

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE
INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

CATIE

PROGRAMA DE ENSEÑANZA
ÁREA DE POSTGRADO

ACCIÓN CONJUNTA DEL PARAQUAT Y EL
2,4-D EN MALEZAS ASOCIADAS AL CAFÉ
EN COSTA RICA

*Tesis sometida a la consideración del
Comité Técnico Académico del Programa
de estudios de Postgrado en Ciencias
Agrícolas y Recursos Naturales del
Centro Agronómico Tropical de Investigación
y Enseñanza, para optar al grado de*

Magister Scientiae

por

Plutarco Elías Echegoyén Ramos

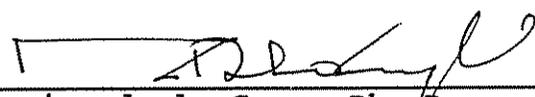
Turrialba, Costa Rica
1994

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del Estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

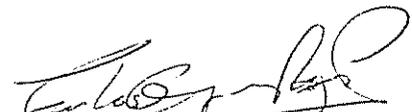
MAGISTER SCIENTIAE

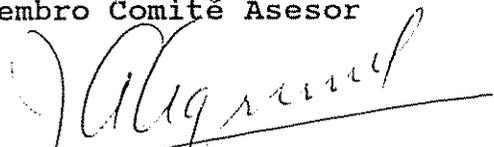
FIRMANTES:


Bernal Valverde, Ph. D.
Profesor Consejero


Ramiro de la Cruz, Ph. D.
Miembro Comité Asesor


Pedro Ferreira, Ph. D.
Miembro Comité Asesor


Enrique Rojas, M. Sc.
Miembro Comité Asesor


Juan Antonio Aguirre, Ph. D.
Jefe, Area de Posgrado


Assefaw Tewolde, Ph. D.
Director, Programa de Enseñanza


Plutarco Elías Echegoyén Ramos
Candidato

A MIS PADRES Y HERMANOS

A MI ESPOSA VILMA GUADALUPE

A MIS HIJAS:

CLAUDIA MARICELA

PATRICIA ELIZABETH

A LA MEMORIA DE HECTOR NAPOLEON

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis sinceros agradecimientos:

- Al Gobierno de El Salvador por haberme enviado a cursar los estudios de maestría.
- A la Organización de Estados Americanos OEA por su financiamiento.
- Al Profesor Consejero Ph. D. Bernal Valverde y a los miembros del Comité Asesor Ph. D. Ramiro de la Cruz, Ph. D. Pedro Ferreira, y M. Sc. Enrique Rojas por su orientación en el trabajo de investigación y revisión del documento.
- A los Asistentes Técnicos Israel Garita y Arnoldo Merayo por su espontánea colaboración durante la realización del trabajo.
- Al Técnico Analista Jonny Pérez por su asesoría en el análisis de los datos y al M. Sc. Phil Shannon por su orientación en la primera fase del estudio.
- Al Ingeniero Rolando Picado, Hacienda "La Isabel", por haber facilitado el área de cafetal donde se condujo el experimento de campo.
- A los compañeros de estudio y amigos Alex Tineo, Galileo Rivas, Carlos Quiros y Noel Ortuño por su colaboración y amistad.
- A mi madre, hermanos y demás familiares por el apoyo que me proporcionaron.
- A mi esposa e hijas por el soporte y comprensión.
- Al personal administrativo y de servicios del CATIE por su cordial y excelente atención.

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION	1
II REVISION DE LITERATURA	4
2.1 EL CONTROL QUIMICO DE MALEZAS ASOCIADAS AL CAFE EN COSTA RICA	4
2.2 MALEZAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE CAFE EN COSTA RICA	8
2.3 EMPLEO DE MEZCLAS DE HERBICIDAS EN CONTROL DE MALEZAS	9
2.4 ACCION CONJUNTA DE HERBICIDAS	10
2.4.1 Definición de Términos	11
a) Interacción	11
b) Aditividad	12
c) Antagonismo	13
d) Sinergismo	13
2.4.2 Definiciones Adoptadas	14
2.4.3 Relaciones de los Herbicidas con la Planta y Entre Herbicidas	15
2.4.3.1 Mecanismos Antagonistas	20
a) Clasificación de los mecanismos antagonistas ..	20
Antagonismo bioquímico	20
Antagonismo competitivo	20
Antagonismo fisiológico	21
Antagonismo químico	21
b) Factores que afectan el antagonismo	21
2.4.3.2 Mecanismos sinergistas	21
a) Clasificación de los mecanismos sinergistas....	22
b) Factores que afectan el sinergismo	22
2.5 PROCEDIMIENTOS Y MODELOS PARA LA ESTIMACION DE LOS TIPOS DE ACCION CONJUNTA DE HERBICIDAS	23
2.5.1 Bioanálisis preliminares	23
a) Procedimientos	23
b) Modelos para análisis de datos	25
Modelo probit	25

2.5.2	Bioanálisis de Acción Conjunta	28
a)	Modelos para estimar tipos de acción conjunta .	30
	Comparaciones múltiples	31
	Comparaciones ortogonales	31
	Modelo de Colby (Colby, 1967)	32
	Procedimiento ANDEVA	34
	Tratamiento estadístico al método de Colby ..	35
2.6	PARAQUAT Y 2,4-D	37
2.6.1	Paraquat	37
a)	Nomenclatura, propiedades físicas y químicas, toxicología	37
b)	Modo y mecanismo de acción	38
c)	Usos	39
d)	Investigaciones de acción conjunta	40
2.6.2	2,4-D	41
a)	Nomenclatura, propiedades físicas y químicas, toxicología	41
b)	Modo y mecanismos de acción	42
c)	Usos	45
d)	Investigaciones de acción conjunta	45
III.	MATERIALES Y METODOS	47
3.1	ETAPAS DEL ESTUDIO	47
3.2	LOCALIZACION	47
3.3	MATERIAL VEGETAL	47
a)	Malezas	47
b)	Recolección del material reproductivo (semillas)	48
c)	Tratamiento de semillas	48
3.4	HERBICIDAS	48
3.5	PRIMERA ETAPA: BIOANALISIS PRELIMINARES	49
a)	Diseño experimental	49
b)	Aplicación de herbicidas (tratamientos)	49
c)	Recolección de datos y análisis estadístico ...	51
	Evaluación de las respuestas y obtención de datos	51
	Análisis estadístico	52
3.6	SEGUNDA ETAPA: BIOANALISIS DE ACCION CONJUNTA ...	53
a)	Selección de especies	53
b)	Manejo de las malezas	53
c)	Diseño experimental	53
d)	Aplicación de herbicidas (tratamientos)	54
e)	Recolección de datos y análisis estadístico	56

	Evaluación de las respuestas y obtención de datos	56
	Procesamiento de datos	56
	Análisis estadístico	57
3.7	TERCERA ETAPA: BIOANALISIS DE VALIDACION EN CAMPO	57
	a) Descripción del área experimental	57
	b) Selección de especies	58
	c) Preparación del terreno y manejo de las malezas	58
	d) Diseño experimental	59
	e) Definición de dosis y aplicación de herbicidas (tratamientos)	60
	f) Calificación de la respuesta observada	61
	g) Cosecha	61
	h) Análisis estadístico	61
IV	RESULTADOS Y DISCUSION	63
4.1	PRIMERA ETAPA: BIOANALISIS PRELIMINARES.....	63
4.2	SEGUNDA ETAPA: BIOANALISIS DE ACCION CONJUNTA ...	72
	4.2.1 Análisis de los datos	72
	a) Métodos gráficos	72
	b) Método de Colby	73
	d) Tratamiento estadístico del método de Colby	77
4.3	TERCERA ETAPA: VALIDACION DE CAMPO	84
	4.3.1 Establecimiento de las malezas	84
	4.3.2 Respuesta a la aplicación separada y en mezcla	85
	4.3.3 Análisis estadístico	86
V	CONCLUSIONES	90
VI	RECOMENDACIONES	92
VII	LITERATURA CITADA	94
VIII	ANEXOS	102

Echegoyén Ramos, P. E. 1994. Acción conjunta del paraquat y el 2,4-D en malezas asociadas al café en Costa Rica. Tesis M. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE.

Palabras claves: antagonismo, herbicidas, interacción, malezas hoja ancha.

RESUMEN

La aplicación combinada de herbicidas en mezcla de tanque para el control de malezas asociadas al café es una práctica muy difundida entre los caficultores costarricenses. Una de las mezclas de uso común es la de paraquat con 2,4-D, la cual no se había evaluado sistemáticamente en términos de una posible interacción entre estos productos. El objetivo del presente trabajo fue estimar el tipo de acción conjunta que se da entre los dos herbicidas cuando se aplican en mezcla de tanque sobre malezas de cafetal.

La investigación se compuso de tres fases, las primeras dos se realizaron bajo condiciones semicontroladas en una casa de mallas del CATIE y la tercera, de validación en campo, se condujo en un lote de café de la finca "La Isabel" ubicada al noreste de Turrialba, Costa Rica.

Seis malezas asociadas al café se incluyeron en el trabajo: *Bidens pilosa*, *Borreria latifolia*, *Drymaria cordata*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea*, y *Richardia scabra*. La primera fase del estudio consistió en determinar la respuesta biológica de las seis malezas, a la aplicación separada de dosis crecientes de paraquat y 2,4-D. La estimación de las respuestas se hizo mediante análisis probit. En la segunda fase se evaluó el tipo de acción conjunta de los herbicidas cuando se aplican en mezcla sobre *B. pilosa* y *R. scabra*. La variable considerada en estas dos primeras fases fue el peso seco de las malezas. En la tercera fase se estimó en forma visual el porcentaje de daño ocasionado por la aplicación separada y combinada de los 2 herbicidas a 5 dosis diferentes, en un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial.

En general, los patrones de respuesta de las 6 malezas al paraquat fueron diferentes a los del 2,4-D y las respuestas promedio de disminución de rendimiento (DR₅₀) no fueron uniformes para cada herbicida. La acción conjunta de los dos herbicidas en todos los experimentos, pareció ser menos activa que lo esperado, por lo que la interacción puede tipificarse como de antagonista. Las manifestaciones antagonistas aumentaron con el incremento de las dosis de 2,4-D. El antagonismo de paraquat con 2,4-D fue más notorio en *R. scabra* que en *B. pilosa*.

Echegoyén Ramos, P. E. 1994. Joint action between paraquat and 2,4-D on weeds associated with coffee in Costa Rica. Tesis M. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE.

Key words: antagonism, broad leaf weeds, herbicides, interaction.

SUMMARY

Application of herbicide mixtures to control weeds associated with coffee is a common practice among Costa Rican coffee growers. One of the most common mixtures is paraquat and 2,4-D, but little is known about the interaction between these two herbicides. The purpose of this research was to study the joint action between both herbicides when applied as a tank mixture on weeds associated with coffee plantations.

Research was conducted in three phases, the first two under semicontrolled conditions in a screenhouse at CATIE; and the third, a field validation, was carried out in a coffee field at "La Isabel" farm in Turrialba, Costa Rica.

Six weeds associated with coffee were included: *Bidens pilosa*, *Borreria latifolia*, *Drymaria cordata*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea*, and *Richardia scabra*. In the first phase the biological response of the weeds was determined for each herbicide individually, based on probit analysis, of the effect (growth reduction) of nine herbicide doses. In the second phase, *B. pilosa* and *R. scabra* were used to determine the type of joint herbicide action of paraquat and 2,4-D applied as a mixture. A complete randomized block design was used in a factorial arrangement with six repetitions, using both herbicides as factors and 6 doses as levels. The variable used to determine herbicidal effect for these first two phases was plant dry weight. Percent damage caused by individual and combined herbicides at five different doses was estimated through visual observations in the third phase.

In general, response patterns of the six weeds to paraquat were different to those obtained with 2,4-D. Growth reduction average (GR₅₀) values varied with herbicides. Joint action of both herbicides in all experiments, appeared to be less active than expected, for which, the interaction can be typified as antagonistic. The antagonistic effects increased as the dose of 2,4-D increased. Paraquat antagonism with 2,4-D was more evident in *R. scabra* than in *B. pilosa*.

LISTA DE CUADROS

	Pág.
CUADRO 1. Mezclas de herbicidas recomendadas contra malezas asociadas al café en Costa Rica	7
CUADRO 2. Especies dominantes en las comunidades de malezas asociadas al cafeto en el área cafetalera de Costa Rica	8
CUADRO 3. Comparación entre porcentajes, desviaciones de la distribución normal y unidades probit ...	27
CUADRO 4. Estado de desarrollo y momento de aplicación de paraquat sobre las malezas bajo estudio ..	50
CUADRO 5. Estado de desarrollo y momento de aplicación de 2,4-D sobre las malezas bajo estudio	50
CUADRO 6. Dosificaciones de paraquat empleadas sobre seis malezas de prueba en bioanálisis preliminares. (Ingrediente activo expresado como ion paraquat)	50
CUADRO 7. Dosificaciones de 2,4-D empleadas sobre seis malezas de prueba en bioanálisis preliminares. (Ingrediente activo expresado como equivalente ácido)	51
CUADRO 8. Estado de desarrollo de <i>B. pilosa</i> y <i>R. scabra</i> al momento de la aplicación de paraquat y 2,4-D solos y en combinación	55
CUADRO 9. Dosificaciones de paraquat (A) aplicadas por separado y combinadas con dosificaciones de 2,4-D en bioanálisis de acción conjunta. Ingrediente activo (i.a.) expresado como ion paraquat	55
CUADRO 10. Dosificaciones de 2,4-D (B) aplicadas por separado y combinadas con dosificaciones de paraquat en bioanálisis de acción conjunta. Ingrediente activo expresado como equivalente ácido (e.a.)	55
CUADRO 11. Cantidad de semilla según especie, sembrada por parcela de 2.7 m ² en el experimento de campo	59

CUADRO 12.	Dosificaciones de paraquat y 2,4-D aplicadas por separado y combinadas sobre parcelas del experimento de campo. Ingredientes activos (i.a.) expresados como ion paraquat y equivalente ácido respectivamente	60
CUADRO 13.	Valores de DR ₂₀ , DR ₅₀ , DR ₈₀ , intervalos de confianza y parámetros estimados de la respuesta en peso seco a la aplicación de paraquat sobre seis malezas asociadas al cultivo el café	65
CUADRO 14.	Valores de DR ₂₀ , DR ₅₀ , DR ₈₀ , intervalos de confianza y parámetros estimados de la respuesta en peso seco a la aplicación de 2,4-D sobre seis malezas asociadas al cultivo de café	66
CUADRO 15.	Agrupación de las malezas estudiadas según sus DR ₅₀ para cada herbicida, considerando los límites de confianza al 95%	67
CUADRO 16.	Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de <i>B. pilosa</i> (experimento 1). Comparación de las respuestas observadas con las predichas (esperadas) mediante el modelo de Colby	74
CUADRO 17.	Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de <i>B. pilosa</i> (experimento 2). Comparación de las respuestas observadas con las predichas mediante el modelo de Colby	75
CUADRO 18.	Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de <i>R. scabra</i> . Comparación de las respuestas observadas con las predichas mediante el modelo de Colby	76
CUADRO 19.	Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre <i>B. pilosa</i> (experimento No. 1) ...	81
CUADRO 20.	Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre <i>B. pilosa</i> (experimento No. 2) ...	82

CUADRO 21.	Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre <i>R. scabra</i> (experimento No. 3) ..	83
CUADRO 22.	Análisis estadístico de la estimación visual de daño en porcentaje ¹ , ocho días después del tratamiento con paraquat (A) y 2,4-D (B), solos y en combinación a diferentes dosis sobre diferentes malezas de café en el experimento de campo	88

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Tipos de isobola con efecto a dos lados. I efecto independiente. II aditividad. III sinergismo. IV antagonismo. (Según Tammes 1964)	17
FIGURA 2. Isobolas con efecto a un lado. I Efecto independiente. II Sinergismo. III Anta- gonismo. IV Bloqueo de A por B. (Según Tammes 1964)	18
FIGURA 3. Líneas de respuesta de disminución de rendimiento en relación con el testigo, de seis malezas asociadas al café en Costa Rica, por la aplicación de dosis crecientes de paraquat	69
FIGURA 4. Líneas de respuesta de disminución de rendimiento en relación con el testigo, de seis malezas asociadas al café en Costa Rica, por la aplicación de dosis crecientes de 2,4-D	70

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL SUELO UTILIZADO EN LOS BIOANALISIS	103
ANEXO 2. APLICACION DEL ANALISIS PROBIT, BIOANALISIS PRELIMINARES	104
ANEXO 3. RESPUESTAS A LA APLICACION DE PARAQUAT (BIOANALISIS PRELIMINARES)	109
ANEXO 4. RESPUESTAS A LA APLICACION DE 2,4-D. (BIOANALISIS PRELIMINARES).....	110
ANEXO 5. CURVAS DE RESPUESTA ESTIMADAS Y SU AJUSTE A VALORES OBSERVADOS (BIOANALISIS PRELIMINARES)	111
ANEXO 6. ANALISIS DE VARIANZA DE LOS BIOANALISIS DE ACCION CONJUNTA REALIZADOS EN LA CASA DE MALLAS	114
ANEXO 7. APLICACION DEL MODELO PROPUESTO POR FLINT <u>et al.</u> (1988) AL PRIMER BIOANALISIS DE <i>B. pilosa</i>	118
ANEXO 8. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL PRIMER BIOANALISIS DE <i>B. pilosa</i> SOBRE ACCION CONJUNTA DE PARAQUAT CON 2,4-D	124
ANEXO 9. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL SEGUNDO BIOANALISIS DE <i>B. pilosa</i> SOBRE ACCION CONJUNTA DE PARAQUAT (A) CON 2,4-D (B)	125
ANEXO 10. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL BIOANALISIS DE <i>R. Scabra</i> SOBRE ACCION CONJUNTA DE PARAQUAT (A) CON 2,4-D (B)	126
ANEXO 11. PRUEBA DE ESTABILIDAD HERBICIDA DE LA MEZCLA DE TANQUE PARAQUAT-2,4-D A TRAVES DEL TIEMPO	127
ANEXO 12. ANALISIS DE VARIANZA BIOANALISIS DE ACCION CONJUNTA DE CAMPO	133
ANEXO 13. PORCENTAJES VISUALES DE DAÑO EXPERIMENTO DE CAMPO	135
ANEXO 14. BIONALISIS DE ACCION CONJUNTA. EVALUACION VISUAL	136

I. INTRODUCCION

En Costa Rica y en los demás países centroamericanos, el café es un cultivo tradicional de importancia relevante para el desarrollo económico, ya que constituye uno de los principales rubros de exportación y participa con un alto porcentaje en el producto interno bruto. Actualmente, la superficie cultivada en este país se estima en 100 mil hectáreas y la producción anual en alrededor de 150 mil toneladas métricas de café oro.

El empleo de herbicidas en el cultivo del café ha permitido controlar en forma eficiente las malas hierbas. Las primeras aplicaciones comerciales de estos productos, en Costa Rica, probablemente se hicieron a finales de los cuarenta o a inicio de los cincuenta. Campos (1990) menciona que a partir de 1954 se incluyó en el Programa de Investigaciones en Café, el combate químico de malezas. Según se deduce de los informes anuales del Programa Cooperativo ICAFE-MAG (Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Departamento de Investigaciones en Café, 1973, 1974, 1975; Programa Cooperativo Oficina del Café-MAG, 1977, 1981, 1982, 1983, 1984, 1985; Programa Cooperativo ICAFE-MAG, 1986, 1987, 1988) se estudiaron ampliamente al menos diez herbicidas entre preemergentes y posemrgentes durante el período 1950-1987, tanto en su aplicación individual como en mezclas. De acuerdo con otros informes, alrededor de 50 han sido experimentados en total (Campos, 1990).

A pesar de la amplia gama de herbicidas que se utilizan en café, algunos de uso tradicional como el 2,4-D y paraquat se emplean con mayor frecuencia, recomendándose su aplicación en

mezcla de tanque (Programa Cooperativo ICAFE-MAG, 1986). García (1993), informó que las cantidades de paraquat formuladas en Costa Rica durante 1988; 1989 y 1990 fueron 662.859; 713.696 y 612.157 kg, respectivamente, y de 2,4-D, para los mismos años de 512.402; 490.989 y 354.379 kg, respectivamente. Aunque no se conocen las cantidades totales de la mezcla empleada en café, volúmenes anuales estimados con base en el área cultivada donde puede estar siendo aplicada la mezcla, indican que por ejemplo para el paraquat podría estar utilizándose del 20 al 30% del total formulado en el país y para el 2, 4-D del 10 al 20%.

Debido a que muchos caficultores costarricenses usan la mezcla de paraquat más 2,4-D, recomendada en las guías técnicas del cultivo como una alternativa adecuada para el control de malezas, la estimación del tipo de acción conjunta que ocurre entre estos dos herbicidas al emplearlos mezclados para controlar malezas asociadas al café, tiene gran importancia, ya que puede aportar información aprovechable acerca de su acción combinada y sugerir el tipo de investigación a realizar en el futuro, para estimar costos y beneficios derivados de su uso, comparándolos con los costos y beneficios de las opciones de sustitución. Estos aspectos son relevantes sobre todo si se considera que ambos herbicidas son cuestionados por su toxicología y comportamiento ambiental.

Al parecer, los experimentos sobre la eficacia de la mezcla de tanque de paraquat más 2,4-D en el control de malezas, llevados a cabo en Costa Rica, no han estado orientados a estimar posibles interacciones entre los dos productos. A pesar de la gran diversidad de modelos existentes para estimar las interacciones entre herbicidas, se puede decir que en el área centroamericana no han sido utilizados.

Debido a los resultados aceptables de control obtenidos en las investigaciones de campo con el uso de la mezcla, en el presente trabajo se propuso la hipótesis de la existencia de una interacción positiva (sinergismo) entre los herbicidas paraquat y 2,4-D, cuando se aplican combinados. El objetivo fue estimar el tipo de acción conjunta entre los dos herbicidas cuando se aplican en mezcla de tanque sobre especies de malezas asociadas al café.

La investigación se realizó en una casa de mallas en la sede del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica y en la finca La Isabel de Turrialba. La primera etapa de la investigación consistió en estimar los ámbitos de respuesta de seis malezas típicamente asociadas al café, a los dos herbicidas aplicados individualmente. La segunda etapa consistió en la aplicación de diferentes dosis de ambos herbicidas, en forma separada y en combinación, con el fin de estimar el tipo de acción conjunta en condiciones semicontroladas (casa de mallas). En la tercera etapa se trató de validar en campo los resultados obtenidos en los bioanálisis previos.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 EL CONTROL QUIMICO DE MALEZAS ASOCIADAS AL CAFE EN COSTA RICA

Desde el comienzo del control químico de malezas de café en Costa Rica se vienen empleando combinaciones de herbicidas (Mata 1980). Entre las primeras mezclas usadas se mencionan al dinoseb (2-(sec-butil)-4,6-dinitrofenol) con aceite Diesel, que fue reforzada posteriormente con 2,4-D (Campos 1990). La Compañía Costarricense de Café (1980), menciona que en esta época el componente principal en las mezclas de herbicidas era el pentaclorofenol y el dinoseb, solándose agregar aceite Diesel.

En los años 60, con la introducción del paraquat en el mercado costarricense, la mezcla de 2,4-D con este herbicida sustituyó a la mezcla del dinoseb con aceite Diesel y se convirtió en una fórmula de uso común para el combate de malezas en el cultivo de café (Campos 1990, Mata 1980). Aún en la actualidad dicha fórmula es ampliamente utilizada por los caficultores costarricenses y se le denomina tratamiento "convencional" o fórmula "básica" (COMPAÑIA COSTARRICENSE DEL CAFE S.A., s.f.). No obstante con esta mezcla son necesarias de dos a siete aplicaciones anuales, dependiendo de la zona y condición del cafetal (Mata 1980).

En la actualidad la fórmula paraquat-2,4-D recomendada para el control de malezas en café es:

paraquat (200 g/l de ion)	94 g de i.a.
2,4-D sal amina (400 g/l de eq. ac.)	380 g de e.a.
humectante o penetrante	180 ml
agua (un estañón de 50 gal.)	190 l

(Programa Cooperativo ICAFE-MAG 1989; Oficina del Café, 1983; Mata, 1980). Se recomienda realizar la aplicación con boquillas de alto volumen (8002 ó 6502) en tratamientos posemergentes y en forma general, con gastos desde 540 a 815 litros de solución por hectárea según la densidad de las malezas. Eventualmente, a la mezcla de paraquat y 2,4-D se le agrega dalapón cuando se está en presencia de gramíneas, o terbutilazina (Campos 1990).

Otros herbicidas usados desde los años 60 en el cultivo de café en Costa Rica son el TCA, dalapón, y diurón. El TCA ha decaído en su uso porque puede afectar la sombra temporal y permanente del cafetal (Campos 1990, Compañía Costarricense del Café S.A., s.f.).

A principios de los 70 se introdujo el glifosato (Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Departamento de Investigaciones en Café, 1973). Este herbicida se perfiló desde entonces como un sustituto de la mezcla paraquat y 2,4-D, especialmente por su efectividad para el combate de malezas perennes de hoja angosta (gramíneas y ciperáceas). En esta misma época y debido a resurgimientos de nuevas poblaciones de malezas reproducidas por semilla, se introdujeron los herbicidas preemergentes oxifluorfen y alaclor (Mata 1980).

En la década de los 80 se perfeccionó la utilización del oxifluorfen y el alaclor para el control de malezas en almacigales de café y en plantaciones establecidas y se desarrollaron técnicas de control con el sistema de bajo volumen. También se han hecho evaluaciones de la sensibilidad de malezas (hoja ancha y angosta) a la aplicación posemergente de herbicidas tales como paraquat+2,4-D, dalapón, glifosato, MSMA, oxifluorfen, terbutilazina; y a la aplicación preemergente de oxifluorfen,

terbutilazina, diurón, y oxifluorfen + terbutilazina (Campos 1990).

En el Cuadro 1 se presenta un listado de herbicidas recomendados en mezclas por la Compañía Costarricense del Café S.A.; se incluyen dosis y lugares de aplicación. Debido a que las dosificaciones se recomiendan por 200 litros de agua, las dosis presentadas en dicho cuadro se han calculado asumiendo un gasto de 400 litros de solución por hectárea.

Cuadro 1. Mezclas de herbicidas recomendadas contra malezas asociadas al café en Costa Rica.

No.	Herbicida	Mezclas ^a	Dosis solo	Dosis mezc. g i.a./ha ^b	Aplicación
1	Paraquat (200)L ^c	(2); (2)+(3); (2)+(4); (2)+(5);	No se recomienda	(268);(200) (200);(200)	General
2	2,4-D (400)L	(1); (1)+(3); (1)+(4); (1)+(5);	No se recomienda	(536);(400) (400);(400)	General
3	Acifluorfen (240)L	(1)+(2); (6)	(240) ^d vivero	(480); (120) ^e	General
4	Diurón (800)S	(1)+(2)	No rec.	(368)	General
5	Dalapón (737)L	(1)+(2)	(2211) ^d dirigido	(1,017)	General
6	Glifosato (356)L	(3) ^e ; (7)	(178) B.V. general	(178); (498.4) ^f	General; dirigida
7	Sulfato de amonio (fertilizante)	(6)		(3000)	Dirigida

Fuente: Compañía Costarricense del Café S.A., (s.f.). Guía agrícola cultivo del café; control de malas hierbas.

^a Los números entre paréntesis corresponden a los herbicidas con los que se mezcla el herbicida de la fila.

^b Las dosis corresponden al herbicida de la misma fila en la mezcla específica según el orden.

^c El número entre paréntesis indica el contenido en gramos de ingrediente activo (i.a.) de la formulación, ya sea por kilogramo si es sólido (S) y por litro si es líquido (L). Los herbicidas cuya molécula original es un ácido [(2), (5), (6)], el i.a. se expresa como equivalente ácido y como catión para el paraquat.

^d i.a. por 200 litros de agua.

^e Aplicación a bajo volumen (B.V.).

^f Dosis por 200 litros de agua y aplicación dirigida a las malezas.

2.2 MALEZAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE CAFE EN COSTA RICA

El Programa Cooperativo ICAFE-MAG (1986) informó que hasta 1985, la sección de malezas había censado 251 especies de malezas asociadas al café, las cuales se agrupaban en 51 familias. En el Cuadro 2 se presentan las consideradas de mayor importancia en Costa Rica según Campos (1990).

Cuadro 2. Especies dominantes en las comunidades de malezas asociadas al cafeto en el área cafetalera de Costa Rica.

ESPECIE	FAMILIA
<i>Bidens pilosa</i>	Asteraceae
<i>Oxalis corniculata</i>	Oxalidaceae
<i>Commelina diffusa</i>	Commelinaceae
<i>Paspalum conjugatum</i>	Poaceae
<i>Browallia americana</i>	Solanaceae
<i>Digitaria abyssinica</i>	Poaceae
<i>Cynodon dactylon</i>	Poaceae
<i>Drymaria cordata</i>	Caryophyllaceae
<i>Digitaria ciliaris</i>	Poaceae
<i>Borreria laevis</i>	Rubiaceae
<i>Gnaphalium americanum</i>	Asteraceae
<i>Emilia fosberghii</i>	Asteraceae
<i>Kyllinga pumilla</i>	Cyperaceae
<i>Borreria latifolia</i>	Rubiaceae
<i>Paspalum paniculatum</i>	Poaceae
<i>Oplismenus burmanii</i>	Poaceae
<i>Digitaria horizontalis</i>	Poaceae
<i>Stellaria ovata</i>	Caryophyllaceae
<i>Drymaria villosa</i>	Caryophyllaceae
<i>Cyperus tenuis</i>	Cyperaceae
<i>Cardamine flaccida</i>	Cruciferae

Fuente: Campos (1990). 40 años de investigación y transferencia de tecnología en café.

2.3 EMPLEO DE MEZCLAS DE HERBICIDAS EN CONTROL DE MALEZAS

El empleo de mezclas de herbicidas es en la actualidad una práctica bastante común y se espera incrementalmente en los próximos años. Green y Bailey (1988) informan que hay una fuerte tendencia en EE.UU. hacia el uso de productos en premezcla, tal como lo indican recientes introducciones para soya, maíz, y cereales. Agrega que un número creciente de herbicidas cuya patente ya venció, ofrecen buenas opciones de mezcla con los nuevos productos que están entrando al mercado. Concluye que el incremento de la demanda por un mejor control de malezas a más bajo precio, encamina a los agricultores a usar las mezclas, por lo cual una meta alcanzable en un futuro debe ser el tener un mejor entendimiento de la acción conjunta entre herbicidas.

Se han mencionado muchas ventajas en relación con el uso de mezclas de tanque de herbicidas; entre éstas se pueden citar: a) ampliación del espectro de las malezas controladas o una extensión de su control por un período más largo; b) mejora en el control químico de la maleza bajo condiciones variables de clima y suelo; c) facilidad en la aplicación; d) reducción de las dosis de cada uno de los componentes individuales, con lo cual también se reducen los problemas de residuos; e) reducción del riesgo de evolución de resistencia; f) reducción en los costos de producción de los cultivos por la economía de tiempo y trabajo; g) reducción en la compactación del suelo al eliminar operaciones múltiples sobre el campo; h) mejora en seguridad para el cultivo al usar la mínima dosis de los agroquímicos seleccionados aplicados en combinación, que implicaría una alta dosis de un agroquímico aplicado sólo; (Hatzios y Penner, 1985; Akobundu, 1987; Compañía Costarricense del Café S.A., 1980).

Hatzios y Penner (1985) mencionan que si bien el uso de dos o tres herbicidas seleccionados en mezcla de tanque es bastante

común en los programas modernos de manejo de malezas, cambios físicos, químicos o fisiológicos pueden causar que herbicidas aplicados en mezclas, interactúen adversamente en plantas superiores. Agregan que la mejor combinación de herbicidas está basada en mezclar un herbicida para hoja angosta con uno contra hoja ancha, con el fin de complementar la fitotoxicidad de cada uno a nivel fisiológico.

2.4 ACCION CONJUNTA DE HERBICIDAS

Los mecanismos por los cuales dos o más agroquímicos aplicados conjuntamente pueden interactuar son complicados y en muchos casos, pobremente entendidos; la terminología de uso común empleada para describir estos mecanismos de acción es oscura y confusa (Hatzios y Penner, 1985).

Los investigadores divergen en la selección y definición de términos que clasifican y califican las posibles formas de acción conjunta entre dos o más agroquímicos, cuando se aplican en mezcla de tanque o en secuencia. Por ejemplo, en las primeras investigaciones sobre mezclas de herbicidas, Crafts et al. (1936) citados por Green y Bailey (1988) dividieron estas formas de acción conjunta en aditividad, antagonismo y sinergismo. Tammes (1964) las clasifica en sinergismo, adición, efecto independiente y antagonismo; Colby (1967), en sinergismo, antagonismo y aditividad. Akobundu et al. (1975) proponen los términos de aditividad, sinergismo, antagonismo y acrecentamiento. Estas inconsistencias exigen se adopte una terminología uniforme para discutir e interpretar adecuadamente los resultados en cualquier investigación sobre el tema.

2.4.1 Definición de Términos

Los conceptos hasta el momento más difundidos sobre acción conjunta de agroquímicos se consolidaron a partir del modelo matemático de Gowing (1960), modificado por Colby (1967), y el modelo gráfico de Tammes (1964); sin embargo, la definición de los términos y adopción de los conceptos varía dentro de una disciplina y entre disciplinas; Hatzios y Penner (1985) citan varios ejemplos al respecto.

A continuación se presenta una revisión selectiva de lo discutido por varios investigadores para cada término y se transcriben algunas acepciones en particular. En la sección 2.5.2 se dan a conocer las definiciones adoptadas.

a) **Interacción.** El término se usa con frecuencia en forma colectiva para describir la acción conjunta de agroquímicos en los tejidos de plantas, aún cuando no lleva consigo ninguna interacción entre las sustancias involucradas (Hatzios y Penner, 1985).

