FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE POSTGRADO

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOS HERBICIDAS BENTAZÓN Y FOMESAFÉN SOBRE FISIOLOGÍA DE HOJAS DE POROTO VERDE Y SU RENDIMIENTO HORTÍCOLA

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción de Cultivos

MARIANA MUÑOZ ARAYA

Directores de Tesis CLAUDIO PASTENES VILLARREAL CECILIA BAGINSKY GUERRERO

Profesores consejeros VICTOR GARCÍA DE CORTÁZAR GARCÍA DE CORTÁZAR HERMAN SILVA ROBLEDO

> SANTIAGO - CHILE 2015

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE POSTGRADO

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOS HERBICIDAS BENTAZÓN Y FOMESAFÉN SOBRE FISIOLOGÍA DE HOJAS DE POROTO VERDE Y SU RENDIMIENTO HORTÍCOLA

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción de Cultivos

MARIANA MUÑOZ ARAYA

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE TESIS		
Claudio Pastenes Villarreal	7,0	Aprobada
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.		
Cecilia Baginsky Guerrero	7,0	Aprobada
Ingeniero Agrónomo, Dra.		
PROFESORES CONSEJEROS		
Víctor García de Cortázar García de Cort	ázar 6,5	Aprobada
Ingeniero Agrónomo, Dr. Ing.		
Herman Silva Robledo	6,8	Aprobada
Prof. Biología, Dr.		
S.	entiago Chila	

Santiago, Chile 2015

Agradezco a quienes hicieron posible empezar y llevar a término esta tesis, a Carlos Meza, Annelie Zbinden, Nicolás Quiroga, Fernando Avendaño, Paula Villalón, Geraldine Espinoza, Valentina Espinoza, Jeannette Pizá y especialmente a María Cecilia Araya y Gabriel Araya.

Al Laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas por su apoyo en la redacción y los buenos momentos, a Camila Ribalta, Alejandro Cáceres, Luis Villalobos, Úrsula Arriagada, María Paz Quezada y Felipe Reyes.

A mis profesores guía, por su comprensión y apoyo.

A mis amigos, Judith Labrin, Geraldine Espinoza, Francisca Lezana, Juan Pablo Pizarro y Nicolás Quiroga, por todo.



ÍNDICE

Índice de Contenido

CAPÍTULO I. Antecedentes de la aplicación de los herbicidas bentazón y fomesafén so	obre
la fotosíntesis y el rendimiento de plantas de poroto verde	10
Revisión bibliográfica	10
Literatura citada	17
CAPÍTULO II. Efecto de la aplicación de los herbicidas bentazón y fomesafén sobre	
fisiología de hojas de poroto verde y su rendimiento hortícola	19
Resumen	19
Abstract	20
Introducción	21
Hipótesis	23
Objetivos	23
Materiales y métodos	24
Resultados	29
Caracterización de las condiciones ambientales	29
Variables fisiológicas	29
Comparación de los cultivares	34
Discusión	39
Conclusiones	42
Literatura citada	43
Anexos	48
Apéndices.	49

Índice de Cuadros

1. Tratamientos y niveles de los factores en cada tratamiento, para cada ensayo	24
2. Momento de medición de materia seca.	27
3. Comparación de los cultivares HM-5101 y Hystyle según variables fisiológicas, mediante pruebas t de Student	36
4. Comparación de los cultivares HM-5101 y Hystyle según variables de rendimiento, mediante pruebas t de Student	37
mediane process the student	57

Índice de Figuras

1. Tasa de permeabilidad relativa observada luego de 6 horas, según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 29
2. Tasa de asimilación neta, contenido interno de CO ₂ , transpiración y conductancia estomática observadas según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 30
3. Contenido de clorofila observada según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 30
4. Temperatura foliar según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 31
5. Coseno del ángulo foliar observado y temperatura foliar según herbicida y estado fenológico de aplicación.	. 31
6. Biomasa aérea a través del tiempo, según herbicida y estado fenológico de aplicación, en cultivar HM-5101	. 32
7. Biomasa aérea muestreada 10 días después de aplicación en segunda hoja según herbicida y estado fenológico de aplicación, en cultivar Hystyle.	. 32
8. Rendimiento total, número de vainas por planta y peso de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 33
9. Rendimiento comercial, número de vainas por planta y peso de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 33
10. Diámetro y largo de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación	. 34
11. Fenofases y días transcurridos desde siembra (DDS) en el desarrollo vegetativo y reproductivo de cultivares de poroto verde.	. 35
12. Biplot del ACP de variables de rendimiento, según tratamiento	. 36
13. Biomasa aérea a través del tiempo, en el cultivar HM-5101 y el cultivar Hystyle (HS)	. 37
14. Biplot del ACP de todas las variables estudiadas, según aplicación	. 38

Anexos

I. Análisis de suelo	48
II. Condiciones ambientales en que se desarrollaron los ensayos en comparación con datos	
históricos	48

Apéndices

I. Fenología promedio de los cultivares y caracterización ambiental	49
II. Biomasa aérea del cultivar Hystyle a través del tiempo	49
III. Salida de resultados del análisis de componentes principales (ACP) de variables de rendimiento para el análisis de comparación de cultivares	49
IV. Salida de resultados del análisis de componentes principales (ACP) de todas las	
variables para el análisis de comparación de cultivares	51

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES DE LA APLICACIÓN DE LOS HERBICIDAS BENTAZÓN Y FOMESAFÉN SOBRE LA FOTOSÍNTESIS Y EL RENDIMIENTO DE PLANTAS DE POROTO VERDE

Revisión bibliográfica

1. Aplicación de bentazón en poroto

1.1. Modo de acción. Bentazón es un herbicida selectivo de post-emergencia, recomendado para malezas de hoja ancha, perteneciente al grupo químico de las benzotiadiazinonas, molecularmente corresponde a la fórmula 3 - (1 - metiletil) - (1H) - 2, 1, 3 - benzotiadizin - 4 (3H) - ona 2, 2 - dioxido. Forma parte del grupo seis de la Weed Science Society of America (WSSA), equivalente al grupo C3 de la clasificación de Herbicide Resistance Action Committee (HRAC), ya que su modo de acción se basa en inhibir el fotosistema II en el sitio B (Mallory-Smith y Retzinger, 2003).

Según Bradshaw et al. (1992), la molécula de bentazón compite con la plastoquinona B, uno de los aceptores de la cadena de electrones en el fotosistema II, inhibiendo la fotosíntesis y generando especies reactivas de oxígeno; ocasionando finalmente estrés oxidativo. Los autores estudiaron genotipos de maíz con distinta resistencia a bentazón, determinando que aquellos resistentes retienen sólo el 25% del total absorbido, mientras que los susceptibles alcanzan el 63%. Lo anterior implicaría que la resistencia a bentazón estaría mediada por la capacidad de metabolizar la molécula y dejar libre el traspaso de electrones en la fase fotoquímica. De hecho, el estudio de Wu y Wang (2003) en líneas de maíz indicó que la actividad de la enzima que degrada a la molécula de bentazón, bentazón-6-hidroxilasa, es mayor en genotipos resistentes, mientras que la absorción del herbicida no distingue entre líneas resistentes y sensibles. En este mismo sentido, Wang et al. (2008), observaron que ciertas líneas de arroz son resistentes a la acción de bentazón ya que disponen de un catabolismo acelerado de la molécula de bentazón, coincidiendo con el estudio de Bradshaw et al. (1992), en maíz.

1.2. Dosis y momento de aplicación. La mayor parte de los autores coincide en una dosis promedio de 1.080 gramos de ingrediente activo (i.a.) ha⁻¹ (Soltani et al., 2005; Soltani et al. 2005b; Sikkema et al., 2006; Soltani et al., 2008). Sin embargo, en Chile, la dosis recomendada de bentazón es de 1.200 gramos i.a. ha⁻¹ (AFIPA, 2009).

El momento óptimo de aplicación en poroto para grano seco, depende del cultivar estudiado y el estado de desarrollo que determine menor fitotoxicidad en el cultivo. En este sentido, se ha sugerido que dicho momento corresponde a aquel entre primera y segunda hoja trifoliada en poroto 'Kidney', 'Negro' y 'Cranberry', mientras que en poroto 'Otebo', 'Pinto' y 'Rojo Mexicano', corresponde al periodo entre segunda y tercera hoja (Soltani *et al.*, 2005; Soltani *et al.*, 2005); Sikkema *et al.*, 2006; Soltani *et al.*, 2008). No obstante lo anterior, para Chile se señala el periodo entre segunda hoja trifoliada y prefloración como el apto para la aplicación de bentazón (AFIPA, 2009).

1.3. Daños asociados

1.3.1. Síntomas

La evaluación de síntomas en plantas expuestas a herbicidas de post-emergencia consiste principalmente en dos categorías: daño visual y reducción del crecimiento, los que son utilizados en todo tipo de cultivos. El daño visual se evalúa como clorosis y necrosis en hojas de la planta tratada, calificándolo en una escala de apreciación de 0% a 100% de daño, donde en el nivel 0% no se visualizan síntomas y 100% representa una planta muerta (Franzen et al., 2003; Wu y Wang, 2003; Diebold et al., 2004; Ghosheh, 2004; Sikkema et al., 2007; Senem et al., 2009).

Sikkema et al. (2006), han determinado en poroto 'Otebo', un daño visual de hasta 7,7%, con el doble de la dosis recomendada de bentazón, mientras que al aplicar sólo la dosis recomendada, se obtiene un máximo de 4,9% de daño. Según Soltani, et al. (2005b), en poroto 'Negro' se ha observado hasta 3,5% de daño visual en doble dosis y 1,7% en dosis normal, y en poroto 'Cranberry' registraron 4,5% de daño en doble dosis y 1,5% en dosis normal. En el caso de poroto 'Rojo Mexicano' y poroto 'Pinto', Soltani et al. (2008), informaron un 4% de daño visual en doble dosis y respuesta nula en dosis recomendada. Estos valores se observan 7 días después de aplicado el tratamiento, y disminuyen a través del tiempo hasta llegar a 0,6% (no significativo) luego de 28 días después de aplicación de dosis normal. Sin embargo, estos resultados se contraponen con el estudio de Bailey et al. (2003) en poroto para grano seco, donde observaron hasta un 25% de daño visual en plantas tratadas con el 50% de dosis normal. Se debe considerar que en este estudio, además de bentazón, se aplicó a todos los tratamientos S-metalocloro, un herbicida contra malezas de hoja angosta. En otros estudios, la aplicación de bentazón interactúa con otros herbicidas, por lo que se sugiere que en este caso, el efecto estaría distorsionado por la aplicación de S-metalocloro (Soltani et al., 2013).

Por otra parte, la reducción del crecimiento se determina como la disminución de la altura, así como de producción de biomasa aérea en plantas tratadas, evaluadas luego de 28 y 42 días después de emergencia, respectivamente. La respuesta ante la aplicación de dosis normal y doble, no es significativa en cuanto a reducción del crecimiento, en poroto 'Negro', 'Cranberry', 'Pinto' ni 'Rojo Mexicano', mientras que en poroto Otebo se registra efecto sólo en dosis doble, disminuyendo la altura en 9% respecto al testigo (Soltani et al., 2005b; Sikkema et al., 2006; Soltani et al., 2008). En el caso del poroto 'Kidney', estudiado en varios ambientes, se observó un 10% de disminución en la altura, ante la aplicación de dosis normal y 12% en la aplicación de dosis doble, sólo para una localidad y año específico entre los estudiados, pero este efecto ambiental no es explicado por los autores (Soltani et al., 2005). En cuanto a la biomasa aérea en poroto 'Otebo', la biomasa disminuyó en 19% en dosis normal y doble (Sikkema et al., 2006).

1.3.2. Rendimiento

La evaluación del rendimiento en los estudios presentados se realiza considerando el peso de granos secos por superficie. En poroto 'Otebo', no hubo efecto sobre el rendimiento en plantas tratadas con bentazón. Cabe mencionar que el tratamiento de aplicación con bentazón

en dosis normal aumentó en 11% el rendimiento en grano seco respecto al testigo sin aplicación y control manual de malezas, lo que parece contraproducente. Los autores justifican este dato, argumentando que el testigo tuvo mayor disturbación durante el ensayo, dado que era necesario desmalezar de forma manual frecuentemente (Sikkema et al., 2006). La investigación realizada por Bailey et al., (2003), aun cuando se cuantificó el mayor daño visual de los ensayos citados, no fue significativa en cuanto a disminución en el rendimiento. Soltani et al., (2005) evaluaron el poroto 'Kidney' en distintos ambientes, informando que en el único ambiente en que se observaron síntomas, Exeter en 2002, se redujo el rendimiento en 33% en el tratamiento con dosis normal de bentazón. En los otros ambientes no hubo efecto del herbicida, aspecto no explicado por los autores. Wall (1995) evaluó el efecto de bentazón sobre poroto 'Navy', en distintos años, determinando que sólo en un año hubo efecto sobre el rendimiento, reduciéndolo en 14,73% respecto al testigo, sin advertir daño visual estadísticamente significativo. El autor indica a la temperatura como responsable del efecto ambiental en la disminución del rendimiento, siendo mayor el daño, en ambientes de menor temperatura. Estudios llevados a cabo en poroto 'Negro', 'Cranberry', 'Pinto' y 'Rojo Mexicano', determinaron un nulo efecto en rendimiento en plantas tratadas con bentazón (Soltani et al., 2005b; Soltani et al., 2008).

