

Fenotipo de plantas de maíz con efecto del herbicida mesotrione

Christian Ramírez-Rojas¹
Cecilia Beatriz Peña-Valdivia¹
Antonio García-Esteva¹
Daniel Padilla-Chacón^{2§}

¹Programa de Posgrado en Botánica-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. CP. 56230. (ramirezrojaschristian02@gmail.com; cecilia@colpos.mx; esteva@colpos.mx). ²Programa de Posgrado en Botánica-CONACYT-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP. 56230.

§Autor para correspondencia: daniel.padilla@colpos.mx.

Resumen

Mesotrione es un herbicida que se emplea para el control de un amplio espectro de malezas durante la pre y pos-emergencia en el cultivo de maíz (*Z. mays* L). El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de la mesotrione en el crecimiento, pigmentación con imágenes en el espectro visible (rojo, verde y azul, RGB) y fluorescencia (Fv/Fm) en los cultivares de maíz Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz. Las plantas fueron cultivadas en invernadero, en el Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo durante 2020, se analizaron en la etapa vegetativa V3-V4 con un diseño de bloques completos al azar y con arreglo factorial. Los tratamientos evaluados fueron: testigos (agua y coadyuvante sin mesotrione) y mesotrione 1X y 2X. Diez días después de la aplicación, se obtuvieron imágenes de las plantas, las cuales se analizaron con el programa LemnaGrid. Ninguna de las dosis de mesotrione alteró el crecimiento de los cultivares; aunque sí hubo efectos en el color de las plantas. La pérdida de color verde (clorosis) se presentó en más de 50% de la base de la lámina foliar y con manchas en el ápice. Las imágenes de la fluorescencia de la clorofila y el índice Fv/Fm en fragmentos de hojas, indicaron que la dosis mayor de mesotrione (2X) en los cultivares Cacahuacintle y Vitamaíz mantuvieron valores similares a los testigos; en contraste, esos valores en HS-2 disminuyeron. Los resultados del presente estudio demostraron la utilidad del fenotipo no invasivo, con imágenes RGB y de la fluorescencia de la clorofila para evaluar el efecto de herbicidas en los cultivos.

Palabras clave: fluorescencia, mesotrione, pigmentación, RGB.

Recibido: agosto de 2022

Aceptado: octubre de 2022

Introducción

El maíz (*Z. mays* L.) es el segundo cereal de mayor consumo en el mundo después del trigo. Estados Unidos produce aproximadamente 41% del total a nivel mundial, China 20% y Brasil 6% (FAO, 1993). México se ubica en el séptimo lugar con aportación de alrededor de 27 169 t y rendimiento promedio anual de 3.8 t ha⁻¹ (Ruiz *et al.*, 2019). Las pérdidas en el rendimiento de los cultivos por las malezas son variables, pero pueden ser totales, por lo que, el uso de herbicidas se ha incrementado significativamente (Aktar *et al.*, 2009). Entre los de mayor comercialización, mesotrione [2-(4-metilsulfonil-2 nitrobenzoilo) 1,3-ciclohexanediona] se utiliza para controlar malezas de monocotiledóneas y dicotiledóneas de hoja ancha (Ulguim *et al.*, 2013).

El compuesto, pertenece a la familia química de las triketonas; su acción consiste en la inhibición de la enzima 4-HPPD, lo que interrumpe la biosíntesis de carotenoides y genera lesiones blanquecinas, clorosis y finalmente necrosis (Mitchell *et al.*, 2001). La ficha técnica de mesotrione indica que ‘es altamente tóxico para organismos acuáticos, aunque manteniendo las condiciones adecuadas de manejo, no deben esperarse problemas ecológicos, con movilidad media a alta en suelo y bajo potencial de acumulación’. Sin embargo, investigaciones de sus efectos han mostrado el riesgo potencial alto de contaminación de aguas subterráneas y riesgo potencial intermedio de contaminación de aguas superficiales.

En la actualidad, la presencia de residuos de herbicidas se ha observado en suelos y aguas en diferentes países en niveles más altos de los permitidos (Echeverría-Sáenz *et al.*, 2012; Lopez *et al.*, 2015; Zheng *et al.*, 2016; Herrero-Hernández *et al.*, 2017). *Amaranthus tuberculatus* (var Rudis), como maleza en cultivos de maíz y soya, requirió dosis de 420 g ia. ha⁻¹, varias veces mayor a la recomendada de 105 g ia. ha⁻¹; esto demostró que la especie ha adquirido resistencia al herbicida (Oliveira *et al.*, 2018). Sin embargo, el conocimiento de efectos de los herbicidas en plantas de maíz es escaso; no se han documentado los efectos de esos compuestos sobre la estabilidad de los pigmentos fotosintéticos o en la capacidad fotosintética con métodos no invasivos.

Las imágenes en rojo, verde y azul (RGB) se utilizan en métodos de análisis de fenotipo; éstos son de bajo costo y permiten analizar simultáneamente numerosos ejemplares, por lo que se reconocen como estudios de alto rendimiento o ‘High-throughput’ por su nombre en inglés (Halperin *et al.*, 2017). Además de estos métodos, ahora se utilizan sensores que cuantifican la fluorescencia de la clorofila por medio de impulsos de amplitud modulada (PAM) que, a la vez, permiten evaluar alteraciones en la fotosíntesis y la eficiencia cuántica del fotosistema II con el índice Fv/Fm (Rosseau *et al.*, 2013).

