

Intoxicación de plantines de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh sometidos a la deriva simulada de glifosfato

Meloni, D. A.¹; M. C. Silva¹; M. G. Targa¹; D. Moura Silva²; G. I. Bolzón de Muñiz³ y A. Catán¹

El uso de herbicidas en plantaciones de *E. camaldulensis*

Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, la República Argentina cuenta actualmente con aproximadamente 1.200.000 hectáreas de bosques cultivados, de las cuales 292.200 son de *Eucalyptus*, distribuidas en las provincias de Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Buenos Aires y el noroeste argentino. Las plantaciones *E. grandis* y *E. saligna* ocupan una mayor superficie, seguidos por *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. viminalis* y *E. globulus* (Beale y Ortiz 2013).

En el noroeste argentino, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (“eucalipto rojo”) puede desarrollar rodales con características silviculturales adecuadas para su uso industrial. Esta especie posee una gran plasticidad y resiste condiciones de extrema sequía (Mogliá *et al.*, 2008).

La eliminación de la competencia de malezas en el cultivo de *Eucalyptus* es fundamental en las etapas iniciales de crecimiento hasta el cierre de copa (Villalba *et al.* 2010; García *et al.* 2015). Según Aparicio *et al.* (2005) en estudios realizados sobre el establecimiento de *Eucalyptus grandis* el efecto negativo de las malezas en el crecimiento se debe a que las raíces de la nueva plantación y de las malezas se concentran en la superficie del suelo donde la disponibilidad de nutrientes es más alta (en particular nitrógeno y fósforo). Así mismo, Garau *et al.* (2009) detectaron diferencias significativas en el crecimiento en diámetro y en altura de plantines de *Eucalyptus globulus* spp *maidenii* durante los primeros meses de implantación en

¹ Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. E-mail: dmeloni@unse.edu.ar.

² Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil. E-mail: diu@zaz.com.br

³ Universidade Federal do Paraná, Brasil. E-mail: gbmunize@ufpr.br

suelos enmalezados. También demostraron que la presencia de malezas disminuye área foliar y el volumen del fuste.

El manejo de malezas es una de las prácticas silvícolas más importantes en viveros y plantaciones forestales. Se realiza mediante métodos mecánicos, químicos, o la combinación de ambos. El uso de agroquímicos es una práctica común, siendo el glifosato el herbicida postemergente más utilizado en viveros y plantaciones de *Eucalyptus* (Tuffi Santos *et al.*, 2009). Sin embargo el uso recurrente de glifosato a lo largo del ciclo de desarrollo del *Eucalyptus* puede ser perjudicial para el propio cultivo, debido a las derivas accidentales que se producen durante las aplicaciones manuales o mecanizadas (Velini *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2012). Algunos estudios reportan que el contacto de herbicidas con las hojas de especies forestales puede causar considerables pérdidas en la producción de madera, como consecuencia de la disminución del crecimiento y muerte de las plantas menos desarrolladas dentro del rodal (Minogue y Osiecka, 2015; Santos Junior *et al.*, 2015). La magnitud del daño es proporcional a la dosis recomendada para el control de malezas (Cruz Hipólito *et al.*, 2013).

Respuestas de vegetales a la aplicación de glifosato

Entre los herbicidas más utilizados se encuentra el glifosato (N-fosfonometil glicina) (Duke y Powles, 2008), ya que controla un amplio espectro de malezas. Es sistémico, no selectivo y fácilmente transportado desde las hojas hasta los tejidos meristemáticos. Actúa inhibiendo la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), responsable de la síntesis del corismato (Figura 1), un intermediario en la ruta del ácido shikímico, que conduce a la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano) (Alcántara de la Cruz *et al.*, 2016).

Se han identificado especies resistentes al glifosato, que manifiestan una disminución en la absorción y/o traslocación del herbicida, secuestro en vacuolas, metabolismo del principio activo (Cruz Hipólito *et al.*, 2013), de este modo menos herbicida llega al sitio de acción. El glifosato puede ser metabolizado enzimáticamente a otros compuestos no tóxicos, tales como glioxilato, sarcosina y aminometil fosfonato. También se ha detectado la degradación del glifosato a compuestos no tóxicos (Sammons y Gaines, 2014). Otro mecanismo de tolerancia está dado por la pérdida de afinidad entre la proteína (EPSPS) y el herbicida, sobreexpresión de esta proteína, y mutaciones espontáneas que ocurren aleatoriamente (Yu *et al.*, 2015).