1.3.3. Variables fotosintéticas

No hay estudios sobre el efecto de bentazón sobre la fotosíntesis de plantas de poroto, por lo que es necesario remitir la investigación a otras especies. En arroz, la aplicación de bentazón ha sido estudiada como método de selección de híbridos, ya que se han desarrollado líneas mutantes sensibles a bentazón, que mueren ante la aplicación del herbicida. Wang et al. (2008), estudiaron el contenido de clorofila, tasa fotosintética, contenido de malondialdehído y contenido de radicales superóxido en plantas normales y mutantes de arroz. Según los autores, las plantas normales disminuyen su contenido de clorofila hasta dos días después de aplicación, pero posteriormente aumenta de forma gradual, igualando al testigo sin aplicación luego de cinco días después de aplicación. En cambio, las plantas mutantes disminuyen el contenido de clorofilas de forma sostenida, hasta el quinto día después de aplicación, obteniendo un 39,6% menos de clorofila que las plantas normales (Wang et al., 2008).

En cuanto a la fotosíntesis, las plantas normales de arroz disminuyen su tasa fotosintética hasta llegar a cero, luego de 0,5 horas post-aplicación. Posteriormente, comienzan una rápida recuperación, hasta llegar a los niveles del control sin aplicación, un día después. Los mutantes en cambio, no se recuperan, al menos hasta el quinto día después de aplicación. Este ensayo sólo mide hasta este rango temporal, por lo que no es posible conocer la recuperación de las plantas mutantes (Wang et al., 2008).

El contenido de malondialdehído (MDA) es ampliamente usado como índice de estrés oxidativo ya que es una molécula formada por peroxidación lipídica. En el ensayo de Wang et al., (2008), los niveles de MDA se mantuvieron constantes en las plantas de arroz normales, mientras que las plantas mutantes susceptibles a bentazón aumentaron su concentración de MDA a partir de los tres días después de aplicación.

Respecto a los radicales superóxido (O⁻²), aumentaron en plantas normales, pero la concentración se igualó al control sin aplicación luego de tres días post-aplicación. En plantas mutantes, la concentración de superóxido se mantuvo alta, incluso luego de cinco días después de aplicación, siendo hasta 89,1% mayor que las plantas normales. Los autores

indican que esta alteración, junto con la disminución en la tasa fotosintética de los mutantes, se relaciona con el modo de acción de bentazón, provocando cambios en la concentración de MDA y contenido de clorofilas, generando estrés oxidativo y finalmente, causando la mortalidad de las plantas mutantes (Wang et al., 2008). Por lo tanto, la susceptibilidad ante bentazón se relaciona con su capacidad fotosintética, y además con el estrés oxidativo que sufren las plantas.

2. Aplicación de fomesafén en poroto

2.1. Modo de acción. Fomesafén corresponde a la molécula 5-[2-cloro-4-(trifluorometil)fenoxi]-N-(metilsulfonil)-2-nitrobenzamida, un difenil éter, y es ampliamente utilizado como herbicida selectivo de post-emergencia, recomendado para el control de malezas de hoja ancha. Pertenece al grupo catorce de WSSA, equivalente al grupo E de HRAC, ya que actúa interfiriendo la acción de la enzima protopofirinógeno oxidasa (PPO) (Mallory-Smith y Retzinger, 2003).

La enzima PPO cataliza la transformación de protoporfirinógeno IX (protogen) a protoporfirina IX (proto), una de las reacciones iniciales de la síntesis de clorofila, y la última reacción común entre la síntesis del grupo hemo y la síntesis de clorofila (Li y Nicholl, 2005). La acción inhibidora de fomesafén sobre la enzima ocasiona la acumulación citosólica de protogen, causando oxidación no enzimática hacia la molécula proto en el citosol. Este compuesto genera la presencia de oxígeno singlete y por lo tanto, causa estrés oxidativo (Duke et al., 1991).

En cuanto a la resistencia de las plantas a la acción de fomesafén, Li et al. (2004), estudiaron el efecto del herbicida acifluorfén, de la misma familia y modo de acción que fomesafén, en *Amaranthus rudis*, una especie de amaranto. Concluyeron que la resistencia está dada por la menor acumulación de protoporfirina IX citosólica, que está vinculada al nivel de disrupción de la membrana celular. En cambio, estudios en soya expuesta a este herbicida, determinaron que líneas resistentes deben su característica a una sobreproducción de protoporfirinógeno oxidasa, al igual que plantas resistentes transgénicas de tabaco (Lermontova y Grimm, 2000; Warabi et al., 2001).

2.2. Dosis y momento de aplicación. En Chile la recomendación de uso establece la dosis de fomesafén en 375 gramos de ingrediente activo (i.a.) ha⁻¹ (AFIPA, 2009). Sikkema et al. (2006), presentan como dosis recomendada 240 g i.a. ha⁻¹. Al igual que en el caso de bentazón, los autores comparan el efecto de doble dosis, obteniendo mayor daño visual, disminución de altura de planta y disminución de biomasa aérea respecto a la dosis recomendada, pero esta respuesta no se traduce en diferencias significativas en el rendimiento ni contenido de humedad en el grano respecto al testigo.

En ensayos realizados por Bailey et al. (2003), se probaron dosis crecientes de fomesafén, desde 70 g i.a. ha⁻¹ hasta 430 g i.a. ha⁻¹ donde se observó daño visual en aumentos proporcionales a la dosis aplicada. Sin embargo, estas diferencias no resultaron en mermas en el rendimiento, y la dosis mínima para controlar malezas fue de 210 g i.a. ha⁻¹. Eso sí, todos los tratamientos fueron previamente sometidos a la acción del herbicida S-metalocloro contra malezas de hoja angosta, por lo que es posible que los resultados estén influidos por este

factor. De hecho, es conocida la interacción de fomesafén con otros herbicidas (Soltani et al., 2013).

Para Chile, no existe un momento óptimo de aplicación de fomesafén, sin embargo, se recomienda su utilización en post-emergencia temprana, siendo más relevante el estado de desarrollo de las malezas a controlar (AFIPA, 2009). Bailey et al. (2003), determinaron que al aplicar fomesafén al estado de tercera hoja trifoliada se alcanzó el menor daño visual respecto a la aplicación en una y dos hojas trifoliadas. Sin embargo, al evaluar el rendimiento del cultivo, no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Además, en aplicaciones tardías el efecto sobre las malezas es menor, siendo óptimo al estado de primera hoja trifoliada del cultivo de poroto para grano seco. Sikkema et al. (2006) determinaron aplicar el tratamiento con fomesafén en el estado de segunda a tercera hoja de poroto 'Otebo'.

2.3. Daños asociados

2.3.1. Síntomas

Sikkema et al. (2006) registraron un 1,8% de daño visual en poroto 'Otebo' tratado con fomesafén en dosis normal versus 4,1% en dosis doble. Al igual que la aplicación de bentazón, el daño visual disminuyó a través del tiempo. Sin embargo, según Bailey et al. (2003), la aplicación de fomesafén en dosis similar a la dosis doble, esto es 430 g i.a. ha⁻¹, produce hasta 43% de daño visual en poroto para grano seco, evaluado siete días después de aplicación. En una dosis similar a la normal, equivalente a 210 g i.a. ha⁻¹, el daño visual alcanzó un 18% respecto al testigo.

La altura de planta fue afectada en poroto 'Otebo', sin embargo, la biomasa aérea disminuyó 13% al aplicar doble dosis de fomesafén (Sikkema et al., 2006). Bailey et al. (2003), tampoco encontraron diferencias significativas en la altura de las plantas, al comparar tratamientos con 25% y 50% de la dosis normal.

2.3.2. Rendimiento

En poroto 'Otebo', no hubo efecto en el rendimiento de grano seco (Sikkema et al., 2006). Según Bailey et al. (2003), tampoco hay diferencias significativas respecto al testigo en plantas tratadas con fomesafén, desde dosis de 70 g i.a. ha-1 hasta, incluso, dosis de 560 g i.a. ha-1, más del doble de la dosis normal.

2.3.3. Variables fotosintéticas

Al igual que en el caso de bentazón, las investigaciones en cuanto al impacto sobre la fotosíntesis se centra fundamentalmente en el estudio de líneas resistentes y sensibles a la aplicación de fomesafén.

Jung et al. (2003) estudiaron plantas de arroz transgénicas expuestas a oxifluorfén, un herbicida de la familia de fomesafén y que por lo tanto, comparten el modo de acción. Estas plantas son resistentes a este tipo de herbicidas, ya que presentan mayor concentración de

protoporfirinógeno oxidasa. El contenido de clorofilas no fue estadísticamente distinto, comparando plantas transformadas y plantas normales de arroz. La actividad fotosintética, sin embargo, medida como rendimiento cuántico del fotosistema II, fue mayor en plantas transgénicas resistentes que en plantas normales de arroz. La asimilación de CO₂ fue levemente mayor en las plantas transformadas. Por lo tanto, hay relación entre fotosíntesis y susceptibilidad a fomesafén.

Ha et al. (2003), estudiaron plantas transgénicas de arroz resistentes a oxifluorfén, transformadas mediante dos técnicas. Los autores evaluaron peroxidación lipídica como contenido de malondialdehído (MDA), observando un 57% de reducción en la concentración de MDA en las plantas transgénicas resistentes, en comparación a las plantas normales. Esto indica la relación existente entre estrés oxidativo y susceptibilidad a fomesafén.

3. Discusión y conclusiones

Dados los modos de acción de bentazón y fomesafén, es esperable que estos herbicidas afecten la fotosíntesis y produzcan estrés oxidativo en aquellos cultivares sensibles, aunque esto no ha sido confirmado mediante un estudio específico en poroto (Bradshaw et al., 1992; Wang et al., 2008).

La capacidad de catabolizar la molécula del ingrediente activo del herbicida confiere la resistencia al modo de acción de bentazón, lo que ha sido estudiado en maíz y arroz (Bradshaw et al., 1992; Wu y Wang, 2003; Wang et al., 2008). En el caso de resistencia a fomesafén, está vinculada con la presencia de la molécula que desencadena el estrés oxidativo o bien, con la enzima que evita la acumulación de esta molécula, proceso inhibido por la presencia de fomesafén (Lermontova y Grimm, 2000; Warabi et al., 2001; Li et al., 2004).

Los diferentes autores que han evaluado cultivares de poroto para grano seco, coinciden en señalar el estado de segunda hoja trifoliada como óptimo para la aplicación de bentazón. Además, el rango óptimo fluctúa entre primera y tercera hoja, dependiendo del cultivar, al igual que la aplicación de fomesafén (Bailey et al., 2003, Soltani et al., 2005; Soltani et al., 2006; Soltani et al., 2008).

En general en los casos estudiados, el daño visual observado no se refleja en alteraciones del rendimiento de plantas de poroto para grano seco, aplicadas con bentazón; sin embargo, los ensayos que informan disminución en el rendimiento, son aquellos que abarcan más de un ambiente durante la investigación, por lo que se advierte efecto ambiental en el daño de las plantas de poroto ante la aplicación de bentazón. Wall (1995) indica que a menor temperatura se determina mayor efecto en el rendimiento.

En el caso de plantas aplicadas con fomesafén, no se ha demostrado efecto en el rendimiento en ninguno de los estudios, incluso en aquellos cultivares de poroto para grano seco que presentaron daño visual (Bailey et al., 2003; Sikkema et al., 2006). Sikkema et al. (2006) compararon el efecto de bentazón y fomesafén sobre el cultivar 'Otebo', concluyendo que bentazón causa mayor daño visual y mayor reducción en el crecimiento, coincidiendo con los resultados de Bailey et al. (2003). Lo anterior ha sido interpretado como una menor fitotoxicidad de fomesafén comparado con bentazón en plantas de poroto para grano seco.

La investigación realizada por Wang et al. (2008) en arroz, es la única que considera variables fotosintéticas luego de la aplicación de bentazón. Sin embargo, sólo estudia hasta un rango de cinco días después de aplicación, por lo que no es posible conocer el impacto sobre el crecimiento y finalmente en el rendimiento. Lo mismo ocurre en las investigaciones de Jung et al. (2003) y Ha et al. (2003), quienes estudiaron variables fotosintéticas luego de la aplicación de oxifluorfén, un herbicida de la familia de fomesafén.

De acuerdo a Wang et al. (2008), en plantas de arroz resistentes y sensibles a bentazón, disminuye el contenido de clorofilas y la tasa fotosintética, pero las plantas resistentes se sobreponen a esta disminución. Respecto al daño oxidativo, el sistema protector de las plantas resistentes es capaz de controlar tanto la peroxidación lipídica como el aumento de especies reactivas de oxígeno, causados por la aplicación de bentazón, mientras que en plantas susceptibles, el sistema protector contra el daño oxidativo se ve sobrepasado al menos hasta cinco días después de aplicación. Por tanto, la aplicación de bentazón está relacionada con la disminución del contenido de clorofilas y la tasa fotosintética, además de un aumento en las especies reactivas de oxígeno en la planta.

La fotosíntesis en plantas de arroz susceptibles al modo de acción de fomesafén, fue menor que en plantas resistentes, sin diferencias en el contenido de clorofilas (Jung et al., 2003). Además, según Ha et al. (2003), las plantas susceptibles de arroz sufren mayor peroxidación lipídica que plantas resistentes a la familia de herbicidas de fomesafén. Esto indica que la aplicación de fomesafén está relacionada con una disminución en la fotosíntesis y, además, con un aumento en el nivel de estrés oxidativo.

En conclusión, el daño visual observado después de la aplicación de fomesafén, no se traduce en pérdidas de rendimiento. Sin embargo en ciertos cultivares y razas de plantas de poroto para grano seco aplicadas con bentazón, disminuye el rendimiento, la altura de plantas y la biomasa aérea. Además, esta disminución en el rendimiento en plantas tratadas con bentazón es observada sólo bajo ciertas condiciones ambientales. Esto último sugiere que no es posible extrapolar las conclusiones de otras investigaciones a sus posibles efectos en los distintos cultivares de poroto cultivados en Chile, haciéndose necesario el investigar los efectos en ensayos locales.