Interacción indica dependencia y es una medida de la influencia de una variable sobre la magnitud de otra (Lockhart 1965). Dos o más herbicidas aplicados conjuntamente pueden producir una respuesta de crecimiento (disminución de rendimiento) en las plantas que no es predecible a partir de su toxicidad individual; esta respuesta impredecible (dependiente) resulta de una interacción (Nash 1981).

Para los estadísticos (Steel y Torrie, 1988), la interacción de dos factores es una respuesta diferencial más grande de lo que pueda ser atribuible al azar entre los efectos simples para un factor; es decir que la interacción mide la modificación que sufre la respuesta al factor A por la

presencia del factor B o al contrario, el no lograr el mismo efecto de B a cada nivel de A.

Lockhart (1965) recomienda, debido a muchos usos inapropiados tanto de la palabra como del concepto interacción en estudios de crecimiento, que éste sea empleado únicamente a respuestas que hayan demostrado ser interacciones significativas mediante el uso apropiado del análisis de varianza de Fisher.

b) Aditividad. Dos variables ejercen efectos independientes cuando la respuesta a un tratamiento con ambas variables puede indicarse como expresión de las respuestas a cada una en forma separada (Lockhart 1965). Si esto se da en respuestas de plantas a dos herbicidas como variables, a diferentes dosis, entonces se dice que existe aditividad en su acción conjunta.

Colby (1967) sostiene que una combinación de herbicidas es aditiva si las respuestas observadas y esperadas son iguales. Tammes (1964) la define como una acción cooperativa, que se da cuando el efecto total es igual a la suma de los efectos de los componentes tomados independientemente; los componentes pueden ser sustituidos el uno por el otro en cantidades inversamente proporcionales a su actividad. Akobundu et al. (1975) definen aditividad en la respuesta a la aplicación de una mezcla herbicida-herbicida cuando si, sobre un ámbito de dosis y proporciones, la respuesta de la planta es la misma a la obtenida cuando un químico es sustituido por el otro en dosis basadas en la actividad de cada herbicida cuando se usa sólo.

Nash (1981) sugiere que la respuesta sea denominada de acción aditiva cuando la respuesta total sea igual a la suma de las respuestas a los dos componentes independientes. Lockhart (1965) había explicado que esto no era necesariamente cierto, ya que la respuesta total puede ser función del producto de los componentes independientes cuando están relacionados en

sistemas multiplicativos en lugar de aditivos y, para que la definición sea adaptable a los resultados, recomienda efectuar las transformaciones pertinentes a los datos.

c) **Antagonismo.** Green (1989) menciona que el antagonismo tiene connotaciones negativas, por lo que usualmente no se menciona en la práctica comercial, pues eufemismos como asegurador, antídoto, "protectante" de cultivo, sub-aditivo, acción independiente, evitan su uso. Opina que desde que se informó el antagonismo (citando a Crafts 1936), los investigadores han comprendido que aún si la mezcla es antagonista, su uso todavía puede ser valioso. Agrega que el antagonismo define un tipo de interacción de herbicida, y no si una mezcla es agronómicamente útil e incluso señala que a menudo puede ser manejado y deseado cuando reduce el daño al cultivo.

Colby (1967) califica como antagonismo cuando en la combinación de herbicidas la respuesta observada es menor que la esperada. Tammes (1964) sostiene que se da antagonismo cuando el efecto total es menor que el efecto del componente sólo más activo. La WSSA (1985) define antagonismo como una interacción de dos o más químicos tal que su efecto combinado es menor que el efecto predicho basado en la actividad de cada químico aplicado separadamente.

d) **Sinergismo.** Green y Bailey (1988) manifiestan que el término "sinergismo" es usado en sentidos que pueden prestarse a confusión, agregan que el término sinergismo debería estar restringido a aquellas respuestas en las cuales se muestran interacciones positivas: esto significará más que proporcional en los efectos cuando el mecanismo es multiplicativo, o más que aditivo cuando los efectos de los mecanismos sean aditivos.

Etimológicamente sinergismo significa "trabajando con", pero llega a tener un significado mayor que este (Morse 1978). Colby (1967) dictamina que hay sinergismo cuando la respuesta observada es mayor que la esperada. Tammes (1964) lo define como una acción cooperativa de dos componentes de una mezcla, tal que el efecto total es mayor o más prolongado que la suma de los efectos de los dos componentes tomados independientemente. Nash (1981) define sinergismo como una acción simultánea de dos o más tóxicos en la cual la respuesta total de un organismo a una combinación de plaguicidas es mayor que la suma de sus respuestas a los tóxicos individuales. El comité de la Sociedad Americana de la Ciencia de Maleza (WSSA 1985) define sinergismo como una interacción de dos o más plaguicidas tal que su efecto combinado es mayor que el efecto predicho basado en la respuesta a cada plaguicida aplicado separadamente.

2.4.2 Definiciones Adoptadas

En el presente trabajo se adoptaron las definiciones sugeridas por Hatzios y Penner (1985) para los tipos de acción conjunta de mezclas de agroquímicos en plantas superiores:

"Sinergismo": acción cooperativa de dos agroquímicos tal que la respuesta observada de un organismo de prueba a su aplicación conjunta, es mayor que la respuesta a ocurrir, predicha por un modelo apropiado de referencia.

"Antagonismo": un tipo de acción conjunta de dos agroquímicos, tal que la respuesta observada de un organismo de prueba a su aplicación combinada es menor que la respuesta predicha a ocurrir por un modelo apropiado de referencia.

"Aditividad": Acción cooperativa de dos agroquímicos tal que la respuesta observada de un organismo de prueba a su aplicación conjunta, es igual a la respuesta predicha a ocurrir por un modelo apropiado de referencia.

2.4.3 Relaciones de los Herbicidas con la Planta y Entre Herbicidas

La representación gráfica de las formas de acción conjunta entre dos agroquímicos (Tammes 1964) en sendos ámbitos de dosis para cada herbicida, es una forma descriptiva muy utilizada y de fácil comprensión de las relaciones herbicida-planta y herbicida-herbicida (Figuras 1 y 2). En estos gráficos son insertados efectos (respuestas) cuantitativamente definidos, como por ejemplo el 50% de mortalidad o de disminución de rendimiento, obteniendo los demás valores por interpolación. La línea que conecta los puntos es llamada isobola según Loewe y Muischnek (1926), citados por Tammes (1964), quienes las usaron para estudiar interacciones entre medicamentos.

Esta representación permite dividir claramente las interacciones de herbicidas en dos grupos: a) Aquellas con otros herbicidas o interacciones a dos lados (Fig. 1) y b) Aquellas con químicos no herbicidas o interacciones a un sólo lado (Fig. 2), (Green y Bailey 1988). En ambos casos, se adopta el criterio del 50% de mortalidad, o el equivalente al 50% de disminución de rendimiento.

De forma más simple, estas "interacciones" pueden dar origen a tres posibles resultados: a) Fitotoxicidad mayor que la esperada (sinergismo); b) la respuesta esperada (no interacción = aditividad) y c) fitotoxicidad menor que la esperada (antagonismo). Las controversias surgen cuando se trata de definir qué es lo esperado (Green y Bailey, 1988).

Para Morse (1978), las áreas donde se dan divergencias de calificación en la acción de los plaguicidas sobre la planta son las siguientes: del bolograma de efecto a dos lados (Fig. 1) la región entre la isobola I (de efecto independiente según Tammes) y la isobola II (de aditividad), así como en la región entre la isobola II y los ejes de coordenadas. Y, del bolograma de isobolas de efecto a un lado (Fig. 2), las áreas situadas a la izquierda de la isobola I. Agrega que parte de la confusión se debe a la falla en reconocer que el uso de métodos basados en diferentes "hipótesis nulas" o "modelos de referencia" podrían resultar en definiciones de sinergismo o antagonismo que no son necesariamente las mismas. Por ejemplo si se ocupa un modelo multiplicativo (como el de Colby) la isobola de referencia de aditividad al 50% de respuesta, no coincide con la de la Fig. 1. En la presente investigación se adoptaron los criterios gráficos mostrados por Nash (1981) y Green (1989), para el caso de isobolas de efecto a dos lados, donde respuestas debajo y sobre la isobola de aditividad se consideran sinergistas y antagonistas respectivamente.

La variedad de interrelaciones que pueden darse cuando se aplican herbicidas en forma combinada ocurren tanto fuera como dentro de la planta, antes, durante, y después de la aplicación (Green 1989). Así los herbicidas interaccionan con químicos aplicados simultáneamente o con cantidades residuales ya presentes al momento del tratamiento, lo que hace más compleja la calificación y definición de los fenómenos observados.

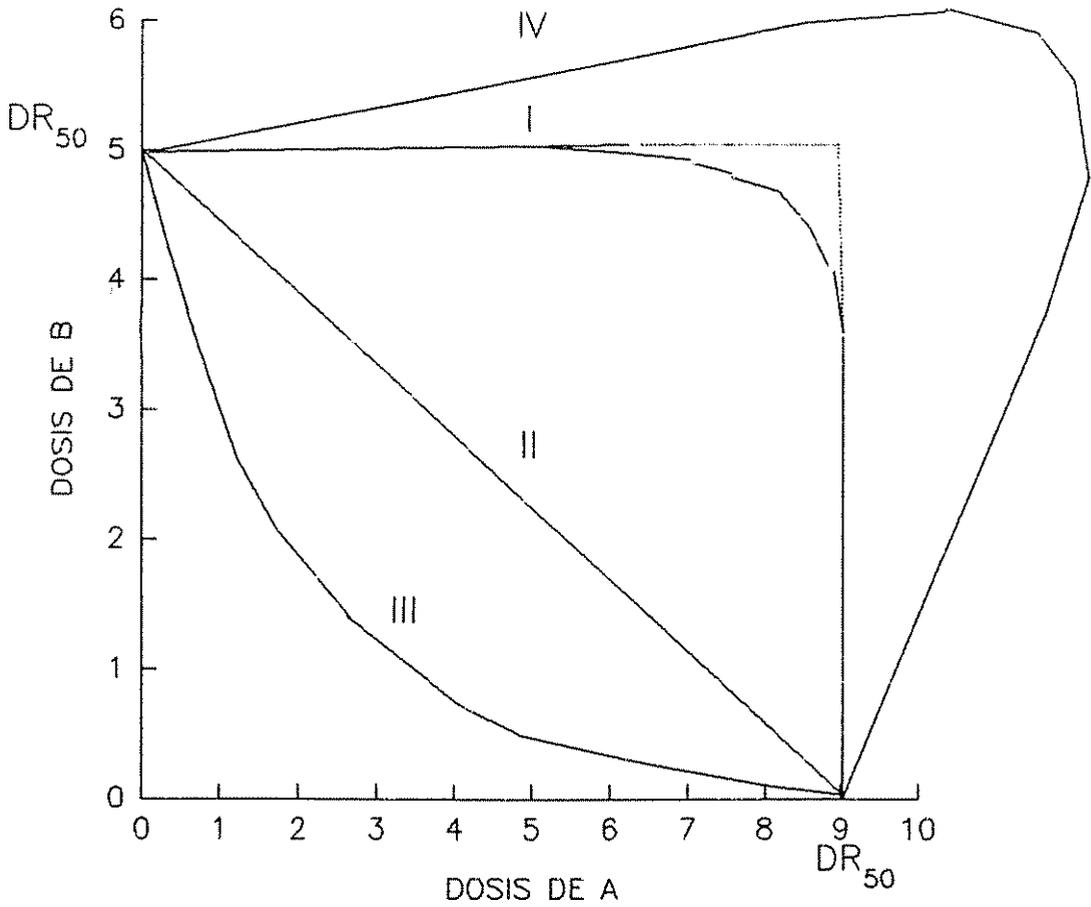


Figura 1. Tipos de isobola con efecto a dos lados. I efecto independiente. II aditividad. III sinergismo. IV antagonismo. (Según Tammes 1964)

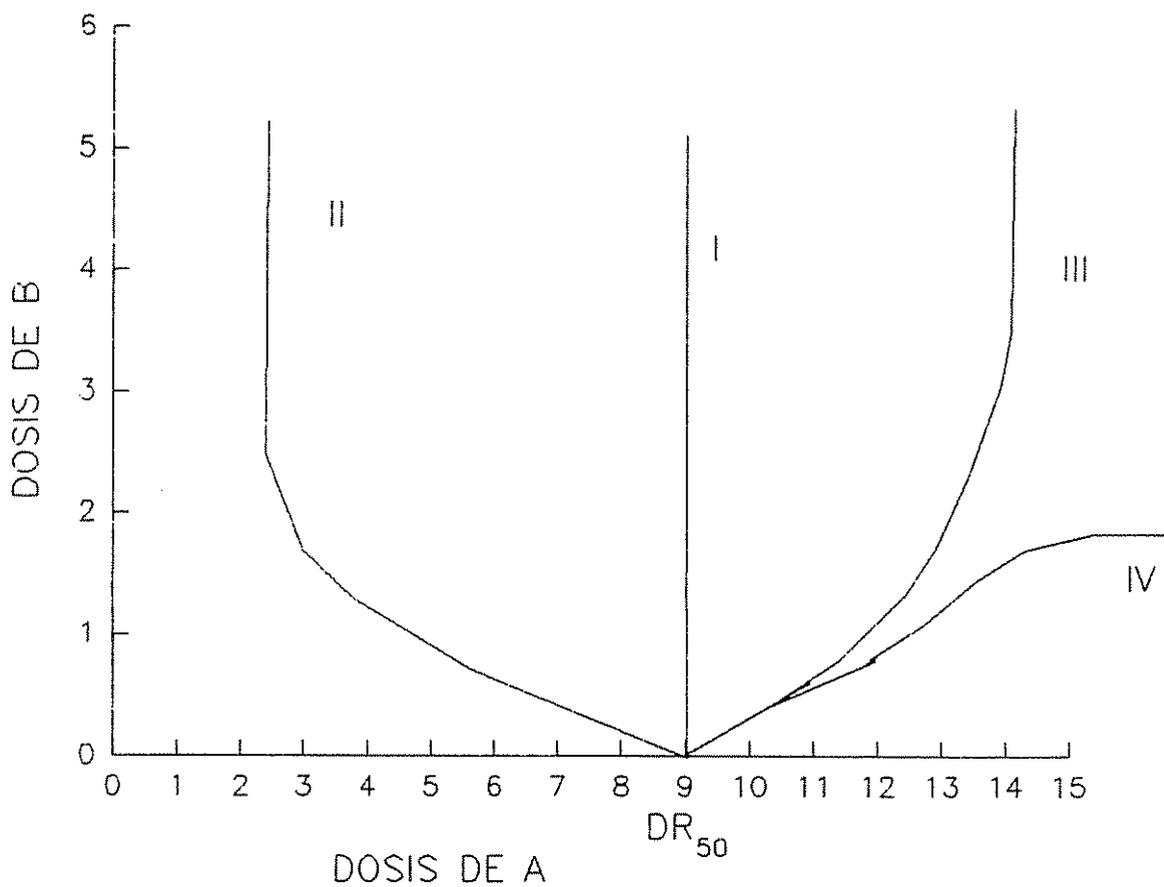


Figura 2. Isobolas con efecto a un lado. I Efecto independiente. II Sinergismo. III Antagonismo. IV Bloqueo de A por B. (Según Tammes 1964).

Hatzios y Penner (1985) concuerdan en que los avances en la comprensión de las interacciones sinergistas y antagonistas ha resultado en algunas aplicaciones prácticas, como por ejemplo el desarrollo de insecticidas sinergistas y de antidotos que protegen a los cultivos de daños de herbicidas. El antagonismo puede ser también útil para entender los sitios y mecanismos de acción de agroquímicos seleccionados. En la práctica, el sinergismo y el antagonismo son quizá los tipos más importantes de "interacciones" que pueden ocurrir cuando uno o más agroquímicos se aplican en combinación. Sin embargo, los efectos aditivos pueden también tener valor práctico ya que pueden generar beneficios económicos al aplicar dos o más agroquímicos en una misma faena.

Algunas interacciones pueden encerrar peligros potenciales. Por ejemplo la acción herbicida del propanil sobre el arroz (*Oryza sativa* L.) motivada por los insecticidas metil carbamatos. Por tanto, para asegurar la efectividad y seguridad de las aplicaciones combinadas de agroquímicos se deben evaluar las posibles interacciones adversas (Hatzios y Penner, 1985).

En cuanto al lugar donde pueden suceder las interacciones, Maestri (1958) citado por Green y Bailey (1988) menciona que en mezclas de herbicidas, los químicos pueden interactuar (a) en solución, (b) en la superficie de la planta, (c) en el suelo, (d) dentro de los tejidos involucrados en la absorción y transporte, así como (e) en el sitio de acción.

Las alteraciones de la actividad de un herbicida en una planta objetivo, por consecuencia de la aplicación previa o simultánea de otro agroquímico, pueden ser el resultado de cambios en la cantidad de herbicida que alcanza el sitio de acción en forma activa (Hatzios y Penner, 1985)

2.4.3.1 Mecanismos Antagonistas

Los efectos adversos resultantes de la interacción de agroquímicos pueden provenir ya sea de la alteración de la absorción, transporte o biotransformación de un agroquímico por otro, o de las combinaciones de sus acciones o efectos en las especies objetivo y no objetivo. Cuando la interacción de los agroquímicos ocurre antes de la aplicación, en el momento de ser mezclados en la formulación o en el tanque de aspersión, se debe a factores físicos o químicos. Si con esto se reduce la efectividad de uno o más de ellos, se dice que hay incompatibilidad. La incompatibilidad denota la inhabilidad de dos o más agroquímicos a ser usados juntos por sus cambios antagonistas (Hatzios y Penner, 1985).

a) **Clasificación de los mecanismos antagonistas.** Los mecanismos por los cuales algunos agroquímicos contrapesan la actividad de un herbicida dado en una especie de planta objetivo, se pueden clasificar dentro de cuatro tipos (Hatzios y Penner, 1985).

Antagonismo bioquímico: Es el que ocurre cuando un agroquímico (el antagonista) disminuye la cantidad de un herbicida dado, que estaría de otra manera disponible en su sitio de acción en ausencia del antagonista; además, el antagonista puede incrementar la tasa de biotransformación de un herbicida dado en la planta.

Antagonismo competitivo: ocurre cuando el antagonista actúa reversiblemente en el mismo sitio que el herbicida. En algunos casos, el antagonista, aunque capaz de reaccionar con el sitio receptor dentro de la célula, puede carecer de actividad intrínseca; no obstante, por la reacción con el sitio receptor el antagonista impide el acople del herbicida dado en su sitio receptor y la formación de un complejo herbicida-receptor que puede ser necesario para la actividad herbicida.

Antagonismo fisiológico: se observa cuando dos agroquímicos actúan en diferentes sitios, contrapesándose el uno al otro por la producción de efectos opuestos sobre el mismo proceso fisiológico; cada agroquímico es sostenido en su habilidad de reaccionar con su sitio receptor y producir la respuesta característica, pero el efecto combinado de los dos agroquímicos es el resultado neto de sus acciones opuestas sobre el mismo proceso fisiológico; por ejemplo un herbicida puede estimular la síntesis de determinado compuesto en la planta, mientras que otro la inhibe.

Antagonismo químico: ocurre cuando un antagonista reacciona químicamente con un herbicida para formar complejos inactivos.

b) **Factores que afectan el antagonismo.** Hatzios y Penner (1985) apuntan que muchos de los efectos adversos de las interacciones dependen de factores como (a) la dosis de las sustancias involucradas (b) el tiempo de su aplicación (c) el tiempo de observación de las respuestas de los organismos objetivo a tratamientos combinados de estas sustancias. Green (1989) menciona entre otros los siguientes: a) especies de plantas, b) modos de acción, c) otros plaguicidas, d) coadyuvantes y otros componentes de la formulación, e) estado de crecimiento y método de aplicación, f) tiempo, g) químico, y h) ambiente

2.4.3.2 Mecanismos Sinergistas

Green y Bailey (1988) opina que de los tres tipos de "interacción" (sinergismo, aditividad y antagonismo), el sinergismo es el más difícil de descubrir. Hatzios y Penner (1985) mencionan que varias clases de agroquímicos tales como adyuvantes, fertilizantes, herbicidas, insecticidas, reguladores de crecimiento y otros aditivos, sinergizan la

actividad de algunos herbicidas. En la mayoría de estas interacciones el sinergismo parece resultar de un aumento en la penetración y en el transporte del herbicida o si no, de una reducción en la biotransformación del herbicida por la aplicación previa o simultánea de un segundo agroquímico. Debe destacarse el papel que desempeña la proporción entre los agroquímicos en la mezcla. Por ejemplo, Dennis y Shaw (1988, 1989), han informado que diferentes proporciones en la mezcla de tanque de los mismos herbicidas han ofrecido respuestas diferentes en cuanto al tipo de acción conjunta.

a) Clasificación de los mecanismos sinergistas. Hatzios y Penner (1985), con base en los resultados observados en la mayoría de las interacciones entre un herbicida dado y la aplicación previa o simultánea de un segundo agroquímico, califican este tipo de interacciones en las siguientes categorías:

1) Aumento de la absorción o transporte o ambos por un herbicida sinergista.

2) Reducción de la biotransformación del herbicida por el herbicida sinergista.

3) Otros mecanismos sinergistas menos comunes, tal como la interacción que ocurre en el sitio de la acción fisiológica o bioquímica de un herbicida dado, dentro de la célula, antes que de alteraciones en el patrón de su absorción.

b) Factores que afectan el sinergismo. Estos factores, posiblemente con pocas variantes, vendrían a ser los mismos que los mencionados en el antagonismo.

2.5 PROCEDIMIENTOS Y MODELOS PARA LA ESTIMACION DE LOS TIPOS DE ACCION CONJUNTA DE HERBICIDAS

2.5.1 Bioanálisis Preliminares

La mayoría de modelos desarrollados para la estimación de los efectos de la acción conjunta de herbicidas, requieren conocimientos previos de la respuesta de la planta a cada herbicida aplicado en forma individual, para compararla con la obtenida al aplicar los productos en mezcla de tanque. La estimación del tipo de respuesta de una población de plantas a la aplicación de herbicidas, se hace mediante bioanálisis, los cuales cuantifican la potencia de un agente tóxico (Farm Chemicals Handbook 1990).

Antes de la realización de un bioanálisis para estimar el tipo de acción conjunta entre dos agroquímicos, es conveniente determinar los intervalos de dosificación de cada uno, necesarios para producir el ámbito deseado de respuesta (efecto). Estos intervalos, al ser estrechos, pueden interpretarse como la sensibilidad a la preparación probada. Si pequeños cambios en las concentraciones dan una amplia variación en la escala de respuesta medida, se dice que la sensibilidad del organismo es alta (Goulden, 1952).

La estimación de los intervalos de dosificación y del ámbito de respuesta, que cuando se evalúa muerte puede incluir las dosis que producen del 0 al 100% de mortalidad, se hace por medio de un bioanálisis preliminar. A estos intervalos de dosificación y al ámbito de respuesta se le conoce como ventana de respuesta biológica de la población bajo estudio.

a) Procedimientos. Goulden (1952), señala que cuando se evalúa mortalidad de individuos, dos de las preguntas más comunes que surgen en estas investigaciones son, en primer lugar ¿cuál debería ser el ámbito de dosificación y número de

concentraciones? y en segundo lugar ¿cuántos individuos deben ser tratados en el mismo nivel?. El ámbito de dosificación tiene que ser resuelto con alguna información preliminar, luego de esto puede ser posible establecer una serie de dosis satisfactorias, teniendo presente que la menor información se obtendrá de las dosis que muestren porcentajes muy altos o bajos de muertes. Los puntos más valiosos se encuentran entre el 25 y 75%; mortalidades menores de un 16% y mayores que 84% ofrecen tan poca información con respecto a la DL₅₀ que pueden ser desechadas. Para la pregunta de cuántos individuos deben haber en cada grupo, está relacionada con el número de grupos, es preferible tener varios grupos a diferentes niveles que tener sólo tres o cuatro grandes grupos a tres o cuatro niveles; sin embargo concluye que el mayor número de individuos por grupo siempre debe ser usado, con tal que no haga el experimento muy caro o difícil de manejar.

Debido a que los herbicidas inducen numerosos cambios en el metabolismo y estructura de la planta, que llevan a inhibición de su crecimiento y desarrollo, éstos últimos son usados frecuentemente como parámetros para la medición de la respuesta a la aplicación de herbicidas, por ejemplo peso y altura (parámetros cuantitativos), y porcentaje de sobrevivencia y crecimiento o desarrollo, que son parámetros cualitativos (Hatzios y Penner, 1985).

En varias investigaciones citadas por Santelmann (1971) las variables tomadas en cuenta para la medición de la actividad herbicida fueron: Peso fresco y seco de la parte aérea, altura de la planta, calificación visual de daño, longitud de raíces, conteo de germinación de plántulas, peso de raíces y consumo de agua. Hatzios y Penner (1985) señalan que el daño visual o tasas de crecimiento, si bien son útiles en casos específicos, son subjetivas y llevan al sesgo, por lo cual su uso debería ser evitado siempre que sea posible. Akobundu et

al. (1975) sugiere al respecto escoger criterios no finitos para evaluar la respuesta de la planta, tales como peso fresco o seco, altura, área de hojas y evolución del dióxido de carbono, con preferencia a plantas muertas o plantas en pie.

Por último, es preciso considerar que la respuesta a un tratamiento químico, medido como inhibición de crecimiento, será más grande en las especies de más rápido crecimiento, lo que requiere de ajustes en el tiempo entre el tratamiento y la cosecha. Las fallas en estos ajustes, de acuerdo con el hábito de crecimiento, pueden producir resultados desviados; las cosechas muy tempranas podrían resultar en subestimación del máximo de inhibición, mientras que cosechas tardías podrían exagerar la respuesta fitotóxica (Chase et al., 1963)

b) Modelos para análisis de datos. Existen numerosos modelos relativos a dosis de químicos solos y a su respuesta biológica. En general estos modelos tienen la forma $Y = F(X)$ donde la función, F , puede describir una simple ecuación lineal tal como $Y = a + bx$, una polinómica de elevado orden, o aún una relación no lineal entre X y Y (Green y Bailey, 1988).

Dentro de los modelos disponibles los más usados son el de la función de distribución normal y la logística (Robertson y Preisler, 1992).

Modelo probit: En el análisis probit se supone que las observaciones siguen una distribución normal. El modelo se puede representar mediante la ecuación:

$$P_i = \Phi (\alpha + \beta x_i)$$

donde: P_i es la probabilidad de respuesta, $\Phi (f_i)$ es la función de la distribución normal estándar, α es el intercepto de la línea de regresión, β es la pendiente de la

línea de regresión y x_i es la i ésima dosis o una función de ésta (por ejemplo logaritmo de la dosis).

Para que la gráfica (curva sigmoideal simétrica) descrita por la función sea mejor interpretada y fácil de manipular se ha acostumbrado transformar las unidades del eje Y (fracciones de respuesta o porcentajes de mortalidad) en "probits" (Robertson y Preisler, 1992), estas transformaciones (de dosis a log dosis y de porcentajes de mortalidad a probitos), produce una respuesta lineal. El término "probits" fue introducido por Bliss (1934) quien lo definió como unidades de probabilidad arbitrarias. Al español se ha traducido en varias formas tales como probitos, probitas, y probites.

Las unidades probit guardan correspondencia con las desviaciones de la distribución normal estandarizada (Cuadro 3), cada unidad de desviación es equivalente a una unidad de probit más 5, dicha transformación fue hecha para que todos los probitos fueran positivos; entonces la ecuación log dosis versus unidades de probit escrita en términos de la distribución normal viene dada por: $Y = 5 + 1/\sigma (x - \mu)$, donde μ = respuesta media (DL_{50}), σ = desviación estándar, x = $\log(\text{dosis})$, y Y mortalidad en probitos (anónimo s.f.). Tablas de conversión de porcentajes de mortalidad a probitos se encuentran en Bliss (1934), Bliss (1935) y Fisher y Yates (1963).

Cuadro 3. Comparación entre porcentajes, desviaciones de la distribución normal y unidades probit.

Porcentaje de mortalidad	Desviaciones de la distribución normal* (σ)	Unidades probit**
0	-4	1
0.13	-3	2
2.27	-2	3
15.87	-1	4
50.0	0	5
84.13	1	6
97.73	2	7
99.87	3	8
100.00	4	9

Adaptado de Goulden (1952)

* Teóricamente la desviación - 4 puede sustituirse por $-\infty$ y la 4 por $+\infty$.

** Teóricamente no se pueden calcular probitos para el 0 y el 100% de mortalidad.

Existen dos métodos para ajustar la recta de regresión lineal probit: El primer método consiste en hacer el ajuste a mano alzada si es obvio que se puede obtener un ajuste cercano a los puntos, dibujando la línea que se usará para obtener las medidas requeridas de potencia y sensibilidad (Goulden 1952). Inclusive puede efectuarse una prueba de bondad de ajuste (aproximada) con el estadístico χ^2 , mediante comparación de los valores predichos por la línea y los puntos verdaderos determinados en el bioanálisis, estimando además los límites de confianza (Anónimo s.f.).

El segundo método es el de iteración, que parte de una línea ajustada visualmente (línea provisional) suministrando las primeras aproximaciones de Y y consecuentemente del factor de ponderación (w). Sustituyendo los valores aproximados de Y y w se ajusta otra línea, y así sucesivamente hasta obtener una línea que no cambia en sus parámetros o que cambia muy poco en subsecuentes aplicaciones del proceso de ajuste (Goulden 1952). El procedimiento de cálculo por este método es largo,

máxime si se detecta heterogeneidad en los datos (prueba χ^2 de bondad de ajuste). Dado este caso, es necesario multiplicar la varianza por un factor de heterogeneidad (Goulden 1952). Si la heterogeneidad es muy alta, el modelo de transformación probit no es el adecuado (respuestas transformadas no lineales). Procedimientos para estos cálculos se encuentran en Bliss (1935), Finney (1951), Busvine (1971) y Goulden (1952).

Varios paquetes estadísticos traen incluido el procedimiento probit dentro de sus opciones, por ejemplo: SAS, POLO, GLIM, MSTAT, SYSTAT.

2.5.2 Bioanálisis de Acción Conjunta

Los bioanálisis de acción conjunta de herbicidas son generalmente experimentos planificados con dos o más herbicidas, aplicados a diferentes dosis, tanto solos como en todas las combinaciones posibles, con un testigo sin tratar.

En la evaluación de estos bioanálisis se deben tener en cuenta los siguientes aspectos: (a) un diseño experimental apropiado para la conducción del estudio; (b) un parámetro apropiado para la medición de la respuesta de crecimiento de la planta a la mezcla agroquímica y (c) con un método estadístico adecuado, para el análisis e interpretación de los datos recolectados de respuesta de crecimiento (Hatzios y Penner 1985).

Las preguntas que el experimentador debe contestar están en estrecha relación con el tipo de bioanálisis a realizar y en consecuencia con los objetivos propuestos por el investigador en la planificación del estudio.

El diseño con arreglo factorial 2 por 2 es bastante usado por investigadores para la detección de interacciones, sin embargo es de poco valor práctico cuando van a ser usadas técnicas de regresión para el ajuste de curvas (Hatzios y Penner, 1985). En tales casos, es deseable el uso de experimentos factoriales con dos factores, cada uno con más de dos niveles.

Nash (1981) opina que las dosis contenidas en un factorial 5 por 5 son las mínimas que podrían ser usadas, para obtener una descripción válida de la curva. Además, si los datos se analizan por regresión, el diseño debería incluir el doble de réplicas para tratamientos individuales del herbicida y el cuádruple de réplicas para el testigo, por el fuerte énfasis de comparación que se hace entre éstos y el resto de tratamientos. Little y Hills (1984) menciona al respecto, que todos o ciertos tratamientos pueden repetirse dos o más ocasiones dentro de un bloque en diseños de bloques completos al azar.

Los niveles de cada factor deben estar en un ámbito apropiado para detectar interacciones potenciales. En la práctica, es deseable seleccionar aquellos niveles de cada factor que causan inhibición al crecimiento de la planta en un ámbito entre 20 ó 30% a un 70 u 80% (Hatzios y Penner, 1985). Green y Bailey (1988) sugieren que el uso de dosis extraordinariamente altas debería ser abolido, porque existen efectos secundarios y no específicos que pueden complicar la estimación de la interacción primaria. Darby (1974) sugiere que los niveles para mezclas de dos o más factores probados deberían estar igualmente espaciados dentro de cada factor.

Hatzios y Penner (1985) consideran que es preferible evaluar las interacciones de dos o más agroquímicos solamente en una especie de planta a la vez; agregan que si mezclas de agroquímicos interactúan sobre una especie de planta, esta

mezcla debería ser subsecuentemente evaluada sobre otras especies de diferentes familias, ya que las respuestas pueden ser sinergistas sobre una especie y solamente aditiva o antagonista sobre otra especie tratada con la misma mezcla; esto último concuerda con lo expuesto por Minton et al. (1989).

a) Modelos para estimar tipos de acción conjunta. Existen numerosas propuestas matemáticas para cuantificar el funcionamiento de las mezclas de herbicidas. Una está basada en los conceptos tradicionales de aditividad, sinergismo y antagonismo adoptada por la mayoría de investigadores en malezas; la otra, que ha abandonado completamente estos conceptos, propuesta por Plackett y Hewlett (1967), basa la clasificación de sus modelos sobre los conceptos de "sitios de dosificación" y "sitios de acción" de drogas y de "sistemas fisiológicos" que pueden ser afectados por estas drogas (Ashford y Cobby 1974, y Ashford 1981). En el presente trabajo se mencionarán únicamente modelos que pertenecen a la clasificación tradicional.