Las plataformas para análisis de fenotipo permiten generar cientos de imágenes que, con ciertos programas, cuantifican caracteres fenotípicos, como los del crecimiento y los cambios de color asociados a la pérdida de pigmentación en las hojas (Klukas *et al.*, 2014; Thomas y Ougham, 2014). Esto último, con el nombre en inglés de ‘stay green’ o capacidad de mantener el color verde en las hojas, es un carácter asociado al rendimiento en condiciones estándar y de estrés por calor o sequía (Thomas y Ougham, 2014; Cayetano *et al.*, 2021).

Entre los programas para el análisis de fenotipo se encuentran los citados por LemnaGrid (Kuklas *et al.*, 2014), CVPlant (Gehan *et al.*, 2017; Phenotiki (Minervini *et al.*, 2017; OpenStart (Haselimashhadi *et al.*, 2020), que procesan bases de datos de cientos de imágenes (Rousseau *et al.*, 2013; Feng *et al.*, 2018) con sensores en fluorescencia (FLUO) (Jansen *et al.*, 2009), infrarrojo (INFRA) (Prashar y Jones., 2016) y multiespectrales (Chivasa *et al.*, 2020). El objetivo del estudio fue evaluar los efectos de dosis 1X y 2X del herbicida mesotrione en el fenotipo y fisiología de los cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz. Establecer las bases para la identificación de daño causado por herbicidas en cultivares de maíz con métodos no invasivos, bajo costo y con alto número de repeticiones en campo o invernadero.

Materiales y métodos

El estudio incluyó los cultivares de maíz: Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz. El Programa de Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados donó los *cv* Cacahuacintle y HS-2. El Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato donó el *cv* Vitamaíz. La investigación se realizó en instalaciones del Programa de Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, México (Valles Altos, 19° 29' latitud norte, 98° 53' longitud oeste y 2 250 m de altitud).

Las semillas de los tres cultivares se sembraron en macetas de plástico, con 1.2 kg de turba vegetal (Pro-Mix®). En cada maceta hubo una planta y se aplicó riego con solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984) a capacidad de campo, hasta la etapa V3, con la tercera hoja desarrollada. Las plantas se distribuyeron en diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial (A × B), donde el primer factor (A) representó al herbicida mesotrione (Callisto® 480 SC, Suiza) y coadyuvante (aceite mineral); el segundo factor (B) quedó conformado por cultivares de maíz.

Los tratamientos estuvieron representados por los cultivares y dosis de mesotrione. El factor A incluyó tres niveles, que ejemplifica el tratamiento con coadyuvante, y los tratamientos en dosis 1X y 2X del herbicida. El factor B incluyó tres niveles o cultivares; y como tratamientos adicionales se incluyeron los testigos con agua para cada cultivar. La unidad experimental fue una planta por maceta y cuatro repeticiones por tratamiento.

Las diluciones se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante, 1 ml de mesotrione + 1 ml de coadyuvante, que corresponde a 1X o 80 g de ia. ha⁻¹ y el doble para la concentración 2X. Ambas concentraciones se completaron con agua, a un volumen final de 1 L (v/v). Los tratamientos fueron aplicados con una aspersora de alta presión para plantas (Lalatech®), con boquilla de abanico plano TeeJet® XR 11003 (EE. UU), calibrado para liberar 1.5 L, presión de 2.5-3 bar y a 40 cm de altura respecto a la planta.

El fenotipo de las plantas se evaluó en la etapa vegetativa V3-V4, 10 días después de aplicar herbicida, con el sistema de adquisición de imágenes Scanalyzer PL (LemnaTec). Cada maceta se colocó en la cabina de la plataforma, iluminada con lámparas de luz blanca y se obtuvieron imágenes con las cámaras superior (Top view) y lateral (Side view) en la región visible del espectro (400-700 nm) RGB. La resolución de las cámaras del Scanalyzer PL (Baster AG, Ahresburg Germany) generó imágenes con 1 628 x 1 236 píxeles y 4.4 x 4.4 µm por píxel. Un total de 192 imágenes se analizaron con LemnaGrid (Figura 1) que por medio de algoritmos depuran la imagen para la extracción de información a través de una red de comandos o grid como se conoce en inglés.

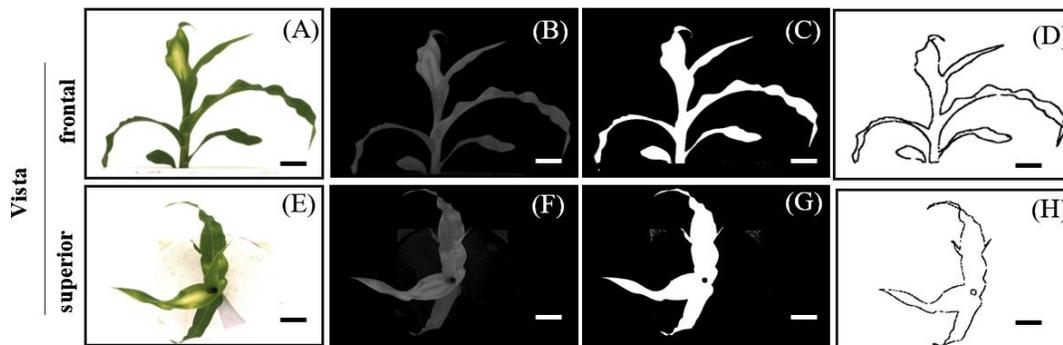


Figura. 1. Ejemplo de imágenes en vista frontal (A) y superior (E) de plantas de maíz procesadas para evaluar parámetros morfométricos. El fondo de la imagen es separado (B-F) de la imagen, es transformada a binaria en blanco y negro (C-G) y el área es delimitada (D-H). La barra representa 3 cm.

