad experimental fue una planta en una maceta y cuatro repeticiones por tratamiento.

Las diluciones se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante, 1 mL de mesotriona + 1 mL de coadyuvante, que corresponde a 1X o 80 g de i.a. ha¹ y el doble para la concentración 2X. Ambas concentraciones se mezclaron a un volumen final de 1 L (v/v). Los tratamientos, con coadyuvante y las dosis de mesotriona se aplicaron utilizando un pulverizador de alta presión para plantas (Lalatech[®]) con una boquilla de abanico XR 11003 (Teejet[®], EE.UU.) calibrado para liberar un volumen de 1.5L⁻¹ en aspersion a una presión de 2.5-3 bar y a una altura constante de 40 cm.

6.4. Variables del fenotipo

6.4.1. Estimación de biomasa digital, altura y área foliar

El fenotipo de las plantas se evaluó con el sistema de adquisición de imágenes Scanalyzer PL (LemnaTec). Cada planta, en su maceta, se colocó en la cabina de la plataforma iluminada con lámparas de luz blanca, se obtuvieron imágenes con la cámara superior (*top view*) y lateral (*side view*) en la región visible del espectro, RGB (400-700 nm). Las imágenes se obtuvieron diez días después de la aplicación del herbicida (tiempo 1). La resolución de las cámaras (Baster AG, Ahresburg Germany) permitió obtener imágenes con 1628 x 1236 píxeles y 4.4 x 4.4 µm por píxel. Las imágenes fueron en total 192, que se exportaron al programa LemnaGrid.

El análisis inicial separó las imágenes del primer plano y del fondo (*foreground* y *background*) las vistas superior y lateral. En cada imagen se calculó cuantitativamente la biomasa digital, que correspondió al volumen por pixel y es una aproximación de la biomasa fresca de la planta. Las otras variables obtenidas de las imágenes se identificaron como; área proyectada por mm^2 , envolvente convexa o *convex hull area* por su nombre en inglés, que se refiere al área que cubre la planta en circunferencia tomada desde los puntos extremos (cm^2), longitud de la pinza o *caliper length* que se refiere a la longitud en línea recta desde los puntos extremos de la planta (mm) y compactación o *compactness* es un espacio ocupado por los extremos de las hojas, esta última calculada como el cuadrado que forma el borde de la planta dividido entre el área proyectada (Jansen *et al.*, 2009).

6.4.2. Segmentación de color

El programa LemnaGrid se utilizó para determinar el verdor de las plantas, que permite cuantificar síntomas como clorosis y necrosis en las láminas foliares con las imágenes con vista superior. El programa separó las imágenes con base en el color, esto resultó en imágenes binarias, con lo que se determinó la senescencia de las hojas, cuantificada por la segmentación de color, mediante la eliminación del fondo categorizando el color verde (tejido fotosintético) y amarillo (tejido con efectos del herbicida).

6.5. Peso seco del vástago

Después de obtener las imágenes de las plantas, las mismas se cosecharon, se colocaron en bolsas de papel y se mantuvieron a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, en una estufa

de secado con aire forzado (Blue M[®]) hasta alcanzar un peso constante. El peso seco se registró en una balanza digital (Scientech[®], EE.UU.).

6.6. Variables fisiológicas

6.6.1. Eficiencia fotosintética del fotosistema II

La eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) se determinó mediante la fluorescencia de la clorofila. Los resultados se expresaron como F_v/F_m , donde F_v es la fluorescencia variable ($F_m - F_0$), F_m la fluorescencia máxima y F_0 la fluorescencia inicial. La diferencia entre la fluorescencia generada con el primer estímulo de luz y la máxima estimulación con luz, es la fluorescencia emitida cuando los electrones son ocupados en la fotosíntesis por “cantidad” de luz absorbida.

Al finalizar la toma de imágenes con el Scanalyzer en el tiempo uno, se obtuvieron fragmentos de 16 cm² de la parte central de la hoja o de la que mostrara decoloración. En esos fragmentos se determinó la eficiencia fotosintética máxima del fotosistema II (Figura 3). Para esto, los fragmentos de hoja se mantuvieron en oscuridad por 30 min en una cámara cerrada (PhotoSystem Instruments Open FluorCam FC-800, República Checa); la fluorescencia se determinó con el programa FluorCam (versión 6), configurado para una lectura con la curva Kaustky y pulsos de luz constante. Los valores de F_0 y F_m se obtuvieron junto con las imágenes con la fluorescencia de las hojas.

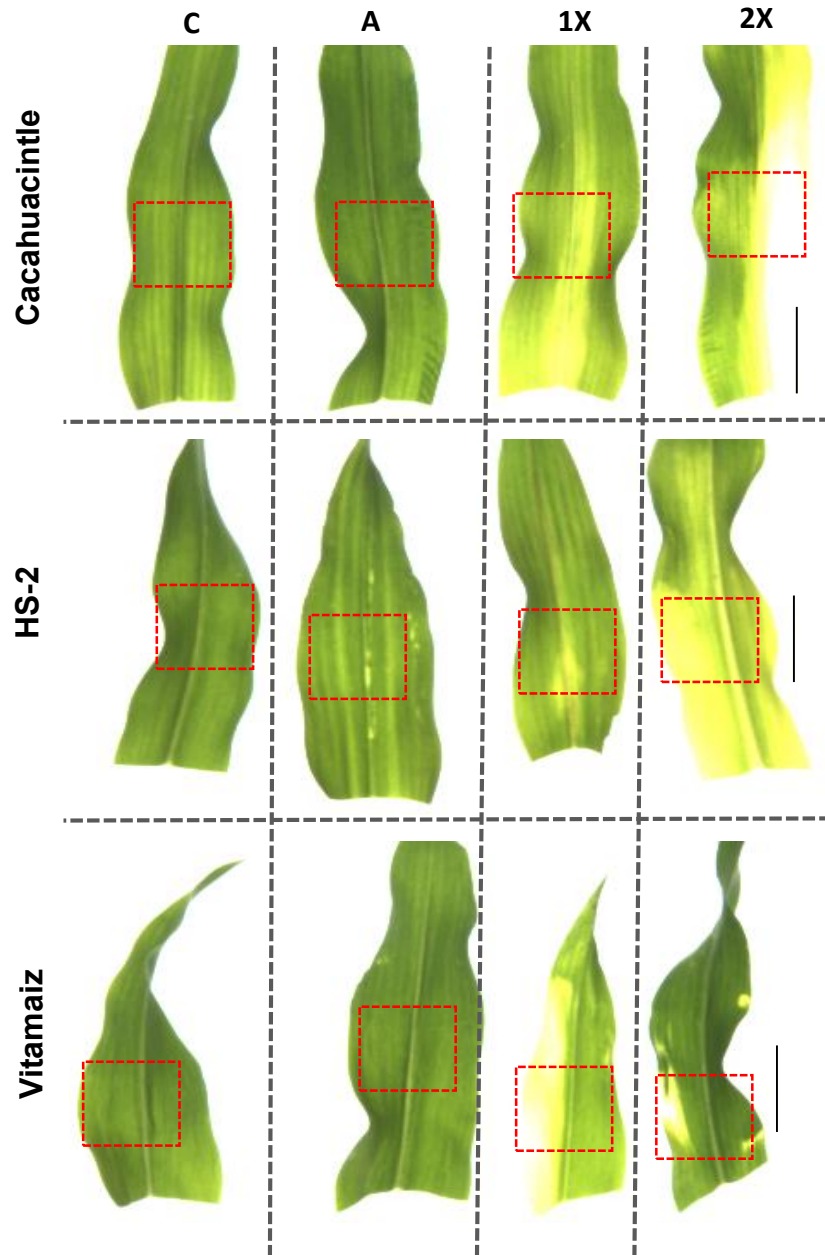


Figura 3. Hojas de los cultivares Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaiz en etapa vegetativa V3-V4 a los diez días después de la aplicación del herbicida mesotriona. Control (C), coadyuvante (A) y dosis 1X y 2X. Los recuadros rojos indican la zona recortada para el análisis de eficiencia cuántica del fotosistema II en el equipo FluorCam F-800. Barra representa 4 cm.

6.7. Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza, y comparación múltiple de medias, utilizando la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Se utilizaron los softwares Minitab® 19 y SAS® 13. Las figuras se procesaron en GraphPad Prism8.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis de imágenes

El efecto de mesotriona en los tres cultivares, se evaluó con la plataforma de fenotipo y el programa LemnaGrid en 384 imágenes adquiridas en vistas superior y lateral. Inicialmente, la separación del fondo o "*foreground*" y "*background*" se realizó en una imagen original (Figura 4 a-e), transformadas a escala de grises (Figura 4 b-f), y posteriormente en imágenes binarias en blanco y negro (figura 4 c-g), la cual se segmentaron en trazos (Figura d-h) que finalmente completó el análisis de las variables morfológicas en área proyectada (área), envolvente convexa, compactación, longitud de la pinza (Figura 4 i-j).