Los modelos basados en conceptos tradicionales pueden ser agrupados de diferentes formas, Hatzios y Penner (1985) mencionan que una clasificación general de éstos consiste en dividirlos en "aditivos" y "multiplicativos", sin embargo agrega que ocasionalmente en la literatura son denominados con otros nombres. Para evitar mayor confusión, Morse (1978) propuso nombres más descriptivos: así a los aditivos los denomina Modelos de Dosis Aditivas (MDA) y a los multiplicativos, Modelos Multiplicativos de Supervivencia (MMS). Nash (1981) manifiesta que el modelo de dos parámetros de Rummens (1975), el de la isobola (Tammes 1964) y el de cálculo (Drury 1980) son aditivos, mientras que el de Colby (1967) y los de regresión son multiplicativos.

Hatzios y Penner (1985) clasifican los modelos más accesibles en las siguientes categorías: 1) Procedimientos de comparaciones múltiples pareadas (por ejemplo prueba de rango múltiple de Duncan). 2) Comparaciones ortogonales planeadas de grupos de contrastes entre medias y grupos de medias. 3) Métodos algebraicos de cálculo de respuestas esperadas (por ejemplo el de Colby y el procedimiento ANDEVA). 4) Uso de técnicas de regresión para el ajuste de funciones de superficie de respuesta (por ejemplo el método de la isobola, análisis estimado de regresión, análisis logístico y método de cálculo)

Comparaciones múltiples: Hatzios y Penner (1985) manifiestan que las comparaciones de rango múltiple tales como la de Duncan se usan con el propósito de detectar posibles grupos dentro de una serie de tratamientos no estructurados; sin embargo, este procedimiento es a menudo usado inadecuadamente por los investigadores en malezas para detección de significancia en combinaciones de tratamientos de dos o más agroquímicos.

Los mismos autores consideran que el uso de pruebas de comparaciones múltiples es estadísticamente incorrecto en experimentos factoriales por naturaleza, cuando los tratamientos están graduados por niveles de un factor cuantitativo (por ejemplo proporciones de fertilizantes o de otros agroquímicos) y cuando se pueden formular por adelantado comparaciones ortogonales intencionadas entre ciertos tratamientos.

Comparaciones ortogonales: Hatzios y Penner (1985) mencionan que en estos estudios, valores de F de cada término de interacción (o combinación de tratamiento) se calculan para comparaciones 2 por 2 (nivel i factor A y nivel j factor B) con el control (cero niveles de ambos factores) y los niveles separados de cada factor involucrado (factor A presente,

factor B ausente; y factor A ausente, factor B presente). Agregan que si bien los contrastes ortogonales identifican correctamente interacciones significantes, no caracterizan el tipo de una interacción como sinergista o antagonista. Esta desventaja de las comparaciones ortogonales se minimiza si adicionalmente se emplea otro procedimiento (por ejemplo el método de Colby o el de ANDEVA).

Modelo de Colby (Colby, 1967). Con este modelo se pueden estimar las respuestas esperadas para la combinación de herbicidas, tomando como referencia las respuestas a los herbicidas aplicados solos. Las respuestas a los herbicidas aplicados en combinación se comparan con las respuestas esperadas y con base en los resultados de estas comparaciones se formulan las conclusiones. Colby parte de lo planteado por Gowing (1960):

$$E = X + \frac{Y (100 - X)}{100}$$

Donde:

X = Porcentaje de inhibición del crecimiento por el herbicida A a p dosificación.

Y = Porcentaje de inhibición del crecimiento por el herbicida B a q dosificación.

E = Porcentaje esperado de inhibición del crecimiento por la combinación de los dos herbicidas (A + B) a la dosificación p + q.

Por un arreglo algebraico de la ecuación anterior puede llegarse a:

$$E = X + Y - \frac{XY}{100}$$

Colby (1967) con el fin de reducir las operaciones aritméticas convierte los porcentajes de inhibición a porcentajes del tratamiento testigo, creando a $E_1 = 100 - E$,

$X_1 = 100 - X$ y $Y_1 = 100 - Y$, sustituyendo estos términos en la ecuación anterior, simplificando y resolviendo para E_1 , llega a la ecuación:

$$E_1 = \frac{X_1 Y_1}{100}$$

La fórmula anterior puede extenderse a tres o más herbicidas en combinación, tomando el producto de los valores para los herbicidas aplicados solos y dividiéndolo entre $(100)^{n-1}$, donde n es el número de herbicidas empleados en la combinación. Cada herbicida aplicado solo debe usarse en la misma dosis que en la combinación. A los valores esperados (calculados) de porcentajes del testigo, se le restan los valores observados; si la diferencia es positiva la combinación se considera sinergista, y si es negativa antagonista, obviamente si da cero existe un efecto aditivo. Colby señala que hay limitaciones prácticas al usar las fórmulas matemáticas anteriores para el cálculo de las respuestas predichas y aclara que los valores que se obtienen son aproximaciones que se vuelven más precisas, cuando se trabaja con valores de porcentajes del testigo cercanos al 50% de respuesta, ya que a este nivel las desviaciones de la curva de respuesta son menores.

Hatzios y Penner (1985) mencionan que en muchos casos, en una escala logarítmica, el modelo multiplicativo de Colby puede volverse aditivo y la aceptación o rechazo de la hipótesis nula de no interacción, seguida de un análisis de varianza de los datos transformados logarítmicamente, puede ser usada para la caracterización de diferencias entre respuestas observadas y predichas como sinergistas, antagonistas o aditivas para cada combinación de tratamientos de dos o más factores. Entre las desventajas del modelo de Colby se encuentran la dificultad de probar estadísticamente la significancia de las desviaciones de las respuestas

observadas de las predichas y la dependencia de los cálculos de las respuestas esperadas de los valores observados del testigo y de los tratamientos con cada uno de los factores solos.

Procedimiento ANDEVA. De acuerdo con Hatzios y Penner (1985) este procedimiento se basa en el principio matemático fundamental de la teoría del análisis de varianza en experimentos factoriales. Para un experimento factorial 2 por 2, los dos factores (A y B) y los dos niveles de cada factor (a1, a2, y b1, b2) involucrados pueden escribirse en la siguiente forma tabular:

factores		A	
niveles		a1	a2
B	b1	a1b1	a2b1
	b2	a1b2	a2b2

entonces, la interacción de A y B se define como sigue (Steel y Torrie, 1988):

$$AB = 1/2 [(a2b2 - a1b2) - (a2b1 - a1b1)] \quad (1).$$

Bajo el supuesto de aditividad o cuando la hipótesis nula de no interacción se acepta, los factores A y B son independientes uno del otro ($AB = 0$) y la diferencia en dos efectos simples del factor A, a los dos niveles del factor B debería ser cero. Entonces, la ecuación (1) según Hatzios y Penner (1985) se vuelve:

$$\begin{aligned} 1/2[(a2b2 - a1b2) - (a2b1 - a1b1)] &= 0 \quad \text{ó} \\ a2b2 - a1b2 &= a2b1 - a1b1 \quad \text{y finalmente} \\ a2b2 &= a1b2 + a2b1 - a1b1 \end{aligned} \quad (2)$$

con la que se puede calcular una respuesta esperada teórica para cada combinación de tratamiento de dos niveles separados

de factores A y B, mediante el uso del procedimiento ANDEVA. Las respuestas esperadas calculadas son entonces comparadas con las observadas y los tipos de interacciones que pueden ocurrir entre los factores A y B son caracterizados como sinergistas cuando las respuestas observadas son mayores que las esperadas o como antagonistas cuando las respuestas son menores que las esperadas. Si las respuestas observadas y esperadas son iguales, los dos factores actúan independientemente y los efectos son descritos como aditivos. La significancia estadística de las diferencias entre respuestas observadas y esperadas pueden determinarse mediante un análisis de varianza de la serie de datos experimentales obtenidos. Si se obtiene una interacción significativa, entonces las desviaciones de las respuestas observadas, del modelo (respuestas aditivas esperadas), son sinergistas o antagonistas. La ausencia de interacciones significativas indica que la combinación de tratamientos es aditiva. Si se desea un análisis más detallado de los datos, el error estándar de cada media puede calcularse de los datos repetidos o de contrastes ortogonales con un grado de libertad, calculados para series de 2 por 2.

Tratamiento estadístico al método de Colby. Debido a que la mayor limitación del modelo de Colby es su carencia de un análisis estadístico para las desviaciones de la respuesta predicha, Flint et al. (1988) desarrollaron un análisis simple, basado en un modelo estadístico de referencia apropiado, y con el cual se puede predecir sinergismo, antagonismo y aditividad en las respuestas de plantas a aplicaciones conjuntas de herbicidas. Tomando la fórmula de Colby como una expresión del crecimiento esperado (E_1) después de aplicar la combinación de un herbicida A a la dosis 1 (A_1) con un herbicida B a la dosis 1 (B_1) se tiene:

$$E_1 = A_1B_1/100 \quad (1)$$

donde A_1 y B_1 se definen como crecimiento en lugar de

inhibición de crecimiento. Aceptando las sugerencias de Colby acerca de la transformación logarítmica de los resultados, entonces se puede aplicar un ANDEVA como lo sugiere Hatzios y Penner (1985).

Para la aplicación del ANDEVA se retoma lo de "aditivo" definido por Colby para la acción conjunta de dos herbicidas, entonces se dice que la planta crece por un tratamiento dado (T_{ij}) con un herbicida A a un nivel i más un herbicida B a un nivel j y puede ser predicho por:

$$P_{ij} = A_{i0}B_{0j}/AB_{00} \quad (2)$$

para i, j diferente de cero, donde A_{i0} y B_{0j} representan el crecimiento de la planta cuando el herbicida A ó B es aplicado sólo, a dosis i y j respectivamente, y AB_{00} es el testigo sin tratamiento con herbicida. La aditividad ocurre si $P_{ij} = T_{ij}$. Aunque esta aditividad no corresponde a la definición del término aditividad desde el punto estrictamente estadístico, implica proporcionalidad de respuesta.

Si la ecuación (2) se asume como un modelo apropiado, implica que $T_{ij}/P_{ij} = 1$. Substituyendo en (2) para P_{ij} y aplicando logaritmos, la ecuación se vuelve:

$$\log_{10}(T_{ij}) - \log_{10}(A_{i0}) - \log_{10}(B_{0j}) + \log_{10}(AB_{00}) = 0 \quad (3)$$

El lado izquierdo de la ecuación anterior es la interacción de los valores de respuesta para 4 tratamientos (T_{ij} , A_{i0} , B_{0j} y AB_{00}) en una tabla de doble entrada 2×2 . Como los datos ya han sido transformados, la ecuación (3) puede explicarse mediante el modelo $I_{ij} = \mu_{ij} - \mu_{i0} - \mu_{0j} + \mu_{00}$, donde I_{ij} es el resultado de la interacción, μ_{ij} es la media poblacional de los valores transformados de la ij combinación de herbicida y donde el subcero denota cero nivel de herbicida. Hay sinergismo si $I_{ij} < 0$, y antagonismo si $I_{ij} > 0$. Las significancias de las interacciones 2×2 pueden ser

examinadas por métodos convencionales para probar contrastes o mediante programas estadísticos de computación.

2.6 PARAQUAT Y 2,4-D

2.6.1 Paraquat

a) Nomenclatura, propiedades físicas y químicas, toxicología. El nombre químico de este herbicida (del catión) es Ion 1:1 Dimetil-4,4'-Bipiridinio, su nombre común es paraquat, que representa al catión únicamente. Su peso molecular es de 186.2 para el catión y de 257.2 para la sal diclorada. Es un sólido blanco, cristalino (sal pura), higroscópico y su olor es tenue amoniacal. La sal se descompone ya sea fundiéndose o hirviendo aproximadamente a 300 C y su presión de vapor es muy baja por ser no volátil (presión de vapor de la sal menor de 1×10^{-7} mm Hg). Es completamente soluble en agua, la solubilidad de la sal en medios no acuosos tales como alcoholes de cadena corta es baja y es insoluble en solventes orgánicos. Es moderadamente susceptible a la degradación ultravioleta; es estable en medio neutro y ácido, pero es oxidado bajo condiciones alcalinas; es inactivado por arcillas inertes y por surfactantes aniónicos. Es incompatible con algunos agentes humectantes alquil sulfonatos o alquil aril sulfonato o sales metálicas álcali de herbicidas hormonales. Propenso a hidrólisis en presencia de materiales alcalinos, incluyendo aguas alcalinas. La sal de paraquat no formulada es corrosiva a metales comunes, ya diluida no presenta peligro potencial para los equipos de aplicación. La formulación comercial no es inflamable por ser una solución acuosa. Es rápidamente inactivado en contacto con el suelo, pero cuando se fija a él, es muy persistente, aunque biológicamente inaprovechable. Su vida media (período transcurrido para que la mitad de un plaguicida en el suelo sea degradado microbiológicamente) es de 10 años

aproximadamente. Las formulaciones son en solución acuosa. La DL₅₀ oral aguda para ratas es de 150 mg/kg y para ratones de 104 mg/kg de ion paraquat; la DL₅₀ dérmica aguda en conejos 236 mg/kg; esto indica que paraquat es absorbido a través de la piel, aunque únicamente después de una exposición prolongada; exposiciones más cortas pueden causar daño temporal en uñas, irritación en la piel y ojos y un retardo en la cicatrización de heridas y llagas. La toxicidad para peces depende de la formulación y del agente humectante usado, LC₅₀ (96 h) para trucha arcoiris 32 mg/l. Temporalmente la ADI (máxima ingestión diaria aceptable) para humanos hasta 1987 era de 0.001 mg/kg. (Farm Chemicals Handbook 1990; British Crop Protection Council, 1987; Thomson 1989; WSSA, 1979; García y Fernández, 1991)

b) Modo y mecanismo de acción. El paraquat es un herbicida que se absorbe rápidamente por las hojas, pues un lapso de 30 minutos sin lluvia después de ser aplicado basta para asegurar su penetración (García y Fernández, 1991). Requiere de luz, oxígeno molecular y clorofila para ejercer su acción fitotóxica dentro de la planta (Bowyer y Camilleri, 1987; Ashton y Crafts, 1981). Síntomas característicos de su aplicación son la presencia de manchas verde oscuro en las hojas poco tiempo después de haber entrado en contacto con los tejidos; luego las manchas se transforman en zonas parcialmente desecadas volviéndose necróticas, sucediendo por último la muerte de las hojas (García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981).

A nivel celular ocurre pérdida de la integridad de las membranas de las células y de cloroplastos, dándose un escape de componentes plasmáticos que conducen a una desorganización de los tejidos y a muerte de la hoja (García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981; Valverde s.f.; Soto y Valverde, 1991). Su transporte, después de una aplicación foliar,

parece ser casi exclusivamente vía sistema apoplasto. Se da un transporte muy pobre hacia los brotes aéreos de la planta cuando se aplica a la raíz, aparentemente porque se adsorbe a los constituyentes celulares del parénquima cortical. El transporte vía simplasto es mucho más limitado, debido a la restricción que impone su efecto dañino fulminante (Valverde s.f.; Soto y Valverde, 1991; García y Fernández, 1991, Ashton y Crafts, 1981; Fedke, 1982). Debido a esta acción rápida se considera que este herbicida no es metabólicamente degradado en las plantas (Hatzios y Penner, 1982). A bajas intensidades de luz o en la sombra la actividad herbicida se alarga y los síntomas de intoxicación se propagan con más suavidad (Fedke 1982).

El mecanismo de acción del paraquat se ejerce en la fase luminosa de la fotosíntesis, que ocurre en los cloroplastos, y que es conocida como reacción de Hill. Se cree que el paraquat actúa por competencia, sustituyendo a un transportador de electrones ubicado al inicio de la cadena de transporte del fotosistema I (por ejemplo ferredoxina u otro transportador cercano) (Bowyer y Camilleri, 1987; García y Fernández, 1991). El mecanismo de acción primario de este herbicida, involucra la formación de un radical libre por la reducción del ion paraquat, al aceptar el electrón en la cadena; luego se auto oxida produciendo de nuevo el ion original, con el consecuente desvío de la ruta del electrón (Moreland 1980; Ashton y Crafts, 1981; García y Fernández, 1991). Los radicales libres del paraquat no son los causantes directos del daño a los tejidos, sino los radicales producidos durante la auto oxidación del paraquat tales como el H_2O_2 (peróxido de hidrógeno), O_2^- (radical super óxido), radical hidroxilo (OH^-) y oxígeno en estado de excitación simple (1O_2), los cuales tienen una elevada capacidad de oxidación y causan grave daño a los tejidos.

c) Usos. En las etiquetas (Costa Rica) se indica para los

siguientes cultivos: café, banano, cítricos, chile, caña de azúcar, algodón, papa, lechuga, apio, cebolla, arroz, sorgo, piña, maní, fresa, maíz, frijoles, repollo, soya, berenjena, uva, zanahoria. Las dosis recomendada para café varían de 0.3 a 0.6 kg de i. a./ha como ion (1.5 a 3 l/ha de la formulación 200 g/l de ion)

d) Investigaciones de acción conjunta. Colby et al. (1965) encontraron que las combinaciones de solan (3'-cloro-2-metil-valerotoluidide) con paraquat aplicadas sobre *Digitaria sanguinalis* eran sinergistas, mientras que para el cultivo (tomate), eran únicamente aditivas o, más a menudo, antagonistas. O'Donovan y O'Sullivan (1982) descubrieron que formulaciones amina de 2,4-D reducían la fitotoxicidad de paraquat sobre cebada (*Hordeum vulgare*), trigo (*Triticum aestivum*) y avena salvaje (*Avena fatua*). La fitotoxicidad de paraquat fue más antagonizada cuando el 2, 4-D se aplicó a altas dosis; formulaciones ester de 2,4-D no afectaron la fitotoxicidad de paraquat. Green (1989) informa que mezclas de diurón formulado en partículas de reducido tamaño y coadyuvante, mezclado con paraquat, presentan sinergismo, pues el diurón formulado de esta manera inhibe rápidamente la fotosíntesis, lo que permite mayor transporte del paraquat a porciones no asperjadas de la planta. Putman et al. (1967) citados por Green (1989) informaron que la interacción de amitrol (1H-1,2,4-triazol-3-amina) y paraquat, cambiaba de antagonista a sinergista, cuando eran aplicados secuencialmente. Wehtje et al. (1991) en estudios conducidos tanto en campo como en invernadero y con aplicaciones combinadas de paraquat y naptalan (2-[(1-naftalenilamino) carbonil] ácido benzóico), sobre *Arachis hypogaea*, *Cassia obtusifolia*, *Jacquemontia tamnifolia* y *Desmodium tortuosum*, demostraron que naptalam reducía la actividad de paraquat en más de un 30%; estudios con paraquat marcado indicaron que el antagonismo se debió a la reducción en la absorción de paraquat.

2.6.2 2,4-D

a) Nomenclatura, propiedades físicas y químicas, toxicología. El nombre químico del ingrediente activo es ácido 2,4-diclorofenoxiacético y para la sal dimetil amina 2,4-diclorofenoxiacetato de dimetil amina. El nombre genérico o común es 2,4-D y para la sal dimetil amina: 2,4-D amina. El peso molecular del ácido es de 221.0 y el de la sal dimetilamina de 266.1. La sal pura es sólida, de color blanco cristalino y sin olor o con suave olor fenólico; la sal dimetil amina es sólida y blanca cristalina. El punto de fusión del material técnico es de 135 a 138 C y de 140 a 141 C para el ingrediente puro. Para la sal dimetil amina el punto de fusión es de 85 a 87 C. El punto de ebullición es de 160 C a 0.4 mm Hg (53 Pa). La sal dimetil amina se descompone en el punto de fusión. La presión de vapor es menor de 1×10^{-7} mm Hg a temperatura ambiente; 0.4 mm Hg (53 Pa) a 160 C. El éster de isopropilo 10.5×10^{-3} mm Hg a 25 C (éster altamente volátil). En general la volatilidad es baja en las formulaciones sal y alta en las formulaciones éster. La solubilidad a 25 C es de 620 mg/l (ligeramente soluble) y para la sal dimetilamina a 20 C 300 g/100 ml (extremadamente soluble). Las formulaciones éster son líquidas incoloras y prácticamente insolubles en agua. El 2,4-D no es higroscópico, el ácido forma sales solubles en agua con metales álcali o aminas, algunas formulaciones amina contienen inhibidores para prevenir precipitación en aguas duras, su fotodescomposición es despreciable. Las formulaciones éster se pueden usar en aguas relativamente duras, las aminas se pueden usar si poseen inhibidores. El ácido es corrosivo, por ser un ácido fuerte (pKa 2.64); sin embargo, la mayoría de formulaciones no son corrosivas para los equipos de aspersión. No es inflamable por ser una solución acuosa. Las sales de 2,4-D pueden infiltrarse en

suelos arenosos, sufre descomposición microbiana en suelos cálidos; la persistencia en suelos cálidos y húmedos a dosis recomendadas, es de una a cuatro semanas. Existen diversos tipos de formulaciones, tales como sales de amonio y sodio (usualmente solubles en agua), sales amina, ésteres altamente volátiles, ésteres de baja volatilidad, otras formulaciones como gránulos y concentrados emulsificables. La DL₅₀ oral aguda para ratas 375 mg/kg de 2,4-D. Puede causar irritación de ojos y piel y para peces y aves moderadamente tóxico. (Farm Chemicals Handbook 1990; British Crop Protection Council, 1987; Thomson 1989; WSSA, 1979; García y Fernández, 1991; OPS, 1988)

b) Modo y mecanismos de acción. El 2,4-D es un compuesto que afecta el crecimiento de las plantas de forma análoga a los compuestos auxínicos, como el ácido indolacético, AIA (García y Fernández, 1991). A dosis relativamente bajas, provoca respuestas de crecimiento en regiones distantes al punto de aplicación (Ashton y Craft, 1981).

Las raíces de las plantas absorben mejor las formas polares (sales) y las hojas las no polares, éstas últimas tienden a resistir más el lavado por la lluvia y son convertidas rápidamente a ácido por las plantas (WSSA 1979). Un período libre de lluvias de 4 a 6 horas es necesario para obtener una absorción adecuada por las plantas (WSSA 1979; García y Fernández, 1991). Otras condiciones climáticas pueden afectar su absorción foliar, especialmente temperatura, luz, humedad relativa y humedad del suelo (Ashton y Crafts, 1981). García y Fernández (1991) apuntan que en tiempo húmedo y cálido su acción se intensifica, mientras que el frío y la sequía la retrasan o aminoran.

Ashton y Crafts, (1981) mencionan que cuando el 2,4-D se aplica en cualquier formulación a la superficie de la hoja,

las moléculas se difunden hacia dentro de la cutícula, se mueven dentro del apoplasto acuoso y finalmente penetran por el plasmalema (membrana plasmática) a las células vivas. La entrada del herbicida dentro de la hoja es un proceso complejo que involucra al herbicida, al portador (vehículo, "carrier"), al surfactante y a la superficie de la hoja.

Fedke (1982) y WSSA (1979) plantean que después de ser absorbido por las plantas, el 2,4-D se transporta dentro del floema (vía simplasto), probablemente con los materiales nutritivos; García y Fernández, (1991) agregan que también puede transportarse por el xilema (vía apoplasto).

A diferencia de las hormonas que se encuentran bajo control metabólico, el nivel del herbicida no es controlado por la planta, lo que conduce a crecimientos desordenados en las hojas, tallos y raíces, obstrucción de los vasos del floema y xilema y por último a la muerte de la planta (García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981).

Dentro de las anomalías visibles que presentan las plantas tratadas con 2,4-D se encuentran: doblamientos epinásticos (crecimiento más rápido de tejidos superiores de órganos tales como hojas, tallos y pecíolos, que resulta en enrizamientos hacia abajo); hinchamientos; tumores; brotamiento de raíces secundarias y muerte (Fedke 1982; Ashton y Crafts, 1981).

Hanson y Slife (1961) citados por Ashton y Crafts (1981) describen que cuando plántulas susceptibles se asperjan con 2,4-D, el patrón normal de crecimiento cambia rápidamente; las células meristemáticas cesan de dividirse; el crecimiento de las células a lo largo se detiene pero continúa una expansión radial. En plantas maduras, partes de las células del parénquima se hinchan y pronto comienzan a dividirse, produciendo tejidos callosos y expandiendo primordios

radiculares. El alargamiento de las raíces se detiene y las puntas de las raíces se hinchan. Las hojas jóvenes detienen su expansión y desarrollan tejido vascular en exceso, mesófilo muy compacto bajo en clorofila, y a menudo aplastamientos. Las raíces pierden su habilidad de perder agua y sales, la fotosíntesis es inhibida y el floema se obstruye. Todos estos desórdenes contribuyen a la muerte de la planta. A nivel celular, el 2,4-D impide la maduración (diferenciación) del citoplasma, el citoplasma maduro se vuelve a un estado inmaduro y el número de ribosomas incrementa. Atendiendo estos cambios, el ARN incrementa la expansión de tejidos pero decrece en células necróticas.

El 2,4-D muestra selectividad, pues en general las especies de hoja angosta como las poáceas no se ven tan afectadas, de ahí que este herbicida puede usarse para el control de una variedad de malezas de hoja ancha en cereales y en pastos (Ashton y Crafts, 1981).

Fedke (1982) sugiere que la resistencia contra el 2,4-D puede provenir de tres mecanismos diferentes que incluyen: (a) diferencias en las tasas de inactivación metabólica, (b) diferencias en las tasas de absorción y/o transporte y (c) diferencias en la fisiología entre plantas sensibles y plantas resistentes.

El metabolismo del herbicida dentro de la planta ha sido también bastante estudiado, se cree puede involucrar: degradación de la cadena lateral, hidroxilación o conjugación con substratos endógenos y elongación de la cadena lateral (Kirkwood 1987; Ashton y Crafts, 1981); frecuentemente la conjugación ocurre después de la alteración de la molécula original (Ashton y Crafts, 1981). La hidroxilación del anillo ha sido también demostrada, formándose ácidos fenoxiacéticos hidroxilados, (Ashton y Crafts, 1981). Se ha detectado la conjugación tanto con aminoácidos como con

glicósidos en el grupo -COOH del 2,4-D, pero existen dudas sobre la conjugación en este mismo sentido con proteínas, (Ashton y Crafts, 1981)

A pesar de que el 2,4-D ha sido uno de los herbicidas más investigados, no ha sido claramente establecido su mecanismo de acción primario (WSSA 1979). Sin embargo, los sitios de acción primarios de este herbicida, parecen involucrar a ácidos nucleicos, metabolismo de proteínas y aspectos metabólicos de la plasticidad de la pared celular; su efecto en metabolismo intermedio y la respiración son considerados generalmente como sitios secundarios (Kirkwood 1987; Ashton y Crafts, 1981).

c) Usos. En las etiquetas de varias preparaciones comerciales (Costa Rica) se encontraron indicados los usos para los siguientes cultivos: caña de azúcar, arroz, maíz, sorgo, pastos. No se encontraron recomendaciones para café.

d) Investigaciones de acción conjunta. Gowing (1959) encontró evidencias de antagonismo de 2,4-D y dalapón (ácido 2,2-dicloropropiónico), particularmente a niveles altos de respuesta. Prendeville et al. (1969) notaron respuestas de antagonismo en sorgo cuando se usó 2,4-D en combinación preemergente con EPTC (S-etil dipropiltiocarbamato), con clorpropam (isopropil m-clorocarbanilato) y con CDEC (2-cloroalil dietilditocarbamato), por lo cual concluyeron que el antagonismo se daba a nivel de los dos grupos de herbicidas (fenoxiderivados y carbamatos); los mismos autores también encontraron antagonismo entre 2,4-D y naptalan cuando se aplicaban sobre sorgo. Flint et al. (1988) y Flint y Barret (1989) informaron la existencia de sinergismo entre 2,4-D y la sal isopropil amina de glifosato a ciertas dosis, y aditividad a otras, cuando la mezcla se aplicó sobre *Convolvulus arvensis*; la respuesta aditiva o sinergista en este caso pareció deberse a una mayor acumulación de los

herbicidas en las raíces, según lo reflejaron estudios realizados con carbono marcado. Streibig (1987) encontró que mezclas de dicamba con 2,4-D fueron más potentes que las esperadas, estimadas mediante un modelo de dosis aditiva. Jensen y Caseley (1990) en investigaciones orientadas a estudiar el efecto de la dosis, de las aplicaciones selectivas por gotas en hojas y de las aplicaciones foliares secuenciales en interacciones antagonistas entre tralkoxydim (herbicida perteneciente a las ciclohexanonas) y 2,4-D; encontraron que el antagonismo incrementaba cuando se incrementaban las dosis de 2,4-D, pero decrecía por aumento en las dosis de tralkoxydim cuando se aplicaban sobre *Avena fatua*. Así mismo encontraron que el antagonismo se daba tanto si el 2,4-D se aplicaba mezclado, ya sea en la misma gota, o en gotas separadas, ubicadas adyacentemente en la misma hoja. Si tralkoxydim se aplicaba primero y 2,4-D 24 h después, no se presentaba antagonismo, concluyeron entonces que 2,4-D amina influía en el transporte de tralkoxydim. En experimentos conducidos para determinar la influencia de sales al mezclarlas con 2,4-D sobre la toxicidad de kochia (*Kochia scoparia*), Nalewaja et al. (1991) encontraron que exceptuando sulfatos y fosfatos de calcio y sodio, otras sales de calcio, magnesio, sodio, potasio y hierro fueron antagónicas con 2,4-D amina; ninguna sal de amonio antagonizó con el 2,4-D en el control de kochia. Los mismos investigadores estudiaron los efectos de las sales en combinación, tanto en medios ácidos como alcalinos.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 ETAPAS DEL ESTUDIO

La presente investigación se desarrolló en tres etapas: 1) Estimación de los ámbitos de respuesta biológica de las malezas bajo estudio, a cada uno de los dos herbicidas (paraquat y 2,4-D), mediante bioanálisis preliminares; 2) Estimación del tipo de acción conjunta entre ambos herbicidas en condiciones semicontroladas y 3) Validación de campo de los resultados obtenidos en las etapas anteriores.

3.2 LOCALIZACION

El trabajo de experimentación se realizó entre diciembre de 1992 y septiembre de 1993. Las primeras dos etapas, en condiciones semicontroladas, se llevaron a cabo en una casa de mallas del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE, situada aproximadamente a 602 msnm, a 90° 53' 14'' latitud norte y a 83° 39' 0'' longitud oeste. La fase de campo se condujo en la finca cafetalera "La Isabel" al noreste de la ciudad de Turrialba, a una altura aproximada de 620 msnm, a 90° 55' 30'' latitud norte y a 83° 40' 30'' longitud oeste.

3.3 MATERIAL VEGETAL

a) Malezas. Las malezas se seleccionaron considerando que fueran reconocidas como malezas de café, por su abundancia en los terrenos de CATIE, de reproducción por semilla, de fácil recolección y que pertenecieran a distintas familias. Se escogieron las siguientes malezas:

- 1) *Bidens pilosa* L. Asteraceae
- 2) *Borreria latifolia* (Aubl.) Schum (1888); *Spermacoce latifolia* Aubl. (1775). Rubiaceae.1
- 3) *Drymaria cordata* (L.) Willd. ex Roem & Schult. Caryophyllaceae
- 4) *Emilia fosbergii* Nicolson. Asteraceae
- 5) *Portulaca oleracea* L. Portulacaceae
- 6) *Richardia scabra* L. Rubiaceae

b) **Recolección del material reproductivo (semillas).** Se recolectaron capítulos con semilla madura de *B. pilosa* y *E. fosbergii*, se separaron las estructuras florales accesorias y la semilla se secó al sol. Para el resto de malezas se recolectaron plantas enteras (parte aérea) y se secaron al sol, luego las semillas se extrajeron mediante aporreo de las plantas ya secas. La semilla se limpió y se guardó en refrigeración.

c) **Tratamiento de semillas.** De varios tratamientos experimentados, el tratamiento con calor seco entre 45 y 50 C mediante exposición indirecta a luz fluorescente por 12 h, fue el que ofreció los mejores resultados para estimular la germinación en *D. cordata*, *P. oleracea*, *E. fosbergii* y *B. latifolia*, y por 4 h en *R. scabra*. Para *B. pilosa* no se lograron incrementos en la germinación por ningún tratamiento por lo que la semilla se sembró sin tratar. Las semillas que presentaron mayores problemas de latencia antes del tratamiento fueron las de *B. latifolia* y *R. scabra*.

3.4 HERBICIDAS

Se emplearon formulaciones comerciales de paraquat y 2,4-D. La formulación de paraquat contenía 276 gramos de dicloruro de paraquat por litro, equivalente a 200 gramos de ion por litro. La formulación de 2,4-D contenía 720 gramos por litro

de la sal dimetil amina, correspondiente a 600 gramos por litro de equivalente ácido (e.a.).

3.5 PRIMERA ETAPA: BIOANALISIS PRELIMINARES

Las semillas de las malezas se sembraron en macetas de 16.5 cm de diámetro superior y de 12.5 cm de altura, con capacidad para 1.7 kg de suelo previamente tamizado y tratado a 200 C por 7 horas. Las características del suelo se presentan en el Anexo 1. Previo a la siembra las macetas se fertilizaron individualmente con 40 ml de una solución 0.5% v/v de fertilizante líquido (10:4:7:0.2:0.8 más microelementos). En cada maceta se colocaron de 300 a 600 semillas de la especie respectiva y se cubrieron con 2 mm de suelo finamente tamizado. Las plántulas se ralearon de manera gradual hasta dejar el número indicado al momento de la aplicación (Cuadros 4 y 5).

a) Diseño experimental. Todos los bioanálisis preliminares, se hicieron en diseños completamente aleatorizados (DCA), con 4 repeticiones. Los tratamientos, para ambos herbicidas, consistieron en 8 dosificaciones diferentes de cero más un testigo absoluto. Cada maceta se consideró como una unidad experimental; la mayoría de experimentos se montaron con 4 repeticiones.