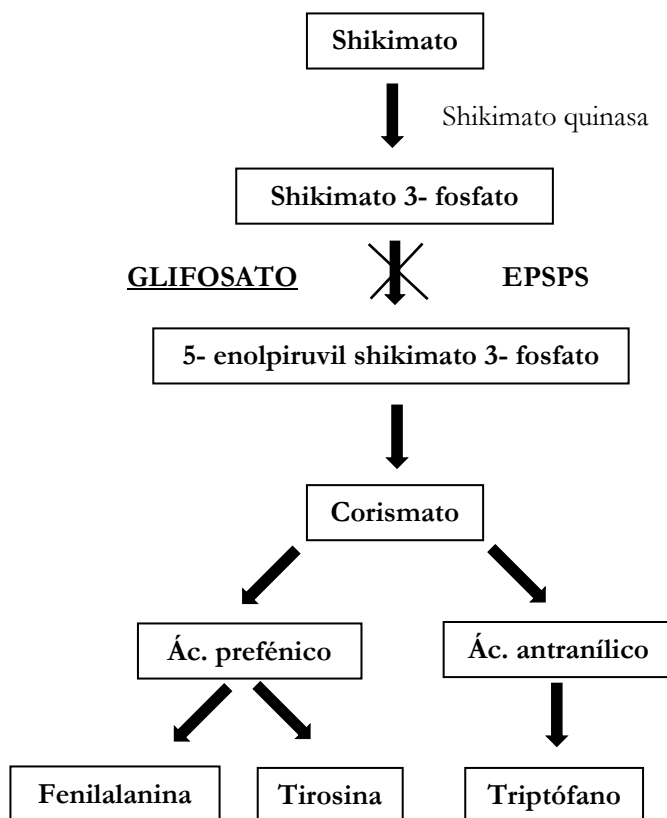


Figura 1. Modo de acción del glifosato, inhibiendo la actividad de la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), clave en la síntesis de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano.

Síntomas de intoxicación por glifosato

Se realizaron ensayos en la Universidad Nacional de Santiago del Estero, con plantines de *E. camaldulensis* de un año de edad, crecidos en macetas plásticas en invernáculo. Dosis de 30 y 60 g de glifosato L⁻¹ produjeron síntomas visibles de intoxicación a partir del cuarto día de aplicación (Figura 2). Los daños por intoxicación comenzaron a manifestarse en la parte superior de los plantines, avanzando progresivamente hacia la base. Se observó clorosis y necrosis tanto en la porción basal (próxima al pecíolo) como en la parte apical de las hojas. Estos resultados coinciden con los reportados en *E. grandis* (Tuffi Santos *et al.* 2008)

La clorosis observada puede ser consecuencia de la degeneración de los cloroplastos o degradación de clorofilas, tal como se ha observado en otras especies expuestas al glifosato.



Figura 2. Síntomas de intoxicación por glifosato en hojas de *E. camaldulensis*.

La emisión de fluorescencia como herramienta para detectar estrés en plantas: fundamentos teóricos

La fotosíntesis se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos que se encuentran en la membrana tilacoidal del cloroplasto. Parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, ingresando a la cadena transportadora de electrones (se obtienen como productos finales ATP y NADPH). Otra parte es disipada como calor o fluorescencia (energía luminosa de menor longitud de onda). Esta distribución de la energía ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de un componente producirá una disminución en el otro. Por lo tanto, a través de la medición del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida.

El análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*, constituye un método sensible y no destructivo para la detección y cuantificación de los cambios inducidos en la etapa fotoquímica de la fotosíntesis. Recientemente ha sido utilizado para evaluar el grado de daño del aparato fotosintético, bajo diferentes condiciones de estreses ambientales, tales como temperaturas extremas (Zushi *et al.*, 2012), sequía (Gomes *et al.*, 2012), salinidad (Duarte *et al.*, 2013) y herbicidas (Souza *et al.*, 2013).

En los últimos años se han desarrollado y perfeccionado fluorómetros portátiles que permitieron su aplicación en trabajos de campo.

Tanto la técnica como el cálculo de las variables de fluorescencia se basan en fundamentos fisicoquímicos complejos, cuyo desarrollo queda fuera del ámbito de este capítulo. Para profundizar aspectos teóricos pueden consultarse los trabajos de Strasser *et al.* (2000, 2005).