Literatura citada

- AFIPA (Asociación Nacional de Fabricantes e Importadores de Plaguicidas Agrícolas), Chile. 2009. Manual Fitosanitario 2009-2010. Santiago, Chile: AFIPA. 1017p.
- Bailey, W. A; H. P. Wilson and T. E. Hines. 2003, Apr.-Jun. Weed control and snap bean (*Phaseolus vulgaris*) response to reduced rates of fomesafen. <u>Weed Technology</u>, 17(2): 269-275.
- Bradshaw, L.; M. Barrett and C. G. Poneleit. 1992, Oct.-Dec. Physiological basis for differential bentazon susceptibility among corn (*Zea mays*) inbreds. <u>Weed Science</u>, 40(4): 522-527.
- Diebold, S.; D. Robinson; J. Zandstra; J. O'Sullivan and P. H. Sikkema. 2004, Oct. Sweet corn cultivar sensitivity to bentazon. *Weed Technology*, 18(4): 982-987.
- Duke, S.; J. Lydon; J. M. Becerril; T. D. Sherman; L. P. Lehnen and H. Matsumoto. 1991, Jul.-Sept. Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 29(3): 465-473.
- Franzen, D. W.; J. H. O'Barr and R. K. Zollinger. 2003, [s.m.]. Interaction of a foliar application of iron HEDTA and three postemergence broadleaf herbicides with soybeans stressed from chlorosis. *Journal of Plant Nutrition*, 26(12): 2365-2374.
- Ghosheh, H. Z. 2004, Jun. Single herbicide treatments for control of broadleaved weeds in onion (*Allium cepa*). *Crop Protection*, 23(6): 539-542.
- Ha, S.; S. Lee; Y. Lee; K. Yang; N. Lee; S. Jang et al. 2004, Jan. The plastidic Arabidopsis protoporphyrinogen IX oxidase gene, with or without the transit sequence, confers resistance to the diphenyl ether herbicide in rice. *Plant Cell and Environment*, 27(1): 79-88.
- Jung, S.; J. Chung; S. Jang; J. Guh; H. Lee; S. Chon et al. 2003, Jun. Either soluble or plastidic expression of recombinant protoporphyrinogen oxidase modulates tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic efficiency in transgenic rice. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67(7): 1472-1478.
- Li, J.; R. Smeda; K. Nelson and F. Dayan. 2004, May.-Jul. Physiological basis for resistance to diphenyl ether herbicides in common waterhemp (*Amaranthus rudis*). <u>Weed Science</u>, 52(3): 333-338.
- Li, X. and D. Nicholl. 2005, Mar. Development of PPO inhibitor-resistant cultures and crops. *Pest Management Science*, 61(3): 277-285.
- Lermontova, I. and B. Grimm. 2000, Jan. Overexpression of plastidic protoporphyrinogen IX oxidase leads to resistance to the diphenyl-ether herbicide acifluorfen. *Plant Physiology*, 122(1): 75-83.

- Mallory-Smith, C. and E. J. Retzinger. 2003, Jul.-Sept. Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. <u>Weed Technology</u>, 17(3): 605-619.
- Senem, Y.; L. Ozturk; I. Cakmak and H. Budak. 2009, Oct. Turfgrass species response exposed to increasing rates of glyphosate application. *European Journal of Agronomy*, 31(3): 120-125.
- Sikkema, P.; D. Robinson; C. Shropshire and N. Soltani. 2006, [s.m.]. Responses of Otebo bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to postemergence herbicides. <u>Weed Biology and Management</u>, 6(2): 68-73.
- Sikkema, P.; L. Brown; C. Shropshire and N. Soltani. 2007, May. Responses of three types of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to spring-applied post-emergence herbicides. <u>Crop Protection</u>, 26(5): 715-720.
- Soltani, N.; C. Shropshire and P. H. Sikkema. 2005, Apr. Tolerance of Kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) to bentazon alone and when mixed with imazamox. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(2): 529-532.
- Soltani, N.; S. Bowley and P. H. Sikkema. 2005b, Jan. Responses of Black and Cranberry beans (*Phaseolus vulgaris*) to post-emergence herbicides. *Crop Protection*, 24: 15-21.
- Soltani, N.; R. Nurse; D. Robinson and P. H. Sikkema. 2008, Jan. Response of Pinto and Small Red Mexican bean to postemergence herbicides. *Weed Technology*, 22(1): 195-199.
- Soltani, N.; R. Nurse; C. Shropshire and P. H. Sikkema. 2013, May. Weed control in White bean with pendimethalin applied preplant followed by postemergence broadleaved herbicides. *The Open Plant Science Journal*, 7: 24-30.
- Wall, D. A. 1995, Jul.-Sept. Bentazon tank-mixtures for improved redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and common lambsquarters (*Chenopodium album*) control in Navy bean (*Phaseolus vulgaris*). Weed Technology, 9(3): 610-616.
- Wang, Y.; X. Lu; M. Sun; F. Song; L. Li; T. Gao et al. 2008, Sept. Physiological research on the difference of bentazon tolerance in wild type rice and sensitive lethal mutants. <u>Acta Agronomica Sinica</u>, 34(9): 1615-1622.
- Warabi, E.; K. Usui; Y. Tanaka and H. Matsumoto. 2001, Aug. Resistance of a soybean cell line to oxyfluorfen by overproduction of mitochondrial protoporphyrinogen oxidase. *Pest Management Science*, 57(8):743-748.
- Wu, C. and C. Wang. 2003, Jan. Differential tolerance of inbred corn (*Zea mays*) in response to bentazon. *Plant Protection Bulletin*, 45: 53-64.

CAPÍTULO II. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LOS HERBICIDAS BENTAZÓN Y FOMESAFÉN SOBRE FISIOLOGÍA DE HOJAS DE POROTO VERDE Y SU RENDIMIENTO HORTÍCOLA

Resumen

Una de las dificultades importantes en el cultivo del frejol es el control de malezas. Diversos estudios han evaluado el impacto de los herbicidas disponibles sobre el rendimiento de poroto seco, pero hasta ahora, no existen evaluaciones de su efecto sobre la fisiología ni el rendimiento de poroto verde. En el presente estudio, se evaluó el efecto de los herbicidas postemergentes bentazón y fomesafén, de acción fotoxidativa asociada a la fotosíntesis, sobre la fisiología y rendimiento en las variedades de poroto verde Hystyle y HM-5101, aplicados en segunda hoja y en prefloración. En el cultivar HM-5101, bentazón aplicado en segunda hoja, indujo la verticalidad foliar con un menor daño celular, posiblemente por la menor exposición al sol, y sin efectos en prefloración. Fomesafén no mostró efectos en aplicaciones en segunda hoja, pero en prefloración, inhibió el paraheliotropismo, aumentando la exposición al sol y elevando la fotosíntesis. En el cultivar Hystyle, la aplicación de bentazón no tuvo efectos en segunda hoja, mientras que en prefloración indujo daño celular. Fomesafén, aplicado en segunda hoja y en prefloración, indujo daño celular. Los efectos negativos fueron transitorios y no deletéreos pues no afectaron la capacidad fotosintética de los cultivares ni su rendimiento.

Palabras claves: Phaseolus vulgaris L., fitotoxicidad, daño oxidativo, paraheliotropismo.

EFFECT ON SNAP BEAN PHYSIOLOGY AND YIELD UNDER BENTAZON Y FOMESAFEN APPLICATION

Abstract

Weed management is a major limiting factor in the production of common beans. Herbicides impact on dry bean have been evaluated in many studies, but the effect on snap bean physiology and yield have not been assessed. Bentazon and fomesafen are post-emergence herbicides whose modes of action are related to photo-oxidative injury linked to photosynthesis. This study investigated their effects on the physiology and yield of the snap bean cultivars Hystyle and HM-5101, applied in two developmental stages: second leaf and preflowering. In HM-5101, bentazon applied in second leaf caused more vertical leaves and less celular injury, possibly, because of the less incident radiation. Bentazon was not damaging in preflowering application, neither fomesafen in second leaf application. Fomesafen applied in preflowering inhibited paraheliotropism increasing the incident light and resulting in higher photosynthetic rates. In Hystyle, bentazon was damaging only applied in preflowering, causing celular injury. Detrimental effects were temporary and not-deleterious, since these herbicides did not affect photosynthetic capacity and yield of snap bean.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., phytototoxicity, oxidative injury, paraheliotropism.

Introducción

El poroto o frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas más importantes en la agricultura de países del tercer mundo, dadas sus características nutricionales en cuanto al contenido de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes (Boivin et al., 2009; Baardseth et al., 2010). Esto se reafirma por el aumento en la producción mundial de poroto verde en los últimos diez años (FAOSTAT, 2013). El poroto verde es cultivado para su consumo en fresco o congelado, apreciado por vainas carnosas y sin fibra (Myers y Baggett, 1999). Incluso en el encadenamiento productivo, el poroto verde se presenta como una oportunidad agroindustrial importante, donde la calidad del producto es primordial, expresada fundamentalmente en la ausencia de curvatura de las vainas, largo y color (Cajiao, 1992; Krarup, 2003; Bascur, 2010). Sin embargo, el enmalezamiento es uno de los principales problemas agronómicos del cultivo (Graham y Ranalli, 1997), llevando incluso al desarrollo de líneas de poroto transgénicas resistentes a herbicidas (Aragao et al., 2002; Nifantova et al., 2011).

La alta incidencia de malezas se debe a una baja tasa de cobertura inicial del cultivo, lo que provoca una pérdida de su competitividad (Graham y Ranalli, 1997). Por ello, el control químico se constituye como un manejo agronómico fundamental; aun cuando se apliquen herbicidas de pre-siembra, es comúnmente necesario recurrir a herbicidas de post-emergencia. Tanto en Chile como en otros países se utilizan preferentemente los ingredientes activos bentazón y fomesafén como herbicidas de post-emergencia para el control de malezas de hoja ancha en este cultivo (USDA NASS, 2005; USDA NASS, 2010). Bentazón es un herbicida de contacto que pertenece al grupo de las benzotiadiazinonas y es un inhibidor del transporte de electrones en el fotosistema II (Fuerst y Norman, 1991; Mallory-Smith y Retzinger, 2003). Fomesafén, por otra parte, es un difenil éter, que ejerce su acción inhibiendo la acción de la enzima protoporfirinógeno oxidasa, generando finalmente estrés oxidativo y desorganizando las membranas lipídicas (Duke et al., 1991; Mallory-Smith y Retzinger, 2003).

Pese al amplio uso de estos herbicidas en poroto, se han reportado signos de fitotoxicidad en el cultivo. Normalmente, los síntomas se manifiestan a través de clorosis en las hojas, disminución en la altura de las plantas y maduración tardía en plantas de poroto para grano seco (Sikkema et al., 2006; Soltani et al., 2008). Esto, según Handwerck (2006), se traduce en una reducción en la biomasa de las plantas y reducción en el rendimiento en verde de hasta 34%. No obstante, y pese a ello, el daño causado por la presencia de las malezas es mayor, observándose reducciones desde 60% a 71% (Koslowski et al., 2002; Stagnari y Pisante, 2011; Ghamari y Ahmadvand, 2012). Además, por efecto del uso de estos herbicidas, se ha observado deformación de vainas, lo cual cobra suma importancia cuando se trata de un cultivo para consumo hortícola, ya sea en fresco como para congelado, ya que en ambos se considera como factor de calidad la proporción de vainas rectas (Handwerck, 2006; Bascur, 2010).

El grado de fitotoxicidad de los herbicidas depende del estado de desarrollo en que las plantas son expuestas a los ingredientes activos y de la época de siembra, ya que en función de ella, el cultivo se establecerá bajo distintas condiciones ambientales de temperatura y radiación (Kudsk y Streibig, 2003). En efecto, el ambiente determina la magnitud del efecto del herbicida sobre las plantas (Casquero et al., 2006; Pedreros, 2008; Cieslik et al., 2014). Sin embargo, la recomendación de aplicación de estos herbicidas es amplia e inexacta, ya que en el caso de bentazón abarca entre tercera hoja y prebotón floral, mientras que, en el caso de fomesafén, se privilegia el estado de desarrollo de las malezas (AFIPA, 2009).

La mayor parte de la investigación sobre el daño de estos herbicidas en poroto se limita a evaluar el daño visual de estos herbicidas y sus efectos en el rendimiento. Cabe destacar, además, que gran proporción de los estudios están dirigidos a la producción de poroto para grano seco, donde los efectos sobre la calidad de vainas no son medidos (Machado et al., 2006; Sikkema et al., 2006; Soltani et al., 2008). Considerando lo anterior, respecto al modo de acción y daño causado por los herbicidas bentazón y fomesafén, es importante evaluar el posible efecto oxidativo que causan transitoriamente luego de aplicados estos agroquímicos, y a la vez determinar el posible efecto sobre el rendimiento y calidad de vainas de poroto verde.

Hipótesis

Las plantas de poroto verde de los cultivares Hystyle y HM-5101 al ser tratadas con los herbicidas bentazón y fomesafén, sufren un estrés oxidativo a las 48 horas de aplicado y afectan su rendimiento hortícola.

Objetivos

Objetivo General

Determinar el efecto de la aplicación de los herbicidas bentazón y fomesafén sobre la condición oxidativa de poroto verde y su rendimiento hortícola.

Objetivos Específicos

- 1) Determinar el efecto de los herbicidas bentazón y fomesafén, aplicados en dos estados de desarrollo de poroto verde, sobre los cultivares Hystyle y HM-5101, en la tasa de permeabilidad relativa, tasa fotosintética y contenido de clorofila, a 48 horas luego de aplicación.
- 2) Determinar el efecto de los herbicidas bentazón y fomesafén aplicados en dos estados de desarrollo de poroto verde, sobre los cultivares Hystyle y HM-5101, en el crecimiento y rendimiento.