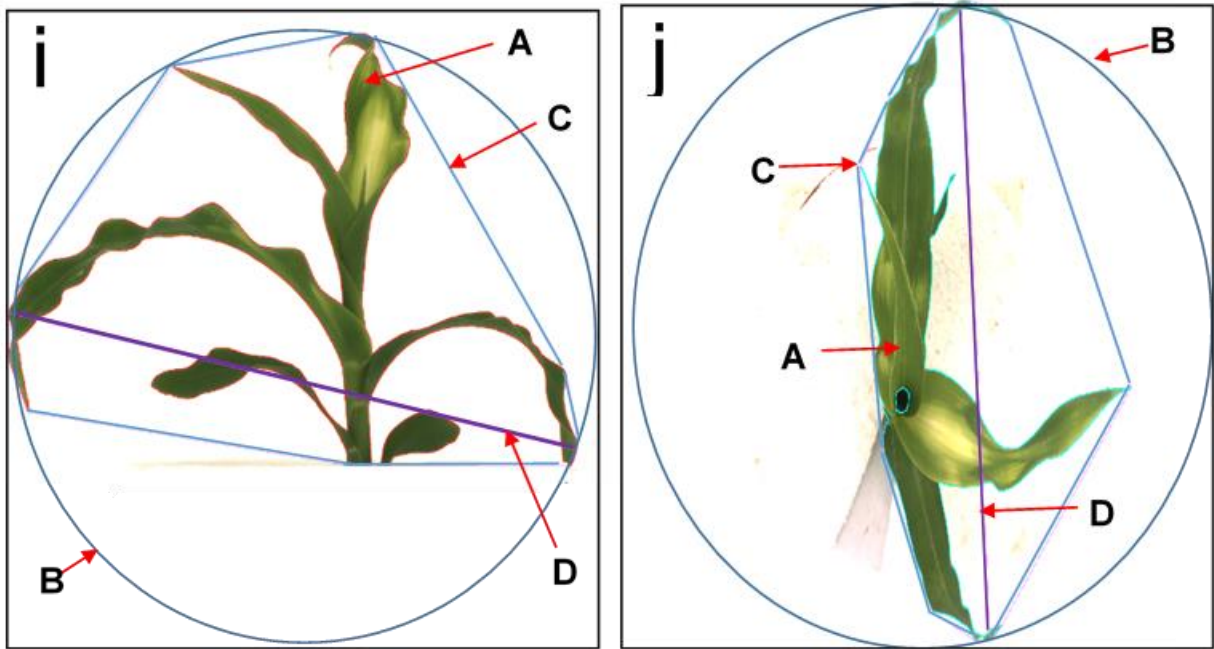
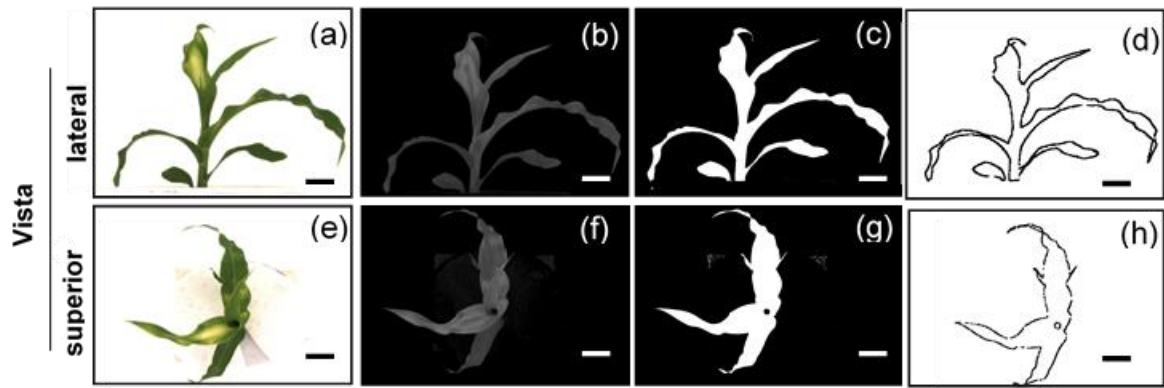


Figura 4. Imágenes tomadas en vista lateral y superior de plantas de maíz a los diez días de la aplicación de la mesotriona y procesadas para la obtención de parámetros morfológicos por el programa LemnaGrid. A) área proyectada, B) envoltive convexa, C) compactación, D) longitud de la pinza. La barra representa 3 cm.

7.2. Variables morfológicas

En el análisis cualitativo de las variables morfológicas en vista lateral y superior, no presentaron diferencias significativas en las dosis 1X y 2X de mesotriona (Figura 5), lo que demostró que el herbicida no afectó el desarrollo y crecimiento en los tres cultivares. Sin embargo, en vista lateral, se observaron diferencias entre cultivares independientemente de los tratamientos, es decir, Cacahuacintle fue superior 10-15% a HS-2 y Vitamaíz en las variables de área proyectada, envoltente convexa y longitud de la pinza, mientras que en la variable de compactación, Vitamaíz fue 15% mayor con respecto a Cacahuacintle y HS-2 (Figura 5). En vista superior, no se observaron diferencias significativas en las variables de área proyectada, envoltente convexa y longitud de la pinza, excepto en compactación que, de acuerdo al análisis estadístico, HS-2 y Vitamaíz, su crecimiento fue menor entre 5-7 % comparado con el cultivar Cacahuacintle (Figura 5).

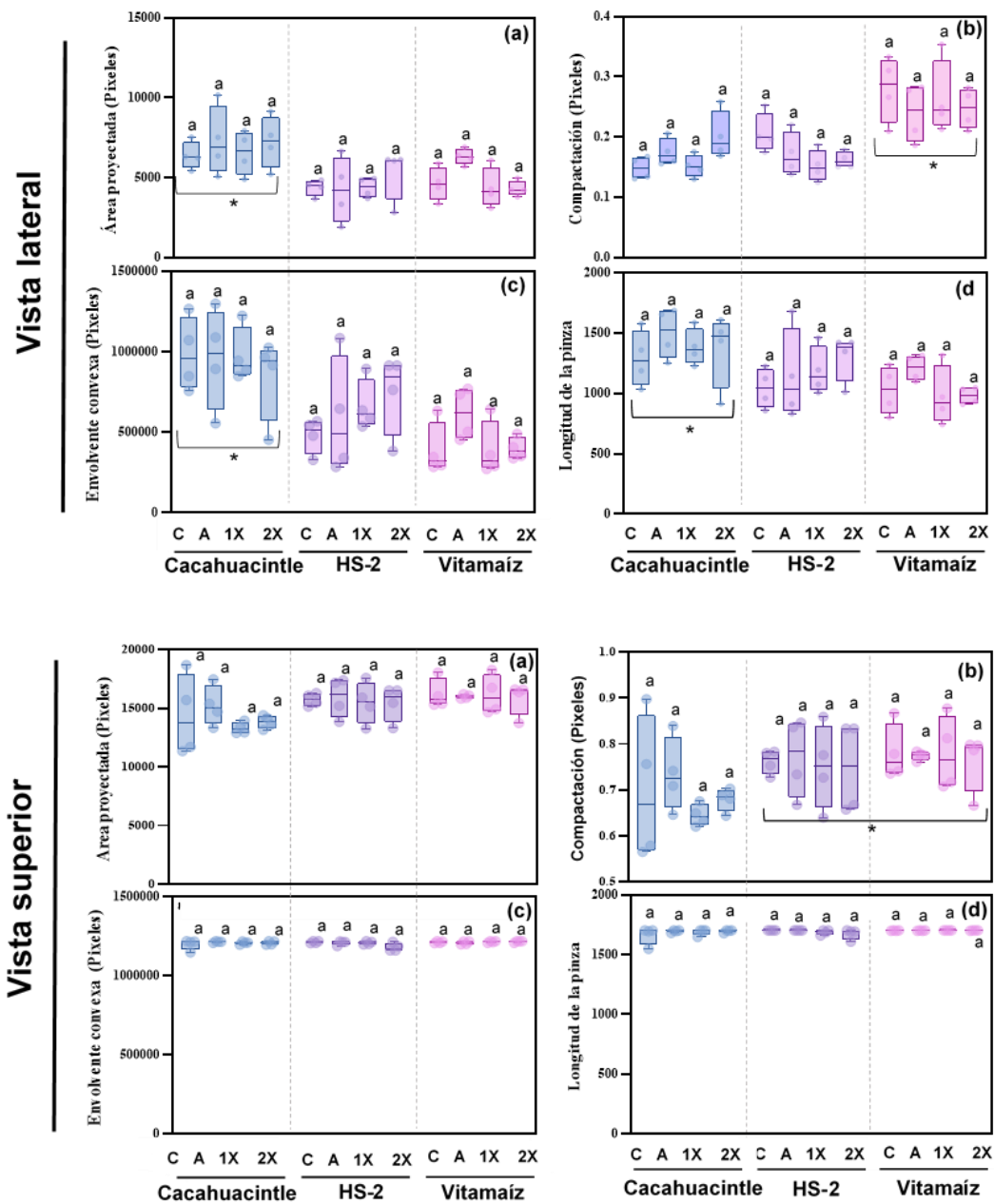


Figura 5. Variables morfológicas de plantas de maíz: a) área proyectada, b) compactación, c) envoltante convexa y d) longitud de la pinza; obtenidos con cámara lateral y superior: C) control, A) coadyuvante y dosis 1X y 2X de mesotriona. Las cajas azules corresponden al cultivar Cacahuacintle, púrpuras a HS-2 y rosas a Vitamaíz.