La mortalidad, el grado de fitotoxicidad considerado como daño a la planta, el peso fresco y el peso seco fueron las variables principales que se midieron.

b) Aplicación de herbicidas (tratamientos). El estado de crecimiento de las malezas al cual se aplicaron los tratamientos se presenta en los Cuadros 4 y 5. En los Cuadros 6 y 7 se presentan las dosificaciones por especie y por herbicida.

Cuadro 4. Estado de desarrollo y momento de aplicación de paraquat sobre las malezas bajo estudio.

Maleza	Plt./ mac.	DDS	Altura (cm)	Estado de desarrollo
<i>B. pilosa</i>	5	35	15	3er. y 4to. par hojas
<i>B. latifolia</i>	8	36	15	3er. par de hojas
<i>D. cordata</i> [†]	10	43	16	4to. y 5to. par hojas
<i>E. fosbergii</i>	6	30	15.5	4ta. hoja
<i>P. oleracea</i>	10	35	10.5	5to. par de hojas
<i>R. scabra</i>	8	49	10	5to. par de hojas

Plt./mac. = plantas por maceta

DDS = días después de siembra

[†] Con adyuvante WK 0.2% v/v

Cuadro 5. Estado de desarrollo y momento de aplicación de 2,4-D sobre las malezas bajo estudio.

Maleza	Plt./ mac. ²	DDS	Altura (cm)	Estado de desarrollo
<i>B. pilosa</i>	5	34	16.5	3ero. y 4to. par hojas
<i>B. pilosa</i>	5	27	15.5	3er. par de hojas
<i>B. latifolia</i>	8	34	11	3er. par de hojas
<i>D. cordata</i> [†]	10	33	14	4to. y 5to. par hojas
<i>E. fosbergii</i> ¹	6	28	13	3ra. hoja
<i>P. oleracea</i>	10	34	11.5	5to. par de hojas
<i>R. scabra</i>	8	36	9	3er. par de hojas

¹ Aspersión con adyuvante WK 0.2% v/v.² Plt./mac. = Plantas por maceta.

Cuadro 6. Dosificaciones de paraquat empleadas sobre seis malezas de prueba en bioanálisis preliminares. (Ingrediente activo expresado como ion paraquat).

Maleza No.	Dosificaciones de Prueba (g i.a./ha)								
3 y 6	0	13.8	28	55	111	221	442.1	884	1768
1 y 5	0	6.9	16	37	83	192	442.1	1017	2343
4	0	2	5	13	31	78	195.3	488	1221
2	0	60	120	240	480	960	1920	3840	7680

Malezas: 1 *B. pilosa*, 2 *B. latifolia*, 3 *D. cordata*, 4 *E. fosbergii*, 5 *P. oleracea*, 6 *R. scabra*.

Cuadro 7. Dosificaciones de 2,4-D empleadas sobre seis malezas de prueba en bioanálisis preliminares. (Ingrediente activo expresado como equivalente ácido).

Maleza	Dosificaciones de Prueba (g e.a./ha)								
	0	39.5	79	158	316	632	1263.2	2526	5053
1 a 4	0	39.5	79	158	316	632	1263.2	2526	5053
6	0	158	316	632	1263	2526	5053	10110	20210
1*	0	3.00	7.50	18.75	46.88	117.2	292.97	732.4	1381

* Experimento 2

Malezas: 1 *B. pilosa*, 2 *B. latifolia*, 3 *D. cordata*, 4 *E. fosbergii*, 5 *P. oleracea*, 6 *R. scabra*.

Los herbicidas se aplicaron en una cámara de aspersión controlada¹, equipada con una boquilla 8001VS, a razón de 300 l/ha

c) Recolección de datos y análisis estadístico.

Evaluación de las respuestas y obtención de datos. La evaluación final de la respuesta de las plantas se hizo a los ocho días después de la aplicación para el paraquat y a los 14 para el 2,4-D. Se hicieron evaluaciones visuales intermedias a los 4 y 7 días para el paraquat y 2,4-D, respectivamente.

El criterio que se tomó en la evaluación de mortalidad fue la ausencia de tejido verde en la planta. En la evaluación de daño de paraquat se tomó en cuenta el tejido necrosado y para el 2,4-D la deformación de hojas, tallos y yemas, la reducción de altura, vigor y las manifestaciones anormales de la planta debidas a la acción del herbicida. La cosecha de las plantas se hizo a ras de suelo (cuello del tallo) y se incluyó tanto tejido seco como verde. Se determinó el peso fresco y se secaron en un horno a 60 °C con circulación forzada de aire para determinar peso seco.

1 R & D Sprayers, Inc., Opelousas, Louisiana, U.S.A.

Análisis estadístico. Para estimar la dosificación de cada herbicida que provocaba el 50% de disminución de rendimiento y la ventana de respuesta biológica se emplearon procedimientos como los descritos por Goulden (1952) y Busvine (1971); sin embargo, dado a que con el programa estadístico SAS se obtuvieron resultados similares, se usó esta última instancia para la estimación de todas las respuestas, el programa usado y secciones de la salida se presentan en el Anexo 2.

Para el análisis definitivo de los datos, la mayor parte de respuestas a paraquat superiores a un 70% de disminución de rendimiento se descartaron. Para el 2,4-D se descartaron las respuestas que a dosis máximas tendían a permanecer constantes.

Con el fin de lograr un mejor ajuste del modelo a los datos de respuesta de las plantas, los porcentajes de disminución de rendimiento se transformaron a equivalentes de mortalidad, multiplicando la proporción del porcentaje por el número de plantas del mismo tratamiento, el programa en SAS del Anexo 2 incluye esta transformación.

En los Anexos 3 y 4 se presentan en forma resaltada los datos introducidos al programa de computación para cada bioanálisis, además se incluyen los coeficientes de variación y los promedios de daño en porcentaje estimados visualmente por tratamiento. En el Anexo 5 se incluyen las figuras que muestran el ajuste del modelo probit para cada bioanálisis, dichas figuras contienen la graficación de los porcentajes de disminución de rendimiento observados, los predichos por el modelo y las bandas de confianza al 95% para cada curva de respuesta.

3.6 SEGUNDA ETAPA: BIOANALISIS DE ACCION CONJUNTA

a) Selección de especies. De las seis malezas bajo estudio, se seleccionó a *B. pilosa* y *R. scabra* para emplearlas en la estimación de la acción conjunta. Entre los criterios que se tomaron para la selección se pueden mencionar: adecuada germinación y establecimiento, facilidad de manejo, uniformidad en el crecimiento y que se hubiera obtenido una respuesta clara para cada herbicida.

b) Manejo de las malezas. El manejo en el primer bioanálisis de *B. pilosa* y en el de *R. scabra* fue similar al descrito para los bioanálisis preliminares. Sin embargo, *B. pilosa* se trasplantó cuando las plantas tenían una altura promedio de 5.5 cm, con un par de hojas verdaderas, y se sembraron 7 plantas por maceta para poder eliminar dos posteriormente. Debido a un fuerte ataque de *Rhizoctonia solani*, se aplicó carbendazim a todas las macetas en *R. scabra*.

Dentro de la casa de mallas las temperaturas variaron por lo general de 19 a 25 C por la noche y de 25 a 30 C en el día, las humedades relativas al mediodía oscilaron entre 35 a 50% cuando no había lluvia y por las noches de 85 a 99%. Se tomaron lecturas de radiación fotosintética para estimar la interferencia del techo de la casa de mallas. En condiciones de cielo despejado o parcialmente nublado con sol brillante, la interferencia estimada fue del 75 al 79%. En condiciones de cielo nublado o con tiempo lluvioso, la interferencia del techo se estimó que variaba del 65 a 74%.

c) Diseño experimental. Con *B. pilosa* se hicieron dos bioanálisis y uno con *R. scabra*. Los tres bioanálisis se establecieron en diseños de bloques completos al azar (DBA) con arreglo factorial 6x6. Se tomaron como factores los dos herbicidas y como niveles, seis dosificaciones.

En todos los bioanálisis el testigo absoluto o control se repitió tres veces por bloque. Cada maceta se consideró como una unidad experimental.

El número de repeticiones (bloques) para el primer experimento de *B. pilosa* y el de *R. scabra* fue de seis y para el segundo experimento de *B. pilosa*, de cinco. El criterio de bloqueo para *B. pilosa* fue la altura y el estado de desarrollo de las plantas. Para *R. scabra* se tomó en cuenta el número de primordios foliares en las plantas y la cantidad de follaje. Las variables principales fueron las mismas que se midieron en los bioanálisis preliminares.

d) Aplicación de herbicidas (tratamientos). Los tratamientos se aplicaron en los estados de crecimiento que se indican en el Cuadro 8.

Las dosificaciones de prueba se definieron a partir de los resultados obtenidos en los bioanálisis preliminares de cada maleza y herbicida, y su ámbito estuvo comprendido entre la DR₂₀ y la DR₈₀ para los dos bioanálisis de *B. pilosa*, con una dosis coincidiendo con la DR₅₀ y dos dosis tanto arriba como abajo de ésta. Para *R. scabra* el ámbito se definió entre la DR₁₅ y la DR₇₅, ubicando tres niveles abajo de la DR₅₀ y dos arriba. En los Cuadros 9 y 10 se presentan las dosificaciones empleadas según nivel de herbicida y especie de maleza.

Cuadro 8. Estado de desarrollo de *B. pilosa* y *R. scabra* al momento de la aplicación de paraquat y 2,4-D solos y en combinación.

Especie de maleza	DDS	Altura planta (cm)	Estado de desarrollo de las plantas	Plantas por maceta
<i>B. pilosa</i> ¹	35	14 a 18	3er. par de hojas extendido y 4to. en extensión	5
<i>B. pilosa</i> ²	50	14-18	floración	5
<i>R. scabra</i>	44	10-15	inicio de floración	8

DDS = días después de siembra

¹ Bioanálisis número 1

² Bioanálisis número 2

Cuadro 9. Dosificaciones de paraquat (A) aplicadas por separado y combinadas con dosificaciones de 2,4-D en bioanálisis de acción conjunta. Ingrediente activo (i.a.) expresado como ion paraquat.

Especies	Dosificaciones* de prueba según niveles					
	a0	a1	a2	a3	a4	a5
<i>B. pilosa</i>	0	7.5	15	30	60	120
<i>R. scabra</i>	0	40	80	160	320	640

* g i. a./ha

Cuadro 10. Dosificaciones de 2,4-D (B) aplicadas por separado y combinadas con dosificaciones de paraquat en bioanálisis de acción conjunta. Ingrediente activo expresado como equivalente ácido (e.a.).

Niveles	Dosificaciones de prueba (g e. a./ha)					
	b0	b1	b2	b3	b4	b5
<i>B. pilosa</i>	0	2.5	10	40	160	640
<i>R. scabra</i>	0	20	100	500	2500	12500

La aplicación de los tratamientos se hizo con el mismo equipo y calibración que los bioanálisis preliminares. En cuanto al manejo postratamiento, para el primer bioanálisis de *B. pilosa* las plantas se sacaron a exposición directa del sol los últimos cuatro días antes de la evaluación final y para las plantas del segundo bioanálisis, que habían permanecido a libre ambiente antes del tratamiento, se expusieron al sol y a la intemperie pocas horas después de haberse efectuado el tratamiento. Las plantas del bioanálisis de *R. scabra* siempre permanecieron bajo la casa de mallas tanto antes como después del tratamiento.

e) Recolección de datos y análisis estadístico

Evaluación de las respuestas y obtención de datos. A los cinco días se hicieron evaluaciones intermedias en cada bioanálisis del grado de fitotoxicidad, interpretado como porcentaje visual de daño. La evaluación final se realizó a los diez días después de la aplicación. Los criterios en la evaluación de las variables, procedimiento de cosecha y secado fueron los mismos que para los bioanálisis preliminares. Sin embargo, también se evaluó en forma aproximada el daño por separado ocasionado por cada herbicida en las diferentes unidades experimentales.

Procesamiento de datos. Los datos de peso seco se sometieron a análisis de varianza con el fin de determinar si existían interacciones y diferencias significativas entre tratamientos y bloques. Los cuadros de ANDEVA se incluyen en el Anexo 6.

Las disminuciones de rendimiento (de peso fresco y seco) se obtuvieron por unidad experimental, mediante la ecuación de eficiencia de Abbott (1925):

$$\% DR = \frac{\text{Rend. del testigo} - \text{Rend. del tratamiento}}{\text{Rendimiento del testigo}} \times 100$$

Los porcentajes del testigo se obtuvieron por unidad experimental y por comparación contra el promedio del rendimiento del testigo del bloque respectivo. El porcentaje se estimó mediante la siguiente razón:

$$\% \text{ del Testigo} = \frac{\text{Rendimiento del Tratamiento}}{\text{Rendimiento del Testigo}} \times 100$$

Análisis estadístico. Primero se emplearon los modelos gráficos de Tammes (1964) y el de Akobundu *et al.* (1975) para el análisis de los datos, así como una graficación libre sugerida por Nash (1981). Posteriormente, se aplicó el modelo de Colby (1967) y el tratamiento estadístico para dicho modelo propuesto por Flint *et al.* (1988); un ejemplo de la aplicación de este último se incluye en el Anexo 7.

En los Anexos 8, 9 y 10 se presentan los datos de peso seco de los tres bioanálisis de acción conjunta. En el Anexo 6 se incluyen los cuadros de análisis de varianza de cada conjunto de datos.

3.7 TERCERA ETAPA: BIOANÁLISIS DE VALIDACION EN CAMPO

a) **Descripción del área experimental.** El trabajo de campo se realizó desde mayo a septiembre de 1993, aprovechando la regularidad de las lluvias, en un lote de la finca La Isabel, ubicada en Turrialba, cultivado con árboles de café Catimor, de 3 a 4 años de edad, con buena uniformidad y distribución; sembrados a un distanciamiento de 0.7 m entre árboles y de 2.2 m entre hileras.

El lote es de topografía plana, con un área aproximada de 2.500 m². El suelo pertenece al orden Lhitic Troprothent (rocoso, tropical de alta infiltración) y a la clase

Inceptisol (suelos recientes, por lo menos con un 20 a 30% de arcilla). Las unidades experimentales (parcelas) se distribuyeron a lo largo y entre hileras de café, su dimensión fue de 0.9 m de ancho por 3 m de largo, separadas entre sí por 2 m de distancia.

Dentro de las malezas predominantes en el lugar se identificaron gramíneas (*Eleusine indica*, *Digitaria* sp.), ciperáceas (*Cyperus odoratus*), y malezas de hoja ancha (*B. latifolia*, *Spananthe paniculata*, *R. scabra*, *E. fosbergii*, *B. pilosa*, *Lindernia* sp, *D. cordata*, *Euphorbia hirta*, *Fleuria* sp., *Mitracarpus* sp., *Sida* sp., *Melanpodium* sp., *Eclipta* sp. *Galinsoga* sp., *Commelina* sp.).

b) Selección de especies. Inicialmente se seleccionó a *B. pilosa* como maleza de prueba, pero debido a la falla de su establecimiento en el campo, se sembraron las parcelas 20 días después con tres especies: *E. fosbergii*, *P. oleracea* y *R. scabra*.

c) Preparación del terreno y manejo de las malezas. Por las deficiencias de germinación obtenidas en la primer siembra que se había hecho al voleo y con posterior escardado superficial de la parcela, se optó en la resiembra por una mejor preparación del suelo. Luego de una nivelación y escardado de las parcelas, las semillas de las tres malezas se sembraron secuencialmente en surcos paralelos de poca profundidad, trazados en forma transversal a una distancia de 10 cm entre sí en todas las parcelas. En el Cuadro 11 se detalla la cantidad de semilla depositada por parcela.

Cuadro 11. Cantidad de semilla según especie, sembrada por parcela de 2.7 m² en el experimento de campo

Maleza	Semilla por parcela en g	No. de semillas por g (aprox.)
<i>P. oleracea</i>	1,33	7.000
<i>E. fosbergii</i>	0,70	2.000
<i>R. scabra</i>	1,25	700

Se realizaron controles manuales y químicos de otras malezas, tanto selectivos (fenoxaprop 120 g/ha), como totales (glifosato, 712 g de e.a./ha), alrededor y dentro de las parcelas antes y después de la siembra. Debido a un ataque generalizado de hongos del suelo sobre *P. oleracea* se realizó una aplicación de carbendazim (0.02%), combinado con un fertilizante foliar, 31 días después de siembra. A los 51 días después de siembra se aplicó urea en forma foliar para estimular el crecimiento vegetativo; no obstante, el desarrollo de las malezas sembradas y de las espontáneas fue irregular en todas las parcelas, lo que obligó a la readecuación del diseño y de las formas de evaluación.

d) Diseño experimental. El diseño experimental de bloques completos al azar, en arreglo factorial 5 X 5, con cuatro repeticiones y que incluía repeticiones extra para el testigo absoluto, se cambió por un diseño completamente al azar, siempre con dos factores (los dos herbicidas) y cinco niveles (dosis), eliminando al testigo absoluto con cero nivel de ambos herbicidas, por lo cual el número de tratamientos fue de 24. El testigo absoluto (sin aplicación) en el replanteamiento del diseño estuvo en cada parcela, pues se dejó media parcela sin tratar. Con el objeto de aprovechar al máximo el número de unidades experimentales (108 en total) se incluyeron cinco repeticiones para las aplicaciones individuales de paraquat (20 unid. exp.), 6 para las de 2,4-D

(24 unid. exp.) y 4 para las diferentes combinaciones de los niveles 1 a 4 (64 unid. exp.). En total se contó siempre con 108 unidades experimentales.

e) Definición de dosis y aplicación de herbicidas (tratamientos). Para la definición del ámbito de dosis se tomaron en cuenta las respuestas observadas en los bioanálisis preliminares de *E. fosbergii* y *P. oleracea*, y en los bioanálisis preliminares y de acción conjunta sobre *B. pilosa*; uno de los criterios fue el tomar como punto de partida para las dosis medias la DR40, en lugar de la DR50, ya que se esperaba menor sensibilidad de las malezas en el campo y se requerían ámbitos de respuesta desde un diez a un noventa por ciento de daño. En el Cuadro 12 se presentan las dosis empleadas.

Antes de la aplicación de los herbicidas las parcelas se dividieron a lo largo con una cuerda, procurando dejar el 50% de la cobertura vegetal por cada lado. Una sección se sometió al tratamiento y la otra se dejó sin tratar como testigo.

Cuadro 12. Dosificaciones de paraquat y 2,4-D aplicadas por separado y combinadas sobre parcelas del experimento de campo. Ingredientes activos (i.a.) expresados como ion paraquat y equivalente ácido respectivamente.

Niveles	Dosificaciones de prueba (g i. a./ha)				
	0	1	2	3	4
Paraquat (A)	0	12	30	75	187.5
2,4-D (B)	0	8.9	40	180	810

Las aplicaciones se hicieron 59 días después de siembra con un aspersor de presión constante a base de CO₂, usando una boquilla 8002VS, con volumen de aplicación de 240 l/ha, empleando una campana de aplicación para disminuir la deriva.

Las soluciones con las respectivas dosificaciones (24 en total) se prepararon con cuatro horas de anticipación en botellas plásticas de dos litros de capacidad, preparando 1.5 l de solución para cada tratamiento, a cada solución se le agregó 0.2% de coadyuvante WK. Para asegurar si el tiempo tenía algún efecto sobre la estabilidad herbicida de la mezcla, se habían realizado con anticipación dos bioanálisis, los resultados obtenidos demostraron que el efecto del tiempo sobre la eficacia de la mezcla no era significativo, dichos resultados se incluyen en el Anexo 11.

f) Calificación de la respuesta observada. La calificación de la respuesta se hizo en porcentaje visual de daño observado sobre todas las malezas presentes, espontáneas o sembradas, sirviendo la media parcela sin tratar como testigo. Esta calificación fue realizada en forma independiente por tres evaluadores ocho días después de la aplicación de los herbicidas.

g) Cosecha. La cosecha de la media parcela tratada y de la otra mitad sin tratar se hizo 14 días después de la aplicación, en bandas de 25 cm de ancho (dejando 10 cm de borde), y a lo largo de la parcela; cosechando todas las plantas menos gramíneas, ciperáceas, *B. latifolia* y *Euphorbia hirta*. Se determinó el peso fresco y se secaron en un horno a 60 C con circulación forzada de aire para determinar peso seco.

h) Análisis estadístico. Las calificaciones visuales de los tres evaluadores se promediaron y se les practicó un análisis de varianza. Para la estimación del tipo de acción conjunta

se procedió como lo hicieron Shaw y Wixson (1991) en la estimación de acción conjunta de imazaquin o imazetapir con AC 263,222 (otro herbicida perteneciente a las imidazolinonas) en malezas de soya.

Así, la estimación del sinergismo, antagonismo, o aditividad en las respuestas a la aplicación de la mezcla se realizó por el método descrito por Colby (1967). Debido a la heterogeneidad de varianzas, las estimaciones visuales de daño se transformaron al arco seno (sexagesimal) de la raíz cuadrada del porcentaje (% expresado como una proporción). Las respuestas esperadas de porcentaje de no daño de todas las combinaciones posibles, se calcularon dividiendo entre 100 el producto del porcentaje de no daño (transformado) de los herbicidas aplicados solos, según los niveles correspondientes de cada combinación. Estos valores se restaron entonces de 100 para convertirlos de porcentajes de no daño a porcentajes de daño esperados. Los porcentajes esperados de daño así estimados se restaron de los porcentajes de daño observados de las respectivas combinaciones. Las interacciones se calificaron de antagonistas cuando la diferencia del valor observado menos el esperado fue negativa y alcanzó un valor absoluto mayor que la diferencia mínima significativa (DMS), que había sido calculada para cada comparación entre medias (de valores observados) de los productos aplicados en combinación (4 repeticiones). Por tanto, combinaciones con valores predichos que no se ubican dentro de los límites definidos por la DMS, se estima son el resultado de una interacción entre los dos herbicidas a los niveles correspondientes.

El programa en SAS utilizado y los cuadros de análisis de varianza respectivos se presentan en el Anexo 12. Los datos de porcentajes visuales de daño observados se incluyen en el Anexo 13.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 PRIMERA ETAPA: BIOANALISIS PRELIMINARES

De todos los bioanálisis realizados en la primera serie de experimentos (doce en total), nueve se consideraron aceptables para hacer las estimaciones de los tipos y ámbitos de respuesta correspondientes. En dos de los bioanálisis (*B. pilosa*-2,4-D y *E. fosbergii*-paraquat+coadyuvante) no se logró obtener la información requerida porque las dosis más bajas provocaron disminuciones de rendimiento superiores al 50% en peso seco (o fresco) de las plantas. En el tercer bioanálisis (*B. latifolia*-paraquat) las plantas se desarrollaron irregularmente por lo que no se logró evaluar adecuadamente la respuesta al herbicida. Estos bioanálisis se repitieron posteriormente.

Los Cuadros 13 y 14 son un resumen de las estimaciones de la respuesta media y de los parámetros que definen el patrón de comportamiento (línea de respuesta) de cada especie a los herbicidas probados. La respuesta media, en dosis, viene dada por el antilogaritmo de μ .

El patrón de comportamiento, definido prácticamente por σ (desviación estándar de la distribución de las disminuciones de rendimiento en función del logaritmo de la dosis de cada herbicida), está dado por la pendiente de la línea $1/\sigma$ (Figuras 3 y 4). Se puede notar que las pendientes de las rectas de la Figura 3 son mayores que las pendientes de las rectas de la Figura 4, pues σ es menor; esto sugiere diferencias en los patrones de comportamiento de las malezas para con los dos herbicidas.

El grado de adecuación del modelo empleado (probit) a las respuestas obtenidas experimentalmente, está dado por la probabilidad P de χ^2 , que es la probabilidad de obtener un χ^2 mayor al calculado; éstos valores no se presentan en los cuadros, debido a que para todos los bioanálisis se obtuvieron chi cuadrados con probabilidades P mayores de 0,1, significando que el modelo explica gran parte de las fuentes de variabilidad de los datos.

El grado de ajuste de las respuestas observadas contra las predichas por el modelo probit, puede apreciarse en las curvas log tolerancia de cada maleza que se presentan en el Anexo 5. En general, los ajustes del modelo obtenidos se consideran aceptables. Las separaciones de puntos extremos obedecen a no efecto para las dosis inferiores o a un excesivo daño acompañado de muerte de plántulas para las superiores, por esta razón dichos puntos no fueron considerados en el análisis.

Otra visión del ajuste puede lograrse al convertir la curva de log tolerancia de cada maleza a una línea de respuesta (tal como en las Figuras 3 y 4) introduciendo además los valores observados. Si los valores observados se acercan a uno y otro lado de la línea de respuesta, y el valor de χ^2 es bajo (con probabilidades entre 0.95 y 0.05), se cree hay un buen ajuste; en cambio si se distribuyen en una forma no lineal ya sea arriba o debajo de la línea, con un alto valor de χ^2 y con una probabilidad inferior a 0.1, puede ser indicio que la transformación probit no sea el modelo adecuado.

Cuadro 13. Valores de DR₂₀, DR₅₀, DR₈₀, intervalos de confianza y parámetros estimados de la respuesta en peso seco a la aplicación de paraquat sobre seis malezas asociadas al cultivo el café.

Especie	DR ₂₀ DR ₅₀ DR ₈₀ (g/ha)	L.C. ¹ al 95%		Parámetros $\mu; \sigma; \alpha; \beta$ (log dosis)	Relación ² DR ₅₀	No. ³ trat. y pta.
		Infe- rior	Super- rior			
<i>B. pilosa</i>	7.82	2.40	13.07	1.39947	1.0	5
	25.09	15.72	39.96	0.601714		
	80.52	48.21	261.23	-2.32581 1.66192		
<i>B. latifolia</i>	67.20	16.63	121.05	2.741451	21.98	6
	551.38	344.12	1360	1.086123		
	4524	1680	64769	-2.52407 0.92071		
<i>D. cordata</i> ⁴	45.11	21.21	72.73	2.420921	10.51	8
	263.59	182.24	396.31	0.910969		
	1540	888.65	3084	-2.65752 1.09773		
<i>E. fosbergii</i>	27.92	17.24	37.63	1.798937	2.51	4
	62.94	46.55	104.85	0.419473		
	141.9	89.97	408.53	-4.28856 2.38394		
<i>P. oleracea</i>	4.26	0.66	10.15	1.48109	1.21	6
	30.28	14.17	48.00	1.012261		
	215.29	130.82	526.24	-1.46315 0.98789		
<i>R. scabra</i>	57.70	34.70	78.30	2.200702	6.33	5
	158.75	116.86	265.04	0.52232		
	436.82	262.48	1345	-4.213323 1.914536		

¹ Límites de confianza al 95%, en términos de dosis

² Relación de tolerancia al herbicida por cada maleza a nivel de la DR₅₀, referida a la maleza más sensible. (Las demás malezas son x veces más tolerantes que la especie más sensible)

³ Número de tratamientos (de nueve) que fueron tomados en cuenta para el análisis probit (incluyendo al testigo) y número de plantas por tratamiento.

⁴ En el análisis de la respuesta de esta maleza se empleó el peso fresco en lugar del peso seco.

Cuadro 14. Valores de DR₂₀, DR₅₀, DR₈₀, intervalos de confianza y parámetros estimados de la respuesta en peso seco a la aplicación de 2,4-D sobre seis malezas asociadas al cultivo de café.

Especie	DR ₂₀ DR ₅₀ DR ₈₀ (g/ha)	I.C. ¹ al 95%		Parámetros $\mu; \sigma; \alpha; \beta$ (log dosis)	Relación DR ₅₀ ²	No. ³ trat. y pnta.
		Inferior	Superior			
<i>B. pilosa</i>	5.31	0.71	12.08	1.976435	1.0	7
	94.72	45.41	353.94	1.48662		
	1689	421.26	67450	-1.32948 0.67267		
⁴ <i>B. latifolia</i>	18.54	3.0	47.77	2.367568	2.46	9
	233.11	113.83	395.33	1.306484		
	2932	1511	9339	-1.812168 0.765413		
<i>D. cordata</i>	26.50	10.47	48.68	2.391344	2.60	9
	246.23	163.18	351.87	1.150232		
	2288	1428	4530	-2.07901 0.86939		
<i>E. fosbergii</i>	7.41	0.49	25.28	2.037321	1.15	9
	108.97	36.11	208.34	1.386575		
	1601	803.05	5646	-1.469319 0.721201		
<i>P. oleracea</i>	55.99	24.51	96.44	2.675355	5.0	9
	473.54	322.23	696.21	1.101767		
	4005	2323	9167	-2.42824 0.907633		
<i>R. scabra</i>	23.90	0.66	101.1	2.998786	10.53	9
	997	379.34	2015	1.101767		
	41602	13091	667609	-2.42824 0.907633		

¹ Límites de confianza al 95%, en términos de dosis

² Relación de tolerancia al herbicida por cada maleza a nivel de la DR₅₀, referida a la maleza más sensible. (Las demás malezas son x veces más tolerantes que la especie más sensible)

³ Número de tratamientos (de nueve) que fueron tomados en cuenta para el análisis probit (incluyendo al testigo) y número de plantas por tratamiento.

⁴ En el análisis de la respuesta de esta maleza se empleó el peso fresco en lugar del peso seco.

En el Cuadro 15 se presentan agrupadas las malezas según sus DR₅₀; considerando los límites de confianza, malezas con igual letra pueden poseer la misma respuesta media al herbicida (DR₅₀). Para el caso de *E. fosbergii*-paraquat (sin coadyuvante) se aclara que los valores estimados de la DR₅₀ provienen únicamente de tres dosis, razón por la cual tanto la DR₅₀ como sus límites son más inciertos. Un caso similar, aunque no en extremo, se dio con *R. scabra*-paraquat, donde se descartaron tres tratamientos de las dosis más altas por haber provocado daño excesivo y muerte de las plantas, y un tratamiento de las dosis más bajas por haber rendido más que el testigo.

Streibig, (1988) menciona que, ocasionalmente, plantas tratadas con dosis subtóxicas de un herbicida exceden en rendimiento al testigo. Morse y Zareh, (1991) denominan a este fenómeno hormoligosis (del griego *hormo* = excitar y *oligo* = pequeñas cantidades) cuando se trata de insectos; Soto y Valverde (1991) mencionan que el término se utiliza en control químico de malas hierbas para explicar el estímulo en el crecimiento de plantas tratadas con dosis subletales de herbicidas.

Cuadro 15. Agrupación de las malezas estudiadas según sus DR₅₀ para cada herbicida, considerando los límites de confianza al 95%.

Malezas	Paraquat				2,4-D		
<i>B. pilosa</i>	A				A	B	
<i>B. latifolia</i>				D	A	B	C
<i>D. cordata</i>			C	D	A	B	
<i>E. fosbergii</i>		B			A		
<i>P. oleracea</i>	A	B				B	C
<i>R. scabra</i>			C				C

Malezas con igual letra pueden poseer la misma DR₅₀ para el herbicida correspondiente.

Aunque las disminuciones de rendimiento promedio (DR_{50}) pueden dar una idea de la respuesta general de la maleza al herbicida, esto no es siempre cierto. Si se analiza la Figura 3, se puede notar que *P. oleracea* posee una baja DR_{50} , sin embargo presenta una apreciable variabilidad en la respuesta (mayor tolerancia), siendo su línea de respuesta menos inclinada (de menor pendiente, $1/\sigma$) que *E. fosbergii* y *R. scabra* que poseen disminuciones de rendimiento promedio más elevadas; esto puede atribuirse a una mejor recuperación de *P. oleracea*. Otra característica del patrón de comportamiento que puede apreciarse en la gráfica es la sensibilidad de *E. fosbergii* al paraquat, pues su línea de respuesta es la más inclinada de todas; en la ecuación se nota que es la maleza de menor desviación estándar, y por tanto de mayor pendiente ($1/\sigma$).

La Figura 4 muestra la respuesta de las malezas al 2,4-D. Se puede notar que las respuestas tienen ámbitos de variación muy amplios, debido a que el 2,4-D no posee un efecto fulminante sobre las malezas. Así para provocar disminuciones de rendimiento superiores a un 75% o la muerte de plántulas, son necesarias dosis elevadas del herbicida, en casos como los de *R. scabra* incluso se puede decir que no existen dosis letales.

Las malezas con mayor tolerancia al paraquat fueron *B. latifolia* y *D. cordata* y para el 2,4-D, *R. scabra*. Conviene destacar que las características de tolerancia a los herbicidas pueden tener influencia en la selección de estas malezas en los cafetales donde se utiliza la mezcla; sin embargo no hay que descartar la influencia de otros factores como son las habilidades adaptativas al medio, incluyendo las de competencia.