Materiales y métodos

Ubicación del estudio

Este estudio se llevó a cabo durante la temporada 2012-2013 en la Estación Experimental Antumapu de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la Región Metropolitana, a una latitud de 33° 34' Sur y longitud de 70° 38' Oeste, a 620 m.s.n.m.

El suelo corresponde a la serie Santiago, de clase textural franco arenosa. Su origen es aluvial y presenta suelos ligeramente profundos, de buen drenaje y pedregosidad ligera (CIREN, 1996).

El clima de esta localidad es de tipo templado mesotermal estenotérmico mediterráneo semiárido, caracterizado por veranos calurosos y secos e inviernos fríos. El régimen térmico varía entre 28,2°C en el mes de enero y 4,4°C en el mes de julio. Se registran en promedio 11 heladas anuales, existiendo un periodo libre de heladas de 231 días. Mientras que la precipitación media anual llega a 330 mm, con un periodo seco de 8 meses (Santibáñez y Uribe, 1990).

Material biológico

Se utilizaron dos cultivares de poroto: Hystyle y HM-5101, ambos con fines agroindustriales, provenientes de la compañía semillera Harris Moran. Se caracterizan por presentar vainas cilíndricas y hábito determinado arbustivo (Harris Moran Seed Co., 2012).

Los herbicidas en estudio fueron Basagran, que contiene como ingrediente activo bentazón al 48% p/v y el herbicida Flex, que contiene fomesafén al 21,7% p/p (Syngenta, 2008; AFIPA, 2009).

Tratamientos y diseño experimental

Se llevaron a cabo dos ensayos independientes, contemplando cada uno la evaluación de un cultivar. Cada ensayo consistió en seis tratamientos, que consideraron el uso de dos herbicidas (bentazón, fomesafén, testigo: sin producto químico) aplicados en dos estados fenológicos (segunda hoja trifoliada o prefloración). Un resumen de cada tratamiento por ensayo se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos y niveles de los factores en cada tratamiento, para cada ensayo.

Tratamiento	Aplicación	Estado fenológico de aplicación
T_1	Agua sin producto químico	2° hoja trifoliada
T_2	Agua sin producto químico	Prefloración
T_3	Bentazón	2° hoja trifoliada
T_4	Bentazón	Prefloración
T_5	Fomesafén	2° hoja trifoliada
$_{-}$	Fomesafén	Prefloración

El diseño experimental para cada ensayo en cada cultivar fue de bloques completos al azar, considerando cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una parcela compuesta de 5 hileras de 4 m de largo, distanciadas a 0,5 m entre sí. Para las evaluaciones se consideraron sólo las hileras centrales de cada parcela.

Manejo de los ensayos

Previo a la siembra, se realizó un riego profundo, de tal manera que el agua de riego permaneciera por más tiempo en el perfil de suelo. Luego, se planificó la labranza secundaria, mediante rastra de discos.

La siembra se realizó de forma manual, tratando las semillas previamente con un fungicida con ingrediente activo thiram para evitar incidencia de hongos (1 g kg⁻¹ de semilla). Además, se previno el ataque de gusanos cortadores mediante la aplicación de clorpirifos en la semilla (2 g kg⁻¹ de semilla) y también se incorporó al suelo en forma líquida (1.440 g ha⁻¹) (Faiguenbaum, 2003).

La siembra se realizó el 19 de noviembre de 2012 en el ensayo HM-5101 y al día siguiente en el ensayo correspondiente al cultivar Hystyle. En ambos cultivares se consideró una dosis de semilla de 13,8 g m⁻², buscando lograr una densidad de 22 plantas por metro lineal. Luego, al estado de primera hoja trifoliada se realizó un raleo, con el fin de uniformar 18 plantas por metro lineal, es decir, 36 plantas m⁻².

Ambos herbicidas fueron aplicados mediante una máquina de espalda manual, en las concentraciones máximas recomendadas para cada herbicida: 375 gramos de ingrediente activo por hectárea en el caso de fomesafén y 1.200 gramos de i.a. ha⁻¹ en el caso de bentazón. Se mantuvieron estas concentraciones para ambos estados de aplicación (Syngenta, 2008; AFIPA, 2009).

El cultivo se regó en forma tecnificada mediante cintas de riego, y la frecuencia fue monitoreada según muestra obtenida de barreno a una profundidad de 20 cm, regándose cuando el suelo perdía friabilidad. Todas las unidades experimentales se mantuvieron libres de malezas durante todo el ensayo, a través de un control manual, según se requirió.

La fertilización se realizó según el historial del sitio, además de los resultados del análisis de suelo. En el caso del nitrógeno, la aplicación se parcializó en siembra y estado de prefloración de las plantas, totalizando 70 kg nitrógeno ha⁻¹. En el caso del fósforo, se aplicaron 50 kg P_2O_5 ha⁻¹, mientras que no se fertilizó con potasio en consideración al análisis de suelo (Ver Anexo I).

Evaluaciones fisiológicas

Las determinaciones y/o recolección de muestras para análisis, se realizaron luego de 48 horas después de cada aplicación, en la segunda hoja trifoliada (SH) y, en el caso de las aplicaciones en prefloración, se utilizó la hoja del último nudo vegetativo del eje principal (PF), muestreado luego de 48 horas después de la aplicación; en cada unidad experimental, se tomó una muestra.

Con el propósito de determinar el posible daño oxidativo por la aplicación de bentazón y fomesafén, se procedió a determinar la tasa de permeabilidad relativa de membranas, tasa fotosintética, y contenido de clorofilas como se explica a continuación.

Tasa de permeabilidad relativa. Se extrajeron discos de foliolo mediante un sacabocados, se lavaron con agua destilada y, posteriormente, permanecieron en vasos de precipitado con 25 mL de agua destilada durante 3 horas. A continuación, se midió la conductividad eléctrica inicial (CE_{3h}), mediante un conductivímetro (CON-5, Oakton, SING). Este procedimiento se repitió luego de 6 horas (CE_{6h}), y a las 24 horas (CE_{24h}) de iniciada la medición. Luego de calentar la muestra a 80°C a baño maría por 15 minutos y enfriarla por 1 hora, se midió la conductividad eléctrica final (CE_f) en el efluente de remojo. La tasa de permeabilidad relativa (TPR) se determinó mediante la ecuación 1. Así, se obtuvieron tres mediciones a través del tiempo, TPR_{3h}, TPR_{6h}, TPR_{24h}.

TPR [%]=
$$\left(\frac{CE_i}{CE_e}\right)$$
x 100 (1)

Tasa fotosintética. En torno al mediodía solar se evaluó la tasa de asimilación de CO₂ mediante un analizador infrarrojo de gases (CIRAS-2, PPSystems, R.U.) en el foliolo central. Junto con las determinaciones de tasa fotosintética, se registró conductancia estomática, transpiración y concentración interna de CO₂.

Contenido relativo de clorofilas. Se determinó la transmitancia de tres hojas en cada unidad experimental, mediante un determinador portátil de clorofilas (SPAD CCM-200, Optisciences, EE.UU). Las lecturas de transmitancia se calibraron de acuerdo a la determinación del contenido total de clorofila (a y b), según el método propuesto por Lichtenthaler y Welburn (1983) de extracción en acetona, por lo tanto las mediciones resultan en µg de clorofila cm⁻² de hoja.

Temperatura foliar. Aproximadamente a mediodía solar se midió la temperatura foliar en los foliolos de la hoja correspondiente al estado de aplicación, cuidando de no sombrear la superficie foliar. Para ello se utilizó un termómetro infrarrojo (CHY 110, CHY, TAI), a mediodía solar.

Ángulo de hoja. La medición del ángulo de hoja se realizó de forma indirecta a través de radiación incidente, midiendo una hoja por unidad experimental. Para ello, se posicionó el sensor puntual de un radiómetro (HD9021, DELTA OHM, ITA) paralelo a la posición del foliolo central de la hoja correspondiente al estado de aplicación (PAR_{fc}). Además, se determinó la radiación solar horizontal al suelo (PAR₀) en ese momento. El coseno del ángulo de la hoja se calculó mediante la ecuación 2.

$$\cos \delta = \frac{PAR_{fc}}{PAR_0}$$
 (2)

Evaluaciones de crecimiento, rendimiento y desarrollo

Producción de materia seca aérea. Se determinó la acumulación de materia seca a través del tiempo, extrayendo 4 plantas por unidad experimental y secándolas en estufa a 70°C durante 48 horas. Previo a las aplicaciones, se realizó una medición con el propósito de asegurar uniformidad entre los tratamientos. En cada muestreo se incluyeron todas las unidades experimentales, extrayendo cuatro plantas cada vez. Los momentos de medición se indican en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Momento de medición de materia seca.

Medición	Indicador	Fecha
1	Previo a aplicación en segunda hoja	17 diciembre
2	10 días después de aplicación en segunda hoja	27 diciembre
3	Previo a aplicación en prefloración	03 enero
4	5 días después de aplicación en prefloración	08 enero
5	15 días después de aplicación en prefloración	18 enero
6	5 días previo a cosecha en verde	28 enero

Rendimiento. Una vez establecido el cultivo, es decir, un mes después de emergencia, se marcaron dos sectores de un metro lineal en cada unidad experimental. Esto, con el objeto de no disturbarlos durante los muestreos fisiológicos y de crecimiento. En estos sectores, se llevó a cabo una cosecha, la cual se determinó cuando el peso de los granos de las vainas fluctuó entre 3 y 5% del peso total de la vaina.

Calidad de vainas. Se determinó longitud y ancho de veinte vainas cosechadas en cada unidad experimental. Además se cuantificaron y pesaron vainas curvas y deformes por planta, expresándolas como rendimiento de descarte, dado que el rendimiento comercial se refiere sólo a las vainas rectas.

Estados fenológicos. El desarrollo del cultivo se registró cada dos días, y se determinó que el cultivo alcanzó un estado fenológico cuando el 50% de las plantas de la unidad experimental presentó las características de cada uno. Los estados de desarrollo considerados fueron: emergencia (V1), segunda hoja trifoliada, prefloración (R5), floración (R6), formación de vainas (R7) y cosecha (Fernández et al., 1982). A partir de registros diarios de temperatura y del seguimiento fenológico del cultivo, se calcularon las unidades calóricas (UC) necesarias para completar cada estado de desarrollo, según la ecuación 3, descrita por Arnold (1960). La temperatura umbral de crecimiento del poroto utilizada fue 10°C (Jenni, et. al., 2000)

$$UC = \frac{T^{\circ}_{m\acute{a}x} + T^{\circ}_{m\acute{i}n}}{2} - 10^{\circ}C \qquad (3)$$

Análisis estadístico

Los resultados de ambos ensayos fueron sometidos a un análisis de varianza, previa verificación de supuestos de este análisis, considerando las medias de al menos 4 repeticiones en todas las variables. El análisis se realizó en los niveles de cada factor, evaluando el efecto de los herbicidas en cada estado de aplicación. Así, se obtuvieron comparaciones de los herbicidas aplicados en segunda hoja y en prefloración en ANDEVAS independientes.

Cuando se obtuvo un valor de p menor a 0,05, se realizó la prueba de comparación múltiple de LSD de Fisher para distinguir diferencias significativas entre las medias, asumiendo un error tipo I de 5%.

Por otra parte, con el propósito de obtener información general sobre los cultivares y relaciones entre las variables estudiadas, se realizaron análisis de componentes principales (ACP), considerando las medias de los tratamientos en ambos cultivares. Se realizaron ACP de variables fisiológicas, de crecimiento y rendimiento de forma independiente, además de un ACP que considera todas las variables estudiadas. Con el objeto de comparar de forma específica los cultivares estudiados sin el efecto de la aplicación de herbicidas, se realizaron pruebas t de Student con un $\alpha = 0.05$, considerando las medias de los testigos de cada cultivar.

Resultados

Caracterización de las condiciones ambientales

Durante la realización del experimento (75 días en campo), se presentaron radiaciones medias diarias uniformes durante todo el ciclo, observándose baja nubosidad y promediando 19,69 MJ m⁻² d⁻¹. La temperatura media diaria aumentó a través del tiempo, alcanzando un promedio máximo de 23,46°C entre floración y formación de vainas en ambos cultivares. El día 19 de diciembre, durante el desarrollo de la segunda hoja, tuvo lugar el único evento lluvioso significativo, donde precipitaron 14,6 mm (Apéndice I).

En relación a datos históricos, las condiciones de temperatura registradas en los ensayos fueron 1,09°C a 2,22°C sobre la temperatura media normal de cada mes, en cambio la radiación recibida fue 5,05 MJ m⁻² d⁻¹ menor que la normal en un mes de Enero histórico (Anexo II).

Variables fisiológicas

Las variables fisiológicas se determinaron con el objetivo de conocer el daño provocado por los herbicidas luego de 48 horas después de cada aplicación, por lo que se constituyen como mediciones instantáneas.

El daño celular producido por los herbicidas, inferido por la tasa de permeabilidad relativa de membranas (TPR), se obtuvo luego de tres, seis y veinticuatro horas desde el inicio del muestreo fisiológico. La medición de TPR_{6h} logró la mayor diferenciación entre tratamientos, por tanto fue la variable analizada. La Figura 1a muestra que bentazón aplicado en segunda hoja (SH) sobre el cultivar HM-5101 (HM), disminuyó el daño celular en 7,4% respecto al testigo. En este cultivar la aplicación de fomesafén no indujo daño de membranas, al igual que las aplicaciones en prefloración (PF). En cambio, la Figura 1b muestra que bentazón no produjo efectos en SH sobre Hystyle (HS), pero en PF produjo daño celular alcanzando 10,54% sobre el testigo. Fomesafén en tanto, indujo efectos en SH aumentando la TPR_{6h} en 8,80%, sin producir daño celular en PF.