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey, $P > 0.05$). Los grupos con * son significativamente iguales*

7.3. Peso en biomasa seca

Los pesos secos de las plantas validaron los resultados obtenidos en las imágenes al no mostrar diferencias significativas en la biomasa seca entre los tratamientos. Respecto a las diferencias de biomasa entre cultivares, se encontró que Cacahuacintle y HS-2 fueron similares con un peso de entre 0.5 g a 0.7 g, pero diferentes a Vitamaíz con peso menor a 0.5 g (Figura 6). Dicha diferencia confirmó el resultado determinado para la variable de compactación en vista superior, en el cual el cultivar Vitamaíz fue 5-10% más compacto en comparación con los dos cultivares (Figura 5).

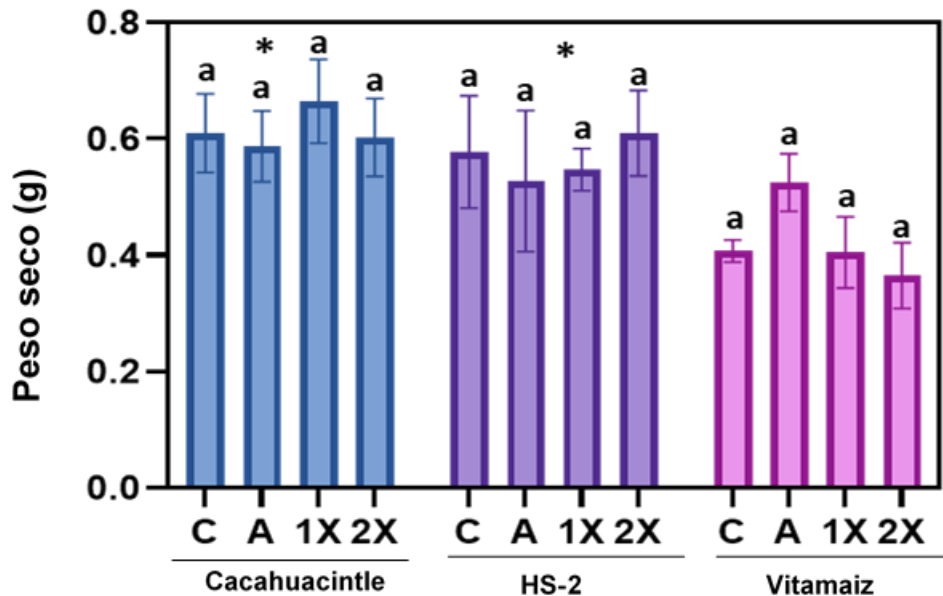


Figura 6. Pesos en biomasa seca de tres cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz, bajo el efecto del herbicida mesotriona a los diez días después de la aplicación en cuatro tratamientos: agua (C), coadyuvante (A), dosis comercial recomendada (1X) y doble de dosis (2X).

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey, $P > 0.05$). Los grupos con un * son significativamente iguales.*

7.4. Segmentación de color

A partir de las imágenes en vista superior, se evaluó, con el programa LemnaGrid, la pérdida de color verde por el efecto de mesotriona, el análisis se realizó segmentando la imagen en color verde (saludable) y amarillo (clorosis) en porcentaje (Figura 7). Los resultados mostraron que la pérdida de color verde en los tres genotipos fue del 10-15% con la dosis 1X de mesotriona en la lámina de la hoja. Al aumentar la dosis a 2X, los síntomas de pérdida de color verde se observaron con mayor variabilidad en los cultivares Cacahuacintle y HS-2 con la pérdida del 30% de color verde, mientras que Vitamaíz fue del 20% (Figura 7B).

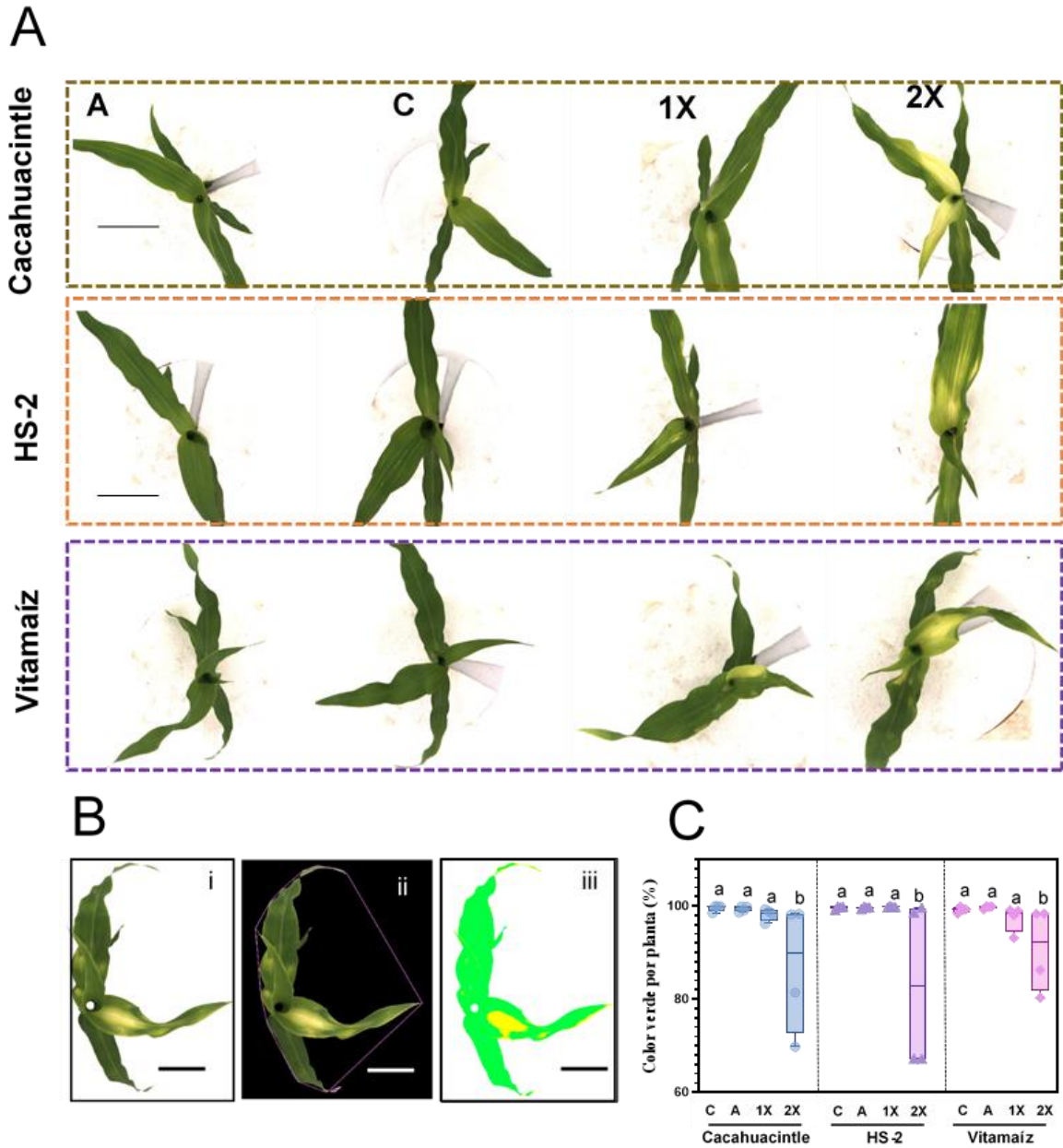


Figura 7. A. Ejemplo de imágenes tomadas en vista superior de los cultivares Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz a los diez días después de la aplicación de los tratamientos: A) Agua, C) coadyuvante y las dosis a 1X y 2X de mesotriona. **B.** Imágenes en vista superior analizadas en el programa LemnaGrid; i) imagen original, ii) variables morfológicas y iii) segmentación de color. **C.** Gráfica del porcentaje de color verde de los tres cultivares. La barra representa 3 cm.

Debido a que las imágenes en vista superior, donde las hojas jóvenes cubren a las inferiores, se evaluó con el programa LemnaGrid el nivel de daño de la mesotriona en la tercera hoja con el haz expuesto (Figura 8). Los resultados mostraron que la pérdida de color verde en ambas dosis de mesotriona fue 40-50% en los tres genotipos. Sin embargo, en el análisis de segmentación se mostró que la mitad de la hoja a partir de la base la pérdida de color verde fue del 60%-75% (Figura 8), mientras que en la parte superior la pérdida de color verde fue 15-30% a lo largo de la lámina (Figura 8) en algunas zonas con daño. Este resultado sugiere que la distribución del herbicida en el interior de tejido predomina de la base hacia el ápice sin seguir un patrón definido.