En la actualidad se utilizan principalmente dos técnicas fluorométricas: transiente y modulada. En el primer caso, la hoja se adapta previamente a la oscuridad durante aproximadamente 30 minutos; posteriormente se expone a luz de 650 nm con una intensidad de 3000 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 1-10 segundos, y se registra la emisión de fluorescencia desde los 10 μs hasta los segundos programados. Así se obtiene una cinética de emisión de fluorescencia (Figura 3), a partir de la cual pueden calcularse algunas variables que representan la eficiencia de los principales pasos de la etapa fotoquímica. También pueden calcularse índices de desempeño, que representan la eficiencia de la etapa fotoquímica de la fotosíntesis y tienen aplicaciones prácticas en las áreas de ecofisiología y mejoramiento genético.

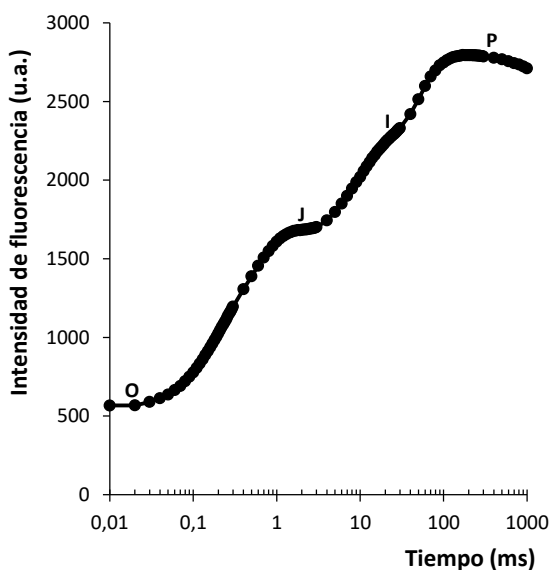


Figura 3. Cinética de emisión de fluorescencia transiente de la clorofila *a* de hojas de *Prosopis alba*, adaptadas a la oscuridad. Las letras O, J, I, P representan cuatro etapas que se encuentran presentes en todos los organismos fotosintéticos que liberan oxígeno (Adaptado de Meloni, 2014).

Para medir la fluorescencia modulada se utiliza un equipo que funciona siguiendo los fundamentos del “método del pulso saturante”. Este fluorómetro consta básicamente de cuatro fuentes de luz cualitativa y cuantitativamente diferentes: a) luz roja modulada de baja intensidad ($2 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 583 nm), b) pulsos de luz actínica de alta intensidad ($5 - 20.000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$), c) luz actínica blanca continua de $300 - 600 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, d) luz rojo lejano (735 nm), y un detector que registra solamente la fluorescencia emitida en la frecuencia y la fase de luz modulada.

Las etapas del método del pulso saturante y las variables obtenidas se esquematizan en la Figura 4. En resumen:

1. Cuando una hoja previamente aclimatada a la oscuridad es iluminada con luz de muy baja irradiancia, lo suficientemente débil para que no se produzca disipación de la energía lumínica a través de vías fotoquímicas, emite una señal baja de fluorescencia denominada fluorescencia mínima en condiciones de aclimatación a la oscuridad (F_0). Esta señal procede principalmente de los pigmentos del complejo antena del fotosistema II.
2. A continuación, se aplica un pulso breve de luz saturante (normalmente varios miles de $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$), alcanzándose un valor de fluorescencia máxima (F_m) que resulta de la saturación de la etapa fotoquímica. En estas condiciones, en la cadena transportadora de electrones, la Quinona A está completamente reducida. La diferencia entre F_m y F_0 se denomina fluorescencia variable (F_v):

$$F_v = F_m - F_0.$$

3. Posteriormente se ilumina la hoja con luz actínica (es decir fotosintéticamente activa). En estas condiciones la hoja emite una señal de fluorescencia mínima denominada F_s' .
4. Seguidamente se aplica otro pulso saturante, registrándose un nuevo pico de emisión de fluorescencia, llamado F_m' . De esta manera puede calcularse $\Delta F'$ ($=F_q'$), que es el cambio de fluorescencia provocado por el cierre del fotosistema II:

$$\Delta F' (=F_q') = F_m' - F_s'$$

5. Posteriormente la luz actínica es removida y se ilumina con luz débil del tipo rojo lejano ($\lambda = 730 \text{ nm}$), obteniéndose una nueva señal de fluorescencia mínima, llamada F_0' , que suele ser menor que F_0 (medida en oscuridad). Con este parámetro se calcula F_v' (fluorescencia variable en hojas iluminadas):