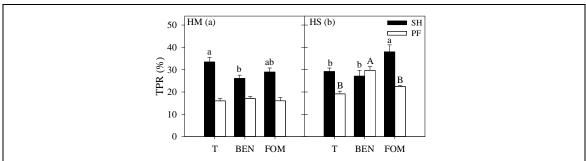


Figura 1. Tasa de permeabilidad relativa observada luego de 6 horas, según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: panel a) y Hystyle (HS: panel b). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test LSD Fisher. Letras minúsculas comparan medias de segunda hoja y letras mayúsculas comparan prefloración. Sobre las barras se indica el error estándar.

Respecto al efecto sobre la asimilación neta, se observaron diferencias sólo en el cultivar HM. Fomesafén aplicado en HM en PF provocó una mayor tasa de asimilación neta, llegando a una media de 19,88 µmol CO₂ m⁻² s⁻¹, mientras que el testigo alcanzó una media de 8,33 µmol CO₂ m⁻² s⁻¹ (Fig. 2a). En cuanto a la concentración interna de CO₂, fomesafén aplicado en PF sobre HM indujo menor contenido respecto al testigo (Fig. 2c). No se observaron efectos en las variables transpiración y conductancia estomática en este cultivar (Fig. 2e y 2g). En el cultivar HS no hubo respuesta respecto a la asimilación neta, contenido interno de CO₂, transpiración y conductancia estomática (Fig. 2b, 2d, 2f y 2h).

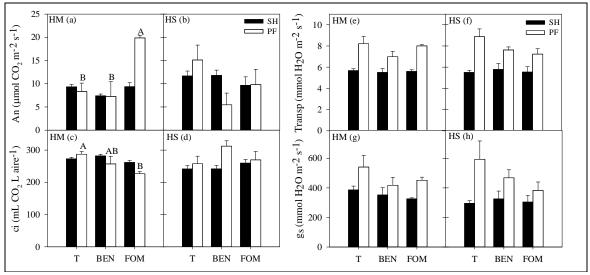


Figura 2. Tasa de asimilación neta (An), contenido interno de CO₂ (ci), transpiración (Transp) y conductancia estomática (g_s) observadas según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: paneles a, c, e, g) y Hystyle (HS: paneles b, d, f, h). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos en prefloración, según el test LSD Fisher. Sobre las barras se indica el error estándar.

La concentración de clorofilas no mostró diferencias en la aplicación de los herbicidas respecto al testigo en ninguno de los cultivares. El testigo HM en SH alcanzó 6,37 μg de clorofilas cm⁻² de hoja, mientras que en PF presentó 7,45 μg de clorofilas cm⁻² de hoja (Fig. 3a). Por otro lado, el testigo del cultivar HS en SH concentró 5,19 μg de clorofilas cm⁻² de hoja, y en PF llegó a 6,72 μg de clorofilas cm⁻² de hoja (Fig. 3b)

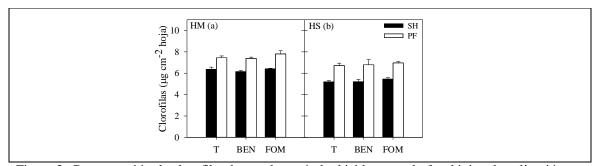


Figura 3. Concentración de clorofila observada según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: panel a) y Hystyle (HS: panel b). Sobre las barras se indica el error estándar.

En cuanto al efecto de los herbicidas sobre la temperatura de las hojas, no hubo respuesta de los cultivares. Se observó una temperatura de 21,1°C en el testigo de SH de HM y 23,4°C en PF (Fig. 4a). En HS hubo 23,1°C en SH y 24,0°C en PF (Fig. 4b).

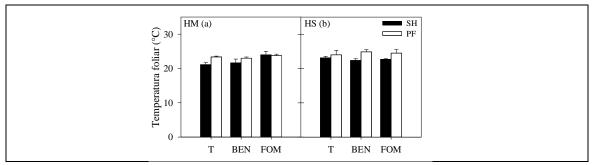


Figura 4. Temperatura foliar según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: panel a) y Hystyle (HS: panel b). Sobre las barras se indica el error estándar.

El ángulo foliar se representó en el coseno del ángulo de hoja, que forma la lámina respecto al horizonte. Entonces, el coseno cercano a 1,0 representa una hoja horizontal, y cercano a 0 representa una hoja vertical. En el cultivar HM al aplicar bentazón en SH, se observaron hojas más verticales respecto al testigo, sin tener efecto en PF. Fomesafén en cambio, no tuvo efecto en SH, pero indujo hojas más horizontales al aplicar en PF respecto al testigo (Fig. 5a). El ángulo de hoja no se vio afectado por la aplicación de herbicidas en el cultivar HS (Fig. 5b).

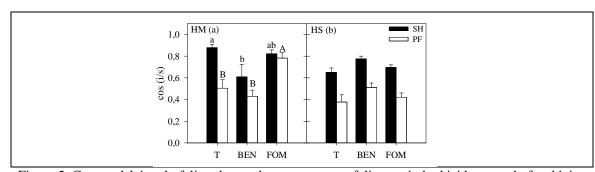


Figura 5. Coseno del ángulo foliar observado y temperatura foliar según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: panel a) y Hystyle (HS: panel b). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test LSD Fisher. Letras minúsculas comparan medias de segunda hoja y letras mayúsculas comparan prefloración. Sobre las barras se indica el error estándar.

Variables de crecimiento, rendimiento y desarrollo

Se muestreó la biomasa aérea a través del tiempo. El cultivar HM no se vio afectado por los herbicidas en su biomasa aérea en ninguna fecha de muestreo (Fig. 6). La biomasa promedio de los testigos en el último muestreo fue de 17,7 g pl⁻¹.

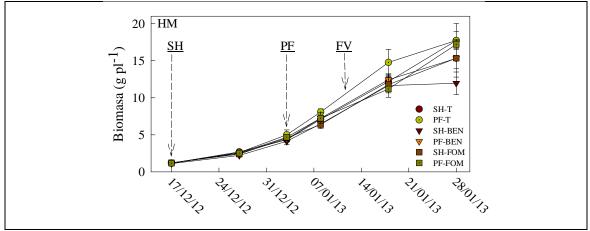


Figura 6. Biomasa aérea a través del tiempo, según herbicida y estado fenológico de aplicación, en cultivar HM-5101 (HM). Se indican las etapas fenológicas de segunda hoja (SH), prefloración (PF) e inicio de formación de vainas (FV). Se representan las medias (n=5) ± error estándar.

En el cultivar HS se observó un efecto temporal de bentazón luego de 10 días de aplicar en segunda hoja (Fig. 7). Este herbicida disminuyó en 0,65 gramos la biomasa media del testigo, lo que correspondió al 24% de la biomasa total; sin embargo, este efecto no mostró repercusiones en la biomasa final, llegando a un promedio de los testigos de 15,93 g pl⁻¹ (Apéndice II).

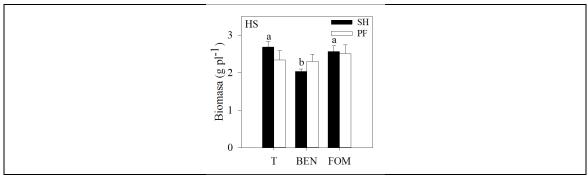


Figura 7. Biomasa aérea muestreada 10 días después de aplicación en segunda hoja según herbicida y estado fenológico de aplicación, en cultivar Hystyle (HS). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos en segunda hoja, según el test LSD Fisher. Sobre las barras se indica el error estándar.

El rendimiento total por hectárea considera todas las vainas cosechadas. Esta variable no se afectó por la aplicación de los herbicidas en ninguno de los cultivares. En la Figura 8 se observa que el cultivar HM promedió 21,5 Mg ha⁻¹, mientras que HS produjo 21,7 Mg ha⁻¹. Tampoco se observaron efectos en los componentes del rendimiento: número de vainas por planta, y peso de cada vaina. En estas variables, HM promedió 9,0 vainas pl⁻¹ y 7,1 g vaina⁻¹. Por otra parte, HS produjo 11,1 vainas pl⁻¹ y 5,75 g vaina⁻¹.

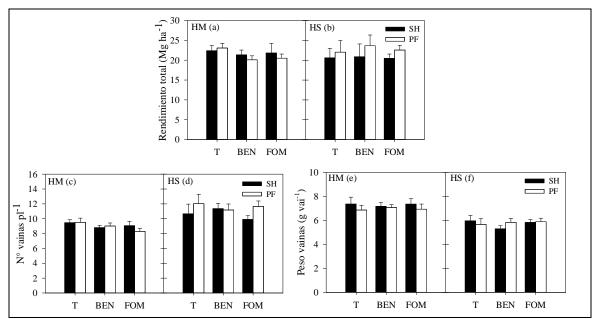


Figura 8. Rendimiento total, número de vainas por planta y peso de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: paneles a, c, e) y Hystyle (HS: paneles b, d, f). Sobre las barras se indica el error estándar.

El rendimiento comercial, que considera sólo las vainas comerciales y rectas, no fue afectado por los herbicidas. Como se observa en la Figura 9, ni el rendimiento ni sus componentes se afectaron en ninguno de los tratamientos. El cultivar HM promedió 20,36 Mg ha⁻¹, mientras que HS mostró un rendimiento comercial de 14,10 Mg ha⁻¹.

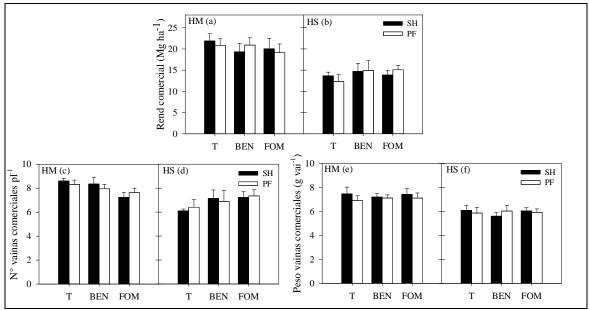


Figura 9. Rendimiento comercial, número de vainas por planta y peso de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: paneles a, c, e) y Hystyle (HS: paneles b, d, f). Sobre las barras se indica el error estándar.

Siguiendo el análisis de la calidad del rendimiento, tanto la variable diámetro de vaina como largo de vaina no se vieron afectadas por la aplicación de herbicidas (Fig. 10). HM promedió 0,97 cm de diámetro y 13,31 cm de largo, en tanto HS mostró en promedio 0,94 cm de diámetro y 13,27 cm de largo de vaina.

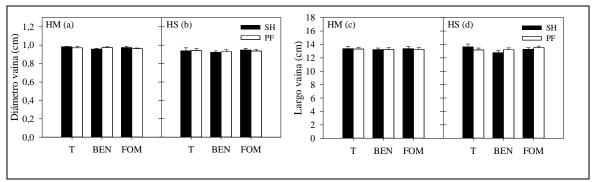


Figura 10. Diámetro y largo de vainas según herbicida y estado fenológico de aplicación, en los cultivares HM-5101 (HM: paneles a, c) y Hystyle (HS: paneles b, d). Sobre las barras se indica el error estándar.

Respecto al desarrollo de los cultivares, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ningún cultivar, por lo que la fenología presentada en la Figura 11, corresponde al promedio de ambos Si bien Hystyle (HS) se sembró 1 día después, la fenología de los cultivares se igualó al estado de segunda hoja, al punto de completar el ciclo en 76 días calendario en el caso de HM y 74 días en HS.

Comparación de los cultivares

Se realizaron tres análisis de componentes principales (ACP) considerando de forma independiente variables fisiológicas, crecimiento y rendimiento, con el fin de asociar las variables a los cultivares estudiados. Sólo el ACP de variables de rendimiento logró separar a los cultivares, como se observa en la Figura 12.

El ACP de variables de rendimiento explica el 96% de la variabilidad de los datos (Fig. 12 y Apéndice III). En el gráfico biplot se observa que HM mostró características distintas a HS según el CP1 del ACP, ya que se observan dos nubes de puntos, donde cada nube corresponde a un cultivar distinto. A la derecha del gráfico, el cultivar HS muestra alta asociación al rendimiento de descarte (Rdesc) y al número de vainas curvas por planta (Ncurv/pl). A la izquierda, en cambio, el cultivar HM se encuentra asociado a un mayor rendimiento comercial (Rcom) y gramos por vaina (g/vaicurv y g/vaicom).

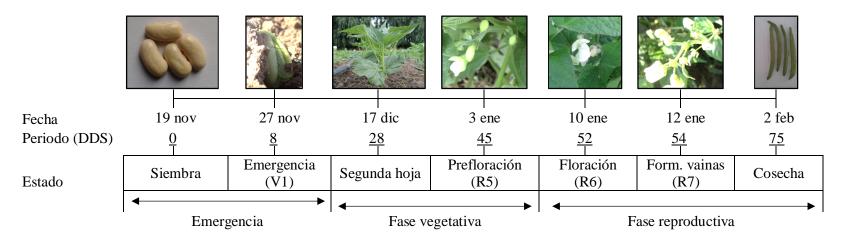


Figura 11. Fenofases y días transcurridos desde siembra (DDS) en el desarrollo vegetativo y reproductivo de cultivares de poroto verde (*Phaseolus vulgaris* L.) de fines agroindustriales, evaluado en Santiago, Región Metropolitana. En paréntesis se indica la nomenclatura establecida por Fernández et al. (1982).