El programa separó el primer plano ‘foreground’ y el fondo ‘background’ de la imagen original de las vistas superior y lateral. Con cada imagen se calculó la biomasa cuantitativa digital o área proyectada, que correspondió al volumen por pixel, que es una aproximación a la biomasa total (peso fresco) de la planta; además, con las imágenes se obtienen otras variables denominadas área envolvente convexa (convex hull área; cm^2), longitud de la pinza (caliper length; mm) y compactibilidad (compactness), la que permite el cálculo del índice que genera el polígono que forma el borde de la planta dividido entre el área proyectada (Jansen *et al.*, 2009).

La vista superior de las imágenes de la lámina foliar, se determinó la toxicidad del herbicida en las plantas, mediante la cuantificación de los síntomas como clorosis y lesiones blanquecinas. El programa clasificó los colores mediante la eliminación del fondo, categorizando con un color verde el tejido fotosintético sano, con amarillo el tejido afectado por el herbicida y produjo imágenes binarias, con lo que se cuantificó la senescencia de las hojas.

Además, mediante la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) se evaluó la capacidad fotosintética. Esto mediante el índice F_v/F_m , donde F_v es la fluorescencia variable de la clorofila ($F_m - F_0$), F_m es la fluorescencia máxima y F_0 la fluorescencia inicial. La diferencia entre la fluorescencia generada con el primer estímulo con luz y la máxima estimulación con luz, es la fluorescencia emitida cuando los electrones son ocupados en la fotosíntesis por ‘cantidad’ de luz absorbida (Goltsev *et al.*, 2009). Para estas evaluaciones se utilizaron fragmentos de 16 cm^2 de la región central de la hoja o áreas que evidenciaran los efectos tóxicos del herbicida.

Inicialmente los fragmentos de las hojas se mantuvieron en oscuridad por 30 min y se introdujeron en una cámara cerrada (PhotoSystem Instruments Open FluorCam FC-800, República Checa) para cuantificar la fluorescencia con el programa FluorCam (versión 7), configurado para una lectura con la curva Kaustky y pulsos de luz constante. Los valores de F_0 y F_m se obtuvieron, junto con las imágenes con la fluorescencia de las hojas. Los resultados se analizaron con Andeva y comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0.05$), con el programa estadístico Minitab® 19 y SAS® 13. Las figuras se procesaron en GraphPad Prism8.

Resultados y discusión

El efecto de mesotrione en plantas de los tres cultivares de maíz se evaluó con la plataforma de fenotipo y el programa LemnaGrid en 384 imágenes en vistas superior y lateral. Inicialmente, la separación del fondo o ‘foreground’ y ‘background’ se realizó en imágenes originales (Figura 1 A-E), transformadas a escala de grises (Figura 1 B-F) y posteriormente en imágenes binarias en blanco y negro (Figura 1 C-G), las cuales se segmentaron en trazos (Figura 1 D-H).

El resultado final se muestra en imágenes, en vista frontal, de una planta representativa, área proyectada (Figura 2A), envolvente convexa (Figura 2B), compactación (Figura 2C) y longitud de la pinza o longitud máxima (Figura 2D). Estas variables se han utilizado en estudios de fenotipo de plantas con estrés abiótico (Kuklas *et al.*, 2014) que demostraron su utilidad para evaluar índices de productividad. Fue el caso de un estudio en sorgo (*Sorghum bicolor* y *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) que demostró el efecto negativo en crecimiento por la restricción de nitrógeno en el suelo (Neilson *et al.*, 2015).

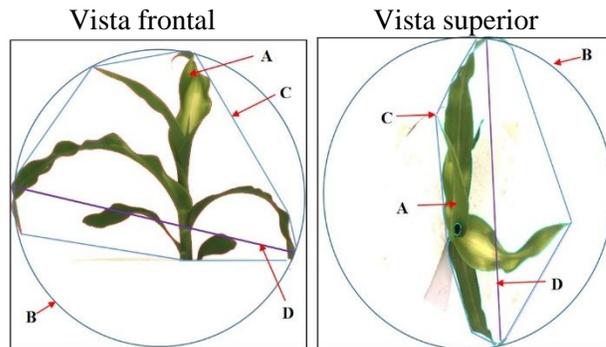


Figura. 2. Ejemplo de imágenes en vista frontal y superior de plantas de maíz y las variables morfométricas generadas con el programa LemnaGrid. Área proyectada (A); envolvente convexa (B); compactación (C); y longitud de la pinza en la vista frontal (D).

La evaluación del fenotipo también se describió en cebada (*Hordeum vulgare* L.), Arabidopsis (Acosta Gamboa *et al.*, 2016) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con estrés por déficit de humedad (Padilla-Chacón *et al.*, 2019). En este estudio se evidenció que el fenotipo no destructivo es una herramienta útil para la evaluación de plantas con daño por herbicidas.

En el análisis cuantitativo de las variables morfométricas, en las imágenes con vista superior no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 3). Esto indicó que el herbicida mesotrione no afectó negativamente el desarrollo y crecimiento de los tres cultivares. Sin embargo, en las imágenes con vista frontal se observaron diferencias entre los cultivares independientemente de los compuestos asperjados.