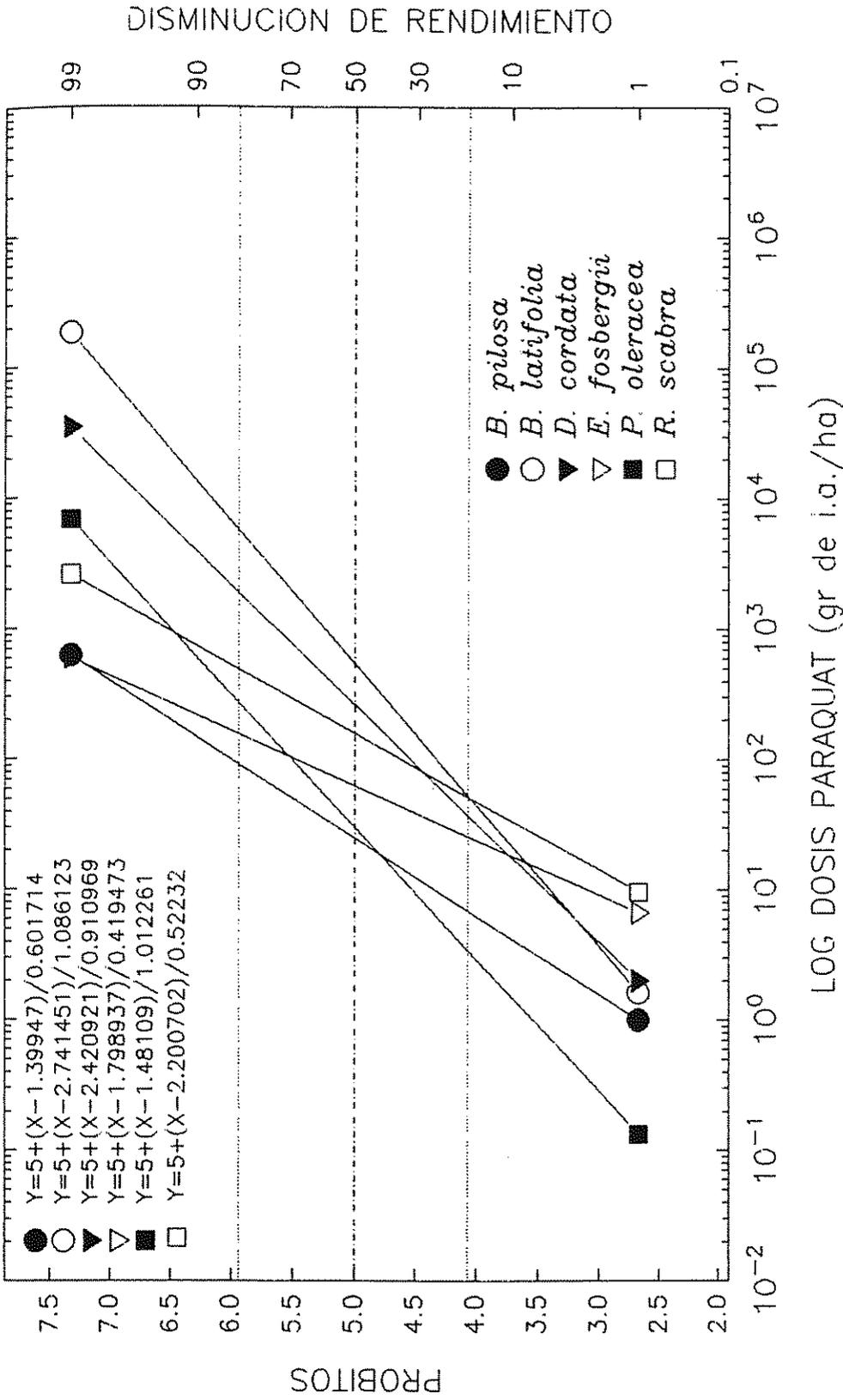


Figura 3. Líneas de respuesta de disminución de rendimiento en relación con el testigo, de seis malezas asociadas al café en Costa Rica, por la aplicación de dosis crecientes de paraquat.

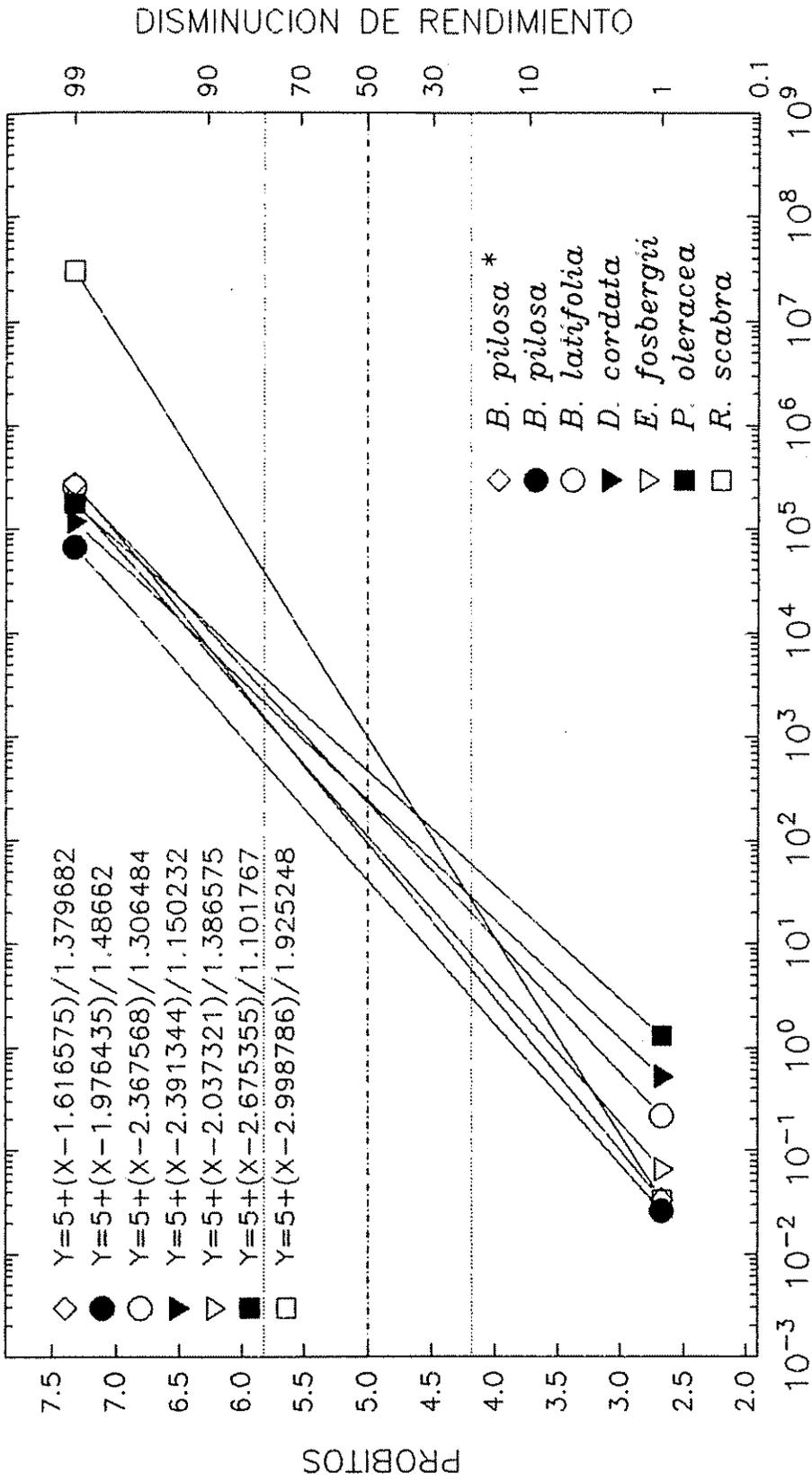


Figura 4. Líneas de respuesta de disminución de rendimiento en relación con el testigo de seis malezas asociadas al café en Costa Rica, por la aplicación de dosis crecientes de 2,4-D.

* Experimento No. 2.

Es preciso tomar en cuenta, que para hacer comparaciones de los tipos de respuesta de las malezas para ambos productos o dentro de un mismo producto, se deben mantener supuestos tales como que las líneas de respuesta sean paralelas y sus intervalos de confianza no se traslapen.

Un punto que merece reflexión es la consistencia de los límites de confianza. Tal como apunta Gowing (1959), los estadísticos han trabajado más en análisis probit de respuestas de tipo "quantal" (todo o nada, vivo o muerto); es por ello que este tipo de aplicación del modelo ha sido perfeccionada para estos casos. El mismo autor, citando a Finney (1952) señala que factores especiales de ponderación deberían usarse para datos cuantitativos tratados con el modelo probit, ya que cualquier medida de rendimiento del testigo es un estimado de la media poblacional, que tiene una varianza; en cambio en datos de tipo "quantal" el porcentaje de muerte de los testigos es invariablemente cero por ciento. Otro aspecto que debe señalarse es que el modelo probit supone una sola varianza, y de tipo binomial. Esta premisa va implícita en la estimación de la línea de respuesta y en el cálculo de chi cuadrado en la prueba de bondad de ajuste. Por consiguiente, es de juzgar con atención que los límites de confianza obtenidos con el procedimiento que se ha seguido en este trabajo son meras aproximaciones.

Como se puede observar en las Figuras 3 y 4 y en las curvas de log tolerancia del Anexo 5, las dosis para disminuciones de rendimiento cercanas al 99% son extremadamente grandes en algunos casos y los intervalos de confianza a dosis extremas son muy amplios, esto indica la poca utilidad del modelo a niveles altos; sin embargo en los niveles medios (de 30 a 70 por ciento de disminución de rendimiento) se consideran aceptables las predicciones, con base en las repeticiones de bioanálisis realizados.

4.2 SEGUNDA ETAPA: BIOANÁLISIS DE ACCIÓN CONJUNTA

De las malezas evaluadas en los bioanálisis preliminares se seleccionaron a *B. pilosa* y *R. scabra*, como las más indicadas para estudiar la acción conjunta entre paraquat y 2,4-D. *B. pilosa* se calificó como una maleza sensible a ambos herbicidas; la segunda como tolerante al 2,4-D y sensible al paraquat.

De acuerdo con las evaluaciones visuales posteriores a los tratamientos, en los bioanálisis de *B. pilosa* y de *R. scabra* hechos en la casa de mallas, las dosis de prueba de paraquat fueron mayores de lo necesario y la primer dosis de 2,4-D muy baja. Para el bioanálisis de *B. pilosa* a pleno sol, las dosis más altas de cada herbicida escasamente llegaron a provocar el 50% de disminución de rendimiento (Cuadro 20); posiblemente debido a la mayor edad de las plantas y mayor consistencia de los sus tejidos por la exposición directa al sol y a otras condiciones ambientales.

4.2.1. Análisis de los Datos

a) Métodos gráficos. Los métodos de isobolas de Tammes (1964), el de isobolas modificado por Akobundu et al. (1975), y uno de graficación libre (sugerido por Nash 1981) se aplicaron a los bioanálisis de acción conjunta realizados en la casa de mallas. Los resultados obtenidos con estos métodos permitieron únicamente visualizar la tendencia de la distribución de puntos. A niveles bajos de 2,4-D esta tendencia estuvo orientada a la aditividad y a niveles altos apuntó al antagonismo.

Se concuerda con Nash (1981), quien opina que el modelo de la isobola consume tiempo y a menudo no da buena revelación en estudios de interacción fitotóxica.

En bioanálisis con un sólo herbicida, si no existen evidencias de heterogeneidad de varianzas y las respuestas no presentan una distribución amplia, el método de isobolas modificado por Akobundu et al. (1975), puede ser de utilidad para estimar las DR₅₀ de los productos aplicados en forma separada, pues se evita la aplicación del modelo probit.

b) Método de Colby. Los porcentajes del testigo esperados para cada combinación, estimados a partir de los herbicidas aplicados solos a las mismas dosis, se presentan en los Cuadros 16, 17 y 18, también se presentan los porcentajes del testigo observados, los que se han encerrado entre paréntesis cuando existe señal de antagonismo.

Puede notarse que la mayoría de las respuestas en *B. pilosa* (Cuadro 16 y 17) son antagonistas en ambos experimentos. De 25 combinaciones aplicadas, 18 resultaron antagonistas en el primer experimento y 20 en el segundo. Por otra parte se puede observar que el antagonismo se acentúa en los dos niveles más altos de 2,4-D y a cualquier nivel de paraquat. Con *R. scabra* se obtuvieron más casos de antagonismo que con *B. pilosa*, ya que de 25 combinaciones 23 fueron antagónicas (Cuadro 18).

Las desventajas del método de Colby consisten en que las varianzas de los valores no son consideradas y las diferencias entre respuestas esperadas y observadas no llevan aparejadas significancias estadísticas (Nash, 1981). Además, los cálculos de las respuestas esperadas dependen en gran medida de valores observados de un testigo y de tratamientos únicos de cada factor (Hatzios y Penner, 1985). Grusdev et al. (1967), citado por Akobundu (1975) comenta que las respuestas de plantas a dosis extremas de los herbicidas pueden resultar exageradas por este método.

Cuadro 16. Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de *B. pilosa* (experimento 1). Comparación de las respuestas observadas con las predichas (esperadas) mediante el modelo de Colby.

Paraquat (g /ha de i.a.)		2,4-D (g e.a./ha)					
		0	2.5	10	40	160	640
		----- % del testigo -----					
0	Obs.	100	101.47	98.88	73.13	49.39	47.17
	Esp.
7.5	Obs.	93.87	88.87	82.05	59.14	(50.60)	(46.99)
	Esp.	95.25	92.82	68.65	46.36	44.28
15	Obs.	67.45	(69.23)	(72.52)	(60.69)	(58.77)	(43.32)
	Esp.	68.44	66.70	49.33	33.31	31.82
30	Obs.	63.48	53.27	60.76	(49.13)	(47.66)	(39.98)
	Esp.	64.41	62.77	46.42	31.35	29.94
60	Obs.	44.34	(47.53)	39.66	(36.22)	(31.07)	(36.19)
	Esp.	44.99	43.84	32.42	21.90	20.91
120	Obs.	31.03	28.19	(33.54)	(32.39)	(31.23)	(30.15)
	Esp.	31.49	30.68	22.69	15.33	14.64

Porcentajes observados respecto al testigo mayores que los esperados, indican antagonismo, y menores, sinergismo. Porcentajes mayores entre paréntesis

Cuadro 17. Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de *B. pilosa* (experimento 2). Comparación de las respuestas observadas con las predichas mediante el modelo de Colby.

Paraquat (g /ha de i.a.)		2,4-D (g e.a./ha)					
		0	2.5	10	40	160	640
		% del testigo					
0	Obs.	100	96.60	97.68	86.69	64.30	48.49
	Esp.
7.5	Obs.	90.81	(95.05)	(90.91)	(86.54)	(67.73)	(49.90)
	Esp.	87.72	88.70	78.72	58.39	44.03
15	Obs.	92.63	(89.67)	88.60	(83.40)	(70.71)	(51.74)
	Esp.	89.48	90.48	80.30	59.56	44.92
30	Obs.	92.81	87.77	88.41	77.13	(63.58)	(54.77)
	Esp.	89.65	90.66	80.46	59.68	45.00
60	Obs.	79.19	(77.22)	73.63	(74.72)	(60.74)	(50.43)
	Esp.	76.50	77.35	68.65	50.92	38.40
120	Obs.	49.91	(51.77)	(64.89)	(53.57)	(49.56)	(41.97)
	Esp.	48.21	48.75	43.26	32.09	24.20

Porcentajes observados respecto al testigo mayores que los esperados, indican antagonismo, y menores, sinergismo. Porcentajes mayores entre paréntesis

Cuadro 18. Efecto de la aplicación individual y combinada de paraquat y 2,4-D en el peso seco de *R. scabra*. Comparación de las respuestas observadas con las predichas mediante el modelo de Colby.

Paraquat (g /ha de i.a.)		Dosificaciones 2,4-D (g e.a./ha)					
		0	20	100	500	2500	12500
		----- % del testigo -----					
0	Obs.	100	96.91	78.07	58.62	40.75	30.45
	Esp.
40	Obs.	83.60	(87.54)	(76.15)	(54.25)	(43.60)	(29.77)
	Esp.	81.01	65.26	49.00	34.07	25.45
80	Obs.	65.07	60.46	(57.95)	(48.88)	(40.69)	(28.25)
	Esp.	63.05	50.80	38.14	26.51	19.81
160	Obs.	33.38	(38.94)	(35.53)	(37.33)	(38.29)	(27.50)
	Esp.	32.35	26.06	19.57	13.60	10.17
320	Obs.	23.39	(25.68)	(26.24)	(22.73)	(33.43)	(25.88)
	Esp.	22.67	18.26	13.71	9.53	7.12
640	Obs.	25.37	24.12	(22.84)	(22.31)	(24.62)	(24.34)
	Esp.	24.59	19.81	14.87	10.34	7.73

Porcentajes observados respecto al testigo mayores que los esperados, indican antagonismo, y menores, sinergismo. Porcentajes mayores entre paréntesis

d) Tratamiento estadístico del método de Colby. En los Cuadros 19, 20, y 21 se dan los resultados de la aplicación del procedimiento sugerido por Flint et al. (1988) al método de Colby. En estos cuadros se presenta la lista de medias de los datos transformados a logaritmos, estimados de los parámetros, errores estándar de los estimados y valores P para cada prueba T de la hipótesis $H_0: I_{ij} = 0$, que genera el programa de computación.

La significancia estadística (valores P menores que 0.05) con valores positivos de la interacción (I_{ij}) indican antagonismo y con valores negativos sinergismo. Valores negativos indican menos peso seco que el predicho por un modelo aditivo en escala logarítmica. Las combinaciones significativas antagonistas se han subrayado; si el signo fuera negativo y la desviación de cero significativa, entonces la combinación sería sinergista. No se encontró ningún caso de sinergismo significativo en los tres bioanálisis realizados con plantas cultivadas en macetas, tanto en los dos que se realizaron dentro de la casa de mallas como en el realizado en ambiente libre.

Los valores negativos se dan con mayor frecuencia a niveles bajos de 2,4-D y, aunque hay varias excepciones, se puede decir que existe una tendencia hacia el antagonismo a medida que se incrementa la dosis de 2,4-D; esto coincide con lo observado por O'Donovan y O'Sullivan (1982), quienes encontraron reducción en la fitotoxicidad de paraquat sobre cebada (*Hordeum vulgare*) y avena silvestre (*Avena fatua*) a medida que se hacían más altas las dosis de 2,4-D amina.

Los mayores indicios de antagonismo se dieron con *R. scabra* (Cuadro 21), pues de las 25 combinaciones entre ambos herbicidas, 15 fueron antagonistas. En cambio para el primer bioanálisis de *B. pilosa* (Cuadro 19) las combinaciones antagonistas fueron nueve y para el segundo solamente cuatro

(Cuadro 20). Estos resultados coinciden en alguna forma, con las apreciaciones visuales (Anexo 14).

A pesar de los pocos resultados antagonistas calificados para el segundo experimento de *B. pilosa* que fuera montado al libre ambiente, en las comparaciones visuales se identificaron más combinaciones con indicios de antagonismo.

Debido a que el antagonismo crece, probablemente, en forma más que proporcional con el incremento de 2,4-D, el paraquat causó mayor necrosamiento en las plantas cuando el 2,4-D se agregó en dosis intermedias y bajas, comparadas con dosis altas; por esta misma razón es probable que en algunos casos a dosis intermedias, el antagonismo no haya sido posible distinguirlo estadísticamente, ya que no lo permite la variabilidad de los datos. Otra posibilidad que no puede descartarse totalmente es la existencia de algún sinergismo a dosis relativamente bajas de 2,4-D, aunque las combinaciones a dosis bajas de este herbicida con el paraquat no hayan sido todas de signo negativo, es decir con tendencia al sinergismo.

De los datos puede apreciarse además que a medida se incrementa la dosis de paraquat, las dosis antagónicas de 2,4-D se extienden hasta las menores, dando la impresión de dificultarse la actividad del paraquat con la presencia de determinado nivel de 2,4-D, ya sea sobre las hojas o dentro de la planta, cuando se incrementa la concentración de paraquat. No obstante, O'Donovan et al. (1983) citados por Green (1989) determinaron que la interacción antagónica entre la sal de paraquat y la sal dimetil amina de MCPA [(4-cloro-2metil fenoxi)ácido acético], un producto semejante al 2,4-D, era de tipo químico, al formar dos productos con menor actividad.

Otra suposición podría ser que el 2,4-D interfiera en el transporte de paraquat o con su acción de inducir la

desintegración de las membranas celulares, sin embargo O'Donovan y O'Sullivan (1982) encontraron que formulaciones ester, no afectaron la fitotoxicidad del paraquat cuando la mezcla se aplicó sobre determinadas especies de gramíneas. Lo anterior los llevó a concluir que la fitotoxicidad del paraquat no era antagonizada por el 2,4-D en sí, si no por los componentes técnicos de la formulación de 2,4-D amina; además consideran que el antagonismo a la actividad del paraquat por el 2,4-D amina, se debió probablemente a interacciones físicas o químicas entre los herbicidas, ya sea en el tanque o en la superficie de la hoja.

White (1969) citado por O'Donovan y O'Sullivan (1982) demostró que el paraquat forma complejos con moléculas orgánicas, incluyendo aminas y fenoles, esto podría conducir a una explicación razonable, de las causas del antagonismo entre los dos herbicidas.

Probablemente debido a que los efectos antagónicos de paraquat con el 2,4-D no son tan evidentes, es que no ha sido posible detectar el antagonismo en los experimentos de campo realizados con la mezcla en Costa Rica. Lo anterior justifica la ejecución de pruebas, ya sea en ambientes semicontrolados o de campo, para estimar las relaciones entre dos o más herbicidas cuando se aplican en mezclas de tanque. Existen coincidencias entre los científicos de malezas que las mezclas de tanque pueden usarse con éxito, aún con interacciones antagonistas entre los componentes (Green 1989). Dentro de las estrategias para el manejo del antagonismo, cuando se trata de vencer su efecto, el método más común es incrementar la dosis del herbicida antagonizado. Según Green (1989) esta medida es aconsejable, si no es posible la aplicación separada de los productos, o cuando el costo de una aplicación adicional, es mayor que el costo de la cantidad adicional del herbicida; un aspecto importante para la definición de las proporciones de la mezcla, es la

identificación de la mejor combinación de los productos para lograr el óptimo control.

Otra opción para evitar el antagonismo en ciertos casos, es la aplicación secuencial de los productos, O'Donovan y O'Sullivan (1982) encontraron que la fitotoxicidad del paraquat, no fue antagonizada por 2,4-D amina cuando fueron aplicados separadamente; tanto cuando fueron aplicados un día antes, inmediatamente antes, o un día después que paraquat, esto refuerza la teoría de un antagonismo químico entre los dos productos.

Cuadro 19. Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre *B. pilosa* (experimento No. 1).

Medias trata- mientos		Regresión estadística					
Nivel herb. A	Media log creci. B	Var. regre- sora	Efecto estimado	T para Ho: par.= 0	Probab. > T	Error es- tandar de estimación	
0	0	0.59618	Int.*	0.59618	17.1	0.0001	0.034871
1	0	0.56603	A1	-0.03015	-0.61	0.5418	0.049315
2	0	0.41586	A2	-0.18032	-3.66	0.0003	0.049315
3	0	0.38573	A3	-0.21045	-4.27	0.0001	0.049315
4	0	0.23891	A4	-0.35727	-7.24	0.0001	0.049315
5	0	0.07556	A5	-0.52062	-10.56	0.0001	0.049315
0	1	0.5994	B1	0.00322	0.07	0.948	0.049315
0	2	0.58619	B2	-0.00999	-0.2	0.8397	0.049315
0	3	0.45503	B3	-0.14115	-2.86	0.0047	0.049315
0	4	0.28889	B4	-0.30729	-6.23	0.0001	0.049315
0	5	0.26754	B5	-0.32864	-6.66	0.0001	0.049315
1	1	0.53528	AB11	-0.03397	-0.49	0.6268	0.069742
1	2	0.50761	AB12	-0.04843	-0.69	0.4883	0.069742
1	3	0.35955	AB13	-0.06533	-0.94	0.3502	0.069742
1	4	0.29593	AB14	0.03719	0.53	0.5946	0.069742
1	5	0.26366	AB15	0.02626	0.38	0.707	0.069742
2	1	0.42989	AB21	0.01081	0.16	0.877	0.069742
2	2	0.45153	AB22	0.04566	0.65	0.5135	0.069742
2	3	0.37186	AB23	0.09715	1.39	0.1654	0.069742
2	4	0.35569	AB24	<u>0.24713</u>	3.54	0.0005	0.069742
2	5	0.22602	AB25	<u>0.13880</u>	1.99	0.0481	0.069742
3	1	0.31009	AB31	-0.07886	-1.13	0.2597	0.069742
3	2	0.37314	AB32	-0.00260	-0.04	0.9703	0.069742
3	3	0.26046	AB33	0.01588	0.23	0.8202	0.069742
3	4	0.25529	AB34	<u>0.17684</u>	2.54	0.0121	0.069742
3	5	0.19596	AB35	<u>0.13886</u>	1.99	0.048	0.069742
4	1	0.26053	AB41	0.01840	0.26	0.7922	0.069742
4	2	0.17879	AB42	-0.05013	-0.72	0.4732	0.069742
4	3	0.14484	AB43	0.04709	0.68	0.5004	0.069742
4	4	0.07633	AB44	<u>0.14471</u>	2.08	0.0394	0.069742
4	5	0.1513	AB45	<u>0.24103</u>	3.46	0.0007	0.069742
5	1	0.02576	AB51	-0.05302	-0.76	0.4481	0.069742
5	2	0.10227	AB52	0.03670	0.53	0.5994	0.069742
5	3	0.09553	AB53	<u>0.16112</u>	2.31	0.022	0.069742
5	4	0.05917	AB54	<u>0.29090</u>	4.17	0.0001	0.069742
5	5	0.06995	AB55	<u>0.32302</u>	4.63	0.0001	0.069742

* Int. = Intercepto; herb. = herbicida; var. = variable; par. = parámetro, probab. = probabilidad.

Cuadro 20. Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre *B. pilosa* (experimento No. 2).

Medias trata- mientos		Regresión estadística					
Nivel herb.	Media log creci.	Var. regre- sora	Efecto estimado	T para Ho: par. = 0	Probab. > T	Error es- tándar de estimación	
A	B						
0	0	0.87685	Int.*	0.87685	37.12	0.0001	0.023623
1	0	0.83307	A1	-0.04378	-1.31	0.1922	0.033408
2	0	0.84328	A2	-0.03357	-1	0.3167	0.033408
3	0	0.84353	A3	-0.03332	-1	0.3204	0.033408
4	0	0.77411	A4	-0.10274	-3.08	0.0025	0.033408
5	0	0.56955	A5	-0.30730	-9.2	0.0001	0.033408
0	1	0.85656	B1	-0.02028	-0.61	0.5447	0.033408
0	2	0.86576	B2	-0.01109	-0.33	0.7404	0.033408
0	3	0.81205	B3	-0.06480	-1.94	0.0544	0.033408
0	4	0.68234	B4	-0.19450	-5.82	0.0001	0.033408
0	5	0.55695	B5	-0.31990	-9.58	0.0001	0.033408
1	1	0.85228	AB11	0.03950	0.84	0.4046	0.047246
1	2	0.83418	AB12	0.01220	0.26	0.7965	0.047246
1	3	0.81323	AB13	0.04497	0.95	0.3428	0.047246
1	4	0.70625	AB14	0.06768	1.43	0.1542	0.047246
1	5	0.57247	AB15	0.05930	1.26	0.2115	0.047246
2	1	0.82679	AB21	0.00379	0.08	0.9361	0.047246
2	2	0.82289	AB22	-0.00930	-0.2	0.8443	0.047246
2	3	0.79756	AB23	0.01908	0.4	0.6869	0.047246
2	4	0.72581	AB24	0.07704	1.63	0.1052	0.047246
2	5	0.58851	AB25	0.06513	1.38	0.1702	0.047246
3	1	0.81773	AB31	-0.00552	-0.12	0.9072	0.047246
3	2	0.82164	AB32	-0.01080	-0.23	0.8195	0.047246
3	3	0.76365	AB33	-0.01509	-0.32	0.75	0.047246
3	4	0.67345	AB34	0.02443	0.52	0.606	0.047246
3	5	0.61204	AB35	0.08841	1.87	0.0634	0.047246
4	1	0.76357	AB41	0.00974	0.21	0.8369	0.047246
4	2	0.73995	AB42	-0.02306	-0.49	0.6262	0.047246
4	3	0.74863	AB43	0.03932	0.83	0.4066	0.047246
4	4	0.65889	AB44	0.07928	1.68	0.0956	0.047246
4	5	0.57682	AB45	<u>0.12261</u>	2.6	0.0105	0.047246
5	1	0.5787	AB51	0.02943	0.62	0.5343	0.047246
5	2	0.68717	AB52	<u>0.12871</u>	2.72	0.0073	0.047246
5	3	0.59635	AB53	0.09160	1.94	0.0545	0.047246
5	4	0.56345	AB54	<u>0.18840</u>	3.99	0.0001	0.047246
5	5	0.49784	AB55	<u>0.24819</u>	5.25	0.0001	0.047246

* Int. = Intercepto; herb. = herbicida; var. = variable; par. = parámetro, probab. = probabilidad.

Cuadro 21. Medias de tratamientos del logaritmo de rendimiento en peso seco y efectos estimados de la aplicación de paraquat (A) y 2,4-D (B) sobre *R. scabra* (experimento No. 3).

Medias trata- mientos		Regresión estadística					
Nivel herb.	Media log creci.	Var. regre- sora	Efecto estimado	T para Ho: par.= 0	Probab. > T	Error es- tandar de estimación	
A	B						
0	0	0.81501	Int.*	0.81501	31.71	0.0001	0.025699
1	0	0.73613	A1	-0.07888	-2.17	0.0313	0.036344
2	0	0.62528	A2	-0.18974	-5.22	0.0001	0.036344
3	0	0.33228	A3	-0.48273	-13.28	0.0001	0.036344
4	0	0.18295	A4	-0.63207	-17.39	0.0001	0.036344
5	0	0.21566	A5	-0.59936	-16.49	0.0001	0.036344
0	1	0.80089	B1	-0.01413	-0.39	0.6979	0.036344
0	2	0.70313	B2	-0.11188	-3.08	0.0024	0.036344
0	3	0.58266	B3	-0.23235	-6.39	0.0001	0.036344
0	4	0.42314	B4	-0.39188	-10.78	0.0001	0.036344
0	5	0.29495	B5	-0.52007	-14.31	0.0001	0.036344
1	1	0.75355	AB11	0.03154	0.61	0.5402	0.051399
1	2	0.6898	AB12	0.06555	1.28	0.2039	0.051399
1	3	0.54369	AB13	0.03991	0.78	0.4385	0.051399
1	4	0.45158	AB14	<u>0.10732</u>	2.09	0.0382	0.051399
1	5	0.28751	AB15	0.07144	1.39	0.1663	0.051399
2	1	0.59221	AB21	-0.01894	-0.37	0.713	0.051399
2	2	0.57149	AB22	0.05809	1.13	0.2599	0.051399
2	3	0.50055	AB23	<u>0.10762</u>	2.09	0.0377	0.051399
2	4	0.42235	AB24	<u>0.18895</u>	3.68	0.0003	0.051399
2	5	0.26445	AB25	<u>0.15924</u>	3.1	0.0023	0.051399
3	1	0.39222	AB31	0.07407	1.44	0.1514	0.051399
3	2	0.36345	AB32	<u>0.14305</u>	2.78	0.006	0.051399
3	3	0.37617	AB33	<u>0.27624</u>	5.37	0.0001	0.051399
3	4	0.39371	AB34	<u>0.45330</u>	8.82	0.0001	0.051399
3	5	0.24888	AB35	<u>0.43667</u>	8.5	0.0001	0.051399
4	1	0.2223	AB41	0.05348	1.04	0.2996	0.051399
4	2	0.22481	AB42	<u>0.15374</u>	2.99	0.0032	0.051399
4	3	0.16583	AB43	<u>0.21524</u>	4.19	0.0001	0.051399
4	4	0.33487	AB44	<u>0.54380</u>	10.58	0.0001	0.051399
4	5	0.22629	AB45	<u>0.56341</u>	10.96	0.0001	0.051399
5	1	0.19504	AB51	-0.00649	-0.13	0.8997	0.051399
5	2	0.17115	AB52	0.06738	1.31	0.1916	0.051399
5	3	0.15923	AB53	<u>0.17593</u>	3.42	0.0008	0.051399
5	4	0.19991	AB54	<u>0.37614</u>	7.32	0.0001	0.051399
5	5	0.18147	AB55	<u>0.48588</u>	9.45	0.0001	0.051399

* Int. = Intercepto; herb. = herbicida; var. = variable; par. = parámetro, probab. = probabilidad.

4.3. TERCERA ETAPA: VALIDACION DE CAMPO

4.3.1 Establecimiento de las malezas

La primera siembra, que se hizo esparciendo semillas de *B. pilosa* al voleo en las parcelas e incorporándolas mediante escardado superficial, no dio los resultados esperados de emergencia; probablemente debido a la variabilidad en la germinación de la maleza, por diferencias en el acondicionamiento de las semillas en el suelo o por transporte de dichas semillas por hormigas. Dada la irregularidad en la germinación, y después de una evaluación hecha 20 días después de siembra, se optó por la eliminación de las plantas existentes y resiembra con otras especies de maleza.

A pesar de una adecuada preparación de la cama de siembra y de haber esparcido las semillas a chorro seguido en surcos, no se logró por segunda vez un establecimiento satisfactorio de ninguna de las tres malezas sembradas (*P. oleracea*, *E. fosbergii* y *R. scabra*). En este caso se estimó que los factores de mayor influencia en la germinación y establecimiento desuniforme fueron: a) poca cantidad de semilla depositada (para el caso de *E. fosbergii* y *R. scabra*, no así para *P. oleracea*), b) deficiencias en la calidad de la semilla (*E. fosbergii*), c) arrastre y profundización de las semillas por la lluvia (en los primeros 16 días después de siembra llovieron 199 mm, con una precipitación de 84 mm en el noveno día), e) ataque de enfermedades a plántulas (*P. oleracea* fue atacada en forma generalizada por hongos del suelo, lo que obligó a una aplicación de carbendazim) y f) a pesar de haber tapado la semilla se estima que la pérdida ocasionada por hormigas fue apreciable. Todos los factores citados contribuyeron a que se diera una distribución muy desuniforme y desproporcionada de las malezas en las

diferentes parcelas, incluso en las contiguas. Por esta razón, no fue posible adecuar metodologías de muestreo, que dieran estimados confiables de la comunidad artificial de malezas presente y de su biomasa. Por otra parte, se estima que el distanciamiento de 10 cm entre surco fue muy estrecho, ya que se dieron entrecruzamientos de las especies, lo que no hubiera permitido separar efectos por especie al haber logrado un establecimiento uniforme de las mismas.