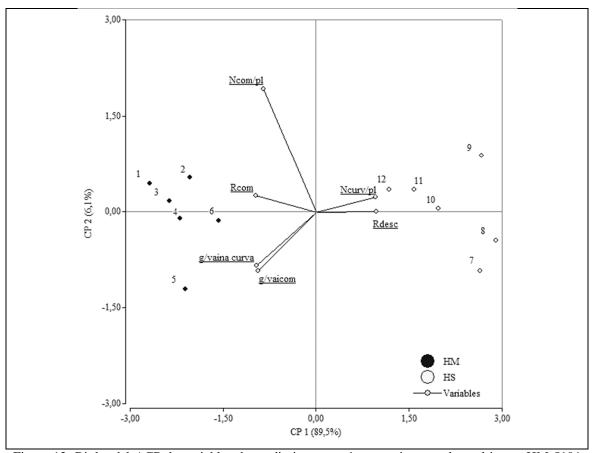


Figura 12. Biplot del ACP de variables de rendimiento, según tratamiento en los cultivares HM-5101 (HM: tratamientos 1, 2, 3, 4, 5 y 6) y Hystyle (HS: tratamientos 7, 8, 9, 10, 11 y 12). Rcom: rendimiento comercial; Ncom/pl: número de vainas comerciales por planta; g/vaicom: gramos por vaina comercial; Rdesc: rendimiento de descarte; Ncurv/pl: número de vainas curvas por planta; g/vaina curva: gramos por vaina curva.

Se realizaron pruebas t de Student para comparar los testigos de ambos cultivares. Al considerar las variables fisiológicas (Cuadro 3), se observa que HM presenta hojas más horizontales que HS, pero no hubo diferencias en la temperatura foliar. En tanto en HS, se observó una mayor tasa de asimilación neta, además de una menor concentración interna de CO₂. Las hojas de este cultivar contienen menos clorofila que HM.

Cuadro 3. Comparación de los cultivares HM-5101 (HM) y Hystyle (HS) según variables fisiológicas.

Variable	Timid od	$\mathbf{H}\mathbf{M}$	HS
Variable	Unidad	Media	Media
Ángulo foliar	cos (i/s)	0,69 a	0,51 b
Temperatura foliar	$^{\circ}\mathrm{C}$	22,25	23,56
Contenido CO ₂ interno	mL L ⁻¹ aire	280,13 a	249,63 b
Conductancia estomática	mmol H_2O m ⁻² s ⁻¹	463,38	444,38
Asimilación neta	μ mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	8,84 b	13,40 a
Transpiración	mmol H_2O m ⁻² s ⁻¹	6,94	7,19
TPR 6 horas	%	24,74	24,17
Contenido de clorofilas	μg cm ⁻² hoja	6,91 a	5,96 b

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares, según prueba t de Student (p<0,05).

Al comparar los cultivares según la acumulación de biomasa aérea, no se observó diferencias en sus biomasas finales. La única diferencia significativa entre cultivares se observó 6 días después del inicio de formación de vainas. Sin embargo, esta diferencia se compensa al llegar a cosecha (Fig. 13).

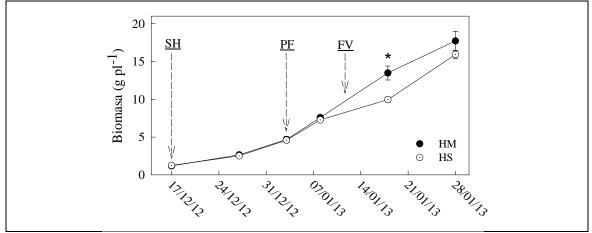


Figura 13. Biomasa aérea a través del tiempo, en el cultivar HM-5101 (HM) y el cultivar Hystyle (HS). Asterisco indica diferencia significativa entre los cultivares, según prueba t de Student. (p < 0,05). Se indican las etapas fenológicas de segunda hoja (SH), prefloración (PF) e inicio de formación de vainas (FV). Se representan las medias (n=10) ± error estándar.

En variables de rendimiento y calidad de vainas, se observan notables diferencias. En el cuadro 4 se destaca que, si bien no hay diferencias en cuanto a diámetro y largo de vainas, HS sí presenta mayor número de vainas curvas, superando a HM en 2,5 veces. Este hecho influyó significativamente en el rendimiento comercial de HS, puesto que produjo 8,5 ton ha⁻¹ de descarte, llegando a producir 13,0 ton ha⁻¹ comerciales. A diferencia de HM, que presentó un rendimiento comercial de 21,3 ton ha⁻¹.

Cuadro 4. Comparación de los cultivares HM-5101 (HM) y Hystyle (HS) según variables de rendimiento.

77	TT2-JJ	HM	HS
Variable	Unidad -	Media	Media 0,94 13,41 21,32 13,00 b 8,54 a 11,35 6,26 b 4,34 a 5,81 b 5,99
Diámetro vaina	cm	0,98	0,94
Largo vaina	cm	13,35	13,41
Rendimiento total	ton ha ⁻¹	22,73	21,32
Rendimiento comercial	ton ha ⁻¹	21,38 a	13,00 b
Rendimiento descarte	ton ha ⁻¹	4,42 b	8,54 a
Vainas totales	N° vai pl⁻¹	9,49	11,35
Vainas normales	N° vai norm pl⁻¹	8,46 a	6,26 b
Vainas curvas	N° vai curv pl ⁻¹	1,76 b	4,34 a
Masa vainas	g vai ⁻¹	7,11 a	5,81 b
Masa vainas normales	g vai norm ⁻¹	7,19	5,99
Masa vainas curvas	g vai curv ⁻¹	6,73	5,49

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares, según prueba t de Student (p<0,05).

Con el fin de relacionar todas las variables estudiadas, se realizó un ACP sobre los testigos de ambos cultivares considerando variables fisiológicas, rendimiento comercial y biomasa final (Figura 14 y Apéndice IV). El biplot que representa al componente principal 1 y 2 explica el 95% de la variabilidad de los datos. Al igual que el ACP de variables fisiológicas, HM mostró características diferentes a HS según el CP1. Las variables que contribuyen al CP1, y que por tanto separan a los cultivares son: gramos por vaina comercial (g/vaicom), rendimiento comercial (Rcom), número de vainas comerciales por planta (Ncom/pl), asimilación neta (An), temperatura de hojas (Temp) y biomasa final (BMfin). Las variables que contribuyen al CP2, y que separan a los estados de aplicación son: tasa de permeabilidad relativa (TPR6), concentración de clorofilas (Clorof), conductancia estomática (gs) y transpiración (T).

El cultivar HM se asocia a mayor rendimiento y biomasa, mientras que HS se asocia a mayor asimilación y temperatura de hojas. Respecto a la correlación entre variables, se observa asociación positiva entre el rendimiento, componentes del rendimiento y biomasa final; ángulo foliar (Ang) y tasa de permeabilidad relativa (TPR6) y entre transpiración (T) y conductancia estomática (gs).

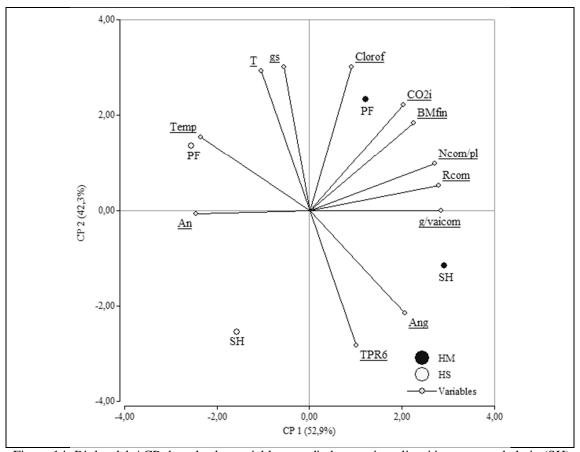


Figura 14. Biplot del ACP de todas las variables estudiadas, según aplicación en segunda hoja (SH) o prefloración (PF) en los cultivares HM-5101 (HM) y Hystyle (HS). BMfin: Biomasa final por planta; Rcom: rendimiento comercial; Ncom/pl: número de vainas comerciales por planta; g/vaicom: gramos por vaina comercial; Ang: coseno del ángulo de hoja; Temp: temperatura de hoja; CO₂i: concentración de CO₂ interno; g_s: conductancia estomática; An: fotosíntesis neta; T: transpiración; TPR6: tasa de permeabilidad relativa luego de 6 horas; Clorof: concentración de clorofilas.

Discusión

Dada la gran susceptibilidad de *Phaseolus vulgaris* ante distintos factores de estrés, es primordial asegurar un manejo agronómico tendiente a aumentar su rendimiento. (Graham y Ranalli, 1997). En el caso del manejo de malezas, el uso de herbicidas ha sido una herramienta fundamental, puesto que el poroto presenta baja capacidad para competir con estas especies (Graham y Ranalli, 1997). Sin embargo, el uso de productos químicos debe ser cuidadoso, dado que se han reportado fitotoxicidades, que se manifiestan desde simples daños visuales hasta pérdidas de rendimiento (Bailey et al., 2003; Handwerck, 2006). La naturaleza de esta susceptibilidad está condicionada por el cultivar, el estado de aplicación y el ambiente, siendo la temperatura la variable ambiental más preponderante en el efecto de los herbicidas (Kudsk y Streibig, 2003, Cieslik et al., 2014).

Los cultivares estudiados, 'Hystyle' y 'HM-5101', remontan su origen al ecotipo de poroto andino y es conocida la variabilidad que pueden presentar dos cultivares de frejol entre sí, a pesar de pertenecer al mismo ecotipo (Singh et al., 1991; Kao et al., 1994; Myers y Baggett, 1999; Schmutz et al., 2014). Respecto a las variables ambientales, la temperatura máxima registrada durante el ensayo, aun cuando fue mayor respecto a un año histórico (Anexo II), no representó un factor de estrés, dado que se observan problemas en el desarrollo reproductivo sobre 32°C durante al menos cinco días (Gross y Kigel, 1994; Jifon y Wolfe, 2005; Rainey y Griffiths, 2005).

El paraheliotropismo en poroto es un caracter relacionado a la resistencia a estreses abióticos, específicamente estrés hídrico, térmico y radiativo, ya que a través de estos mecanismos es posible proteger a los fotosistemas de una hoja mediante movimientos foliares y por tanto recibir menor radiación, disminuyendo la temperatura foliar y evitando daño fotoinhibitorio (Beebe et al., 2013). El paraheliotropismo ha sido estudiado principalmente en especies leguminosas, observándose que las hojas forzadas a mantener la misma posición durante todo el día muestran signos de fotoinhibición, disminuyendo su asimilación, conductancia estomática, rendimiento cuántico del fotosistema II y disipación fotoquímica (Gamon y Pearcy, 1989; Jiang et al., 2006; Arena et al., 2008). En el cultivar HM-5101 se observaron cambios en la posición de las hojas, atribuibles al efecto del herbicida (Fig. 5a), esto indicaría que hojas más horizontales sufrirían fotoinhibición, efecto que sería necesario medir en estudios posteriores. Para conocer cabalmente el efecto que los herbicidas ejercen sobre el ángulo foliar en el cultivar HM-5101 sería necesario exponer a las hojas a factores ambientales disímiles en cuanto a radiación y temperatura ambiental (Bielenberg et al., 2003).

Es posible discutir sobre la relación entre hojas más verticales aplicadas con bentazón en segunda hoja, y paralelamente, el menor daño oxidativo que mostraron. El ángulo mayor implica menor radiación incidente, evitando la fotoinhibición y posterior generación de especies reactivas de oxígeno que desencadenan la peroxidación de membranas y el estrés oxidativo (Pastenes et al., 2004). Por lo tanto, las hojas más verticales estarían menos expuestas a las condiciones que favorecen el estrés oxidativo. Este razonamiento se reafirma en la asociación positiva que muestra el ángulo de hoja y tasa de permeabilidad relativa en el análisis de componentes principales de todas las variables (Figura 14 y Apéndice IV). Se debe considerar que la menor radiación incidente en hojas verticales no induce menor asimilación de carbono (Fig 2a), por lo que la radiación que recibe, incluso en posiciones más verticales, es suficiente para mantener la capacidad fotosintética.

Por otra parte la aplicación de fomesafén en prefloración indujo hojas más horizontales, lo que provocó mayor asimilación de carbono, asociado a menor contenido interno de CO₂ (Fig. 2a y 2c), sin causar daño oxidativo (Fig. 1a). Se puede relacionar esta respuesta a la mayor radiación incidente y con ello las hojas logran una mayor capacidad fotosintética al inhibir el paraheliotropismo, independiente de la respuesta estomática (Pastenes et al., 2004; Pastenes et al., 2005).

En el cultivar Hystyle se observaron efectos sobre la permeabilidad de membranas en ambos estados, sin perturbar otros parámetros (Fig. 1a). El efecto es dependiente del estado de aplicación, ya que bentazón causa daño oxidativo sólo en prefloración, mientras que fomesafén aumenta la permeabilidad sólo en segunda hoja. Esto indica el efecto instantáneo errático de los herbicidas sobre este cultivar, ya que a pesar del daño oxidativo observado, este no repercute en la biomasa ni en el rendimiento (Apéndice II, Fig. 8 y 9).

En el cultivar HM-5101 no se observaron efectos de los herbicidas sobre la acumulación de biomasa de las plantas (Fig. 6). Esto indicaría que los efectos fisiológicos descritos anteriormente para este cultivar son transitorios, y que el sistema protector de las plantas controla el daño oxidativo, tal como ocurre en plantas de arroz resistentes a bentazón (Wang et al., 2008). Bailey et al. (2003) observaron un fenómeno similar en el cultivar de poroto verde 'Bronco', el cual no mostró diferencias de altura de planta con la aplicación de fomesafén en dosis menor (280 g i. a. ha⁻¹) que en el presente estudio. En otros estudios, al evaluar cultivares de poroto negro, cranberry, pinto y rojo mexicano, todos de grano seco, tampoco se encontraron diferencias en altura de plantas ni biomasa aérea, al utilizar bentazón en dosis incluso más alta (2.160 g i. a. ha⁻¹) y aplicando entre primera y segunda hoja trifoliada o entre segunda y tercera hoja trifoliada (Soltani et al., 2005; Soltani et al., 2008).