Estas observaciones indicaron que, en la variable de área proyectada, envolvente convexa y longitud de la pinza en el cv Cacahuacintle fueron entre 10 y 15% superiores a los cultivares HS-2 y Vitamaíz (Figura 3) y que este último fue 15% más compacto que los otros dos. Las imágenes con vista superior no mostraron diferencias significativas en las variables de área proyectada, envolvente convexa y longitud de la pinza, excepto compactación que con el análisis estadístico, el crecimiento de HS-2 y Vitamaíz fue menor entre 5 y 7% respecto al Cacahuacintle (Figura 3).

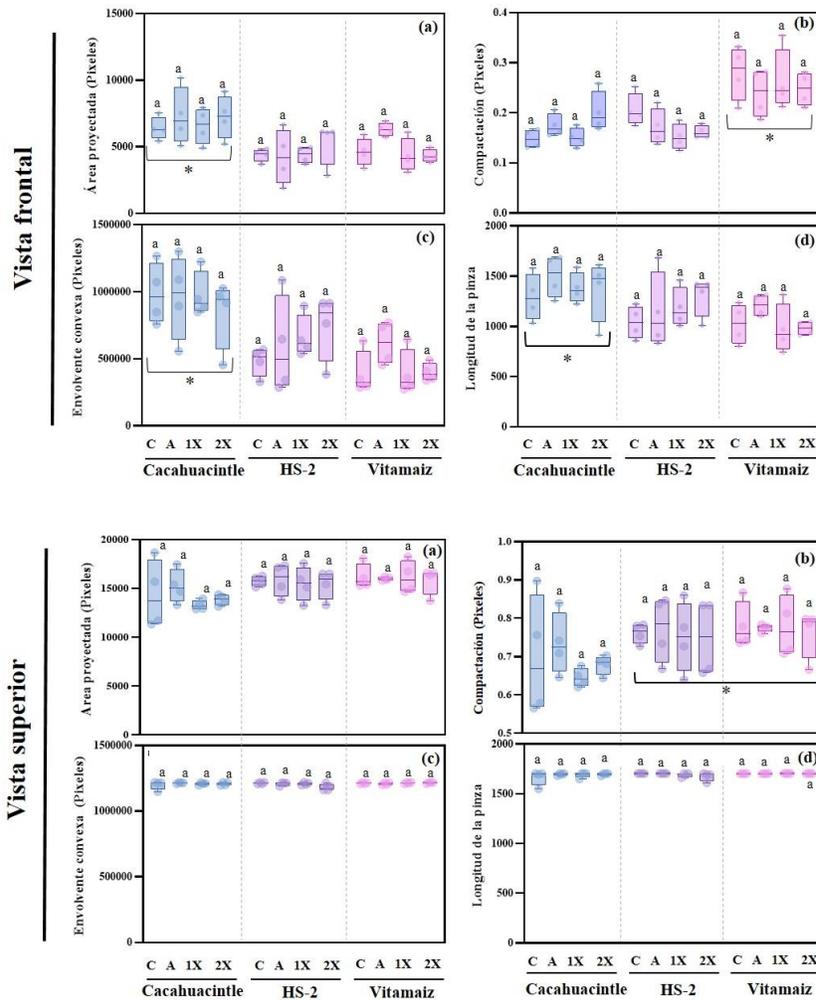


Figura.3. Efecto del herbicida mesotrione, 10 días después su aplicación en dosis comercial (1X) y doble de dosis (2X), en variables morfométricas de crecimiento de plantas de maíz Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaiz. Área digital (a), compactación (b), envolvente convexa (c) y longitud de la pinza (d), agua (C) y coadyuvante (A). Letras diferentes sobre las barras, en cada cultivar, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). * = debajo de las barras indican diferencias significativas entre los cultivares (n = 4).

Los resultados del presente estudio coinciden con Bibi *et al.* (2019). Estos autores evaluaron plantas de maíz tratadas con atrazina, éstas no presentan alteraciones en el crecimiento, incluso con dosis mayores a las recomendadas, aunque el herbicida no alteró el crecimiento, los autores demostraron que en las hojas las concentraciones de azúcares solubles y prolina si incrementaron. En otro estudio, mediante análisis de variables morfométricas, se comparó el efecto de atrazina y mesotrione en cultivares de maíz en post-emergencia y en malezas, como *Chenopodium album* L., *Polygonum pensylvanicum* L. y *Capsella bursa-pastoris* L. (Creech *et al.*, 2004).

Asimismo, indican que el estudio mostró que ninguno de los herbicidas alteró la acumulación de biomasa seca de las plantas de maíz en el vástago (Creech *et al.*, 2004). Los resultados parciales del presente estudio y de los ya citados permiten sugerir que las plantas de maíz poseen mecanismos de tolerancia o eliminación de los herbicidas que impiden que se altere el crecimiento.

La información sobre los mecanismos de degradación de los herbicidas que permiten a las plantas de maíz evitar los efectos de los herbicidas es escasa. Sin embargo, se descubrió que, en plantas de maíz, el paraquat estimuló la cascada de señalización mitógena-activada proteína cinasas, que tiene un papel en la ruta de señalización por estrés, la cual es mediada por ácido abscísico (ABA) asociado con MAPK y MAPK5 (Ding *et al.*, 2009).