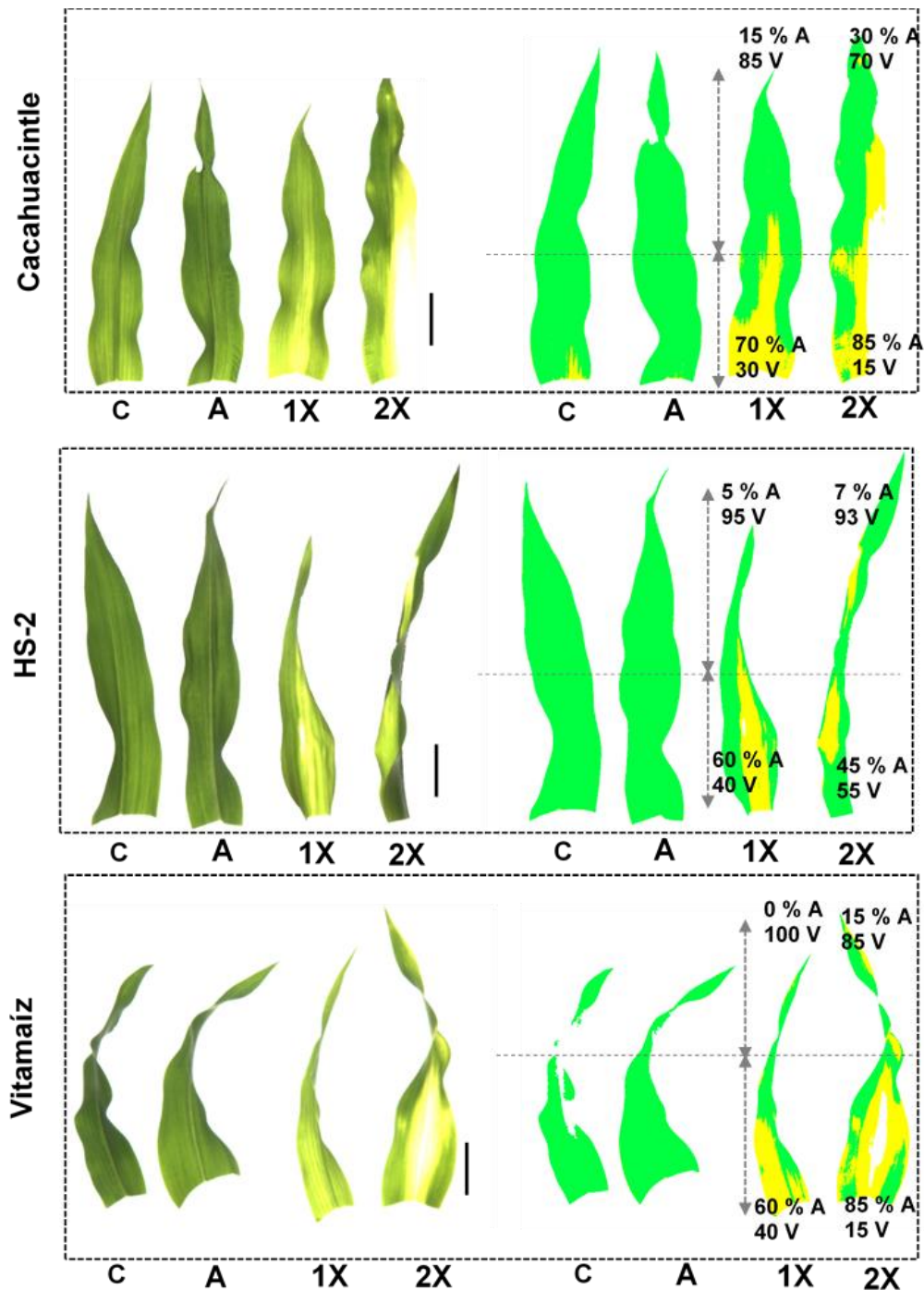


Figura 8. (Izquierda) Ejemplo de la vista superior de hojas analizadas a los diez días después de la aplicación de los tratamientos: A) Agua, C) coadyuvante y las dosis a 1X y 2X de mesotriona. **(Derecha)** Análisis de las hojas en porcentaje de color verde y amarillo con el programa LemnaGrid. La barra corresponde a 4 cm. Las líneas punteadas representan la separación de la lámina en parte basal y parte apical con los porcentajes de color verde (V) y amarillo (A).

7.5. Índice Fv/Fm

Los resultados cualitativos de (Fv/Fm) en imágenes de fluorescencia (Figura 9A) de los tres cultivares mostraron que en condiciones control (agua y coadyuvante), el color rojo predominó en la mayor parte del tejido con valores de Fv/Fm igual a 0.8. (Figura 9A). En las imágenes de los tres cultivares a dosis 1X, el color rojo disminuyó y cambió a amarillo-verde que de acuerdo con la escala de color representa valores de Fv/Fm entre 0.6-0.7. Sin embargo, pudo detectarse diferencias en la proporción de color amarillo y verde entre los tres cultivares. HS-2 disminuyó el color amarillo casi en su totalidad cambiando a verde, mientras que en los cultivar Cacahuacintle y Vitamaíz el color se mantuvo en algunas regiones de la hoja. En la dosis a 2X, los fragmentos de las hojas mantuvieron las mismas diferencias que a la dosis 1X, incluso con ligero aumento del color amarillo. Estos resultados fueron validados cuantitativamente con el programa FluorCam7 (Figura 9B). Los promedios de Fv/Fm indicaron que no hubo diferencias significativas en el cultivar Cacahuacintle en las dosis 1X y 2X con respecto a los controles, este resultado coincide con el color amarillo en las imágenes (Fv/Fm = 0.7). En contraste, en los cultivares HS-2 y Vitamaíz se observó disminución de los valores de Fv/Fm entre 0.6-0.7 dado que en las imágenes el color amarillo tuvo menos intensidad de color (Figura 9B).

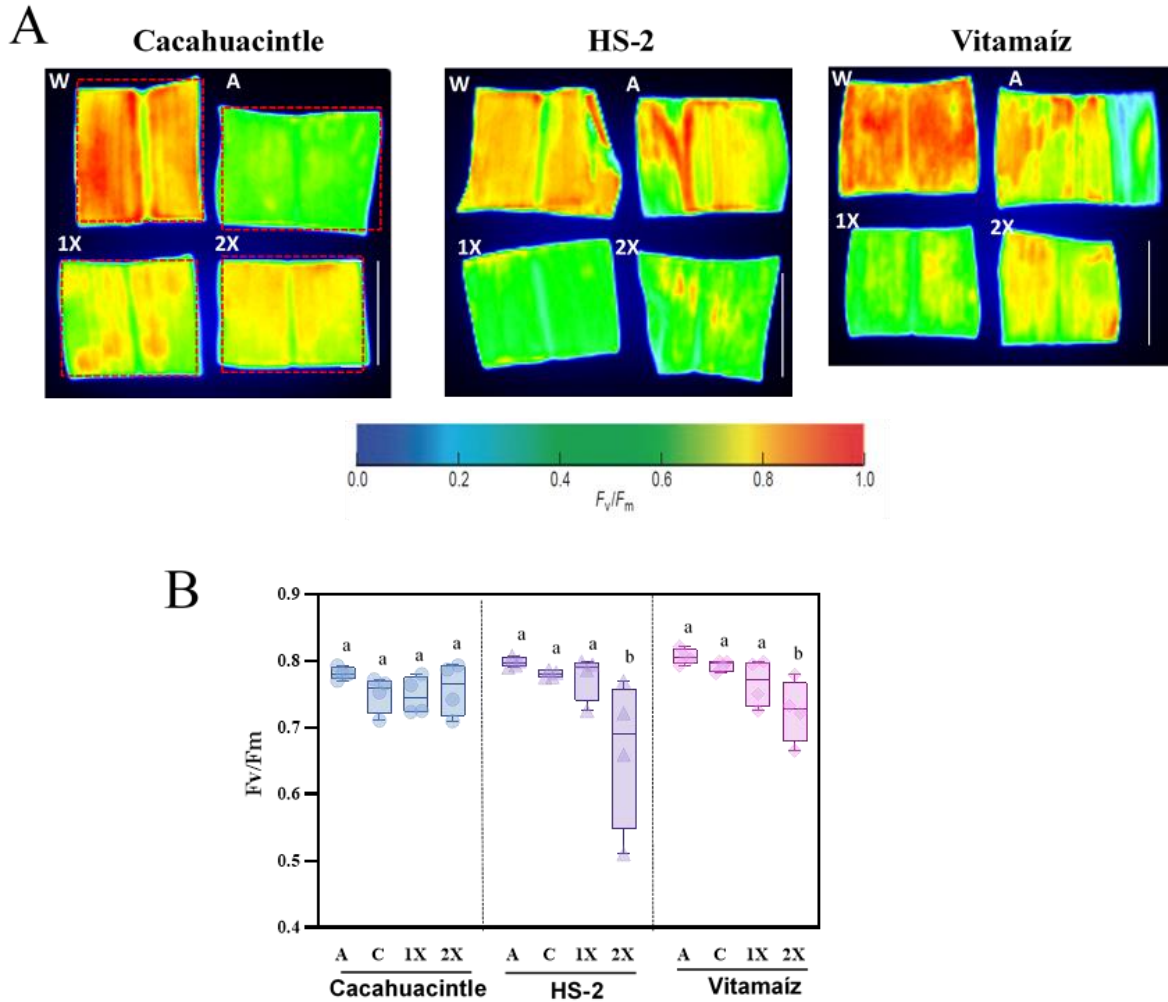


Figura 9. A. Imágenes de fluorescencia de la clorofila *a* en fragmentos de la tercera hoja de planta de maíz de los tres cultivares (Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz) en condiciones control (C), coadyuvante (A), 1X y 2X de mesotriona. La barra representa la escala de color mostrando la eficiencia cuántica del fotosistema II (F_v/F_m) en valores de 0 a 1.0. **B.** Promedio ($\pm e.e$) del rendimiento cuántico de fotosistema II (F_v/F_m) de los fragmentos de hoja.