Cambios en los métodos de evaluación se plantearon para lograr obtener la mayor información aprovechable, dadas las condiciones experimentales. El sistema de evaluación visual de daño, ofrecía las mayores ventajas y adaptaciones posibles, pues se consideró que era una forma de medición que podía ser menos afectada por la mezcla e irregularidad de presencia de las especies de maleza; sin embargo, la cosecha de la media parcela tratada y sin tratar para tomar el peso fresco y seco de las plantas, se incluyó como elemento de medición para evaluar la respuesta de las malezas, con expectativas de que reflejara resultados analizables.

4.3.2 Respuesta a la Aplicación Separada y en Mezcla

El tipo de respuesta de cada una de las cuatro malezas sembradas (incluyendo a *B. pilosa*) a los dos herbicidas aplicados solos y combinados, fue similar a la observada en la casa de mallas, sin embargo, como era de esperar, la pérdida de material vegetal afectado por los herbicidas fue mayor. Se considera que el ámbito de dosificaciones estuvo adecuado para la evaluación visual del daño, ya que se apreciaron daños desde muy bajos a bastante altos, lo cual permitió observar un amplio intervalo de respuesta de las plantas.

4.3.3 Análisis Estadístico

Debido a la variabilidad tanto en composición, importancia, distribución y densidad de las malezas en las parcelas, era prioritario, antes de hacer un análisis estadístico, determinar la independencia de la evaluación visual de daño de las variables mencionadas. Para esto se realizaron pruebas de covarianza entre la calificación visual de daño y variables evaluadas antes de la aplicación de los herbicidas: a) cobertura general de la parcela (en porcentaje de suelo cubierto); y b) cobertura en porcentaje de cada una de las 5 malezas en cada parcela (*B. pilosa*, *E. fosbergii*, *P. oleracea*, *R. scabra* y *Spananthe paniculata*). Los resultados obtenidos en los análisis de covarianza, permitieron concluir que ninguna de las covariables estaba relacionada significativamente con la calificación visual de daño de los herbicidas.

Debido a una variación muy grande entre unidades experimentales (parcelas) de algunos tratamientos, los datos de peso seco y fresco de las plantas se consideraron de poca utilidad para la estimación de los tipos de acción conjunta entre los dos herbicidas, por lo cual se descartaron.

En el Cuadro 22 se presentan los resultados del análisis de varianza de los porcentajes de daño transformados, obtenidos mediante un programa de computación (el programa se incluye en el Anexo 12), la transformación a arco seno de la raíz cuadrada del porcentaje de daño expresado como proporción, fue necesaria debido a heterogeneidad de varianzas en los datos originales; la DMS estimada está dada por lo tanto en escala transformada, las significancias se señalan en los valores originales.

Un aspecto criticable del procedimiento de análisis empleado, es que considera al valor esperado, calculado a partir de los

valores observados de los productos aplicados solos, libre de error. Hamill y Penner (1973) emplearon un procedimiento similar para evaluar la interacción de alaclor (herbicida) y carbofuran (insecticida), pero que considera en alguna medida el error del valor esperado.

Los resultados fueron similares a los obtenidos en los bioanálisis de la casa de mallas, pues los valores significativos de antagonismo se presentaron a dosis altas de 2,4-D. Los porcentajes a dosis extremas de herbicida, no concuerdan con los obtenidos en la casa de mallas, dado a diferencias entre los valores de disminución de rendimiento y % de daño, que se deben principalmente al peso inicial de las malezas en las estimaciones de disminución de rendimiento, lo que no permite en la mayoría de los casos obtener valores mayores de un 80%, aunque un 80% de DR signifique un 100% de daño.

Para la calificación de la acción conjunta en las combinaciones, se mantiene siempre el criterio de Colby, pero desde un punto de vista estadístico, es decir si el control (daño) ocasionado por los productos aplicados en forma combinada, no difiere significativamente del daño predicho a partir de la respuesta a su aplicación individual, el resultado de la mezcla es aditivo, y si es diferente, entonces se dice que hay interacción. Seis de las 16 combinaciones resultaron ser antagónicas en este experimento.

En el Cuadro 22 se puede observar que cuando la dosis de paraquat es de 75 g de i.a./ha (nivel 3), los porcentajes de daño no se incrementan a pesar de incrementos proporcionales en las dosis de 2,4-D, algo similar ocurre cuando la dosis es de 187.5 g de i.a./ha, aunque en este nivel de dosis se da mayor variación, que puede ser atribuida a errores de apreciación, ya que las estimaciones visuales se dificultan en los extremos de la escala de evaluación.

Cuadro 22. Análisis estadístico de la estimación visual de daño en porcentaje¹, ocho días después del tratamiento con paraquat (A) y 2,4-D (B), solos y en combinación a diferentes dosis sobre diferentes malezas de café en el experimento de campo.

Dosis herbi- cida:		% de daño observado (transf.)	% testigo esperado (transf.)	% de daño esperado (transf.)	Diferencia % de daño (Obs-Esp) (transf.)	% daño observ. escala original
A	B					
0	0	0	100	0		0
0	8.9	10.24				4.17
0	40	14.89				7.17
0	180	42.88				46.67
0	810	57.77				71.17
12	0	27.92				23.20
30	0	38.58				39.40
75	0	58.84				72.80
187.5	0	67.41				83.80
12	8.9	28.79	64.70	35.30	-6.51	23.25
12	40	36.75	61.35	38.65	-1.91	36.00
12	180	50.65	41.17	58.83	-8.18	59.50
12	810	55.64	30.44	69.56	-13.93	68.00 *
30	8.9	48.94	55.13	44.87	4.07	56.75
30	40	47.99	52.27	47.73	0.26	54.75
30	180	56.31	35.08	64.92	-8.61	69.00 *
30	810	53.91	25.93	74.07	-20.15	64.50 *
75	8.9	57.70	36.95	63.05	-5.35	71.25
75	40	56.54	35.03	64.97	-8.43	68.75
75	180	55.40	23.51	76.49	-21.09	67.50 *
75	810	56.80	17.38	82.62	-25.82	69.75 *
187.5	8.9	68.31	29.26	70.74	-2.43	85.75
187.5	40	72.24	27.74	72.26	-0.02	90.25
187.5	180	69.78	18.62	81.38	-11.61	87.75 *
187.5	810	69.34	13.76	86.24	-16.89	87.25 *
DMS (0.05)					11.20	

¹ Transformado al arco seno de la raíz cuadrada de la proporción

* El asterisco indica acción antagonista obtenida por comparación del porcentaje de daño esperado contra el observado, no designación indica aditividad.

Al revisar las variaciones del daño a dosis de 2,4-D constantes, se puede notar que las mayores diferencias, tomando en cuenta los cambios en las cantidades de producto agregado, se dan a dosis bajas de 2,4-D cuando se incrementa la dosis de paraquat. Aunque evidentemente siempre a las dosis extremas se obtuvieron porcentajes de daño similares en todas las combinaciones.

Es probable que en experimentos de campo con una sola maleza, con distribución muy uniforme, con plantas de una misma edad y con poca variación en tamaño, se puedan distinguir visualmente manifestaciones del antagonismo entre ambos productos.

Debido a que en las apreciaciones visuales, no fue posible establecer en forma directa, diferencias en cuanto a control, y considerando que las condiciones del experimento no fueron óptimas para una evaluación visual y de rendimiento en peso, se prefiere no llegar a conclusiones acerca de la eficacia de la mezcla, comparada contra la eficacia de los productos aplicados en forma individual. Derivar conclusiones en este sentido a partir de los resultados obtenidos podría inducir a errores; no obstante el análisis estadístico de los datos aporta indicaciones de antagonismo entre los dos productos cuando se aplica el modelo de Colby.

V. CONCLUSIONES

1. En general, los patrones de respuesta de las seis malezas al paraquat fueron diferentes a los patrones de respuesta al 2,4-D cuando se aplicaron en forma separada.
2. Las respuestas promedio de disminución de rendimiento de las seis malezas de prueba al paraquat, no fueron uniformes; tampoco lo fueron las de 2,4-D.
3. *B. latifolia* y *D. cordata* fueron las malezas que resultaron ser más tolerantes al paraquat, y *R. scabra*, al 2,4-D.
4. Con base en los resultados obtenidos de las respuestas observadas de peso seco y de porcentaje de daño, comparadas con las esperadas, mediante la aplicación de modelos de referencia, la mezcla de tanque de paraquat con 2,4-D, pareció ser menos activa que lo esperado, especialmente a niveles altos de dosis de ambos productos; por lo cual las señales de interacción encontradas se pueden calificar como de carácter antagonista.
5. Las manifestaciones de antagonismo en la aplicación combinada de paraquat con 2,4-D, aumentaron con el incremento de la dosis de 2,4-D.
6. El antagonismo de paraquat con 2,4-D fue más notorio en *R. scabra*, que en *B. pilosa*.

7. El bajo nivel de antagonismo en la validación de campo, de la mezcla de tanque de paraquat con 2,4-D, fue uno de los factores que no permitió distinguirlo visualmente.

VI. RECOMENDACIONES

1. Es aconsejable la realización de bioanálisis de acción conjunta de herbicidas, aplicados en mezcla de tanque, para la calificación adecuada de posibles interacciones.
2. Debido a un probable aumento en el uso de las mezclas de herbicidas por los agricultores de la región, es importante el estudio de modelos y procedimientos de evaluación conjunta de herbicidas, con el fin de seleccionar los que más se adecuen a las condiciones existentes.
3. Dado a que ambos herbicidas son cuestionados por su comportamiento ambiental, conviene desarrollar investigaciones en búsqueda de alternativas de sustitución equivalentes.
4. Dado a que los caficultores de Costa Rica emplean una variedad de mezclas de dos o más herbicidas para el control de malezas en café, es recomendable efectuar investigaciones de eficacia y de acción conjunta de dichas mezclas, evaluando además su impacto ambiental.
5. Sería conveniente la realización de investigaciones orientadas a estimar los volúmenes por separado de paraquat y de 2,4-D, aplicados en mezcla de tanque en el área cafetalera de Costa Rica, pues podrían ser útiles en la definición de lineamientos para su empleo.

6. Un elemento para disminuir la descarga de herbicidas en los agroecosistemas de café en Costa Rica, es la modificación de su forma de explotación, por ejemplo incluyendo el manejo de sombra, empleando coberturas, esto contribuiría al alivio de la alteración de los sistemas ecológicos de cafetal y de aquellos ecosistemas que reciben influencia de éste.

VII. LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* (EE.UU.) 18:265-267.
- AKOBUNDU, I. O. 1987. *Weed science in the tropics: Principles and practices*. Gran Bretaña, Wiley. 522 p.
- _____; SWEET, R. D.; DUKE, W. B. 1975. A method of evaluating herbicide combinations and determining herbicide synergism. *Weed Science* (EE.UU.) 23(1):20-25.
- ANONIMO. s.f. Análisis de datos por regresión de log-dosis versus mortalidad en unidades probit. 9 p.
- ASHFORD, J. R. 1981. General models for the joint action of mixtures of drugs. *Biometrics* (EE.UU.) 37:457-474.
- _____; COBBY, J. M. 1974. A system of models for the action of drugs applied singly or jointly to biological organisms. *Biometrics* (EE.UU.) 30:11-31.
- ASHTON, F. M.; CRAFTS, A. S. 1981. *Mode of action of herbicides*. New York, Wiley. 525 p.
- BLISS, C. I. 1934. The method of probits. *Science* (EE.UU.) 79(2037):38-39.
- _____. 1935. The calculation of the dosage mortality curve. *The annals of applied biology* (Gran Bretaña) 22:134-167.
- BOWYER, J. R.; CAMILLERI, P. 1987. Chemistry and biochemistry of photosystem I herbicides. *In* D. H. Hutson; T. R. Roberts eds. Gran Bretaña, Wiley. p. 105-145.
- BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL. 1987. *The pesticide manual; a world compendium*. Charles R. Worthing; S. Barrie Walker eds. 8 ed. Gran Bretaña, Lavenham Press.
- BUSVINE, J. R. 1971. *A critical review of the techniques for testing insecticides*. 2 ed. London, Commonwealth Agricultural Bureaux (C.A.B.). 345 p.
- CAMPOS CAMPOS, E. 1990. Control de malezas. *In* 40 años de investigación y transferencia de tecnología en café. Ed. Jorge Eduardo Ramirez Rojas. San José, Costa Rica, Programa Cooperativo ICAFE-MAG. p. 61-82.

- CHASE, W. R.; LINICK, R. D.; SPRAGUE, M. A. 1963. A technique for evaluation of mixtures of dalapon and cacodylic acid. *Weeds* (EE.UU.) 11:290-292.
- COLBY, S. R. 1967. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. *Weeds* (EE.UU.) 15(1):20-22.
- _____; WOJTASZEK, T.; WARREN, G. F. 1965. Synergistic and antagonistic combinations for broadening herbicidal selectivity. *Weeds* (EE.UU.) 13(2):87-91.
- COMPANIA COSTARRICENSE DEL CAFE S.A. 1980. Guía agrícola cultivo del café. 4. Control de malas hierbas. San José, Costa Rica, CAFESA. 32 p.
- _____. s.f. Guía agrícola cultivo del café e información sobre boquillas. 4. Control de malas hierbas. San José Costa Rica, CAFESA. 66 p. Circular Técnica No. 75 y 96.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES EN CAFE. 1973. Informe anual de labores 1972. San José, Costa Rica, Dirección de Investigaciones. 81 p.
- _____. 1974. Informe anual de labores 1973. San José, Costa Rica, Dirección de Investigaciones. 84 p.
- _____. 1975. Informe anual de labores 1974. San José, Costa Rica, Dirección de Investigaciones. 89 p.
- DARBY, S. C.; ELLIS, M. J. 1974. A test for synergism between two drugs. *Applied Statistic* (EE.UU.) 25:296-299.
- DENNIS, G. R.; SHAW, D. R. 1988. Influence of imazapyr on the control of pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*) with chlorimuron, imazaquin, and imazethapyr. *Weed Science* (EE.UU.) 36(5):663-666.
- _____; SHAW, D. R. 1989. Johnsongrass (*Sorghum halepense*) and pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) control with imazaquin and imazethapyr. *Weed Technology* (EE.UU.) 3(1):95-98.
- DRURY, R. E. 1980. Physiological interaction, its mathematical expression. *Weed Science* (EE.UU.) 28(5):573-579.
- FARM CHEMICALS HANDBOOK. 1990. Ed. Charlotte Sine. Ohio, Meister Publishing. p. irr.

- FEDKE, C. 1982. Biochemistry and physiology of herbicide action. Berlin, Germany, Springer-Verlag. 202 p.
- FINNEY, D. J. 1951. Statistical method in biological assay. New York, Hafner. 661 p.
- FISHER, R. A.; YATES, F. 1963. Tablas estadísticas para investigadores científicos, económicos, demográficos y especialmente biológicos, agronómicos y médicos. Trad. Juan Ruiz Magan y Juan José Ruiz Rubio. 3 ed. Madrid, Aguilar. 131 p.
- FLINT, J. L.; BARRET, M. 1989. Effects of glyphosate combination with 2,4-D or dicamba on field bindweed (*Convolvulus arvensis*). Weed Science (EE.UU.) 37(1):12-18.
- _____; CORNELIUS, P. L.; BARRETT, M. 1988. Analyzing herbicide interactions: A statistical treatment of Colby's method. Weed Technology (EE.UU.) 2:304-309.
- GARCIA, J. M. 1993. Kilogramos formulados de paraquat y 2,4-D durante 1985-90 en Costa Rica. Heredia, C.R., Universidad Nacional, Campus Omar Dengo. (Correspondencia personal).
- GARCIA TORRES; L.; FERNANDEZ-QUINTANILLA, C. 1991. Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Madrid, Mundi-Prensa. 348 p.
- GOULDEN, H. C. 1952. Methods of statistical analysis. 2 ed. New York, Wiley. 467 p.
- GOWING, D. P. 1959. A method of comparing herbicides and assessing herbicide mixtures at the screening level. Weeds (EE.UU.) 7(1):66-77.
- _____. 1960. Comments on tests of herbicide mixtures. Weeds (EE.UU.) 8(1):379-391.
- GREEN, J. M. 1989. Herbicide antagonism at the whole plant level. Weed Technology (EE.UU.) 3(2):217-226.
- _____; BAILEY, S.P. 1988. Herbicide interaction with herbicides and other agricultural chemicals. In C. G. McWhorter; M. R. Gebhardt, eds. Methods of applying herbicides. EE. UU. Weed Sci. Soc. p 37-61.
- HAMILL, A. S.; PENNER, D. 1973. Interaction of alachlor and carbofuran. Weed Science (EE.UU.) 21(4):330-335.

- HATZIOS, K. K.; PENNER, D. 1985. Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. *Rev. Weed Science (EE.UU.)* 1:1-63.
- _____; PENNER, D. 1982. Metabolism of herbicides in higher plants. Minneapolis, EE.UU., Burgess Publishing. 142 p.
- JENSEN, K. I. N.; CASELEY, J. C. 1990. Antagonistic effects of 2,4-D amine and bentazone on control of *Avena fatua* with tralkoxydim. *Weed Research (Gran Bretaña)* 30(6):389-395.
- KIRKWOOD, R. C. 1987. Herbicides and plant growth regulators. *In* D. H. Hutson; T. R. Roberts eds. *Gran Bretaña, Wiley.* pp. 1-55
- LITTLE, T. M.; HILLS, F. J. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trad. Anatolio de Paula Crespo. México, Trillas. 270 p.
- LOCKHART, J. A. 1965. The analysis of interactions of physical and chemical factors on plant growth. *Annual Review of Plant Physiology, (EE.UU.)* 16:37-53.
- MATA PACHECO, H. 1980. Control de malezas. *In* Departamento de Investigaciones en Café: Treinta años al servicio de la caficultura costarricense. San José, Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería. pp. 16-22.
- MINTON, B. W.; SHAW, D. R.; KURTZ, M. E. 1989. Postemergence grass and broadleaf herbicide interactions for red rice (*Oryza sativa*) control in soybeans (*Glycine max*). *Weed Technology (EE.UU.)* 3(2):329-334.
- MORELAND, D. E. 1980. Mechanism of action of herbicides. *Annual Review of Plant Physiology (EE. UU.)* 31:597-638.
- MORSE, P. 1978. Some comments on the assessment of joint action in herbicide mixtures. *Weed Science (EE.UU.)* 26(1):58-71.
- MORSE, J. G.; ZAREH, N. 1991. Pesticide-induced hormoligosis of citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae) fecundity. *Journal of Economic Entomology (EE.UU.)* 84(4):1169-1174.
- NALEWAJA, J. D.; WOZNICA, Z; MATYSIAK, R. 1991. 2, 4-D amine antagonism by salts. *Weed Technology (EE.UU.)* 5(4):873-880.

- NASH, R. G. 1981. Phytotoxic interaction studies-techniques for evaluation and presentation of results. Weed Science (EE.UU.) 29(2):147-155.
- O'DONOVAN, J. T.; O'SULLIVAN, P. A. 1982. Amine salts of growth regulator herbicides antagonize paraquat. Weed Science (EE.UU.) 30(6):605-608.
- OFICINA DEL CAFE. 1983. Manual de recomendaciones para cultivar café. 5 ed. San José, Costa Rica, Programa Cooperativo Oficina del Café-Ministerio de Agricultura y Ganadería. 86 p.
- ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). 1988. Hojas de información científica sobre plaguicidas. Washington D.C., OPS.
- PLACKETT, R.L.; HEWLETT, P.S. 1967. A comparison of the approaches to the construction of models for quantal responses to mixtures of drugs. Biometrics (EE.UU.) 23:27-44.
- PRENDEVILLE, G. N.; JAMES, C. S.; WARREN, G. G.; SCHREIBER, M. M. 1969. Antagonistic responses with combinations of carbamate and growth regulator herbicides. Weed Science (EE.UU.) 17(3):307-309.
- PROGRAMA COOPERATIVO ICAFE-MAG. 1986. Informe anual de labores 1985. San José, Costa Rica. 140 p.
- _____. 1987. Informe anual de labores 1986. San José, Costa Rica. 133 p.
- _____. 1988. Informe anual de labores 1987. San José, Costa Rica. 114 p.
- _____. 1989. Manual de recomendaciones para el cultivo del café. Ed. Pablo Sanchez-Vindas. 6 ed. San José, Costa Rica. 122 p.
- PROGRAMA COOPERATIVO OFICINA DEL CAFE-MAG. 1977. Informe anual de labores 1976. San José, Costa Rica. 84 p.
- _____. 1981. Informe anual de labores 1980. San José, Costa Rica. 87 p.
- _____. 1982. Informe anual de labores 1981. San José, Costa Rica. 170 p.
- _____. 1983. Informe anual de labores 1982. San José, Costa Rica. 84 p.
- _____. 1984. Informe anual de labores 1983. San José, Costa Rica. 175 p.

- _____. 1985. Informe anual de labores 1984. San José, Costa Rica. 176 p.
- ROBERTSON, J. L.; PREISLER, H. K. 1992. Pesticide bioassays with arthropods. Boca Raton, Florida, EE.UU. CRC press. 127 p.
- RUMMENS, F. H. A. 1975. An improved definition of synergistic and antagonistic effects. Weed Science (EE.UU.) 23(1):4-6.
- SANTELMANN, P. W.; WEBER, J. B.; WIESE, A. F. 1971. A study of soil bioassay technique using prometryne. Weed Science (EE.UU.) 19(2):170-174.
- SHAW, D. R.; WIXSON, M. B. 1991. Postemergence combinations of imazaquin or imazethapyr with AC 263,222 for weed control in soybean (*Glycine max*). Weed Science (EE.UU.) 39(4):644-649.
- SOTO, A.; VALVERDE, B. 1991. Los herbicidas. Propiedades físicoquímicas, clasificación y mecanismos de acción. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 79 p.
- STEEL, R. G.; TORRIE, J. H. 1988. Bioestadística: principios y procedimientos. Trad. Ricardo Martínez B. 2 ed. México, McGraw-Hill. 622 p.
- STREIBIG J. C. 1988. Herbicide bioassay. Weed Research (Gran Bretaña) 28(6):479-484.
- _____. 1987. Joint action of root-absorbed mixtures of auxin herbicides in *Sinapsis alba* L. and barley (*Hordeum vulgare* L.). Weed Research (Gran Bretaña) 27(5):337-347.
- TAMMES, P. M. L. 1964. Isoboles, a graphic representation of synergism in pesticides. Netherlands Journal of Plant Pathology (Holanda) 70:73-80.
- THOMSON, W. T. 1989. Agricultural chemicals; book II herbicides. Fresno, California, Thomson. 330 p.
- VALVERDE, B. E. s.f. Modo de acción de los herbicidas. In Myron Shenk; Albert Fischer; Bernal Valverde, eds. Principios básicos sobre el manejo de malezas. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. p. 83 - 109. MIPH-EAP No. 65.

WEHTJE, G. R.; WILCUT, J. W.; DYLEWSKI, D.P; MCGUIRE, J. A.; HICKS, T. V. 1991. Antagonism of paraquat phytotoxicity in peanuts (*Arachis hypogaea*) and selected weed species by naptalan. Weed Science (EE.UU.) 39(4):634-639.

WSSA. 1979. Herbicide handbook. 4 ed. Champaign, Illinois, WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA (WSSA). 479 p.

_____. 1985. Weed science terminology. Weed Science (EE.UU.) v 33 sup. 1:1-22.

OTRA LITERATURA MENCIONADA

- CRAFTS, A. S.; CLEARY, A. W. 1936. Toxicity of arsenic, borax, chlorate, and their combinations in California soils. *Hilgardia* 10:401-413.
- FINNEY, D. J. 1952. Probit analysis. 2ed. Cambridge Univ. Press.
- GRUZDEV, G. S.; KALININ, V. A. 1967. The effect of mixtures of 2,4-D with atrazine on weeds in maize. *Khimiya sel'KhoZ* 5:31-35. In *Weeds Abstr.* 17:3532 (1968).
- HANSON, J. B.; SLIFE, F. W. 1961. How does 2,4-D kill a plant?. *Illinois Res.* 3:3-4.
- KIRKWOOD, R. C. 1983. The relationship of metabolism studies to the mode of action of herbicides. *Pesticide Science* 14:453-460.
- LOWE, S; MUISCHNEK, H. 1926. Ueber kombinationswirkungen. *Arch. exp. Path. Pharmak.* 114:313-326.
- MAESTRI, M.; CURRIER, H. B. 1958. Interaction of maleic hydrazyde and endothall. *Weeds (EE.UU.)* 6:315-326.
- O'DONOVAN, J. T.; O'SULLIVAN, P. A.; CALDWELL, D. C. 1983. Basis for antagonism of paraquat phytotoxicity to barley by MCPA dimethylamine. *Weed Research (Gran Bretaña)* 23:165-172.
- PUTMAN, A.R.; RIES, R. K. 1967. The synergistic action of herbicide combinations containing paraquat on *Agropyron repens* (L) Beauv. *Weed Research (Gran Bretaña)* 7:191-199.
- WHITE, B. G. 1969. Bipyridylum quaternary salts and related compounds. *Trans. Faraday Soc.* 65:2000-2015.

A N E X O S

**ANEXO 1. CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL SUELO
UTILIZADO EN LOS BIOANALISIS**

Cuadro 1. Características físicas y químicas del suelo empleado en los diferentes bioanálisis de casa de mallas.

Análisis de textura							
Arena (%)		Limo (%)		Arcilla (%)		Textura	
45.6		33.6		20.8		Franco	
Análisis de fertilidad							
pH en agua	P (mg/l)	Ca	Mg	K	Acd. Ext.	M.O (%)	N (%)
		(meq/100 ml de suelo)					
5.6	41.5	5.91	0.83	0.29	0.20	8.48	0.45

ANEXO 2. APLICACION DEL ANALISIS PROBIT, BIOANALISIS PRELIMINARES

Programa SAS empleado:

```

OPTIONS PAGESIZE = 60 LINESIZE = 70 NODATE;
DATA A;
INPUT DOSIS N DR;
RESP = DR/100*N;
RELA = RESP/N;
CARDS;
  0      20      0.000
  6.9    20      11.12
 16.0    20      44.65
 37.0    20      68.68
 83.0    20      73.62
;
PROC PRINT;
PROC PROBIT LOG10;
  MODEL RESP/N = DOSIS / LACKFIT INVERSECL ITPRINT;
  OUTPUT OUT = B P = PROB STD = STD XBETA = XBETA;
  TITLE 'SALIDA DEL PROCEDIMIENTO PROBIT';
RUN;
PROC PLOT;
  PLOT RELA*DOSIS = 'X' PROB*DOSIS = 'P'/OVERLAY;
  TITLE 'GRAFICACION DE LAS PROBABILIDADES OBSERVADAS Y AJUSTADAS';
RUN;

```

Secciones de la salida del programa anterior correspondiente al bioanálisis de *B. pilosa*-paraquat:

	1	2	3	4
Iter	Ridge	LogLikelihood	INTERCPT	Log10(DOSIS)
0	0	-55.4517744448	0	0
1	0	-45.92201958327	-2.062240696	1.4811636824
2	0	-45.81592258891	-2.320352065	1.6583132887
3	0	-45.81587832948	-2.325803203	1.6619171905
4	0	-45.81587832948	-2.325805734	1.6619188141

La primer columna se refiere a las iteraciones realizadas por el programa hasta la obtención de valores en los parámetros que prácticamente no cambian. La segunda es el estimado del logaritmo del máximo valor de la función de verosimilitud que se emplea en pruebas de hipótesis tales como de igualdad de

pendientes o interceptos de dos líneas de respuesta (Robertson, 1992). La columna tres contiene la estimación del intercepto (α) y la cuatro la pendiente (β), con estos dos parámetros queda definida la línea de respuesta que viene dada en términos de Z, ($Y = \alpha + \beta X$, donde X son estimaciones del estímulo en log dosis y Y son predicciones de la respuesta en desviaciones de la curva normal estándar; por consiguiente al sustituir Y por cero y despejar X se obtiene la DR50, es decir μ). Para obtener Y en probitos, es necesario sumar 5 al intercepto, ya que SAS emplea desviaciones normales para los cálculos. La Figura 1 de este Anexo contiene a Y expresado en probitos y la Figura 2 expresado en términos de Z (desviaciones normales).

Statistic	Goodness-of-Fit Tests		
	Value	DF	Prob>Chi-Sq
Pearson Chi-Square	2.1973	2	0.3333
L.R. Chi-Square	2.2298	2	0.3279

Response Levels: 2 Number of Covariate Values: 4
 NOTE: Since the chi-square is small ($p > 0.1000$), fiducial limits will be calculated using a t value of 1.96.

Lo anterior es una prueba de bondad de ajuste basada en chi cuadrados (uno de Pearson y el otro basado en la razón de verosimilitud); es útil para estimar la adaptación del modelo a los datos, si la probabilidad de obtener un chi cuadrado mayor que el calculado es menor que 0.1 el programa da un mensaje de advertencia de posible desviación sistemática de los datos transformados y aplica un factor de corrección a las varianzas y covarianzas, además los límites de confianza son calculados empleando valores de t más elevados.

Variable	DF	Estimate	Std Err	ChiSquare	Pr>Chi	Label/Value
INTERCPT	1	-2.3258057	0.579893	16.08612	0.0001	Intercept
Log10(DOS)	1	1.66191881	0.399597	17.29721	0.0001	

La anterior sección presenta el intercepto y la pendiente con

sus respectivos errores estándar de estimación. Robertson y Preisler (1992) señalan que es importante la relación entre el parámetro y su error estándar. Si la razón de la pendiente entre su error estándar (razón de t de la pendiente) no es mayor que 1.96 (5% de significancia para la distribución de t con infinitos grados de libertad), la regresión es no significativa a un P de 0.05 aproximadamente, entonces la respuesta probit no es una función lineal de dosis o concentración; aclaran que la prueba no equivale a la de bondad de ajuste de chi cuadrado.

	Estimated Covariance Matrix	
	INTERCPT	Log10(DOSIS)
INTERCPT	0.336276	-0.223679
Log10(DOSIS)	-0.223679	0.159677

La matriz de varianza y covarianza del intercepto y la pendiente de la sección anterior son necesarias para la estimación de intervalos de confianza al 95% de las funciones de dosis letal, tales como razones de resistencia (Robertson y Preisler, 1992)

Probit Model in Terms of Tolerance Distribution	
MU	SIGMA
1.39947	0.601714

Mu (μ) es la media (DR_{50}) y sigma (σ) es la desviación estándar de la distribución de log tolerancia, ésta última es la que determina la forma de la curva y es igual a $1/\beta$. Conociendo éstos dos parámetros la ecuación de distribución normal puede expresarse también por medio de ellos: $Y = 5 + (X - \mu)/\sigma$, donde Y viene dado en probitos y X es el logaritmo de la dosis, al no agregar cinco se obtienen unidades de desviación estándar.

Sección 1:

Probit Analysis on Log10(DOSIS)			
Probability	Log10(DOSIS)	95 Percent Fiducial Limits	
		Lower	Upper
0.01	-0.00033	-1.27302	0.47231
0.02	0.16370	-0.96585	0.58685
0.50	1.39947	1.19655	1.60163
0.99	2.79927	2.32745	4.06960

Sección 2:

Probit Analysis on DOSIS			
Probability	DOSIS	95 Percent Fiducial Limits	
		Lower	Upper
0.01	0.99925	0.05333	2.96694
0.02	1.45781	0.10818	3.86235
0.50	25.08824	15.72337	39.96005
0.99	629.89254	212.54418	11738

Las dos secciones anteriores corresponden a las dosis estimadas por SAS a lo largo de los límites de confianza al 95% para diferentes niveles de probabilidad (de 0.01 a 0.1 por 0.01; de 0.15 a 0.85 por 0.05 y de 0.90 a 0.99 por 0.01). En la primera sección la salida del programa presenta las dosis en logaritmo de la concentración (dosis metámetro) y en la segunda en las unidades empleadas.

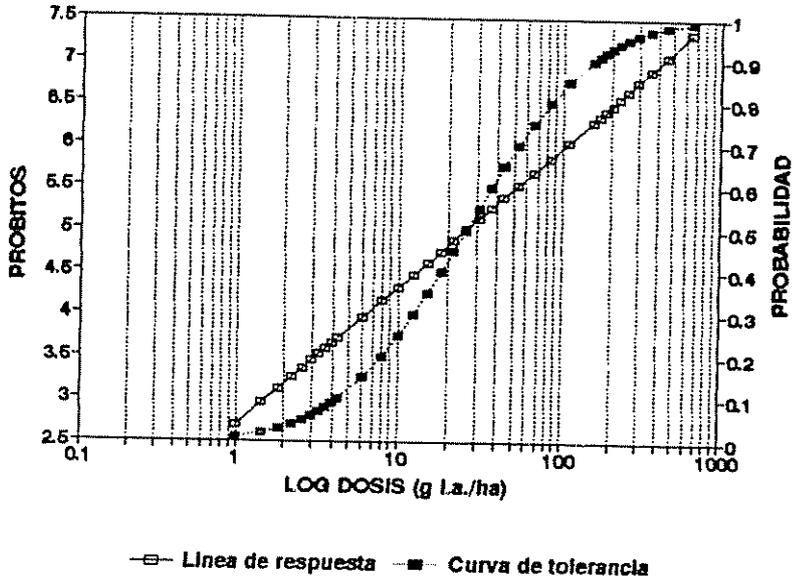


Figura 1. Línea de respuesta (log dosis versus probitos) y curva de tolerancia (log dosis versus probabilidades) de *B. pilosa* a la aplicación de paraquat.