En otro estudio se observó que ciertos tratamientos con la citoquinina benzyladenina promovieron la disminución de la toxicidad de paraquat en plantas de maíz (Durmuş y Kadioğlu, 2005). Debido a la falta de algún efecto de mesotrione en el crecimiento de las plantas de maíz de los tres cultivares en el presente estudio, no se descarta la presencia de un mecanismo de detoxificación del herbicida, similar a los documentados en otros estudios con otros herbicidas. Por lo que, la continuación del presente estudio incluirá evaluaciones bioquímicas enfocadas al conocimiento del o los mecanismos de respuesta de las plantas jóvenes de maíz a mesotrione.

A partir de imágenes con vista superior se evaluó la pérdida de color verde por el efecto de la mesotrione con el programa LemnaGrid. Para esto, el color verde (saludable) y amarillo (clorosis) de la imagen fue segmentando en porcentaje (Figura 4A). Los resultados mostraron que la pérdida de color verde en los tres genotipos fue de 10 a 15% en la lámina de maíz con la dosis 1X de mesotrione. La dosis 2X incrementó los síntomas de pérdida de color verde; el efecto se observó con mayor variabilidad en los cultivares Cacahuacintle y HS-2. Estos cultivares mostraron pérdida de 30% del color verde y en Vitamaíz fue de 20% (Figura 4B, 4C).

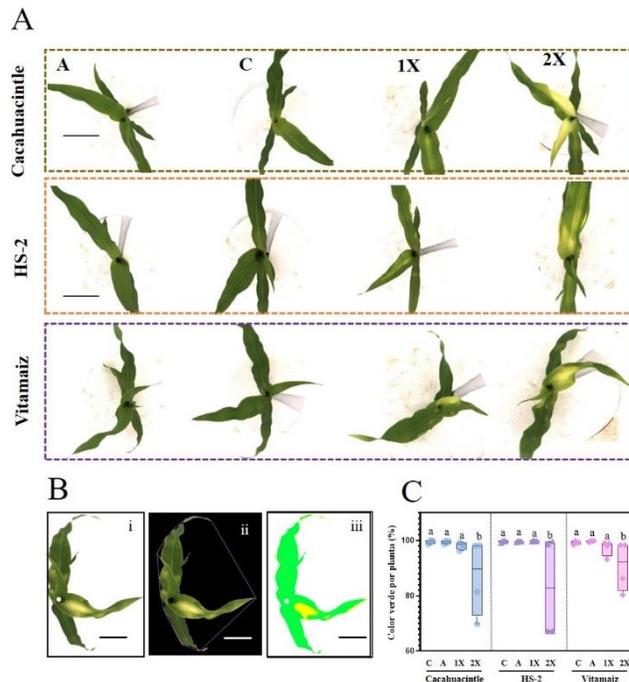


Figura. 4. A) ejemplo de imágenes en vista superior de Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz después de 10 días de haber recibido dosis 1X y 2X de mesotrione y controles. B) ejemplo de imágenes en vista superior analizadas en el programa LemnaGrid; i) imagen original, ii) variables morfométricas y iii) segmentación de color. C) gráfica del promedio (\pm ee) en porcentaje de color verde de plantas de maíz de tres cultivares. A) agua, C) coadyuvante, 1X) dosis comercial recomendada y 2X) doble de dosis. La barra representa 3 cm. Letras diferentes sobre las barras, en cada cultivar, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$), ($n = 4$).

El nivel de daño de mesotrione en la tercera hoja, con el haz frontalmente expuesto, se evaluó con el programa LemnaGrid (Figura 5). Aunque las hojas jóvenes cubren a las inferiores en las imágenes en vista superior, los resultados mostraron que la pérdida de color verde con ambas dosis representó entre 40 y 50% en los tres cultivares. Sin embargo, el análisis de segmentación mostró que la pérdida de color verde fue diferente a lo largo de la lámina, ya que la pérdida mayor, entre 60 y 75%, de color se presentó en la mitad de la hoja a partir de la base (Figura 5). En contraste, la pérdida de color verde en la mitad apical fue entre 15 y 30% (Figura 5) y con algunas zonas con daño. Este resultado indicó que el herbicida afecta principalmente los tejidos jóvenes de la lámina.

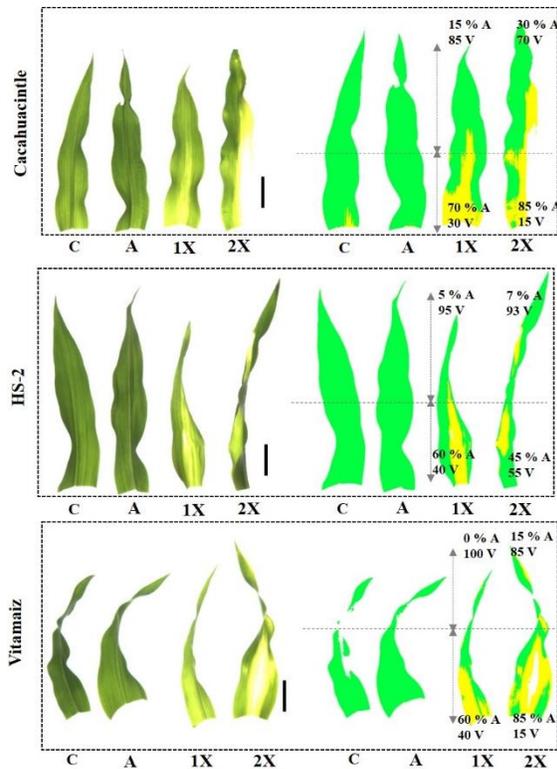


Figura. 5. Efecto del mesotrione en láminas de los cultivares de maíz; Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz (C: co-adyuvante y A: agua), mesotrione 1X y 2X separadas en segmentación verde (saludable) y amarillo (clorosis). Izquierda (imágenes originales) y derecha (analizadas con el programa LemnaGrid). La barra representa 2 cm. Líneas punteadas indican la región basal y apical de la lámina. V= verde, A= amarillo.