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey, $P > 0.05$. Los grupos con un * son significativamente iguales.*

8. DISCUSIÓN

El fenotipo es una herramienta que a través de imágenes adquiridas con sensores de longitudes de onda en el rango visible (RGB), fluorescencia (FLUO) e infrarrojo (INFRA) permiten evaluar los cambios morfo fisiológicos en respuesta al estrés biótico y abiótico de forma rápida, no invasiva y en número de plantas que puede llegar a miles con diferentes condiciones ambientales (Li *et al.*, 2014). Las imágenes adquiridas se almacenan en Gigabytes de memoria que se procesan con algoritmos o programas que miden o cuantifican variables morfológicas en valores numéricos (Feng *et al.*, 2018; Rousseau *et al.*, 2013). Entre los programas que se han diseñado para la extracción se encuentran: CVPlant (Gehan *et al.*, 2017), OpenStart (Haselimashhadi *et al.*, 2020), Phenotiki (Minervini *et al.*, 2017) y LemnaGrid (Klukas *et al.*, 2016).

En el presente estudio se evaluó el efecto de la mesotriona en plantas de maíz con imágenes en RGB y fluorescencia, las cuales fueron analizadas con los programas LemnaGrid y FLuorCam7 respectivamente. Ambos programas han sido usados en diversos trabajos relacionados con el estrés abiótico, que demuestran análisis prácticos y confiables en índices de productividad, por ejemplo; bajo condiciones de deficiencia de nitrógeno en dos especies de sorgo (*Sorghum bicolor* y *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) (Neilson *et al.*, 2015), se demostró tolerancia a bajos niveles de nitrógeno en el suelo en especies de sorgo poco estudiadas. Adicionalmente, estudios en estrés por sequía en cebada (*Hordeum vulgare* L.), *Arabidopsis* (Acosta-Gamboa *et al.*, 2016) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Rosseau *et al.*, 2013; Padilla-Chacón *et al.*, 2019) se demostró que el fenotipo de alto

rendimiento es una herramienta que ayudó a identificar caracteres de adaptabilidad al estrés.

Además de las variables morfológicas que se obtienen con el programa LemnaGrid resalta otro de sus usos para la cuantificación de color, por ejemplo, senescencia (Padilla-Chacón *et al.*, 2019), daño por patógenos o el que se refiere al carácter denominado estado de verdor o “*stay green*” o *greenless* por sus nombres en inglés. La capacidad de un tejido para permanecer verde en condiciones adversas es de gran importancia agronómica dado que la fotosíntesis permanece activa por mayor tiempo y proporciona información sobre el estado fisiológico en una hoja o tejido fotosintético (Wang *et al.*, 2016; Thomas *et al.*, 2014; Lopes *et al.*, 2012). Los cambios de pigmentación en un tejido permiten obtener un grupo de datos relacionados con los parámetros de color que cuantifican la capacidad fotosintética de un tejido (Yavad *et al.*, 2010).

En el presente estudio se evaluaron cultivares con diferente almacén genético. Los síntomas provocados por el herbicida fueron pérdida de color verde (clorosis). Los resultados obtenidos con la plataforma Scanalyzer PL mostraron que variables como “biomasa digital” o área proyectada, *compactación*, *longitud de la pinza*, y *envolvente convexa*, no se modificaron significativamente con dosis 1X y 2X de mesotriona en comparación con las plantas testigo (Figura 5). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Bibi *et al.* (2019). Los autores no observaron cambios en la producción de biomasa en plántulas de maíz y durante la germinación, en concentraciones mayores a la recomendada para el herbicida atrazina. En otro estudio, se comparó el efecto de atrazina y mesotriona en cultivares de maíz para malezas de primavera e invierno (*Chenopodium album* L.,

Polygonum pensylvanicum L. y *Capsella bursis-pastoris* L.) (Creech *et al.*, 2004). Los resultados mostraron que las malezas en postemergencia no afectaron el crecimiento del vástago de la planta de maíz. Un efecto generalizado de los herbicidas en las plantas es la inhibición de la síntesis de clorofilas y carotenoides, y provocan alteraciones en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Durmus *et al.*, 2005). Además, en algunos casos con incremento en los niveles de azúcares solubles y prolina (Bibi *et al.*, 2019). En plantas de maíz, se ha demostrado que disminuye el contenido de pigmentos fotosintéticos por efecto de algunos herbicidas, pero se mantienen su crecimiento. Ma *et al.* (2013) señalaron que el maíz es tolerante a la mesotriona; lo que se debe a que es metabolizado rápidamente. Es decir, la planta realiza una serie de reacciones por hidroxilación, catalizada por la actividad P450; además, esto sucede en combinación con la absorción lenta del compuesto, comparada con la de las malezas sensibles. Otra diferencia documentada en la respuesta al efecto de la mesotriona entre las especies de plantas, es la presencia o expresión de una forma menos sensible de la enzima 4-HPPD en pastos comparada con dicotiledóneas.

En plantas de maíz los mecanismos de tolerancia al estrés oxidativo con tratamientos con la citocinina benzyladenina reduce la toxicidad por el herbicida Paraquat (Durmuş *et al.*, 2005). Actualmente, la información que ayude a entender el mecanismo molecular sobre el efecto de los herbicidas es escasa. Sin embargo, se descubrió que parte del mecanismo de detoxificación por paraquat estimula la cascada de señalización mitógena-activada; donde las cinasas tiene un papel importante en la ruta de señalización por estrés, la cual es mediada por ácido abscísico (ABA) asociado con MAPK y MAPK5 (Ding *et al.*, 2009). Los resultados

de este trabajo indican que la defensa al estrés por la mesotriona es no dependiente del genotipo, dado que las variables de crecimiento fueron similares (Figura 3), por lo que se sugiere que los mecanismos de detoxificación a herbicidas no es genotipo dependiente.

Los resultados del verdor mostraron que las hojas apicales de los tres cultivares no se afectaron, mínimamente con ambas dosis de mesotriona; es decir, los cambios o pérdida de color verde fue similar en estos tratamientos (Figura 7). Con la dosis 1X no se detectó alteración significativa del color de las hojas apicales. También en las hojas apicales, la dosis 2X de los tres cultivares hubo decoloración mínima, es decir coloración amarilla (Figura 7B).

Las imágenes mostraron que la distribución del daño con ambas dosis en los tres cultivares fue cercana al 80% en la base de las hojas y hacia la sección media (Figura 8). El color amarillo predominó en la base, es decir en el tejido unido a la lígula. En contraste, hacia el ápice la mitad de la lámina mostró que a la dosis 1X no alteró significativamente el verdor. La dosis 2X generó líneas o manchas cloróticas, sin un patrón reconocible. Estos resultados permiten sugerir que la mesotriona tiene efecto mayor en los tejidos jóvenes de la lámina (región basal) y, al contrario, su efecto es menor en los tejidos maduros de la lámina, localizados entre la sección central y hasta el ápice de la lámina. Actualmente no existen reportes sobre la distribución del daño por herbicidas en las láminas de plantas de maíz, así como el papel de las diferencias anatómicas en la asimilación, distribución y toxicidad expresadas como pérdida de color verde. Los resultados del presente estudio mostraron que las plantas de maíz disminuyen significativamente su capacidad fotosintética e inhiben la síntesis de pigmentos fotosintéticos en zonas

específicas de la lámina dependientes de la edad del tejido, y el crecimiento no se altera por efecto de la toxicidad con mesotriona.

Entre las variables de mayor uso para el fenotipo de plantas, la fluorescencia de la clorofila tiene ventajas porque su medición es rápida y no invasiva (Feng *et al.*, 2018). En el presente estudio las imágenes en RGB y los valores de Fv/Fm mostraron que la mesotriona no afectó la capacidad fotosintética de los cultivares Cacahuacintle y Vitamaíz; en contraste, el cv. HS-2 disminuyó el índice Fv/Fm. Las diferencias en los valores de Fv/Fm por el efecto de mesotriona entre los tres cultivares pueden deberse, en parte a los mecanismos de formación/eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los tejidos foliares. Este aspecto se expuso en un estudio del efecto del glifosato en plantas transgénicas de maíz tolerantes al herbicida (Feng *et al.*, 2018). Las imágenes de fluorescencia de la clorofila mostraron heterogeneidad en la respuesta de las hojas al herbicida y variación temporal en la planta completa. Los resultados de este estudio, también mostraron que el daño por mesotriona varía en intensidad y entre las zonas de cada hoja; lo que demostró el efecto mayor del herbicida en los tejidos foliares más jóvenes (Figura 8). Los métodos utilizados en el presente estudio permiten el desarrollo de investigaciones con mayor número de plantas (cultivares) y productos químicos (herbicidas) que proporcionan información confiable de la susceptibilidad o tolerancia de una especie o cultivar a este tipo de estrés.