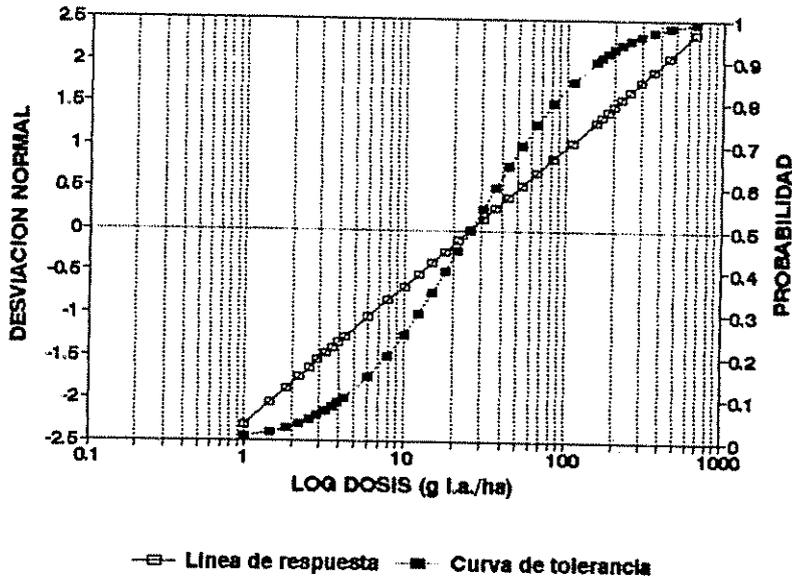


Figura 2. Líneas de respuesta (log dosis versus desviaciones normales) y curva de tolerancia (log dosis versus probabilidades) de *B. pilosa* a la aplicación de paraquat.

ANEXO 3. RESPUESTAS A LA APLICACION DE PARAQUAT (BIOANALISIS PRELIMINARES)

<u>B. pilosa (base p. seco)</u>					<u>B. latifolia (base p. seco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ	g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ
0.0	20	0.00	15.88	0	0	40	0.00	6.98	0
6.9	20	11.12	7.55	2	60	40	14.46	15.17	10
16.0	20	44.65	12.81	19	120	40	29.90	10.55	27
37.0	20	68.68	30.84	46	240	40	40.21	17.30	48
83.0	20	73.62	20.87	74	480	40	51.41	22.87	53
192.0	20	74.39	26.58	92	960	40	53.71	11.05	66
442.1	20	78.92	21.78	98	1920	40	52.10	13.80	63
1017.0	20	78.57	25.58	100	3840	40	57.38	20.67	86
2343.0	20	77.23	15.56	100	7680	40	58.63	13.30	96

<u>D. cordata (base p. fresco)</u>					<u>E. fosbergii (base p. seco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ	g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ
0	40	0.00	16.28	0	0.00	30	0.00	4.24	0
13.8	40	28.76	13.73	0	2.00	30	3.68	6.15	0
28	30	14.07	16.83	2	5.00	30	8.52	21.98	0
55	40	20.38	9.98	8	12.50	30	6.16	6.36	5
111	40	39.34	23.97	12	31.25	30	19.72	15.21	24
221	30	41.80	11.57	23	78.13	30	60.82	6.74	83
442.1	30	63.49	20.54	45	195.31	30	68.13	17.14	100
884	30	68.22	20.88	72	488.28	30	70.17	9.42	100
1768	30	82.83	20.95	85	1220.73	30	65.33	7.75	100

<u>P. oleracea (base p. seco)</u>					<u>R. scabra (base p. seco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ	g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ
0	40	0.00	21.74	0	0	32	0.00	15.24	0
13.8	40	-5.56	16.56	1	13.8	32	-3.37	7.36	0
28	40	37.88	7.28	5	28	32	8.15	14.52	6
55	40	55.09	26.59	29	55	32	16.97	19.23	34
111	40	65.40	33.92	60	111	32	39.96	8.31	51
221	40	81.53	15.72	81	221	32	60.42	20.01	82
442.1	40	85.70	24.86	91	442.1	32	61.21	17.71	93
884	40	84.90	28.02	97	884	32	67.97	21.06	97
1768	40	67.92	32.22	100	1768	32	63.80	22.80	98

Notas: a) (base p. seco) o (base p. fresco) = (base peso seco o fresco) variable base para la estimación de porcentaje de disminución de rendimiento. b) g/ha = gramos de i.a./ha como ion paraquat. c) N = número de plantas por tratamiento. d) %DR = porcentaje de disminución de rendimiento. e) CV = coeficiente de variación. f) %DAÑ = porcentaje de daño estimado con base al tejido necrosado. g) Los bloques resaltados corresponden al grupo de datos sometido a análisis probit en cada experimento.

ANEXO 4. RESPUESTAS A LA APLICACION DE 2,4-D. (BIOANALISIS PRELIMINARES)

<u>B. pilosa (base p. seco)</u>					<u>B. latifolia (base p. fresco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%DAÑ	g/ha	N	%DR	CV	%T.N.
0	25	0.00	14.81	0	0	32	0.00	7.34	0
3	25	15.44	5.99	20	39.5	24	39.46	22.53	0
7.5	25	20.00	9.06	30	79	24	25.19	5.21	0
18.75	25	28.67	14.93	35	158	24	45.61	22.82	0
46.875	25	52.04	7.92	45	316	24	55.47	5.80	0
117.188	25	55.58	11.37	55	632	32	60.72	28.50	3
292.969	25	56.32	12.54	69	1263	32	67.75	19.07	20
732.422	25	58.86	5.96	72	2526	32	77.69	21.86	50
1831.06	25	68.67	15.07	94	5053	32	89.70	30.33	91

<u>D. cordata (base p. seco)</u>					<u>E. fosbergii (base p. seco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%T.N.	g/ha	N	%DR	CV	%T.N.
0	48	0	9.967	0	0	24	0.00	12.63	0
39.5	48	19.42	3.704	0	39.5	24	19.14	13.91	1
79	48	39.74	7.196	0	79	24	59.69	13.04	3
158	48	44.51	16.36	0	158	24	60.70	14.19	5
316	48	52.51	21.83	50	316	24	68.36	19.50	7
632	48	62.39	14.28	60	632	24	71.03	13.97	15
1263.2	48	73.92	7.767	73	1263	24	78.24	24.36	35
2526	48	81.84	15.59	86	2526	24	79.48	9.11	70
5053	48	86.29	16.37	97	5053	24	86.65	42.55	90

<u>P. oleracea (base p. seco)</u>					<u>R. scabra (base p. seco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%T.N.	g/ha	N	%DR	CV	%T.N.
0	40	0.00	9.09	0	0	32	0.00	14.78	0
39.5	40	9.87	3.64	0	158	32	36.48	10.33	0
79	40	17.00	9.27	0	316	32	40.84	9.55	4
158	40	37.06	17.23	0	632	32	45.65	16.26	5
316	40	57.92	12.96	1	1263	32	51.49	8.01	8
632	40	61.21	8.50	2	2526	32	52.21	9.82	10
1263.2	40	67.82	13.59	15	5053	32	61.82	5.53	60
2526	40	68.89	17.90	30	10110	32	71.99	27.68	73
5053	40	76.31	23.86	91	20210	32	78.57	13.83	91

<u>B. pilosa (base p. fresco)</u>				
g/ha	N	%DR	CV	%T.N.
0	20	0.00	7.66	0
39.5	20	50.07	14.43	0
79	20	58.58	15.34	0
158	20	66.09	29.88	0
316	20	71.86	14.15	0
632	20	80.90	47.25	10
1263.2	20	85.92	40.61	25
2526	20	90.90	35.20	70
5053	20	93.43	26.84	95

Notas: base p. seco o base p. fresco = (base peso seco o fresco) variable base para la estimación de porcentaje de disminución de rendimiento; g/ha = gramos de e. a./ha. (equivalente ácido por ha); N = número de plantas por tratamiento; % DR = porcentaje de disminución de rendimiento; CV = coeficiente de variación; % DAÑ = porcentaje de daño con base a las manifestaciones anormales de la planta debidas al herbicida (marchitez, reducción de vigor, deformación de órganos, necrosamiento de tejidos); % T.N. proporción de follaje necrosado estimada en porcentaje.

ANEXO 5. CURVAS DE RESPUESTA ESTIMADAS Y SU AJUSTE A VALORES OBSERVADOS (BIOANÁLISIS PRELIMINARES)

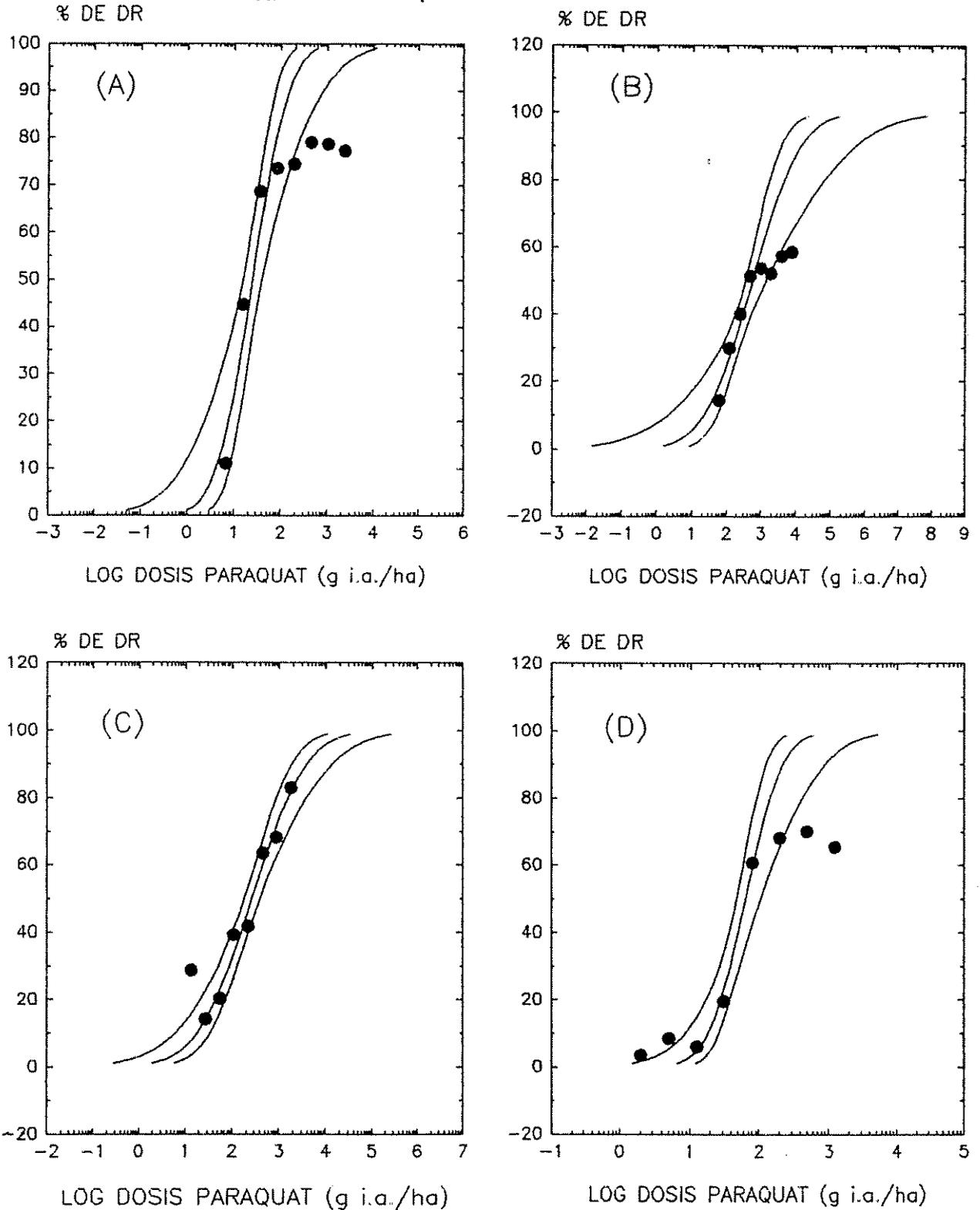


Figura 3. Curvas de log tolerancia e intervalos de confianza de las respuestas estimadas a la aplicación de paraquat de 4 malezas de cafetal y su ajuste a valores observados de disminución de rendimiento en porcentaje de peso seco respecto al testigo. (A) *B. pilosa*, (B) *B. latifolia*, (C) *D. cordata*, (D) *E. fosbergii*.

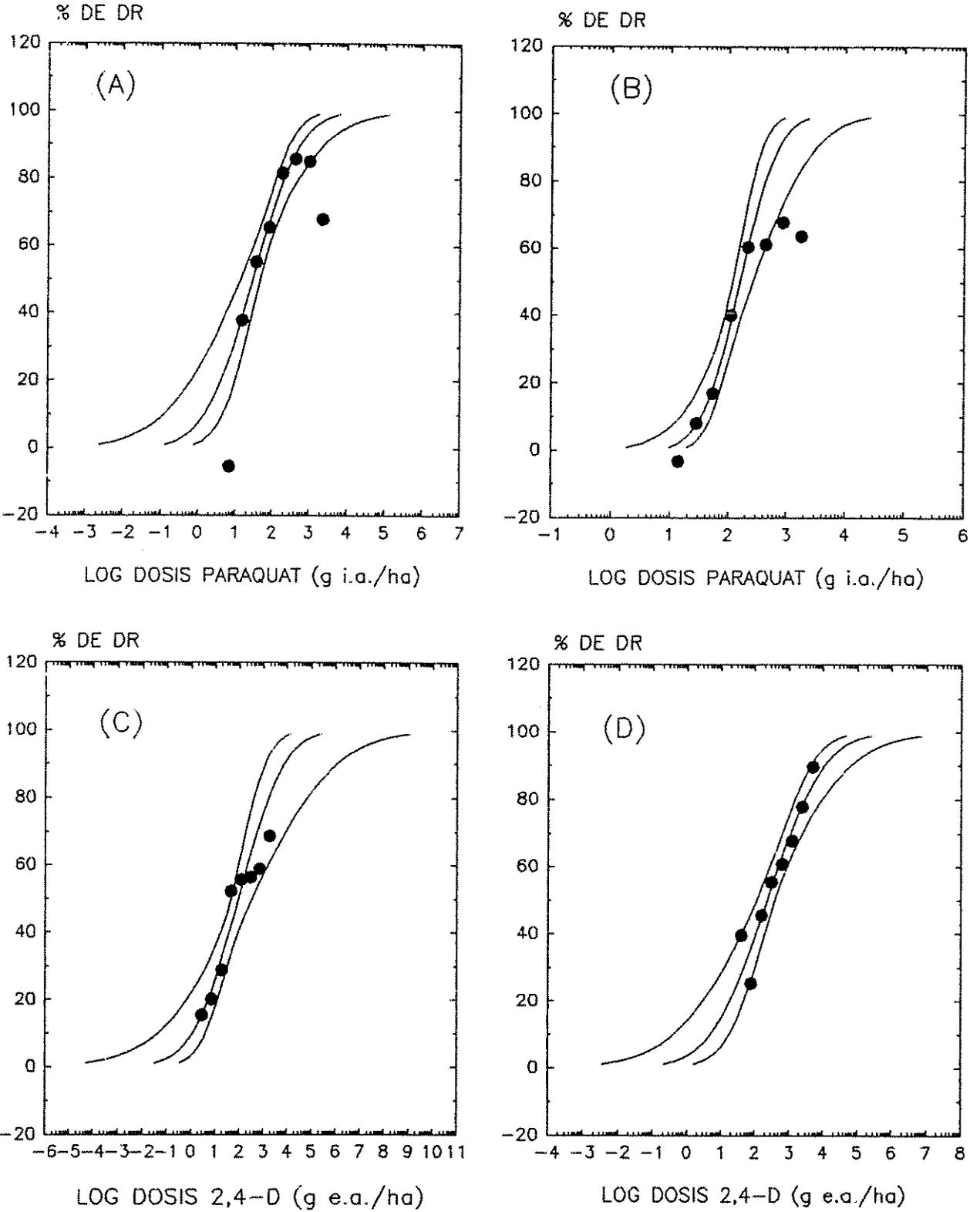


Figura 4. Bandas al 95% de confianza relativas a dosis de paraquat y 2, 4-D en la disminución de rendimiento en porcentaje de peso seco respecto al testigo de cuatro malezas de cafetal y su ajuste a valores observados. (A) *P. oleracea*, (B) *R. scabra*, (C) *B. pilosa*, (D) *B. latifolia*.

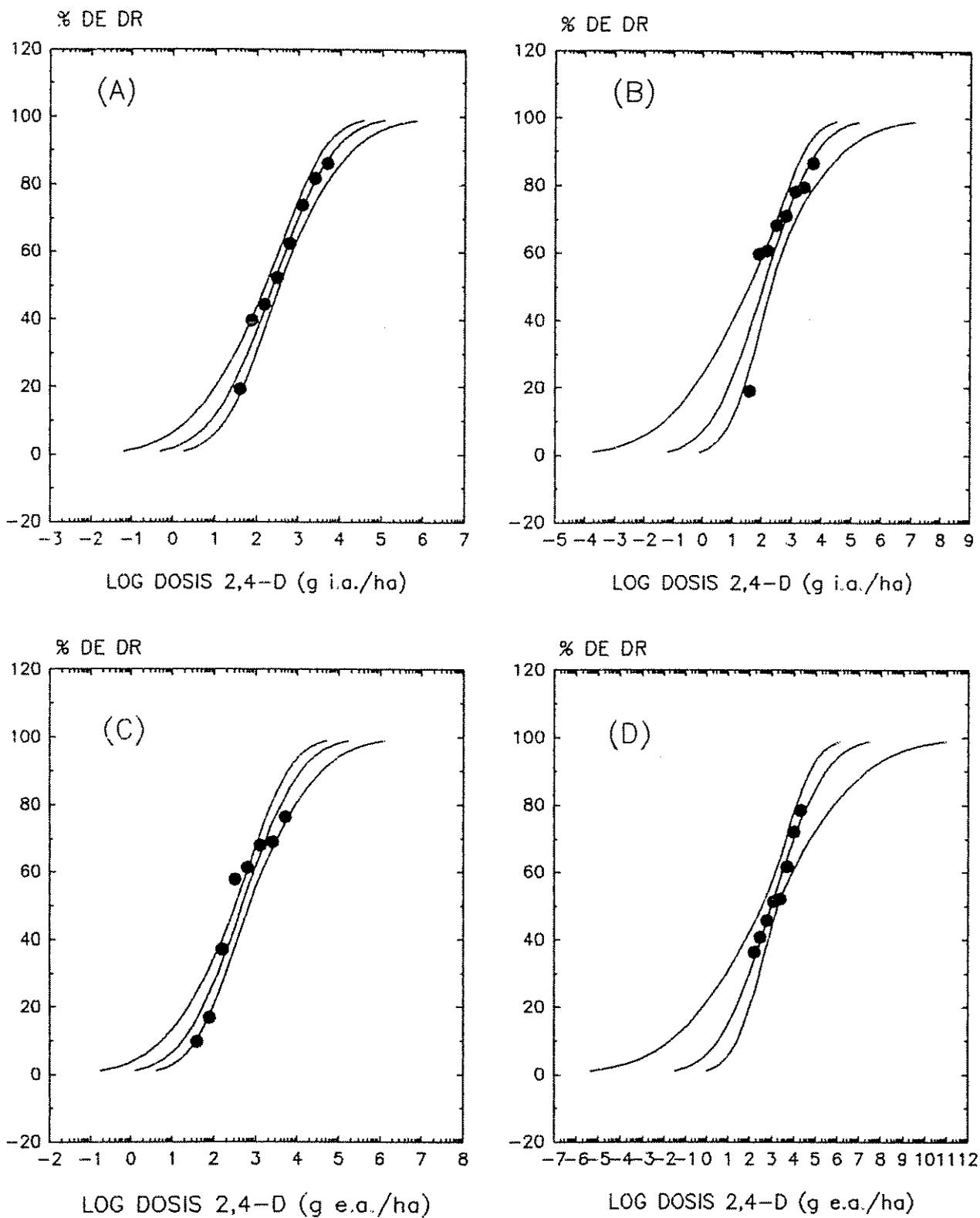


Figura 5. Bandas al 95% de confianza relativas a dosis de 2,4-D en la disminución de rendimiento en porcentaje de peso seco respecto al testigo en 4 malezas de cafetal y su ajuste a valores observados. (A) *D. cordata*, (B) *E. fosbergii*, (C) *P. oleracea*, (D) *R. scabra*.

ANEXO 6. ANALISIS DE VARIANZA DE LOS BIOANALISIS DE ACCION
CONJUNTA REALIZADOS EN LA CASA DE MALLAS

Programa SAS para la estimación de los efectos de bloque, efectos simples, acción conjunta de los herbicidas y error experimental. Incluye instrucción para verificar heterogeneidad de varianzas.

```

OPTIONS PS = 60 NODATE;
DATA BID1ANVA;
KEEP BLOQUE A B PESEC;
INPUT A$ B$ BL1-BL6;
ARRAY BL BL1-BL6;
BLOQUE = 0;
  DO OVER BL;
    PESEC = BL;
    BLOQUE = BLOQUE + 1;
    OUTPUT;
  END;
CARDS;
0 0 3.250 3.394 4.599 4.178 4.252 4.190
1 0 3.388 3.028 3.743 4.677 3.78 3.668
.....
0 4 1.461 1.636 2.168 2.047 2.319 2.2
0 5 1.304 1.531 2.47 2.156 1.824 2.078
;
PROC PRINT;
DATA B; SET BID1ANVA;
TRAT = A||B;
PROC GLM;
CLASS BLOQUE A B;
MODEL PESEC = BLOQUE A B A*B;
PROC DISCRIM METHOD = NORMAL SHORT POOL = TEST;
CLASS TRAT;
VAR PESEC;
RUN;

```

Notas: Las variables A\$ y B\$ del "INPUT" corresponden a los niveles de los herbicidas y BL1-BL6 a bloques.

Cuadro 3. Análisis de varianza general de los datos sin transformar. Primer bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: peso seco (identificada como PESEC o CRECI en los programas de computación)

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	40	177.273	4.4318	28.47	0.0001
Error	175	27.240	0.1557		
Total	215	204.513			

Prueba de Chi cuadrado, valor = 30.964137 con 35 G.L. Prob. > de Chi cuadrado = 0.6634. Ya que el valor de chi cuadrado no es significativo al nivel de 0.1, se dice que hay homogeneidad de varianza.

Cuadro 4. Análisis de varianza de interacción entre los herbicidas A (paraquat) y B (2,4-D), datos sin transformar. Primer bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: peso seco (identificada como CRECI en el programa)

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
BLOQUE	5	25.149	5.030	32.31	0.0001
A	5	91.778	18.356	117.92	0.0001
B	5	35.974	7.195	46.22	0.0001
A*B	25	24.373	0.975	6.26	0.0001

Cuadro 5. Análisis de varianza de los datos transformados. Primer bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: logaritmo de peso seco (Y).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	40	7.31522	0.18888	25.07	0.0001
Error	175	1.27678	0.00730		
Total	215	8.59201			

Cuadro 6. Análisis de varianza de los datos sin transformar. segundo bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: peso seco (identificada como PESEC o CRECI en los programas).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	39	370.361	9.496	22.95	0.0001
Error	140	57.930	0.414		
Total	179	428.291			

Prueba de Chi cuadrado, Valor = 29.693091 con 35 G.L., Prob. > Chi cuadrado = 0.7220. Ya que el valor de chi cuadrado no es significativo al nivel de 0.1, se dice que hay homogeneidad de varianza.

Cuadro 7. Análisis de varianza de interacción entre los herbicidas A (paraquat) y B (2,4-D), datos sin transformar. Segundo bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: peso seco (identificada como PESEC o CRECI en los programas de computación).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
BLOQUE	4	52.521	13.130	31.73	0.0001
A	5	115.291	23.058	55.73	0.0001
B	5	172.655	34.531	83.45	0.0001
A*B	25	29.894	1.1958	2.89	0.0001

Cuadro 8. Análisis de varianza de los datos transformados. Segundo bioanálisis de *B. pilosa*. Variable dependiente: logaritmo de peso seco (Y).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	39	2.576	0.06605	23.67	0.0001
Error	140	0.39063	0.00279		
Total	179	2.9666			

Cuadro 9. Análisis de varianza de los datos sin transformar. Bioanálisis de *R. scabra*. Variable dependiente: peso seco (identificada como PESEC o CRECI en los programas de computación).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	40	526.372	13.159	57.69	0.0001
Error	175	39.916	0.2281		
Total (Corr.)	215	566.289			

Prueba de Chi cuadrado, Valor = 70.289382, con 35 G.L., Prob. > Chi cuadrado = 0.0004. Ya que el valor de chi cuadrado es significativo al nivel de 0.1, se dice que hay heterogeneidad de varianza, por lo cual se hace necesario la transformación de los datos para aplicar adecuadamente el análisis de varianza.

Cuadro 10. Análisis de varianza de los datos transformados. Bioanálisis de *R. scabra*. Variable dependiente: Log_{10} (peso seco), (identificada como Y en los programas SAS).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
Modelo	40	9.969	0.2492	62.90	0.0001
Error	175	0.693	0.00396		
Total (Corr.)	215	10.663			

Prueba de Chi Cuadrado, Valor = 22.527416 con 35 G.L., Prob > Chi cuadrado = 0.9490. Ya que el valor de chi cuadrado no es significativo al nivel de 0.1, se dice que hay homogeneidad de varianza (la transformación corrigió la heterogeneidad).

Cuadro 11. Análisis de varianza de interacción entre los herbicidas A (paraquat) y B (2,4-D), datos transformados. Bioanálisis de *R. scabra*. Variable dependiente: logaritmo de peso seco (identificada como Y en los programas de computación).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
BLOQUE	5	1.124	0.22471	56.71	0.0001
A	5	5.744	1.14887	289.92	0.0001
B	5	1.501	0.30017	75.75	0.0001
A*B	25	1.601	0.06403	16.16	0.0001

ANEXO 7. APLICACION DEL MODELO PROPUESTO POR FLINT et al.
(1988) AL PRIMER BIOANALISIS DE *B. pilosa*

La aplicación del modelo se hizo mediante el empleo del programa en SAS elaborado por los mismos autores, el cual se presenta a continuación con algunos agregados (agregados en minúscula):

```

options ps = 60;
DATA BIDEDEF;
INPUT REP A B CRECI;
Y = LOG10(CRECI);
ARRAY XA(I) A1-A5;
ARRAY XB(J) B1-B5;
ARRAY XAB(K) AB11-AB15 AB21-AB25 AB31-AB35 AB41-AB45
              AB51-AB55;
K = 0;
DO I = 1 TO 5;
  XA = (A = I);
  DO J = 1 TO 5;
    XB = (B = J);
    K = K + 1;
    XAB = XA * XB;
  END;
END;
ARRAY XR(M) R1-R5;
DO M = 1 TO 5;
  XR = (REP = M) - (REP = 6);
END;
CARDS;
  1      0      0      3.25033
  2      0      0      3.39433
  .      .      .      .
  .      .      .      .
  5      5      5      1.65500
  6      5      5      1.17800
;
PROC PRINT;
PROC GLM;
MODEL CRECI Y = R1-R5 A1-A5 B1-B5 AB11-AB15 AB21-AB25
              AB31-AB35 AB41-AB45 AB51-AB55;
  output out=resi p=pcreci py r=rcreci ry;
data a;set resi;
proc plot; plot rcreci*pcreci ry*py/hpos=60 vpos=30;
data a;set bidedef;
proc sort; by a b;
proc means n mean std noprint;by a b;var creci y;
output out=med1 n=ncreci ny mean=mcreci my std=stcreci sty;
data a;set med1;
title 'medias de peso seco para cada nivel de tratamiento';
proc print;var a b ncreci mcreci stcreci ny my sty;
RUN;

```

El diseño fue de bloques completos al azar en arreglo factorial 6x6, con 6 repeticiones. Los datos se ordenaron como se especifica en el "INPUT", las repeticiones (REP) se indicaron como enteros y se codificaron de 1 a r (r = No. de repeticiones o bloques), las variables A y B identifican los niveles de los dos herbicidas que se codificaron de cero hasta el nivel superior, con cero indicando cero nivel de herbicida. Así: un registro 5 3 1 2.177 corresponde a la repetición (bloque) 5, con el herbicida A (paraquat) a nivel 3, y el B (2,4-D) a nivel 1, y la medición de la variable de respuesta CRECI es de 2.177. De acuerdo a los autores el modelo ya ajustado por el procedimiento GLM de SAS proporciona coeficientes de regresión (estimados de parámetros) que se pueden demostrar son funciones lineales de las medias μ_{ij} . de mínimos cuadrados; así la media del testigo (μ_{00}) es el estimado del intercepto, los estimados de α_i están dados por $\mu_{i0} - \mu_{00}$, los β_j por $\mu_{0j} - \mu_{00}$ y las interacciones I_{ij} por $\mu_{ij} - \mu_{i0} - \mu_{0j} + \mu_{00}$. Para la demostración (cálculos a mano) se emplean los resultados del primer experimento de *B. pilosa* (Cuadro 19), con la combinación del nivel 1 del factor A con el nivel 2 del factor B:

a) Estimado de interacción (coeficiente de la regresión sobre AB_{ij} denotado por I_{ij}):

$$I_{12} = \mu_{12} - \mu_{10} - \mu_{02} + \mu_{00}$$

$$I_{12} = 0.50761 - 0.56603 - 0.58619 + 0.59618$$

$$I_{12} = - 0.04843$$

b) Estimado del coeficiente para la regresión sobre A_i denotado por α :

$$\alpha_1 = \mu_{10} - \mu_{00}$$

$$\alpha_1 = 0.56603 - 0.59618 = - 0.03015$$

c) Estimado del coeficiente para la regresión sobre B_j denotado por β :

$$\beta_1 = \mu_{01} - \mu_{00}$$

$$\beta_1 = 0.59940 - 0.59618 = 0.00322$$

El cálculo a mano del error de las interacciones (I_{ij}), se puede hacer mediante la fórmula convencional del error estándar de un contraste (en caso de datos balanceados) (Steel y Torrie, 1988):

$$\begin{aligned} \text{Error estándar de una interacción: } & [(\sum C_{ij}^2)S^2/r]^{1/2} \\ & = [(4)(0.00729590)/6]^{1/2} \\ & = 0.069741905 \end{aligned}$$

donde S^2 es el cuadrado medio del error obtenido del análisis de varianza de los datos transformados (o el cuadrado medio residual del ajuste del modelo reparametrizado), r es el número de repeticiones o bloques (para el caso 6) y el C_{ij} es el coeficiente de la media para los I_{ij} contrastes, por lo que $\sum C_{ij}^2 = 4$.

$$\begin{aligned} \text{Para los coeficientes de regresión } \alpha \text{ y } \beta: & [(\sum C_{ij}^2)S^2/r]^{1/2} \\ & = [(2)(0.00729590)/6]^{1/2} \\ & = 0.049311497 \end{aligned}$$

La estimación del valor de T se hace con base en la hipótesis de que el parámetro es igual a cero:

$$t_c = \frac{-0.04843 - 0}{0.069742} = -0.6944$$

Si se desea comparar el valor con la t de tablas, ésta se localiza con los grados de libertad del cuadrado medio del error al alfa establecido, para el caso: $t_{\alpha 0.05, 175 \text{ g.l.}} = 1.96$; por tanto como $|T|$ calculado es menor que t de tablas se acepta H_0 : de que el parámetro es igual a cero (no

interacción = aditividad) para esta combinación.