En la actualidad no existen reportes sobre la distribución del daño por herbicidas en las láminas de plantas de maíz. Los cambios anatómicos relacionados con la pérdida de color verde tampoco se han documentado. Los resultados del presente estudio mostraron que las plantas de maíz disminuyeron significativamente su capacidad fotosintética e inhibieron la síntesis de pigmentos fotosintéticos, aceleraron su degradación, en zonas específicas de la lámina dependientes de la edad del tejido y el crecimiento no se vio alterado por efecto de la toxicidad con mesotrione.

Wang *et al.* (2019) propusieron un método que sustituye la evaluación por el índice de vegetación de diferencia normalizada o NDVI por sus siglas en inglés, en las hojas completas de plantas de maíz por medio de imágenes analizadas con algoritmos que permiten identificar en las hojas las

deficiencias en nutrientes en escala de color. Plantas de maíz completas se han evaluado en campo con métodos que combinan el uso de otros sensores de NDVI (RGB y NIR), índice de contenido de clorofila (SPAD) y de segmentación de color, se han analizado con el objetivo de evaluar numerosos cultivares en poco tiempo (Wu *et al.*, 2015).

Los resultados cualitativos del índice Fv/Fm de los tres cultivares mostraron que en las plantas testigo, asperjadas con agua y con coadyuvante, el color rojo predominó en la mayor parte del tejido con valores de Fv/Fm igual a 0.8 (Figura 6A). Con la dosis 1X de mesotrione el color rojo disminuyó y cambió a amarillo verde en los tres cultivares, según la escala de color representada con valores de Fv/Fm entre 0.6 y 0.7, así fue posible detectar diferencias en la proporción de color amarillo y verde. El *cv* HS-2 disminuyó el color amarillo casi totalmente y cambió a verde; en contraste en los cultivares Cacahuacintle y Vitamaíz, el color amarillo se mantuvo sólo en algunas regiones de la hoja.

Con la dosis 2X, los fragmentos de las hojas mantuvieron los efectos que a la dosis 1X, incluso con ligero aumento del color amarillo. Los resultados fueron validados cuantitativamente con el programa FluorCam7 (Figura 6B), mediante este método, se determinó que los valores promedios de Fv/Fm no mostraron diferencias significativas en el cultivar Cacahuacintle en las dosis 1X y 2X respecto a los controles. Este resultado coincidió con el mayor color amarillo en las imágenes (Fv/Fm= 0.7). En contraste, en los cultivares HS-2 y Vitamaíz se observó disminución de los valores de Fv/Fm a 0.6 y 0.7, en las imágenes el color amarillo tuvo menos intensidad de color (Figura 6B).

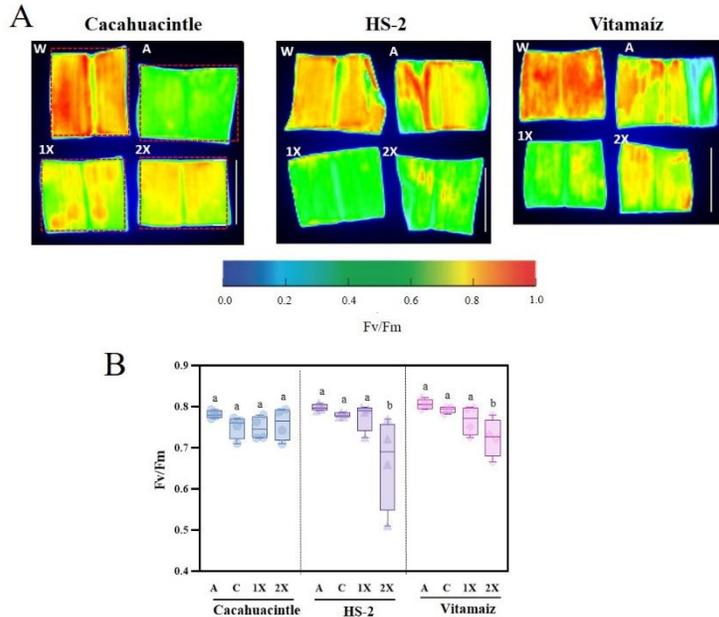


Figura. 6. A) imágenes de fluorescencia de la clorofila *a* en fragmentos de la tercera hoja de planta de maíz de los tres cultivares Cacahuacintle, HS-2 y Vitamaíz control (agua y co-adyuvante), mesotrione 1X y 2X. La barra representa la escala de color mostrando la eficiencia cuántica del fotosistema II (Fv/Fm) en valores de 0 a 1. **B)** promedio (\pm ee) del rendimiento cuántico de fotosistema II (Fv/Fm) de los fragmentos de hoja. Letras diferentes sobre las barras, en cada cultivar, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). (n = 4).