Por otro lado, respecto al cultivar Hystyle, Handwerck (2006) observó que bajo condiciones agroclimáticas similares al presente estudio, la aplicación de bentazón en prefloración redujo la biomasa aérea y el rendimiento, asociado a una disminución en el contenido de clorofilas. En la presente investigación se observó, para este cultivar, una disminución en la producción de biomasa 10 días después de la aplicación de bentazón en segunda hoja, sin afectar el rendimiento (Fig. 7 y 9b). Este efecto no es explicado por las variables fisiológicas que deberían alterarse con la aplicación de este herbicida, es decir, tasa de permeabilidad relativa y contenido de clorofilas (Fig. 1b y 3b). Esto podría reflejar un efecto errático de los herbicidas sobre 'Hystyle', o falta de evidencia en este estudio para atribuir algún grado de fitotoxicidad transitorio de bentazón. Cabe mencionar que sí es posible afirmar que no existió fitotoxicidad en tal cuantía, capaz de disminuir la biomasa final ni el rendimiento.

Como ya se ha mencionado, los herbicidas no tuvieron impacto sobre el rendimiento total ni el rendimiento comercial en los cultivares estudiados (Fig. 8 y 9). Asimismo, no hubo efecto sobre diámetro y largo de vaina, ya que ambos caracteres dependen en gran medida de la genética de cada cultivar y al ambiente en que se desarrollan, siendo poco perturbables por manejos agronómicos, como la aplicación de agroquímicos (De Ron et al., 2004; Pérez-Barbeito et al., 2008). De hecho, estos caracteres fueron altamente estables en este estudio (Figura 10 y Cuadro 5).

Handwerck (2006) atribuyó una disminución de hasta 34% en rendimiento a la aplicación de bentazón sobre 'Hystyle' y de 23% a la aplicación de fomesafén sobre el mismo cultivar. Además, respecto al rendimiento comercial, observó que bentazón y fomesafén generaron pérdidas por presencia de vainas curvas de 495 kg ha⁻¹ y 437 kg ha⁻¹ respectivamente. Esto se

tradujo en 2,65% y 2,34% de la producción total. Cabe mencionar que Handwerck (2006) informó una duración de 66 días en el ciclo del cultivo, esto es, 8 días más precoz que lo observado en este estudio. El mismo autor relaciona la precocidad de un cultivar con la capacidad de resiliencia del cultivo, es decir, recuperarse del daño antes de afectar el rendimiento. Por tanto, en el caso de la investigación citada, el cultivo no logra aplacar el efecto de los herbicidas a través del tiempo de desarrollo, por lo que el rendimiento se ve afectado.

Por otro lado, es posible que algún factor ambiental esté enmascarando el efecto de los herbicidas, ya que Handwerck observó menos de 0,1 ton ha⁻¹ de vainas curvas en el tratamiento testigo, mientras que en el presente estudio las vainas curvas llegaron a 8,54 ton ha⁻¹ en el cultivar Hystyle (Cuadro 4). En este sentido, la temperatura ambiental determina en gran medida la calidad de las vainas en *Phaseolus vulgaris*, observándose que temperaturas altas antes y durante la floración inciden sobre el número de vainas curvas por planta, dado el efecto sobre el desarrollo de las semillas (Porch y Jahn, 2001; Barrios-Gómez et al., 2011).

Rainey y Griffiths (2005) sitúan al cultivar 'Hystyle' en una tolerancia media a temperaturas extremas, logrando un rendimiento estable en un régimen de 30°C durante el día y 27°C durante la noche, por lo que no se generarían problemas en las condiciones que informa Handwerck ni las de este estudio. Además, esta tolerancia al estrés térmico está influenciado por el estado hídrico de las plantas, sin embargo, no es posible asegurar que el ensayo realizado por Handwerck mantuviera al cultivo en condiciones hídricas óptimas, lo que podría ser la razón de las diferencias con los resultados obtenidos en este estudio (Omae et al., 2012).

En oposición a la investigación de Handwerck, Vargas (2010) evaluando los cultivares Magnum y Venus INIA para consumo fresco bajo condiciones agroclimáticas similares a este estudio, no observó efectos detrimentales de bentazón y fomesafén sobre el rendimiento ni la calidad de vainas. En poroto para grano seco, los cultivares otebo, negro, cranberry, blanco, pinto y rojo mexicano no evidenciaron disminución en el rendimiento al aplicar bentazón (Soltani et al., 2005; Sikkema et al., 2006; Soltani et al., 2008; Soltani et al., 2013). Luego de aplicaciones de fomesafén en tanto, no se han reportado efectos sobre la producción en los cultivares de poroto verde 'Bronco' y 'Ouro Vermelho' ni en los cultivares de frejol de grano seco otebo y blanco (Bailey et al., 2003; Sikkema et al., 2006; Silva et al., 2013; Soltani et al., 2013).

El rendimiento de descarte, compuesto por el número de vainas curvas y su peso individual, está precisamente relacionado al número de vainas que no cumplen con la norma de calidad requerida (Fig. 12). Por esto, se explica que 'Hystyle' presente una media mayor que 'HM-5101' en el rendimiento de descarte, dada la mayor presencia de vainas curvas (Cuadro 4). Esto lleva a situar a 'HM-5101' como una opción viable para reemplazar a 'Hystyle' en el mercado agroindustrial nacional.

Conclusiones

Los herbicidas bentazón y fomesafén al ser aplicados en los cultivares de poroto HM-5101 y Hystyle en segunda hoja y prefloración, inducen sólo efectos transitorios respecto al daño oxidativo, sin afectar el rendimiento en ambos cultivares.

Los cultivares de poroto HM-5101 y Hystyle no presentaron fitotoxicidad frente a la aplicación de bentazón y fomesafén en segunda hoja y prefloración bajo las condiciones de este estudio.

A pesar de que existen diferencias fisiológicas puntuales y de capacidad de rendimiento entre los cultivares, no es posible asociarlas como respuestas a los herbicidas.

Literatura citada

- AFIPA (Asociación Nacional de Fabricantes e Importadores de Plaguicidas Agrícolas), Chile. 2009. Manual Fitosanitario 2009-2010. Santiago, Chile: AFIPA. 1017p.
- Aragao, F.; G. Vianna; M. Albino and E. Rech. 2002, Jul.-Aug. Transgenic dry bean tolerant to the herbicide glufosinate ammonium. *Crop Science*, 42: 1298-1302.
- Arena, C.; L. Vitale and A. Virzo de Santo. 2008, Mar. Paraheliotropism in *Robinia pseudoacacia* L.: an efficient strategy to optimise photosynthetic performance under natural environmental conditions. *Plant Biology*, 10: 194-201.
- Arnold, C. 1960, [s. m.]. Maximum-minimum temperatures as a basis for computing heat units. *Proceedings. American Society for Horticultural Science*, 76: 682-692.
- Baardseth, P.; F. Bjerke; B. Martinsen and G. Skrede. 2010, May. Vitamin C, total phenolics and antioxidative activity in tip-cut green beans (*Phaseolus vulgaris*) and swede rods (*Brassica napus* var. *napobrassica*) processed by methods used in catering. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(7): 1245-1255.
- Bailey, W.; H. Wilson and T. Hines. 2003, Apr.-Jun. Weed control and snap bean (*Phaseolus vulgaris*) response to reduced rates of fomesafen. *Weed Technology*, 17(2): 269-275.
- Barrios-Gómez, E.; C. López-Castañeda; J. Kohashi-Shibata. 2011, [s. m.]. Relaciones hídricas y temperaturas altas en frijol del tipo 'Flor de Mayo'. *Agronomía Costarricense*, 35(1): 131-145.
- Bascur, G. 2010, Ene.-Feb. En busca de variedades chilenas de poroto verde y granado. *INIA Tierra Adentro*, (88): 14-15.
- Beebe, S.; I. Rao; M. Blair and J. Acosta-Gallegos. 2013, [s. m.]. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, 4:35.
- Bielenberg, D.; J. Miller and V. Berg. 2003, Apr. Paraheliotropism in two *Phaseolus* species: combined effects pf photon flux density and pulvinus temperature, and consequences for leaf gas exchange. *Environmental and Experimental Botany*, 49(2): 95-105.
- Boivin, D.; S. Lamy; S. Lord-Dufour; J. Jackson; E. Beaulieu; M. Côté *et al.* 2009, Jan. Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: a comparative study. *Food Chemistry*, 112(2): 374-380.
- Cajiao, C. 1992. Quality characteristics of snap beans in the developing world. (chap. 4, pp. 65-70). In: Henry, G. and W. Janssen. (Eds.). Snap beans in the developing world. Colombia: CIAT. 366p.
- Casquero, P.; M. Lema; M. Santalla and M. de Ron. 2006, Aug. Performance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from Spain in the atlantic and Mediterranean environments. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(5): 1021-1032.

Cieslik, L.; R. Vidal and M. Trezzi. 2014, Jul.-Sept. Fomesafen toxicity to bean plants as a function of the time of application and herbicide dose. <u>Acta Scientiarum Agronomy</u>, 36(3): 329-334.

CIREN (Centro de Investigación de los Recursos Naturales), Chile. 1996. Estudio agrológico Región Metropolitana. Serie Publ. CIREN nº 115. Santiago, Chile: CIREN. 431p.

De Ron, A.; P. Casquero; A. González and M. Santalla. 2004, Aug. Environmental and genotypic effects on pod characteristics related to common bean quality. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190(4): 248-255.

Duke, S.; J. Lydon; J. M. Becerril; T. D. Sherman; L. P. Lehnen and H. Matsumoto. 1991, Jul.-Sept. Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 29(3): 465-473.

Faiguenbaum, H. 2003. Frejol. pp. 473-533. *In: Faiguenbaum*, H. Labranza, siembra y producción de los principales cultivos de Chile. Impresora y Editora Ograma, Santiago, Chile. 760p.

FAOSTAT. 2013. [en línea]. Italia: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado en: http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#ANALYSIS> Consultado el: 15 de mayo de 2013.

Fernández, F.; P. Gepts and M. López. 1982. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común, guía de estudio. Cali, Colombia: CIAT. 26p.

Fuerst, E. P. and M. A. Norman. 1991, Jul.-Sept. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Science*, 39(3): 458-464.

Gamon, J. and R. Pearcy. 1989, [s. m.]. Leaf movement, stress avoidance and photosynthesis in *Vitis californica*. *Oecologia*, 79(4): 475-481.

Ghamari, H. and G. Ahmadvand. 2012, Jul.-Sept. Weed interference affects dry bean yield and growth. *Notulae Scientia Biologicae*, 4(3): 70-75.

Graham, P. and P. Ranalli. 1997, Jul. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). <u>Field Crops</u> <u>Research</u>, 53(1-3): 131-146.

Gross, Y. and J. Kigel. 1994, Mar. Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 36(3): 201-212.

Handwerck, C. 2006. Efectos fisiológicos de la aplicación de los herbicidas bentazón y fomesafén en dos cultivares de poroto verde para congelado. Memoria Ingeniero Agrónomo, Mención Fitotecnia. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 33h.

Harris Moran Seed Company. 2012. Processing beans: comparative table. [en línea]. California, EE.UU: Harris Moran Seed Company. 1p. Recuperado en: http://www.harrismoran.com/products/beans/pdf/table-pro.pdf> Consultado el: 1 de octubre de 2013.

- Jenni, S., G. Bourgeois, H. Laurence, G. Roy and N. Tremblay. 2000, Dec. Improving the prediction of processing bean maturity based on the growing-degree day approach. *HortScience*, 35(7):1234-1237.
- Jiang, C.; H. Gao; Q. Zou; G. Jiang and L. Li. 2006, Jan. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2): 87-96.
- Jifon, J. and D. Wolfe. 2005, Jul. High temperature-induced sink limitation alters growth and photosynthetic acclimation to elevated CO₂ in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). <u>Journal of the</u> American Society for Horticultural Science, 130(4): 515-520.
- Kao, W.; J. Ehleringer and J. Comstock. 1994, Sept.-Oct. Variation in leaf movements among common bean cultivars. *Crop Science*, 34(5): 1273-1278.
- Kozlowski, L.A.; P. Ronzelli; C. Purissimo; E. Daros e H. S. Koehler. 2002, Aug. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do feijoeiro-comum em sistema de semeadura direta. *Planta Daninha*, 20(2): 213-220.
- Krarup, C. 2003, Jul.-Dec. Postcosecha de hortalizas en Chile: realidades y desafíos. *Simiente*, 73(3-4): 10-14.
- Kudsk, P. and J.C. Streibig. 2003, Apr. Herbicides, a two-edged sword. <u>Weed Research</u>, 43 (2): 90-102.
- Lichtenthaler, H. and A. Wellburn. 1983, Apr. Determination of total carotenoids and clorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 603: 591-592.
- Machado, A.F.L.; A. P. M. Camargo; L.R. Ferreira; T. Sediyama; F. A. Ferreira e R. G. Viana. 2006, [s.m.]. Misturas de herbicidas no manejo de plantas daninhas na cultura do feijao. *Planta Daninha*, 24(1): 107-114.
- Mallory-Smith, C. and E. J. Retzinger. 2003, Jul.-Sept. Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. *Weed Technology*, 17(3): 605-619.
- Myers J. and J. Baggett. 1999. Improvement of Snap Bean. (chap. 12, pp. 289-329). In: Singh, S. (Ed.). Common bean improvement in the twenty-first century. Springer. 424p.
- Nifantova, S.; I. Komarnickiy and N. Kuchuk. 2011, Apr. Obtaining of transgenic french bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) resistant to the herbicide Pursuit by agrobacterium-mediated transformation. *Cytology and Genetics*, 45(2): 97-100.
- Omae, H.; A. Kumar and M. Shono. 2012, [s.m.]. Adaptation to high temperature and water deficit in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the reproductive period. <u>Journal of Botany</u>, 2012: 6p.
- Pedreros, A. 2008. Manejo de malezas en frejol. Chillán, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura. 3p.