9. CONCLUSIÓN

La mesotriona, en dosis 1X y 2X, provoca clorosis y síntomas característicos de toxicidad en plantas de maíz en etapa V3-V4 de desarrollo. Sin embargo, no alteran el fenotipo ni las variables de crecimiento de las plantas de los cultivares de maíz Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz. Esto último, parece resultado de la distribución heterogénea de los síntomas en las láminas, ya que es mayor en la base y difusa hacia el ápice. Por lo tanto, la mesotriona no afecta o afecta en menor grado la eficiencia química del fotosistema II en la parte media y ápice de la hoja, lo que permite a la planta continuar el crecimiento y desarrollo.

10. LITERATURA CITADA

- Acosta-Gamboa, L.M., Liu, S., Langley, E., Campbell, Z., Castro-Guerrero, N., Mendoza-Cozatl, D. and Lorence A. (2016). Moderate to severe water limitation differentially affects the phenome and ionome of Arabidopsis. *Functional Plant Biology*, 44, 94-106.
- Acosta, R. (2009). El cultivo del maíz, su origen y clasificación. *El maíz en Cuba. Cultivos tropicales*, 30(2).
- Aktar, M.W., Sengupta, D. & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip Toxicol*, 2, 1-12.
- Allen, J.F., Bennett, J., Steinback, K.E., Arntzen, C.J. (1981). Chloroplast protein phosphorylation couples plastoquinone redox state to distribution of excitation energy between photosystems. *Nature* 291, 25-29.
- Allorent, G., Tokutsu, R., Roach, T., Peers, G., Cardol, P., Girard-Bascou, J., Seigneurin-Berny, D., Petroustos, D., Kuntz, M., Breyton, C., Franck, F., Wollman, F., Niyogi K.K., Krieger-Liszkay, A., Minagawa, J., Finazzi, G. (2013). A dual strategy to cope with high light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell* 25, 545-557.
- Anderson, W. (1983). *Weed Science: principles*. Second edition. St. Paul. West Publishing Co. U.S.A. 655 pp.
- Anzalone, A. (2010). Detoxicación de Herbicidas en Plantas. XIII Congreso de La Sociedad Venezolana Para El Combate de Malezas, October, 24.
- Anzalone, A. (2005). Herbicidas. Modos y mecanismos de accion. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Araus JL, Serret MD, Edmeades GO (2012) Phenotyping maize for adaptation to drought. *Frontiers in physiology* 3:305. doi:10.3389/fphys.2012.00305.
- Armel, G. R., Wilson, H. P., Richardson, R. J., & Hines, T. E. (2003). Mesotrione Combinations in No-Till Corn (*Zea mays*) 1. *Weed Technology*, 17(1), 111–116. [https://doi.org/10.1614/0890-037x\(2003\)017\[0111:mcintc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0890-037x(2003)017[0111:mcintc]2.0.co;2).
- Asthan, F. y Crafts, A. (1973). *Mode of Action of Herbicides*. John Wiley & Sons. New York, USA.). 504 pp.
- Asociación Andes, Oxfam Novib, & Parque Chalakuy. (2019). Manual desarrollo vegetativo del maíz. *Inta*, 35. <http://andes.center/wp-content/uploads/2019/10/Manual-Ciclo-del-Maiz.pdf>.
- Barchanska, H., Babilas, B., Gluzicka, K., Zralek, D., & Baranowska, I. (2014). Rapid determination of mesotrione, atrazine and its main degradation products in selected plants by MSPD - HPLC and indirect estimation of herbicides phytotoxicity by chlorophyll quantification. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(2), 99–114.

<https://doi.org/10.1080/03067319.2013.791977>.

- Beaudegnies, R., Edmunds, A. J. F., Fraser, T. E. M., Hall, R. G., Hawkes, T. R., Mitchell, G., Schaetzer, J., Wendeborn, S., & Wibley, J. (2009). Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors-A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(12), 4134–4152. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.03.015>.
- Bedmar, Francisco & Eyherabide, Juan & Satorre, Emilio. (2002). Bases para el manejo de malezas.
- Bragachini, M., L. Bonetto, R. Bongiovanni, N. Herbener. (1995). Eficiencia de cosecha: Maíz: cosecha, secado y almacenaje. Cuaderno de actualizacion N° 14. INTA-Propeco, Manfredi, Córdoba.
- Bibi, S., Khan, S., Taimur, N., Daud, M.K. & Azizullah, A. (2019). Responses of morphological, physiological, and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) seedlings to atrazine stress. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191, 717.
- Briskin, D. P. (1994). Membrane and transport systems in plants: an overview. *Weed Sci.*, v. 42, n. 2, p. 255-262.
- Bulegon, L. G., Guimarães, V. F., Battistus, A. G., & Costa, N. V. (2019). Intoxication of mesotrione in corn inoculated with *Azospirillum Brasilense* and with application of plant growth regulators. *Planta Daninha*, 37, 1–14. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100058>.
- Carballo-Carballo, A., & Regalado-López, J. (2016). Maíz Híbrido HS-2. *Agroproductividad*, 54–55. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/894/757>.
- Cardona, T. (2015) A fresh look at the evolution and diversification of photochemical reaction centers. *Photosynthesis research* 126 (1):111-134. doi:10.1007/s11120-014-0065-x.
- Cavaliere, S. D., Silva, F. M. L., Velini, E. D., São José, A. R., Ulloa, S. M., Datta, A., Cavaliere, J. D., & Knezevic, S. Z. (2012). Seletividade do nicosulfuron em três estádios fenológicos de milho-pipoca. *Planta Daninha*, 30(2), 377–386. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582012000200017>.
- Chen, D., Neumann, K., Friedel, S., Kilian, B., Chen, M., Altmann, T., & Klukas, C. (2014). Dissecting the phenotypic components of crop plant growth and drought responses based on high-throughput image analysis with open. *Plant Cell*, 26(12), 4636–4655. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.129601>.
- Coleman, J. O.; Blake-Kalff, M. M.; Davies, T. E. (1997). Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. *Reviews: Trends Plant Sci.*, v. 2, n. 4, p. 144-151.
- Clewis, S. B., Wilcut, J. W., & Porterfield, D. (2006). Weed Management with S-Metolachlor and Glyphosate Mixtures in Glyphosate-Resistant Published by:

Cambridge University Press on behalf of the Weed Science Society of America
Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/4495668> Weed Management with S-Metolach. Weed Technology, 20(1), 232–241.

- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2010). Diversidad natural y cultural. Maíces. Cacahuacintle. <https://biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas/grupo-conico/cacahuacintle>.
- Cubedo, E. A. (2016). Vitamaíz: Caracterización Agronómica y Bioquímica de Líneas de Maíz Convertidas a Azul.
- Creech, J.E., Monaco, T.A. & Evans, J.O. (2004). Photosynthetic and growth responses of *Zea mays* L. and four weed species following post-emergence treatments with mesotrione and atrazinet. Pest Manag Sci, 60, 1079-1084.
- Cramer, W.A., Furbacher, P.N., Szczepaniak, A., Tae, G-S. (1991). Electron transport between photosystem II and photosystem I, In Lee, C.P. (ed), Current Topics in Bioenergetics, Vol.16. Academic Press, San Diego, pp.179-222.
- Cueto-Wong, J., Antonio, J., Wong, C., Guadalupe, D., Sánchez, R., Luis, J., Guillermo, R., Cervantes, G., & Salazar, E. (2006). Rendimiento de maíz forrajero en respuesta a fertilización nitrogenada y densidad de población. Revista Fitotecnia Mexicana, 29(Es2), 97–101.
- Demming-Adams, B., Adams, III, W. (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Biology 43, 599-626.
- Dinelli, G. y Catizone, P. (2001). Relazione erbicidapianta (Parte V - Capitolo 4). En: Malerbologia. Editado por Catizone, P. y Zanin, G. Patrón Editore. Bologna, Italia. 925 pp.
- Ding, H.D., Zhang, X.H., Xu, S.C., Sun, L.L., Jiang, M.Y., Zhang, A.Y. (2009). Induction of protection against paraquat-induced oxidative damage by abscisic acid in maize leaves is mediated through mitogen-activated protein kinase. Journal of Integrative Plant Biology, 51, 961-972.
- Doebley, J. (1990). Molecular Evidence and the Evolution of Maize. Econ Bot 44, 6–27.
- Doebley, J., Stec, A. & Hubbard, L. (1997). The evolution of apical dominance in maize. Nature 386, 485–488. <https://doi.org/10.1038/386485a0>.
- Duke, S. O. (1996). Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical Aspects. CRC Press, Lewis Publ. Boca Raton, FL. 420p
- Duke, S. y Dayan, F. (2001). Clasificación and mode of action of the herbicides (Capítulo 3). En: Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI. Editado por De Prado, R. y Jorrín, J. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba (España). 688 pp.