Entre las variables de mayor uso para el fenotipo de plantas, la fluorescencia de la clorofila tiene ventajas porque su medición es rápida y no es invasiva (Feng *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos en este estudio indicaron, que las imágenes en RGB y los valores de Fv/Fm mostraron que mesotrione no afectó la capacidad fotosintética de los cultivares Cacahuacintle y Vitamaíz, en contraste, en el cv HS-2 disminuyó el índice Fv/Fm.

Las diferencias en los valores de Fv/Fm por el efecto de mesotrione entre los tres cultivares pueden deberse, en parte a los mecanismos de formación/eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los tejidos foliares. Este aspecto se expuso en un estudio del efecto del glifosato en plantas transgénicas de maíz tolerantes al herbicida (Feng *et al.*, 2013). Las imágenes de fluorescencia de la clorofila exhibieron heterogeneidad en la respuesta de las hojas al herbicida y variación temporal en la planta completa. Los resultados de este estudio también presentaron que el daño por mesotrione varía en intensidad y entre las zonas de cada hoja; lo que demostró el efecto mayor del herbicida en los tejidos foliares más jóvenes.

Los métodos utilizados en el presente estudio permiten el desarrollo de investigaciones con mayor número de plantas (cultivares) y productos químicos (herbicidas), que proporcionen información confiable de la susceptibilidad de una cultivar a este tipo de estrés, que podría ser usado como un parámetro para el screening a bajo costo en mayor número de cultivares o material genético, además, determinar cuándo una especie es tolerante o susceptible a algún tipo de herbicida.

Conclusiones

Los síntomas de clorosis de mesotrione en dosis 1X y 2X, no alteran el fenotipo ni las variables de crecimiento de las plantas de los tres cultivares de maíz. Los síntomas en las láminas foliares se distribuyen heterogéneamente, son mayores en la base e irregular hacia el ápice. La eficiencia química del fotosistema II es dependiente del cultivar.

Agradecimientos

El proyecto fue realizado con financiamiento del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. CRR recibió beca del CONACYT. DPC es apoyado por Cátedras CONAYT y por el programa de Infraestructura Proyecto CONACYT, INFRA-2015 (256307).

Literatura citada

- Acosta, G. L. M.; Liu, S.; Langley, E. X.; Campbell, Z.; Castro, G. N. and Mendoza, C. D. 2016. Moderate to severe water limitation differentially affects the phenome and ionome of *Arabidopsis*. *Funct. Plant Biol.* 44(1):94-106.
- Aktar, M. W.; Sengupta, D. and Chowdhury, A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip Toxicol.* 2(1):1-12.
- Bibi, S.; Khan, S.; Taimur, N.; Daud, M. K. and Azizullah, A. 2019. Responses of morphological, physiological, and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) seedlings to atrazine stress. *Environ. Monit. Assess.* 191:717.
- Cayetano, M. M.; Peña, Valdivia, C. B.; García, E. A.; Jiménez, G. J.C.; Galván, E. I. G. and Padilla, C. D. 2021. Humidity restriction, high night temperature and their combination, during post flowering on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) canopy and pod senescence. *Legume Res.* Doi: 10.18805/LR-592.

- Chivasa, W.; Mutanga, O. and Biradar, C. 2020. UAV-Based multispectral phenotyping for disease resistance to accelerate crop improvement under changing climate conditions. *Remote sensing*. 12(15):2445.
- Creech, J. E.; Monaco, T. A. and Evans, J. O. 2004. Photosynthetic and growth responses of *Zea mays* L. and four weed species following post-emergence treatments with mesotrione and atrazinet. *Pest Manag Sci*. 60(11):1079-1084.
- Ding, H. D.; Zhang, X. H.; Xu, S. C.; Sun, L. L.; Jiang, M. Y.; Zhang, A. Y. and Jin Y. G. 2009. Induction of protection against paraquat induced oxidative damage by abscisic acid in maize leaves is mediated through mitogen activated protein kinase. *J. Integr. Plant Biol*. 51(10):961-972.
- Durmuş, N. and Kadioğlu, A. 2005. Reduction of paraquat toxicity in maize leaves by benzyladenine. *Acta Biol Hung*. 56(1-2):97-107.
- Echeverría, S. S.; Mena, F.; Pinnock, M.; Ruedert, C.; Solano, K.; Cruz, E.; Campos, J.; Sánchez, A. B.; Lacorte, S. and Barata, C. 2012. Environmental hazards of pesticides from pineapple crop production in the Río Jiménez watershed (Caribbean Coast, Costa Rica). *Sci. Total Environ*. 440:106-114.
- FAO. 1993. Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 25. Roma Italia. <http://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm#Tipos%20de%20maiz>.
- Feng, X.; Yu, C.; Chen, Y.; Peng, J.; Ye, L.; Shen, T. 2018. Non-destructive determination of shikimic acid concentration in transgenic maize exhibiting glyphosate tolerance using chlorophyll fluorescence and hyperspectral imaging. *Front. Plant Sci*. 9(468):1-16.
- Gehan, M. A.; Fahlgren, N.; Abbasi, A.; Berry, J. C.; Callen, S. T.; Chavez, L.; Doust, A. N.; Feldman, M. J.; Gilbert, K. B.; Hodge, J. G.; Hoyer, J. S.; Lin, S.; Liu, S.; Lizárraga, C.; Lorence, A.; Miller, M.; Platon, E.; Tessman, M. and Sax, T. 2017. PlantCV v2: Image analysis software for high-throughput plant phenotyping. *Peer J*. Dec 1;5:e4088
- Goltsev, V.; Zaharieva, I.; Chernev, P. and Strasser, R. J. 2009. Delayed fluorescence in photosynthesis. *Photosyn. Res*. 101(2-3):217-232.
- Halpering, O.; Gebremedhin, A.; Wallach, R. and Moshelion, M. 2017. High-throughput physiological phenotyping and screening system for the characterization of plant environment interactions. *The Plant J*. 89(4):839-850.
- Haselimashhadi, H.; Mason, J. C.; Mallon, A. M.; Smedley, D.; Meehan, T. F. and Parkinson, H. 2020. OpenStats: A robust and scalable software package for reproducible analysis of high-throughput phenotypic data. *PLoS One*, 15(12):0242933.
- Herrero, H. E.; Rodríguez, C. M. S.; Pose, J. E.; Sánchez, G. S.; Andrades, M. S. and Sánchez, M. M. J. 2017. Seasonal distribution of herbicide and insecticide residues in the water resources of the vineyard region of la rioja (Spain). *Sci. Total Environ*. 609:161-171.
- Jansen, M.; Gilmer, F.; Biskup, B.; Nagel, K. A.; Rascher, U.; Fischbach, A.; Briem, S.; Dreissen, G.; Tittmann, S.; Braun, S.; Jaeger, I.; Metzloff, M.; Schurr, U.; Scharr, H. and Walter. A. 2009. Simultaneous phenotyping of leaf growth and chlorophyll fluorescence via growscreen fluoro allows detection of stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and other rosette plants. *Funct. Plant Biol*. 36(11):902-914.
- Kuklas, C.; Chen, D. and Pape, J. M. 2014. Integrated analysis platform: an open-source information system for high-throughput plant phenotyping. *Plant Physiol*. 165(2):506-518.
- Lopez, B.; Ollivier, P.; Togola, A.; Baran, N. and Ghestem, J. P. 2015. Screening of french groundwater for regulated and emerging contaminants. *Sci. Total Environ*. 15(518-519):562-573.