En el programa se ha agregado la instrucción para la graficación de los residuales (diferencias de valores estimados menos los observados), para los valores sin transformar y para los transformados. La dispersión de los residuales puede dar una idea del efecto de la transformación sobre los datos. Una distribución uniforme (no agrupada en un sector y dispersa en otro u otros) indica varianza homogénea. Para ilustración del efecto de la transformación de los datos, se presenta en la Figuras 6 y 7 de este Anexo el caso de *R. scabra*, pues en las respuestas de esta maleza se detectó heterogeneidad de varianza. Los residuales, como señalan Flint et al. (1988), pueden también calcularse manualmente:

$$\hat{Y}_{ijm} = \bar{Y}_{ij.} + \bar{Y}_{..m} - \bar{Y}_{...}$$

$$\text{Residual} = \hat{Y}_{ijm} - Y_{ijm}$$

donde:

\hat{Y}_{ijm} = Valor estimado (predicho)

$\bar{Y}_{ij.}$ = Promedio de tratamiento

$\bar{Y}_{..m}$ = Promedio de bloque

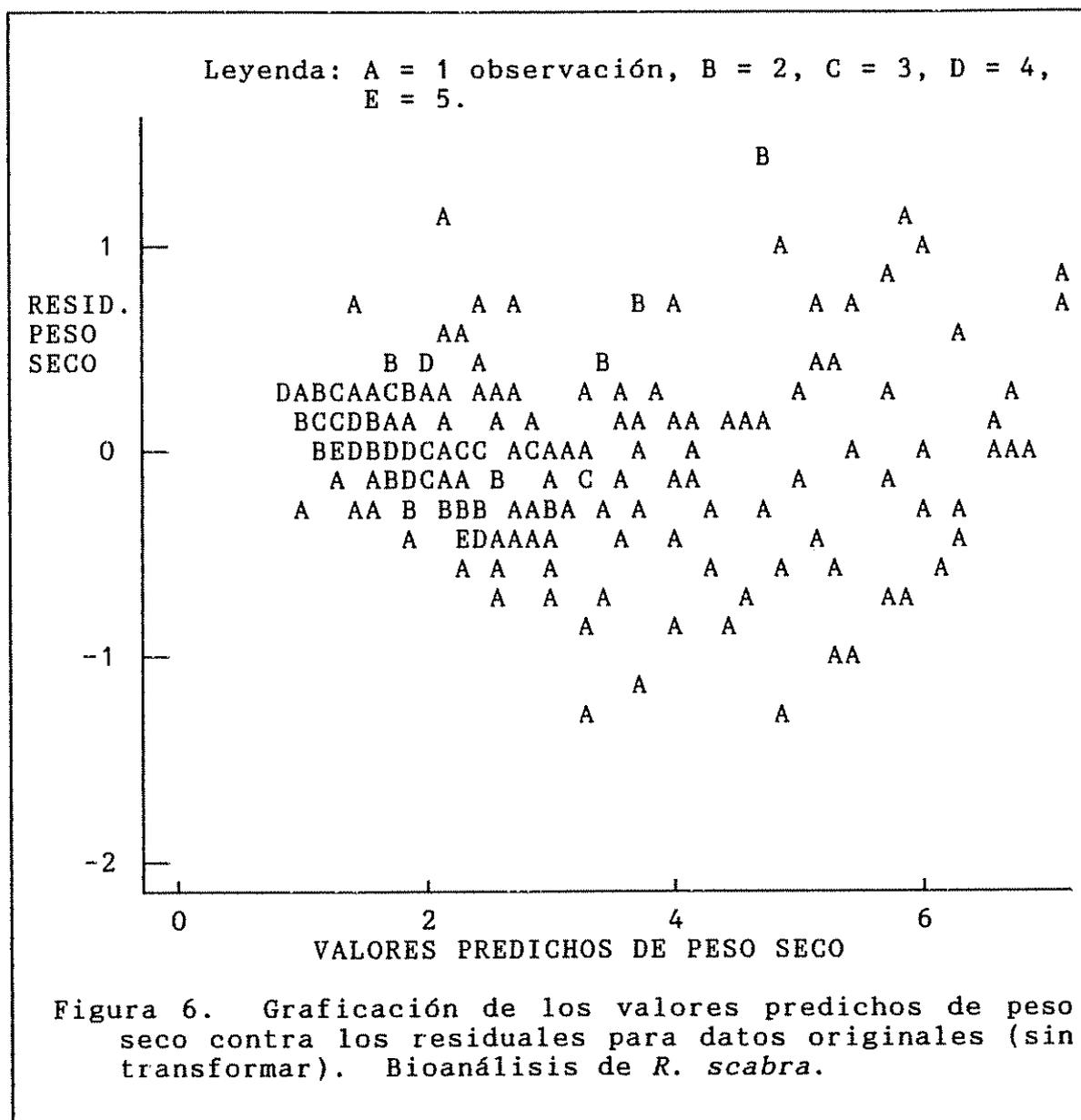
$\bar{Y}_{...}$ = Promedio general

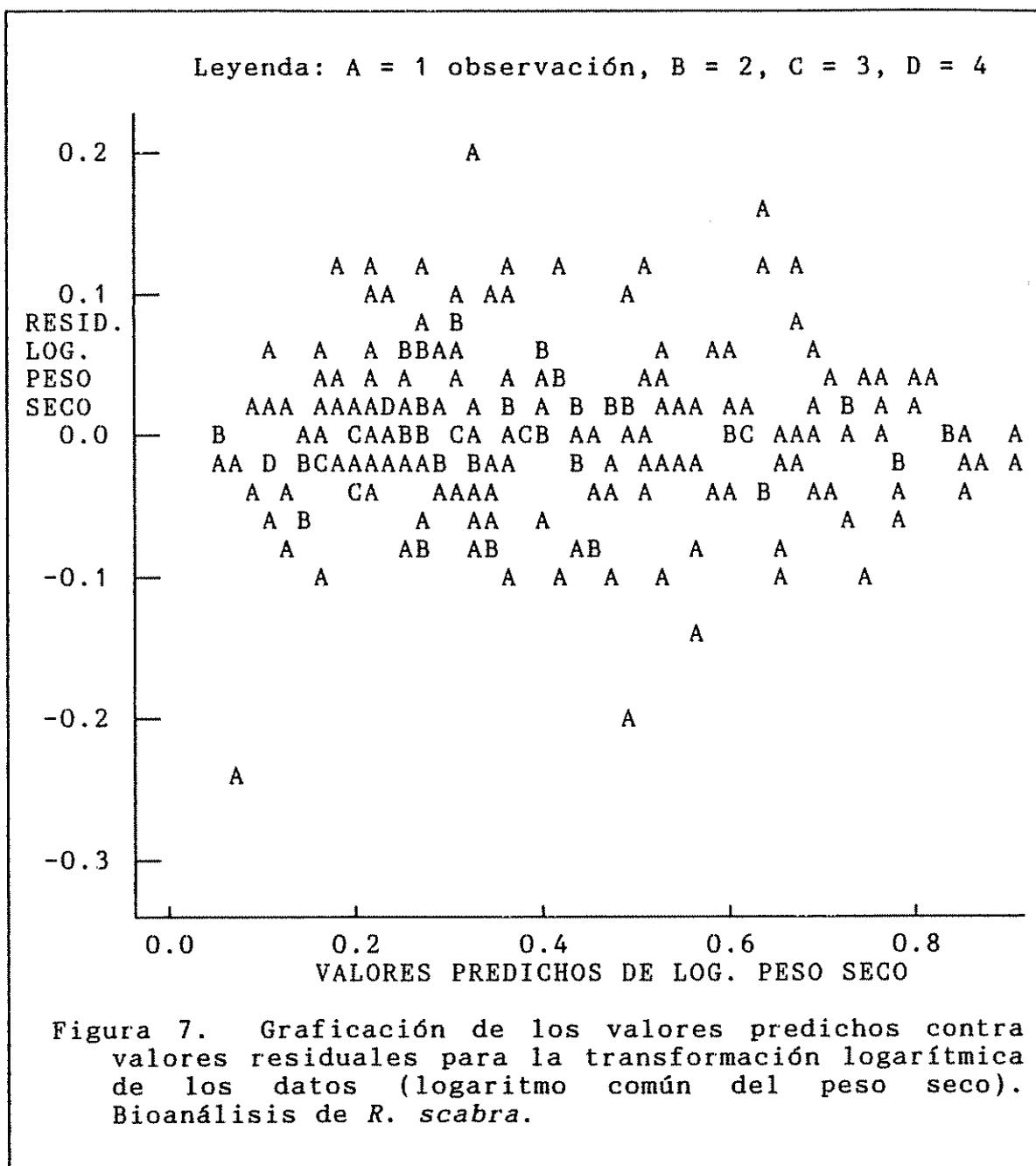
Y_{ijm} = Valor observado

Así para el tratamiento a_1b_1 , bloque I, el residual es:

$$\hat{Y}_{111} = \bar{Y}_{11.} + \bar{Y}_{..1} - \bar{Y}_{...} = 3.489 + 1.989 - 2.210 = 3.268$$

$$\text{Residual} = \hat{Y}_{111} - Y_{111} = 3.268 - 3.934 = -0.666$$





**ANEXO 8. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL PRIMER
BIOANALISIS DE *B. pilosa* SOBRE LA ACCION
CONJUNTA DE PARAQUAT CON 2,4-D**

Nivel A	Nivel B	Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	Bloque VI	MEDIA
0	0	3.250	3.394	4.599	4.178	4.252	4.190	3.977
0	1	3.693	3.023	3.792	4.641	4.345	4.625	4.020
0	2	3.857	2.841	4.062	3.405	4.941	4.393	3.917
0	3	2.247	2.108	2.667	3.352	3.316	3.826	2.919
0	4	1.461	1.636	2.168	2.047	2.319	2.200	1.972
0	5	1.304	1.531	2.470	2.156	1.824	2.078	1.894
1	0	3.388	3.028	3.743	4.677	3.780	3.668	3.714
1	1	3.934	2.451	2.938	4.240	3.866	3.506	3.489
1	2	3.179	2.630	3.828	3.575	3.414	2.844	3.245
1	3	2.495	1.636	2.300	3.123	2.390	2.050	2.332
1	4	1.902	1.349	2.353	2.490	2.147	1.848	2.015
1	5	1.690	1.514	2.050	2.398	2.012	1.509	1.862
2	0	2.651	1.609	3.205	3.598	2.769	2.296	2.688
2	1	2.424	2.010	2.675	3.505	3.568	2.329	2.752
2	2	2.790	1.859	2.900	3.052	3.530	3.159	2.882
2	3	2.642	1.683	2.285	2.287	2.484	2.950	2.389
2	4	1.565	1.622	2.642	2.525	3.686	2.182	2.370
2	5	1.341	1.091	2.131	2.422	1.792	1.678	1.743
3	0	1.929	2.727	1.884	2.668	3.598	2.168	2.496
3	1	2.417	1.741	1.815	2.708	2.177	1.611	2.078
3	2	1.866	1.553	2.675	3.149	3.146	2.257	2.441
3	3	1.587	0.879	2.170	2.123	3.578	1.589	1.988
3	4	2.599	1.294	1.493	1.669	2.044	1.986	1.848
3	5	1.415	1.431	1.634	1.417	1.793	1.783	1.579
4	0	1.440	1.550	1.701	1.676	2.417	1.764	1.758
4	1	1.071	1.126	2.809	2.236	2.039	2.368	1.942
4	2	1.632	1.106	2.303	1.443	2.001	0.985	1.578
4	3	1.377	0.743	1.940	1.572	1.697	1.397	1.454
4	4	1.250	0.795	1.793	1.457	1.271	0.870	1.239
4	5	1.237	1.000	1.456	1.728	1.744	1.490	1.443
5	0	0.982	0.701	1.699	1.415	0.999	1.718	1.252
5	1	0.878	0.610	2.212	0.967	1.171	1.064	1.150
5	2	1.014	0.666	1.269	2.199	1.610	1.354	1.352
5	3	1.167	0.703	2.010	1.455	1.302	1.198	1.306
5	4	0.950	0.441	1.880	1.940	1.141	1.299	1.275
5	5	0.994	0.837	1.170	1.385	1.655	1.178	1.203
MEDIA		1.989	1.581	2.409	2.524	2.551	2.206	2.210

ANEXO 9. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL SEGUNDO
BIOANALISIS DE *B. pilosa* SOBRE LA ACCION CONJUNTA
DE PARAQUAT (A) CON 2,4-D (B)

Nivel A	Nivel B	Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	MEDIA
0	0	8.60	8.48	7.75	7.18	5.97	7.596
0	1	6.09	7.88	8.43	7.26	6.53	7.238
0	2	9.23	7.56	7.39	6.80	6.08	7.412
0	3	8.64	7.18	5.70	5.74	5.66	6.584
0	4	6.46	5.09	4.46	4.16	4.23	4.88
0	5	3.77	5.31	4.00	3.21	2.37	3.732
1	0	7.49	6.82	8.28	6.54	5.29	6.884
1	1	6.64	8.59	7.58	6.66	6.34	7.162
1	2	7.17	8.36	6.81	7.19	5.05	6.916
1	3	7.20	8.04	6.96	5.69	5.08	6.594
1	4	5.81	5.46	5.78	4.28	4.33	5.132
1	5	4.33	3.41	4.15	3.91	3.04	3.768
2	0	7.42	8.17	7.45	6.59	5.53	7.032
2	1	6.20	7.47	7.52	6.58	5.94	6.742
2	2	7.15	7.88	6.26	6.14	6.01	6.688
2	3	7.40	6.58	6.29	5.99	5.30	6.312
2	4	6.34	6.25	5.58	4.65	4.14	5.392
2	5	4.56	3.89	3.99	3.41	3.63	3.896
3	0	7.77	8.32	6.39	7.06	5.66	7.04
3	1	6.62	7.35	7.68	5.62	5.84	6.622
3	2	8.58	7.45	6.40	5.58	5.62	6.726
3	3	6.54	6.21	5.82	5.59	4.98	5.828
3	4	4.00	5.68	6.25	4.34	3.78	4.81
3	5	4.41	4.37	4.12	3.52	4.11	4.106
4	0	6.47	6.40	5.56	6.06	5.32	5.962
4	1	6.09	6.05	6.16	5.77	5.02	5.818
4	2	5.90	5.02	6.34	5.13	5.20	5.518
4	3	6.05	5.52	6.35	5.36	4.87	5.63
4	4	5.96	4.83	4.52	4.56	3.32	4.638
4	5	4.01	4.04	3.50	3.69	3.66	3.78
5	0	4.44	4.28	4.00	2.61	3.55	3.776
5	1	3.37	4.30	3.68	3.19	4.60	3.828
5	2	5.28	5.35	4.72	5.56	3.68	4.918
5	3	3.09	4.31	4.43	4.94	3.29	4.012
5	4	4.79	3.30	3.96	2.76	3.80	3.722
5	5	3.91	3.94	3.18	2.97	2.12	3.224
MEDIA		6.049	6.087	5.762	5.175	4.693	5.553

ANEXO 10. DATOS DE PESO SECO EN GRAMOS DEL BIOANALISIS
DE *R. scabra* SOBRE LA ACCION CONJUNTA DE PARAQUAT (A)
CON 2,4-D (B)

Nivel A	Nivel B	Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	Bloque VI	MEDIA
0	0	8.231	6.910	6.772	5.901	6.007	5.687	6.585
0	1	7.866	7.018	6.712	5.625	6.089	5.033	6.391
0	2	7.024	6.145	5.802	4.759	3.579	3.880	5.198
0	3	4.819	4.023	4.120	3.475	3.690	3.059	3.864
0	4	3.200	2.720	2.401	2.868	2.393	2.411	2.666
0	5	2.920	2.006	1.941	2.147	1.659	1.453	2.021
1	0	6.862	5.586	5.954	4.699	5.645	4.313	5.510
1	1	6.469	6.848	5.212	5.508	4.455	5.862	5.726
1	2	6.993	4.361	4.687	4.447	6.140	3.527	5.026
1	3	3.805	4.135	4.406	3.575	3.197	2.308	3.571
1	4	3.850	2.915	2.997	2.964	2.627	1.956	2.885
1	5	2.456	1.813	2.006	2.004	1.813	1.636	1.955
2	0	5.421	4.657	4.524	3.620	3.108	4.393	4.287
2	1	5.767	4.032	4.149	2.649	3.639	3.844	4.013
2	2	6.166	4.379	3.960	3.333	3.139	2.400	3.896
2	3	4.695	3.805	2.684	2.907	2.976	2.429	3.249
2	4	3.842	2.390	2.607	2.461	2.294	2.531	2.688
2	5	2.257	2.252	1.886	1.777	1.546	1.466	1.864
3	0	2.677	2.459	3.041	1.864	1.768	1.494	2.217
3	1	2.013	2.779	3.425	2.869	1.857	2.210	2.526
3	2	3.068	2.030	2.770	2.063	2.048	2.080	2.343
3	3	3.180	2.764	2.246	1.825	3.253	1.542	2.468
3	4	3.132	2.765	2.916	1.874	2.740	1.776	2.534
3	5	2.515	2.364	1.913	1.606	1.441	1.183	1.837
4	0	1.870	1.773	1.674	1.407	1.392	1.152	1.545
4	1	2.185	1.990	1.906	1.542	1.389	1.215	1.705
4	2	1.748	2.446	2.052	1.614	1.168	1.350	1.730
4	3	1.645	2.152	1.438	1.407	1.216	1.135	1.499
4	4	2.604	2.409	2.412	2.421	1.544	1.806	2.199
4	5	2.194	1.970	1.801	1.623	1.435	1.257	1.713
5	0	1.984	2.218	1.660	1.593	1.368	1.236	1.677
5	1	1.964	1.780	1.740	1.606	1.337	1.133	1.593
5	2	2.129	1.737	1.634	1.321	1.146	1.163	1.522
5	3	1.886	1.916	1.407	1.108	1.479	1.083	1.480
5	4	2.002	1.458	1.679	2.008	1.227	1.311	1.614
5	5	1.996	2.140	2.028	1.665	1.231	0.691	1.625
MEDIA		3.707	3.198	3.071	2.670	2.584	2.306	2.923

ANEXO 11. PRUEBA DE ESTABILIDAD HERBICIDA DE LA MEZCLA DE TANQUE PARAQUAT-2,4-D A TRAVES DEL TIEMPO

1. JUSTIFICACION

Las distintas dosis de paraquat y 2,4-D, solas y en combinación, aplicadas en fechas diferentes sobre *Bidens pilosa* y *Richardia scabra* en dos bioanálisis respectivos, se asperjaron inmediatamente después de su preparación.

En un tercer bioanálisis realizado, para mejor control y comodidad en la técnica de aplicación, se procedió a preparar primero todas las dosificaciones compuestas por las dosis solas y combinadas de ambos herbicidas. Debido al elevado número de tratamientos en esta prueba, las últimas combinaciones de los herbicidas permanecieron por más tiempo antes de su aplicación que las primeras. De existir inestabilidad en la mezcla a través del tiempo, los resultados de la aplicación combinada de ambos herbicidas no podrían ser comparados satisfactoriamente; por esta razón se consideró conveniente determinar si la eficacia de la mezcla paraquat con 2,4-D era independiente del período transcurrido desde su preparación hasta su aplicación.

Los resultados obtenidos también se emplearon para definir el procedimiento a seguir en el bioanálisis de campo, ya que la preparación anticipada de las dosificaciones era más favorable en este caso, debido a las ventajas que ofrecía. El objetivo de la prueba fue la estimación del grado de estabilidad herbicida de la mezcla de tanque paraquat 2,4-D a través del tiempo. Para ello se planteó la hipótesis de que la mezcla paraquat-2,4-D posee un grado de estabilidad suficiente como para permitir una espera de al menos 24 horas

desde que es preparada hasta su aplicación, sin que ocurra pérdida significativa en su eficacia.

2. METODOLOGIA

a) Mezclas en solución acuosa de ambos herbicidas se prepararon antes de la aplicación sobre las malezas objetivo, a los siguientes períodos: 1608 horas (67 días); 96 h (4 días); 24 horas; 12 horas; 6 horas; 3 horas; 0.1 hora (al momento de preparación).

Para la selección de las dosis de prueba se tomó en cuenta la especie de maleza y las respuestas de ésta en bioanálisis anteriores. Las dosis de cada herbicida se ubicaron en el ámbito que provocaban una disminución de rendimiento entre el 30 y 40%, cuando el herbicida era aplicado en forma separada sobre la maleza respectiva.

b) Las malezas objetivo fueron *Emilia fosbergii* y *Bidens pilosa*, que se trasplantaron 19 días después de siembra, en número de seis plantas por maceta la primera y cinco la segunda. El trasplante se hizo en macetas de 16.5 cm de diámetro superior y de 12.5 cm de altura, que contenían aproximadamente 1.7 kg de suelo que había sido previamente tamizado y tratado a 200 C por 7 horas. Las características del suelo se presentan en este anexo (Anexo 1).

Previo a la siembra, las macetas se fertilizaron individualmente con 40 ml de una solución 0.5% v/v de fertilizante líquido (10:4:7:0.2:0.8 más microelementos)

c) Las mezclas de los herbicidas se aplicaron sobre las dos malezas 13 días después del trasplante, en una cámara de

aspersión controlada*, equipada con una boquilla 8001VS a razón de 300 l/ha. Las plantas de *B. pilosa* se trasladaron a la casa de mallas y las de *E. fosbergii* se expusieron al libre ambiente después del tratamiento hasta la evaluación final.

c) Los diseños experimentales utilizados fueron completamente aleatorizados y se compusieron de ocho tratamientos con cuatro repeticiones. El primer tratamiento correspondió al testigo absoluto (sin la aplicación de la mezcla) y del dos al ocho, a los diferentes períodos de tiempo señalados al inicio del capítulo y en el Cuadro 12 de este anexo.

d) Las variables evaluadas fueron peso seco, peso fresco y el grado de fitotoxicidad en las plántulas por maceta, este último fue evaluado visualmente. Como referencia para la comparación en la evaluación visual se utilizaron los testigos absolutos (sin aplicación de la mezcla).

e) El período de espera entre la aplicación y la evaluación fue de 12 días.

f) El tratamiento estadístico de los dos experimentos se hizo por medio de análisis de varianza y de regresión. Para el experimento de *E. fosbergii*, debido a la distribución de los datos, se aplicó además un modelo de regresión cuadrático y un procedimiento de regresión sobre la variable tiempo (en horas) transformada logarítmicamente.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 12 se presentan los resultados del análisis de varianza en los dos experimentos. La menor variabilidad de la respuesta se obtuvo en el experimento con *B. pilosa*. La prueba de significancia (diferencia honesta de significancia

* R & D Sprayers, Inc., Opelousas, Louisiana, U.S.A.

de Tukey DHS) indicó como tratamientos diferentes únicamente al testigo (sin aplicación de herbicida). En el análisis de regresión se obtuvo un R^2 muy bajo y una razón de T para la pendiente no significativa, esto se puede comprobar si se observa la Figura 8 de este Anexo.

Cuadro 12. Efecto del tiempo sobre la estabilidad herbicida en *B. pilosa* y *E. fosbergii*, de la mezcla de tanque paraquat con 2,4-D, evaluada como rendimiento en peso seco de las plantas tratadas.

	Tratamientos							
	1 ³ (Tes.)	2 0.1h	3 (3h)	4 (6h)	5 (12h)	6 (24h) (1d)	7 (96h) (4d)	8 1608h (64d)
<i>B. pilosa</i> ¹ (P. seco en gramos) ⁴	6.89 A	2.12 B	2.32 B	2.19 B	2.58 B	2.08 B	2.44 B	2.14 B
<i>E. fosbergii</i> ² (P. seco en gramos) ⁴	6.92 A	1.96 B	3.33 B	3.14 B	2.68 B	3.42 B	3.35 B	2.72 B

¹ Mezcla aplicada: paraquat 30 g i.a./ha; 2,4-D 10 g e.a./ha

² Mezcla aplicada: paraquat 60 g i.a./ha; 2,4-D 40 g e.a./ha

³ Testigo absoluto sin aplicación

⁴ Medias de peso seco (en filas) con la misma letra no son diferentes significativamente al 5% basado en la prueba de ámbito múltiple de Tukey (DHS pra *B. pilosa* = 1.029 y para *E. fosbergii* = 2.21)

En el experimento de *E. fosbergii*, los resultados fueron similares a *B. pilosa*, sin embargo, debido a la distribución de los datos (Figura 8B), se corrió en SAS un análisis de regresión con un modelo cuadrático y un modelo de regresión con los datos del tiempo en horas transformados a logaritmos. Tanto el modelo cuadrático como el logarítmico no

explicaron satisfactoriamente la tendencia de la distribución, resultando los R^2 muy bajos y las razones de T de las pendientes no significativas.

Debido a que los análisis realizados demostraron que no existía relación entre el tiempo de preparación de la mezcla y su eficacia, se concluyó que el tiempo de preparación no ejercía ninguna influencia significativa sobre la estabilidad herbicida de la mezcla, por tanto, se aceptó la hipótesis planteada.

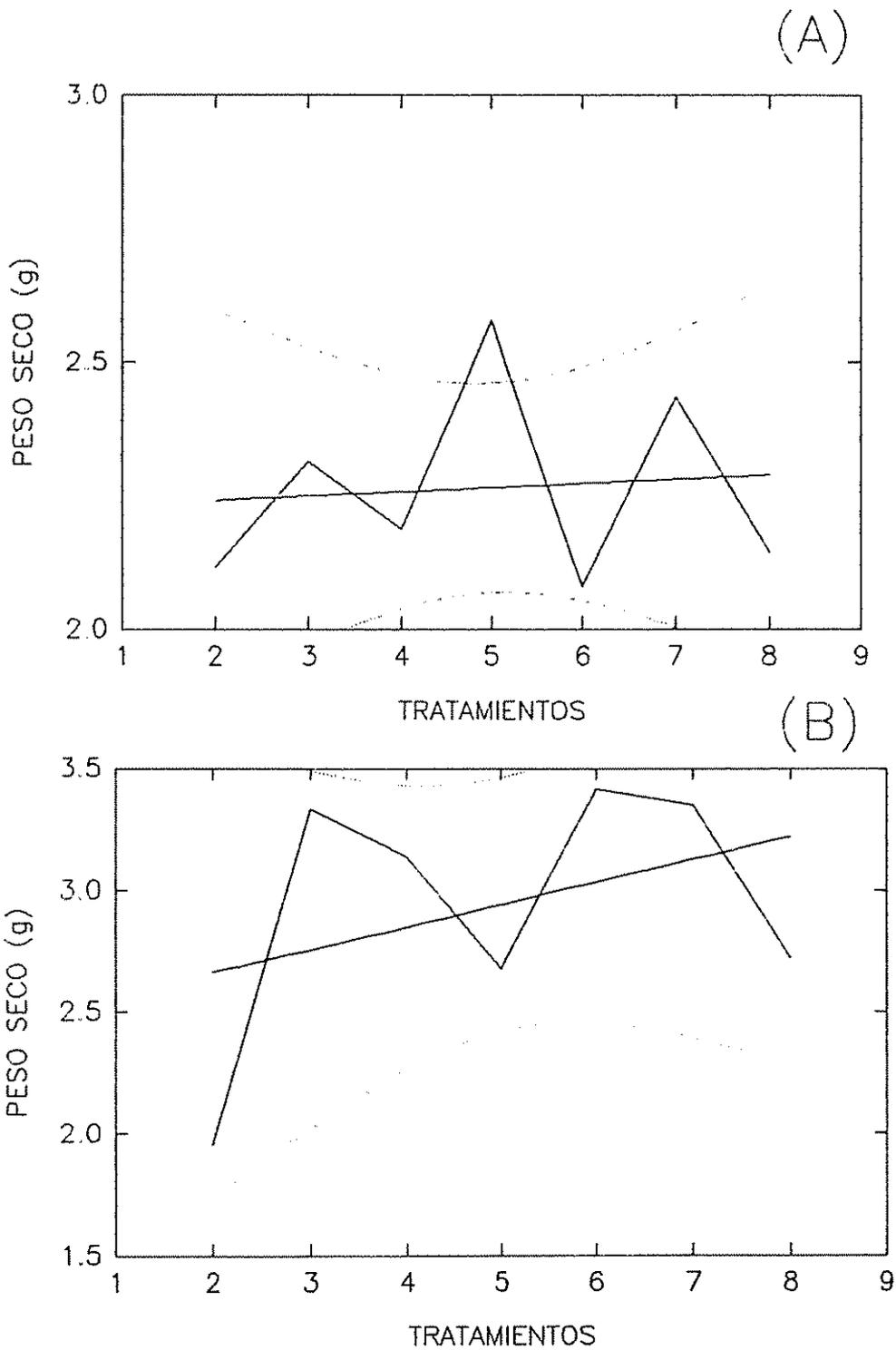


Figura 8. Influencia del tiempo sobre la estabilidad de la mezcla de tanque de paraquat con 2,4-D, evaluada 12 días después de la aplicación en su efecto sobre el rendimiento en peso seco de *B. pilosa* (A) y *E. fosbergii* (B). (2=0.1h; 3=3h; 4=6h; 5=12h; 6=24h; 7=4 días; 8=67 días)

ANEXO 12. ANALISIS DE VARIANZA BIOANALISIS DE ACCION
CONJUNTA DE CAMPO

Programa de computación (SAS) para la transformación de los datos, estimación de las diferencias mínimas significativas entre medias de tratamientos, estimación de heterogeneidad de varianzas y, cálculo de medias de tratamientos de datos sin transformar y transformados.

```

OPTIONS PS=60 NODATE;
DATA CAMPOEV;
INFILE 'B:CAMPOEV.DAT';
  DO TRAT = 1 TO 24;
    DO REP = 1 TO 6;
      INPUT RESP @@;
      W = RESP/100;
      Z = SQRT (W);
      R = ARSIN (Z);
      Y = R*180/3.14159;
    OUTPUT;
  END;
END;
PROC PRINT;
PROC GLM;
CLASS TRAT;
MODEL Y = TRAT;
MEANS TRAT/LSD;
PROC DISCRIM METHOD = NORMAL SHORT POOL = TEST;
CLASS TRAT;
VAR Y;
DATA A;
SET CAMPOEV;
PROC SORT;
BY TRAT;
PROC MEANS MEAN STD NOPRINT; BY TRAT;
VAR RESP Y;
OUTPUT OUT=MED1 MEAN=MRESP MY STD=STRESP STY;
DATA B;
SET MED1;
TITLE 'MEDIAS DE % DE DAÑO SIN TRANSFORMAR Y TRANSFORMADAS';
PROC PRINT;
VAR MRESP STRESP MY STY;
RUN;

```

Nota: El archivo de la instrucción "INFILE" contenía únicamente los datos de porcentajes visuales de daño por unidad experimental, que por conveniencia estaban ordenados en 24 filas (tratamientos) y en seis columnas (repeticiones).

Cuadro 13. Cuadro de análisis de varianza de los datos sin transformar. Bioanálisis de campo. Variable dependiente: porcentaje visual de daño.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Prob. > F
Modelo	23	70852.317	3080.536	20.54	0.0001
Error	84	12595.933	149.952		
Total correg.	107	83448.250			

Prueba de Chi cuadrado, Valor = 41.341387, con 23 GL, Prob > Chi cuadrado = 0.0108. Ya que el valor de Chi cuadrado es significativo al nivel de 0.1, se dice que existe heterogeneidad de varianza, por lo cual se hace necesaria la transformación para aplicar adecuadamente el análisis.

Cuadro 14. Cuadro de análisis de varianza de los datos transformados de porcentaje visual de daño, bioanálisis de campo. Variable dependiente: arco seno de la raíz cuadrada del porcentaje de daño expresado como proporción (identificada como Y en el programa SAS).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Prob. > F
Modelo	23	32320.988	1405.26	22.17	0.0001
Error	84	5324.963	63.392		
Total correg.	107	37645.951			

Prueba de Chi cuadrado, Valor = 25.606146, con 23 GL, Prob > Chi cuadrado = 0.3198. Ya que el valor de chi cuadrado no es significativo al nivel de 0.1, se dice que hay homogeneidad de varianza (la transformación fue efectiva para corregir la heterogeneidad).

Prueba de T (DMS) para la variable transformada (Y): alfa = 0.05 (confianza 0.95), GL = 84; CME = 63.392. Valor crítico de T = 1.98861.

Cuadro 15. Cuadro de análisis de varianza de interacción entre los herbicidas paraquat y 2,4-D (A,B). Bioanálisis de campo, datos de porcentajes visuales de daño transformados. Variable dependiente: arco seno de la raíz cuadrada del porcentaje de daño expresado como proporción (identificada como Y en el programa SAS).

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Probab. > F
A	4	19395.532	4848.883	76.49	0.0001
B	4	6001.767	1500.442	23.67	0.0001
A*B	15	6923.688	461.579	7.28	0.0001

ANEXO 13. PORCENTAJES VISUALES DE DAÑO EXPERIMENTO DE CAMPO

Porcentajes visuales de daño, estimados ocho días después de la aplicación conjunta y separada de paraquat y 2,4-D a cinco niveles de dosificación, sobre las diferentes parcelas del experimento de campo.

Paraquat	Niveles		Repeticiones					
	2,4-D	Rep.	Rep.	Rep.	Rep.	Rep.	Rep.	
		1	2	3	4	5	6	
0	1	3	7	5	1	9	0	
0	2	3	6	16	6	9	3	
0	3	15	48	77	33	37	70	
0	4	75	82	80	57	68	65	
1	0	20	34	40	15	7	.	
1	1	22	20	28	23	.	.	
1	2	50	37	27	30	.	.	
1	3	75	50	48	65	.	.	
1	4	67	77	63	65	.	.	
2	0	35	25	63	52	22	.	
2	1	40	60	69	58	.	.	
2	2	38	74	77	30	.	.	
2	3	68	57	75	76	.	.	
2	4	43	85	65	65	.	.	
3	0	82	77	72	55	78	.	
3	1	75	77	60	73	.	.	
3	2	72	47	86	70	.	.	
3	3	75	65	55	75	.	.	
3	4	75	58	78	68	.	.	
4	0	92	78	89	65	95	.	
4	1	75	93	88	87	.	.	
4	2	93	92	82	94	.	.	
4	3	90	91	80	90	.	.	
4	4	80	92	88	89	.	.	

Nota: a las unidades experimentales se les ha asignado un número de repetición determinado, únicamente para efectos de presentación de los datos.

ANEXO 14. BIONÁLISIS DE ACCION CONJUNTA. EVALUACION VISUAL

Cuadro 16. Bioanálisis de acción conjunta de herbicidas paraquat y 2,4-D realizados en la casa de mallas. Comparaciones visuales de daño entre tratamientos de los herbicidas aplicados por separado y en combinación. Evaluación de secuencias de dosis.

Bioanálisis 1 *B. pilosa*:

Niveles comparados	Observaciones
a_0b_2 y a_2b_0 con a_2b_2	Daño de cada producto igual por separado que en combinación (efecto aditivo)
a_3b_0 y a_0b_3 con a_3b_3	Daño de cada producto igual por separado que en combinación (efecto aditivo)

Bioanálisis 2 *B. pilosa*:

Niveles comparados	Observaciones
a_0b_4 , a_1b_4 , a_2b_4 , a_3b_4 , a_4b_4 , a_5b_4 .	En todos los niveles de paraquat de (1 a 5) se observaron efectos similares de fitotoxicidad de 2,4-D.
a_5b_0 con a_5b_4	El efecto de paraquat fue más notable en a_5b_0 que en a_5b_4
a_4b_0 , a_4b_1 , a_4b_2 , a_4b_3 , a_4b_4 , a_4b_5 .	Las diferencias en la acción del paraquat se notaron a partir de nivel tres de 2,4-D. Los necrosamientos fueron menores en el nivel 5 que en el nivel 3 y 4.

Bioanálisis 3 *R. scabra*:

Niveles comparados	Observaciones
a_0b_3 , a_2b_3 , a_3b_3 , a_4b_3 , a_5b_3 .	En todos los niveles de paraquat (1 a 5) se observaron efectos similares de fitotoxicidad de 2,4-D.
a_3b_0 , a_3b_2 , a_3b_3 , a_3b_4 , a_3b_5 .	El efecto quemante de paraquat disminuyó a partir del nivel dos de 2,4-D hasta el nivel cinco en forma progresiva.
a_0b_3 y a_3b_0 con a_3b_3	Necrosis por paraquat más extensa en a_3b_0 que en a_3b_3 , en cambio el nivel de daño de 2,4-D se consideró igual.