- Durmus, N. & Kadioğlu, A. (2005). Reduction of paraquat toxicity in maize leaves by benzyladenine. *Acta Biol Hung*, 56, 97-107.
- Eerd, L. L. (2003). Pesticide metabolism in plant and microorganisms. *Weed Sci.*, v. 51, n. 3, p. 472-495.
- FAO (Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura). (2012). Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales. Situación Alimentaria Mundial. Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/>
- FAO (Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura). (1993). El maíz en la nutrición humana (Colección FAO: Alimentación y nutrición, N°25) ISBN 92-5-303013-5. Roma. <http://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm#Tipos%20de%20maiz>.
- Fassio, A., Carriquiry, A., Tojo, C., & Romero, R. (1998). MAIZ: Aspectos sobre fenología.
- Feng, X., Yu, C., Chen, Y., Peng, J., Ye, L., Shen, T. (2018). Non-destructive determination of shikimic acid concentration in transgenic maize exhibiting glyphosate tolerance using chlorophyll fluorescence and hyperspectral imaging. *Frontiers in Plant Science*, 9:00468.
- Finney, J.R. (1988). World crop protection prospects: demisting the crystal ball. Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases 1: 3-14.
- Fiorani, F., & Schurr, U. (2013). Future Scenarios for Plant Phenotyping. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 267-91.
- Frank, H.A., Cogdell, R.J. (1996). Carotenoids in photosynthesis. *Photochemistry and Photobiology* 63, 257-264.
- Gauvrit, C. (1996). Pénétration et migration des herbicides dans les végétaux (Capítulo 7). En: *Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI*. Editado por De Prado, R. y Jorrín, J. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba (España). 688 pp.
- Gehan, M.A., Fahlgren, N., Abbasi, A., Berry, J.C., Callen, S.T., Chavez, L. (2017). PlantCV v2: Image analysis software for high-throughput plant phenotyping. *PeerJ*, 5, e4088.
- Hallauer, A.R., and Carena, M.J. (2009). Maize breeding. In: M.J. Carena, editor, *Handbook of plant breeding: cereals*. Springer, New York.
- Hanway, J. (1996). How a corn plant develops.; Spec. Publ. 48. Iowa Agricultural and Home Economics Experiment Station Publications, 48(Sept), 1–18. <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/38>.
- Hartmann A, Czauderna T, Hoffmann R, Stein N, Schreiber F. (2011). HTPPheno: An image analysis pipeline for high-throughput plant phenotyping. *BMC Bioinformatics* 12 (1):148. doi:10.1186/1471-2105-12-148.

- Haselimashhadi, H., Mason, J.C., Mallon, A.M., Smedley, D., Meehan, T.F. & Parkinson, H. (2020). OpenStats: A robust and scalable software package for reproducible analysis of high-throughput phenotypic data. *PLoS One*, 15, e0242933.
- Hatzios, K. K. (1997). Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants: a brief overview and directions for future research. In: HATZIOS, K.K. (Eds.) *Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 1-5.
- Hess, F. D. (1985). Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerances and susceptibility. In: DUKE, S. O. (Ed.) *Weed physiology*. Boca Raton: CRC Press. p. 191-214. v. 2.
- Horton, P., Black, M.T. (1981). Light-induced redox changes in chloroplast cytochrome b6f after phosphorylation of membrane proteins. *FEBS Letters* 132, 75-77.
- Jansen, M., Gilmer, F., Biskup, B., Nagel, K. A., Rascher, U., Fischbach, A., Briem, S., Dreissen, G., Tittmann, S., Braun, S., De Jaeger, I., Metzloff, M., Schurr, U., Scharr, H., & Walter, A. (2009). Simultaneous phenotyping of leaf growth and chlorophyll fluorescence via Growscreen Fluoro allows detection of stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and other rosette plants. *Functional Plant Biology*, 36(11), 902–914. <https://doi.org/10.1071/FP09095>.
- Kebede, M. (2017). Efficacy of Pre-emergence Herbicides for the Control of Major Weeds in Maize (&i&tZea mays&i&t; L.) at Bako, Western Oromia, Ethiopia. *American Journal of Agriculture and Forestry*, 5(5), 173. <https://doi.org/10.11648/j.ajaf.20170505.15>.
- Kozłowski, L. A. (2002). Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho baseado na fenologia da cultura. *Planta Daninha*, 20(3), 365–372. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582002000300006>.
- Kramer, D.M., Cruz, J.A., Kanazawa, A. (2003). Balancing the central roles of the thylakoid proton gradient. *Trends in Plant Science* 8, 27-32.
- Kreuz, K.; Tommasini, R.; Martinoia, E. (1996). Old enzymes for a new job: herbicide detoxification in plants. *Plant Physiol.*, v. 111, n. 5, p. 349-53.
- Ksas, B., Becuwe, N., Chevalier, A., Havaux, M. (2018). Plant tolerance to excess light energy and photooxidative damage relies on plastoquinone biosynthesis. *Scientific Reports* 5, 10919 | DOI: 10.1038/srep10919.
- Kwon, T., Kim, K., Yoon, H.-J., Lee, S., Kim, B., & Siddiqui, Z. S. (2015). Phenotyping of Plants for Drought and Salt Tolerance Using Infra-Red Thermography. *Plant Breeding and Biotechnology*, 3(4), 299–307. <https://doi.org/10.9787/pbb.2015.3.4.299>.
- Klukas C. (2016). Genetic variation of growth dynamics in maize (*Zea mays* L.) revealed through automated non-invasive phenotyping. *The plant journal* ,

vol.89, pp.366-380.

- Lamoureux, G. L.; Shimabukuro, R. H. A.; Frear, D. S. (1991). Glutathione and glucoside conjugation in herbicide selectivity. In: Casely, J. C.; Cussans, G.W.; Atkin, R.K. (Eds.). *Herbicide resistance in weeds and crops*. Oxford: Butterworth-Heinemann. p. 227-261.
- Lee, D.L., Prisbylla, M.P., Cromartie, T.H., Dagarin, D.P., Howard, S.W., Provan, W.M., Ellis, M.K., Fraser, T., Mutter, L.C. (1997). The discovery and structural requirements of inhibitors of p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Weed Science* 45, 601-609.
- Li, L., Zhang, Q. & Huang, D. (2014). A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 14, 20078-20111.
- Li, Z-S. (1997). Vacuolar uptake of the phytoalexin medicarpin by the glutathione conjugate pump. *Phytochemistry*, v. 45, n. 3, p. 689-93.
- Liebisch, F., Kirchgessner, N., Schneider, D., Walter, A., & Hund, A. (2015). Remote, aerial phenotyping of maize traits with a mobile multi-sensor approach. *Plant methods*, 11(1), 1-20.
- Lopes, M.S. & Reynolds, M.P. (2012). Stay-green in spring wheat can be determined by spectral reflectance measurements (normalized difference vegetation index) independently from phenology. *Journal of Experimental Botany*, 63, 3789-3798.
- Ma, R., Kaundun, S. S., Tranel, P. J., Riggins, C. W., McGinness, D. L., Hager, A. G., Hawkes, T., Mc, E. I., & Riechers, D. E. (2013). Distinct detoxification mechanisms confer resistance to mesotrione and atrazine in a population of waterhemp. *Plant Physiology*, 163(1), 363–377. <https://doi.org/10.1104/pp.113.223156>.
- Martinazzo, R., Dick, D. P., Hirsch, M. M., Leite, S. B., & Do Carmo Ruaro Peralba, M. (2011). Sorption of atrazine and mesotrione in oxisols and estimation of contamination potential. *Quimica Nova*, 34(8), 1378–1384. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422011000800015>.
- Martinoia, E. (1993). An ATP-dependent glutathione S-conjugate “export” pump in the vacuolar membrane of plants. *Nature*, v. 364, p. 247-49.
- Masuka, B., Araus, J. L., Das, B., Sonder, K., & Cairns, J. E. (2012). Phenotyping for Abiotic Stress Tolerance in Maize F. *Journal of integrative plant biology*, 54(4), 238-249.
- Mendes, K. F., Nogueira, T., Souza, R. D. E., Cássia, A. N. A., Possamai, S., Inoue, M. H., Karine, A. N. A., Nunes, D. E. A., & Mertens, T. B. (2015). PLANT INDICATOR SELECTION FOR THE MONITORING OF MESOTRIONE AND METRIBUZIN IN CLAYEY SOIL. *Revista de Ciências Agroambientais*, 13, 53–59.
- Miller, P. y Westra, P. (1998). *Herbicide Surfactants and Adjuvants*. Colorado State University Cooperative Extension. Document No. 0.559. Boulder,

Colorado.[Documento en línea] Disponible en: www.colostate.edu/Depts/CoopExt. [Consulta: Noviembre, 2001].