- Pérez-Barbeito, M.; A. González; A. Rodiño; A. De Ron and M. Santalla. 2008, [s. m.]. Effects of planting season and plant cultivar on growth, development, and pod production in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). <u>Australian Journal of Agricultural Research</u>, 59(12): 1121-1129.
- Porch, T. and M Jahn. 2001, Jul. Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. <u>Plant, Cell and Environment</u>, 24(7): 723-731.
- Pastenes, C.; V. Porter; C. Baginsky; P. Horton and J. González. 2004, Dec. Paraheliotropism can protect water-stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants against photoinhibition. *Journal of Plant Physiology*, 161(12): 1315-1223.
- Pastenes, C.; P. Pimentel and J. Lillo. 2005, Jan. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *Journal of Experimental Botany*, 56(411): 425-433.
- Rainey, K. and P. Griffiths. 2005, Jan. Differential response of common bean genotypes to high temperature. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (1): 18-23.
- Santibáñez, F. y J. M. Uribe. 1990. Atlas agroclimático de Chile: Regiones V y Metropolitana. Santiago: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. 65p.
- Schmutz, J.; P. McClean; S. Mamidi; G. Wu; S. Cannon; J. Grimwood; J. Jenkins; S. Shu et al. 2014, Jul. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. <u>Nature Genetics</u>, 46 (7): 707-713.
- Sikkema, P.; D. Robinson; C. Shropshire and N. Soltani. 2006, [s.m.]. Responses of Otebo bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to postemergence herbicides. <u>Weed Biology and Management</u>, 6(2): 68-73.
- Silva, V.; L. Ferreira; L. D'Antonino; J. Carneiro; G. Silva e D. Fontes. 2013, [s. m.]. Efficiency and soil residual effect of herbicides in bean culture. *Planta Daninha*, 31(4): 961-970.
- Singh, S.; P. Gepts and D. Debouck. 1991, Jul-Sept. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45 (3): 379-396.
- Soltani, N.; S. Bowley and P. H. Sikkema. 2005, Jan. Responses of Black and Cranberry beans (*Phaseolus vulgaris*) to post-emergence herbicides. *Crop Protection*, 24: 15-21.
- Soltani, N.; R. Nurse; D. Robinson and P. H. Sikkema. 2008, Jan. Response of Pinto and Small Red Mexican bean to postemergence herbicides. *Weed Technology*, 22(1): 195-199.
- Soltani, N.; R. Nurse; C. Shropshire and P. H. Sikkema. 2013, May. Weed control in White bean with pendimethalin applied preplant followed by postemergence broadleaved herbicides. *The Open Plant Science Journal*, 7: 24-30.

Stagnari, F. and M. Pisante. 2011, Feb. The critical period for weed competition in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mediterranean areas. *Crop Protection*, 30(2): 179-184.

Syngenta. 2008. Etiqueta producto herbicida Flex. Santiago, Chile: 5p.

Vargas, M. 2010. Efecto fitotóxico de fomesafén y bentazón en poroto verde para consumo fresco. Memoria Ingeniero Agrónomo, Mención Fitotecnia. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 28h.

Wang, Y.; X. Lu; M. Sun; F. Song; L. Li; T. Gao et al. 2008, Sept. Physiological research on the difference of bentazon tolerance in wild type rice and sensitive lethal mutants. <u>Acta Agronomica Sinica</u>, 34(9): 1615-1622.

USDA NASS (United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service), EE.UU. 2010. Michigan agricultural statistics 2010-2011, chemical usage. [en línea]. Recuperado en: http://www.nass.usda.gov/Statistics_by_State/Michigan/Public_ations/Annual_Statistical_Bulletin/stats11/chemuse.pdf> Consultado el: 28 de agosto de 2012.

USDA NASS (United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service), EE.UU. 2005. Agricultural chemical usage. [En línea]. Recuperado en: http://usda01.library.cornell.edu/usda/nass/AgChemUsDistRate//2000s/2005/AgCheUsDistRate-12-23-2005.pdf> Consultado el: 29 de agosto de 2012.

Anexos

I. Análisis de suelo

Análisis	Dato	Unidad
pН	7,6	-
Conductividad eléctrica	1,29	dS m ⁻¹
Nitrógeno	15	mg kg ⁻¹
Fósforo	7	mg kg ⁻¹
Potasio	274	mg kg ⁻¹
Materia orgánica	2	%

II. Condiciones ambientales en que se desarrollaron los ensayos en comparación con datos históricos. Datos de los ensayos provenientes de Estación Meteorológica Antumapu y datos históricos desde Santibañez y Uribe, 1990.

	Rad Rad		Temp med	Temp	Temp máx	Temp	Temp mín	Temp
Mes	2012/13	hist	2012/13	med hist	2012/13	máx hist	2012/13	mín hist
	MJ m	$^{-2} d^{-1}$			°C			
Nov	19,02	20,71	17,79	15,8	27,31	24,30	9,71	8,80
Dic	19,65	23,96	18,99	17,9	27,78	27,20	10,51	10,30
Ene	20,07	25,13	20,92	18,7	29,24	28,20	13,72	10,90

Apéndices

I. Fenología promedio de los cultivares y caracterización ambiental.

Fase en 'HM-5101'	Rad media	Temp media	Temp mediodía	UC
rase en Hivi-5101	MJ m ⁻² d ⁻¹		$^{\circ}\mathrm{C}$	UC
Siembra-Emergencia	20,83	18,52	23,29	68,14
Emergencia-SH	18,67	18,76	23,16	170,92
SH-PF	19,91	18,91	23,24	151,49
PF-Floración	21,63	20,55	24,40	73,84
Flor-Formación vainas	19,67	23,46	28,53	26,93
Formación vainas-Cosecha	19,30	20,70	24,03	219,42
Total				710,75

II. Biomasa aérea del cultivar Hystyle a través del tiempo.

_			Fecha mues	treo		
Tratamiento	17-12	27-12	03-01	08-01	18-01	28-01
			g pl ⁻¹			
T-SH	1,25	2,68 a	4,59	7,10	9,42	15,34
BEN-SH	1,31	2,03 b	4,49	7,35	10,00	16,35
FOM-SH	1,32	2,57 a	4,80	7,44	11,58	14,32
T-PF	1,26	2,35	4,60	7,44	10,49	16,52
BEN-PF	1,20	2,30	4,91	6,70	13,10	15,66
FOM-PF	1,18	2,51	4,86	8,61	12,10	16,53

III. Salida de resultados del análisis de componentes principales (ACP) de variables de rendimiento para el análisis de comparación de cultivares. Rcom: rendimiento comercial; Ncom pl⁻¹: número de vainas comerciales por planta; g vaicom⁻¹: gramos por vaina comercial; Rdesc: rendimiento de descarte; Ncurv pl⁻¹: número de vainas curvas por planta; g vaicurv⁻¹: gramos por vaina curva.

Matriz de correlación/Coeficientes

	Rcom	Ncom pl ⁻¹	g vaicom ⁻¹	Rdesc	Ncurv pl ⁻¹	g vaicurv ⁻¹
Rcom	1,00					
Ncom pl ⁻¹	0,86	1,00				
g vaicom ⁻¹	0,93	0,72	1,00			
Rdesc	-0,93	-0,83	-0,93	1,00		
Ncurv pl-1	-0,92	-0,78	-0,93	0,98	1,00	
g vaicurv ⁻¹	0,88	0,70	0,94	-0,89	-0,88	1,00

Matriz de correlación/Probabilidades

	Rcom	Ncom pl ⁻¹	g vaicom ⁻¹	Rdesc	Ncurv pl ⁻¹	g vaicurv ⁻¹
Rcom						
Ncom pl ⁻¹	0,00					
g vaicom ⁻¹	< 0,01	0,01				
Rdesc	< 0,01	0,00	< 0,01			
Ncurv pl ⁻¹	< 0,01	0,00	< 0,01	< 0,01		
g vaicurv ⁻¹	0,00	0,01	< 0,01	0,00	0,00	

Autovalores

Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum
1	5,37	0,90	0,9
2	0,37	0,06	0,96
3	0,14	0,02	0,98
4	0,08	0,01	0,99
5	0,03	0,01	1,00
6	0,02	0,00	1,00

Autovectores

110101000		
Variables	e1	e2
Rcom	-0,42	0,11
Ncom pl ⁻¹	-0,37	0,83
g vaicom ⁻¹	-0,41	-0,36
Rdesc	0,42	0,00
Ncurv pl ⁻¹	0,42	0,10
g vaicurv ⁻¹	-0,40	-0,40

Correlación con las variables originales

Variables	CP1	CP2
Rcom	-0,97	0,07
Ncom pl ⁻¹	-0,86	0,5
g vaicom ⁻¹	-0,96	-0,22
Rdesc	0,98	0,00
Ncurv pl ⁻¹	0,97	0,06
g vaicurv ⁻¹	-0,94	-0,24

IV. Salida de resultados del análisis de componentes principales (ACP) de todas las variables para el análisis de comparación de cultivares. BMfin: Biomasa final por planta; Rcom: rendimiento comercial; Ncom pl⁻¹: número de vainas comerciales por planta; g vaicom⁻¹: gramos por vaina comercial; Ang: coseno del ángulo de hoja; Temp: temperatura de hoja; CO₂i: concentración de CO₂ interno; g_s: conductancia estomática; An: fotosíntesis neta; T: transpiración; TPR6h: tasa de permeabilidad relativa luego de 6 horas; Clorof: concentración de clorofilas.

Matriz de correlación/Coeficientes

	BMf	Rcom	Ncom pl ⁻¹	g vaicom ⁻¹	Ang	Temp	CO ₂ i	\mathbf{g}_{s}	An	T	TPR _{6h}	Clorof
BMfin	1,00											
Rcom	0,85	1,00										
Ncom pl-1	0,94	0,98	1,00									
g vaicom ⁻¹	0,80	0,97	0,95	1,00								
Ang	0,20	0,58	0,48	0,73	1,00							
Temp	-0,43	-0,70	-0,64	-0,84	-0,96	1,00						
CO2i	0,95	0,82	0,89	0,71	0,03	-0,23	1,00					
gs	0,45	-0,06	0,12	-0,18	-0,75	0,55	0,51	1,00				
An	-0,60	-0,91	-0,81	-0,84	-0,55	0,56	-0,66	0,28	1,00			
T	0,27	-0,22	-0,06	-0,37	-0,88	0,72	0,37	0,97	0,36	1,00		
TPR_{6h}	-0,18	0,17	0,07	0,37	0,90	-0,81	-0,39	-0,84	-0,15	-0,92	1,00	
Clorof	0,81	0,46	0,60	0,32	-0,40	0,18	0,88	0,85	-0,27	0,76	-0,71	1,00

Matriz de correlación/Probabilidades

	BMfin	Rcom	Ncom pl ⁻¹	g vaicom ⁻¹	Ang	Temp	CO_2i	\mathbf{g}_{s}	An	T	TPR _{6h}	Clorof
BMfin												
Rcom	0,15											
Ncom pl ⁻¹	0,06	0,02										
g vaicom ⁻¹	0,20	0,03	0,05									
Ang	0,80	0,42	0,52	0,27								
Temp	0,57	0,30	0,36	0,16	0,04							
CO_2i	0,05	0,18	0,11	0,29	0,97	0,77						
g_{s}	0,55	0,94	0,88	0,82	0,25	0,45	0,49					
An	0,40	0,09	0,19	0,16	0,45	0,44	0,34	0,72				
T	0,73	0,78	0,94	0,63	0,12	0,28	0,63	0,03	0,64			
$\mathrm{TPR}_{6\mathrm{h}}$	0,82	0,83	0,93	0,63	0,10	0,19	0,61	0,16	0,85	0,08		
Clorof	0,19	0,54	0,40	0,68	0,60	0,82	0,12	0,15	0,73	0,24	0,29	

Autovalores

Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum
1	6,35	0,53	0,53
2	5,08	0,42	0,95
3	0,57	0,05	1,00
4	0,00	0,00	1,00
5	0,00	0,00	1,00
6	0,00	0,00	1,00
7	0,00	0,00	1,00
8	0,00	0,00	1,00
9	0,00	0,00	1,00
10	0,00	0,00	1,00
11	0,00	0,00	1,00
12	0,00	0,00	1,00

Autovectores

Variables	e1	e2
g vaicom ⁻¹	0,4	0,00
Rcom	0,39	0,07
Ncom pl ⁻¹	0,38	0,14
BMfin	0,31	0,26
Ang	0,29	-0,3
CO ₂ i	0,28	0,31
TPR _{6h}	0,14	-0,4
Clorof	0,13	0,42
gs	-0,08	0,42
T	-0,15	0,41
Temp	-0,33	0,22
An	-0,34	-0,01

Correlación con variables originales

Correlación con variables originales				
Variables	CP 1	CP 2		
BMfin	0,79	0,58		
Rcom	0,98	0,17		
Ncom pl ⁻¹	0,95	0,31		
g vaina norm ⁻¹	1,00	0,00		
Ang	0,72	-0,68		
Temp	-0,83	0,49		
$\mathrm{CO}_2\mathrm{i}$	0,71	0,70		
g_{s}	-0,19	0,94		
An	-0,86	-0,02		
T	-0,37	0,92		
TPR _{6h}	0,36	-0,89		
Clorof	0,32	0,95		