- Minervini, M.; Giuffrida, M. V.; Perata, P. and Tsafaris, S. A. 2017. Phenotiki: an open software and hardware platform for affordable and easy image-based phenotyping of rosette-shaped plants. *Plant J.* 90(1):204-216.
- Mitchell, G.; Bartlett, D. W.; Fraser, T. E. M.; Hawkes, T. R.; Holt, D. C.; Townson, J. K. and Wichert, R. A. 2001. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Manag. Sci.* 57(2):120-128.
- Neilson, E. H.; Edwards, A. M.; Blomstedt, C. K.; Berger, B.; Møller, B. L. and Gleadow, R. M. 2015. Utilization of a high throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *J. Exp. Bot.* 66(7):1817-1832.
- Oliveira, M.C.; Gaines, T. A.; Jhala, A. J. and Knezevic, S. Z. 2018. Inheritance of mesotrione resistance in an *Amaranthus tuberculatus* (var Rudis) population from nebraska, USA. *Front. Plant Sci.* 9(60):1-12.
- Padilla, C. D.; Peña, V. C. B.; García, E. A.; Cayetano, M. M. I. and Kohashi, S. J. 2019. Phenotypic variation and biomass partitioning during post-flowering in two common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) under water restriction. *South Afr. J. Bot.* 121:98-104.
- Prashar, A. and Jones, H. G. 2016. Assessing drought responses using thermal infrared imaging. In: Duque, P. (Ed.) environmental responses in plants: methods and protocols. Springer New York, New York, NY. 209-219 pp.
- Rousseau, C.; Belin, E.; Bove, E.; Rousseau, D.; Fabre, F.; Berruyer, R.; Manceau, C.; Jacques, M. A. and Boureau; T. 2013. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Methods.* 9:17.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. In: proceedings of the 6th international congress on soilless culture. International society for soilless culture. Wageningen, The Netherlands. 633-649 pp.
- Thomas, H. and Ougham, H. 2014. The stay-green trait. *J. Exp. Bot.* 65(14):3889-3900.
- Ulguim, A. D. R.; Perboni, L. T.; Westendorff, N. D. R.; Nohatto, M. A.; Silva, B. M. and Agostinetto, D. 2013. Redução do espaçamento entrelinhas do milho e sua influência na dose do herbicida. *Rev. Brazilian Herbicide J.* 12(3):232-241.
- Wang, X.; Zhang, R.; Song, W.; Han, L.; Liu, X.; Sun, X.; Luo, M.; Chen, K.; Zhang, Y.; Yang, H.; Yang, G.; Zhao, Y. and Zhao, J. 2019. Dynamic plant height QTL revealed in maize through remote sensing phenotyping using a high throughput unmanned aerial vehicle (UAV). *Scientific Reports.* 9:3458.
- Wu, Q.; Sun, H.; Li, M. Z.; Song, Y. Y. and Zhang, Y. E. 2015. Research on maize multispectral image accurate segmentation and chlorophyll index estimation. *Guang pu xue yu guang pu fen xi Guang pu.* 35(1):178-183.
- Zheng, S.; Chen, B.; Qiu, X.; Chen, M.; Ma, Z. and Yu, X. 2016. Distribution and risk assessment of 82 pesticides in Jiulong River and estuary in South China. *Chemosphere.* 144:1177-1192.