- Minervini, M., Giuffrida, M.V., Perata, P. & Tsaftaris, S.A. (2017). Phenotiki: an open software and hardware platform for affordable and easy image-based phenotyping of rosette-shaped plants. *Plant J*, 90, 204-216.
- Mitchell, G., Bartlett, D.W., Fraser, T.E.M., Hawkes, T.R., Holt, D.C., Townson, J.K. (2001). Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science*, 57, 120-128.
- Monaco, T.; Weller, S. y Ashton, F. (2002). *Weed Science: Principles and Practices*. Fourth edition. Jhon Wiley & Sons, Inc. New York (U.S.A.). 671 pp.
- Muraya, M. M., Chu, J., Zhao, Y., Junker, A., Klukas, C., Reif, J. C., & Altmann, T. (2017). Genetic variation of growth dynamics in maize (*Zea mays* L.) revealed through automated non-invasive phenotyping. *The Plant Journal*, 89(2), 366-380.
- Neilson, E.H., Edwards, A.M., Blomstedt, C.K., Berger, B., Møller, B.L. & Gleadow, R.M. (2015). Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *Journal of Experimental Botany*, 66, 1817-1832.
- OECD. (2003). Consensus Document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). *Env/Jm/Mono*, 34, 1–49. <https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/comunicacion/divulgacion/cultivos/ENVJMMONO-maiz.pdf>.
- Ogliari, J., Freitas, S. P., Ramos, A. C., Bressan Smith, R. E., & Façanha, A. R. (2014). Proton transport primary systems used as mechanisms of mesotrione detoxification in corn plants. *Planta Daninha*, 27(4), 799–807. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582009000400018>.
- Olivera, M. C., Gaines, T. A., Jhala, A. J., & Knezevic, S. Z. (2018). Inheritance of mesotrione resistance in an *Amaranthus tuberculatus* (Var. *rudis*) population from Nebraska, USA. *Frontiers in Plant Science*, 9(February), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00060>.
- Padilla-Chacón, D., Peña Valdivia, C. B., García-Esteva, A., Cayetano-Marcial, M. I., & Kohashi Shibata, J. (2019). Phenotypic variation and biomass partitioning during post-flowering in two common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) under water restriction. *South African Journal of Botany*, 121, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.10.031>.
- Padilla, J. M., & Otegui, M. E. (2005). Co-ordination between leaf initiation and leaf appearance in field-grown maize (*Zea mays*): genotypic differences in response of rates to temperature. *Annals of Botany*, 96(6), 997-1007
- Paliwal, L. (2001). EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción. *Fao*, 392. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm>.

- PPDB (Pesticide Properties DataBase). (2014). The FOOTPRINT Pesticide Properties Database. University of Hertfordshire, UK <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index2.htm> (Accessed 21 March 2016).
- Redonda-Martínez, R. (2020). ¿Qué tan malas son las malezas? *Saber Más*, 1–4.
- Rani, N., Duhan, A., & Tomar, D. (2020). Ultimate fate of herbicide tembotrione and its metabolite TCMBA in soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203(April), 111023. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111023>.
- Richburg, J. T., Norsworthy, J. K., Barber, T., Roberts, T. L., & Gbur, E. E. (2019). Tolerance of corn to preemergence- and postemergence-applied photosystem II-inhibiting herbicides. *Weed Technology*, 1–24. <https://doi.org/10.1017/wet.2019.119>.
- Riddle, R. N., O'Sullivan, J., Swanton, C. J., & Van Acker, R. C. (2013). Field and Greenhouse Bioassays to Determine Mesotrione Residues in Soil. *Weed Technology*, 27(3), 565–572. <https://doi.org/10.1614/wt-d-12-00146.1>
- Riechers, D. E. (1998). Chromosomal location and expression of a herbicide safener-regulated glutathione S-transferase gene in *Triticum aestivum* and linkage relations in *Hordeum vulgare*. *Genoma*, v. 41, n. 4, p. 368-372.
- Rossi A.R., M.C. Lezcano de Ríos, E. López Mondo. (1984). Efecto de la incorporación de herbicidas PEE. In Congreso Nacional de Maíz 3º, Pergamino, Bs.As., 1984. Pergamino, AIANBA. Pp 94-97.
- Rossi A. R., C. Senigagliesi, R. García. (1980). Evaluación de la competencia de malezas en el cultivo de maíz. In Congreso Nacional de Maíz 2º, Pergamino, Bs.As. AIANBA, Pp109-118.
- Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F., Berruyer, R. (2013). High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Methods*, 9, 17-17. doi: 10.1186/1746-4811-9-17.
- Ruiz, P. O., Rodríguez, J. A. D., Peña, E. G., Sandoval, J. G. T., Granja, L. C. S., Andrés Isaac Ruíz Arias, A. M. G. F., Calderón, Romero, & Fernando. (2019). Panorama Agroalimentario 2019. In Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap>.
- Sánchez, I. (2014). Maíz I (*Zea mays*). *Reduca (Biología)*. Serie Botánica, 7(2), 151–171.
- Sandermann, H. (1992). Plant metabolism of xenobiotics. *Trends Biochem. Sci.*, v. 17, n. 2, p. 82-84.
- Singh, B., Bohra, A., Mishra, S., Joshi, R., & Pandey, S. (2015). Embracing new-generation 'omics' tools to improve drought tolerance in cereal and food-legume crops. *Biologia Plantarum*, 59(3), 413–428. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0515-0>.

- Soltani, N., Shropshire, C., Cowan, T., & Sikkema, P. H. (2014). Weed Management in Spring Planted Cereals with Mesotrione. *American Journal of Plant Sciences*, 05(01), 153–157. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51020>.
- Steiner, A. A. (1984) The universal nutrient solution. In: *Proceedings of the 6th International Congress on Soilless Culture*. International Society for Soilless Culture. Wageningen, The Netherlands. Pp: 633-649.
- Sterling, T. M. (1994). Mechanisms of herbicide absorption across plant membranes and accumulation in plant cells. *Weed Sci.*, v. 42, n. 2, p. 263-76.
- Sullivan, J. O., Zandstra, J., & Sikkema, P. (2002). Sweet Corn (*Zea mays*) Cultivar Sensitivity to Mesotrione. 16(2), 421–425.
- Sutton, P., Richards, C., Buren, L., & Glasgow, L. (2002). Activity of mesotrione on resistant weeds in maize. *Pest Management Science*, 58(9), 981–984. <https://doi.org/10.1002/ps.554>.
- Tapia, M. E. y Fries, A. M. (2007). Guía de campo de los cultivos andinos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú. Lima.
- Thomas, H. & Ougham, H. (2014). The stay-green trait. *Journal of Experimental Botany*, 65, 3889-3900.
- Tuberosa, R. (2012). Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in Physiology*, 3 SEP(September), 1–27. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00347>.
- Ulguim, A. D. R., Perboni, L. T., Westendorff, N. D. R., Nohatto, M. A., Silva, B. M. da, & Agostineto, D. (2013). Redução do espaçamento entrelinhas do milho e sua influência na dose do herbicida. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 12(3), 232. <https://doi.org/10.7824/rbh.v12i3.210>.
- Ulzurrun, P. D. de. (2013). Manejo de malezas problema. Modos de acción herbicida. *Red de Conocimiento de Malezas Resistentes*, 5342, 127.
- Valdes, Y. B. (2016). El Rol De Las Arvenses Como Componente En La Biodiversidad De Los Agroecosistemas. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 34–56. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10964.19844>.
- Vanaclocha, B. V., & Folcara, S. C. (Eds.). (2003). *Fitoterapia: vademécum de prescripción* (Vol. 12). Barcelona: Masson.
- Viña, A., Gitelson, A., Rundquist, D., Keydan, G., Leavitt, B., & Schepers, J. (2004). Monitoring Maize (*Zea mays* L.) Phenology with Remote Sensing. *Remote Sensing*, 1147, 1139–1147.
- Wang, W., Hao, Q., Tian, F., Li, Q. & Wang, W. (2016). Cytokinin-Regulated Sucrose Metabolism in Stay-Green Wheat Phenotype. *PLoS ONE*, 11, e0161351.
- Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., Hernandez X., E., & Mangelsdorf, P. C. (1951). Razas de maiz en mexico su origen características y distribucion. En *Xolocotzia*.

Obras de Efraín Hernández Xolocotzi. Geografía Agrícola, 2, 237.
https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/50301000/Races_of_Maize/Raza_Mexico_0_Book.pdf.

- Yavad, S.P., Ibaraki, Y. & Dutta Gupta, S. (2010). Estimation of the chlorophyll content of micropropagated potato plants using RGB based image analysis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 100, 183-188.
- Yamamoto, H. (1979). Biochemistry of the violaxanthin in higher plants. *Pure and Applied Chemistry* 51, 639-648.
- Zito, F., Finazzi, G., Delosme, R., Nitschke, W., Picot, D., Wollman, F.A. (1999). The Qo site of cytochrome b6f complexes controls the activation of the LHCII kinase. *The EMBO Journal* 18, 2961-2969.
- Zhing, L. K., Basta, M., & Manzanero, S. (2015). Intravenous immunoglobulin (IVIg) dampens neuronal toll-like receptor-mediated responses in ischemia.
- Xu, K., Racine, F., He, Z., & Juneau, P. (2019). Impacts of hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) inhibitor (mesotrione) on photosynthetic processes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Pollution*, 244, 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.121>.