$$F_v' = F_m' - F_0'$$

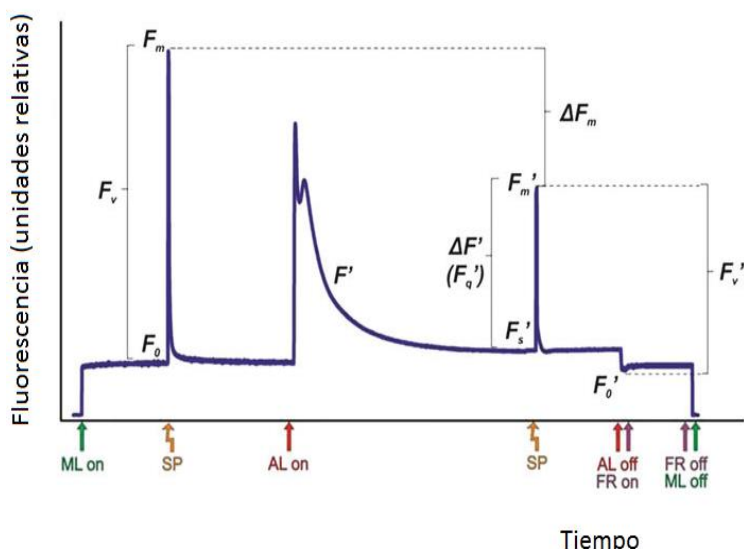


Figura 4. Curva de inducción de fluorescencia modulada de la clorofila en el método de pulso saturante. ML: luz de medición (no actínica), SP: pulso saturante de luz, AL: luz actínica FR: luz roja lejana (Adaptado de Brestic y Zivak, 2013).

A partir de los parámetros obtenidos de la emisión de fluorescencia modulada de la clorofila *a*, se pueden calcular algunas variables muy utilizadas en ecofisiología:

- Atenuación fotoquímica o “quenching fotoquímico” (qP). Indica la capacidad fotoquímica actual del fotosistema II, en hojas adaptadas a la luz, que está relacionada con la conversión de energía fotoquímica a través de la separación de cargas en los centros de reacción del fotosistema II (Rohacek *et al.* 2008). Cuantifica la fracción actual de centros de reacción del fotosistema II que se encuentran “abiertos”. También se considera una medida del estado de oxidación de la quinona A. Sus valores extremos son 0 (a altas irradiancias) y 1 (en la oscuridad). Este parámetro se calcula con la siguiente ecuación:

$$qP = (F'_m - F_s) / (F'_m - F'_0)$$

- Atenuación no fotoquímica o “quenching no fotoquímico” (NPQ). Indica la disipación como calor del exceso de energía radiante, en el complejo antena del fotosistema II. Correlaciona linealmente con la desepoxidación de las xantofilas en el ciclo de las xantofilas. También refleja una disminución en el tamaño del complejo antena e inactivación del fotosistema II (Rohacek *et al.* 2008). Se lo calculó mediante la siguiente ecuación:

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m$$

- Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II. Se obtiene a partir de la relación F_v/F_m , también denominado Φ_{P0} . Es una de las variables más utilizadas para detectar fotoinhibición, o sea un daño irreversible en el fotosistema II. Para la mayoría de las especies en condiciones no estresantes presenta valores de aproximadamente 0,832. En el caso de plantas sometidas a estrés severo dicho valor se reduce significativamente (Brestic y Zivcak, 2013).

Uso de variables de fluorescencia en la cuantificación del daño producido por la deriva de glifosato

La evaluación de la fluorescencia de la clorofila *a* permite medir la fracción de luz fotosintéticamente activa, que es absorbida y no utilizada en la etapa fotoquímica. A través de esta técnica también se pueden detectar daños en la maquinaria fotosintética de la planta (Buonasera *et al.*, 2011).

En la Universidad Nacional de Santiago del Estero se realizaron ensayos de aplicación de glifosato sobre plantines de *E. camaldulensis* de un año de edad. Se simuló la deriva del herbicida aplicando 129,6 g de glifosato/ha mediante un pulverizador, con una presión de 250 KPa. Diariamente se hicieron mediciones de emisión de fluorescencia modulada mediante el uso de un fluorómetro portátil (Walz GmbH Eichenring, 691090 Effeltrich). Las mediciones se efectuaron durante el horario comprendido entre las 8:30 y 10:30, y se calcularon los valores de quenching fotoquímico, quenching no fotoquímico y relación F_v/F_m .

A partir del cuarto día posterior a la aplicación del glifosato se verificó una disminución en el quenching fotoquímico, y un aumento en quenching no fotoquímico, respectivamente (Figura 5). La respuesta al glifosato fue más acentuada en el quenching no fotoquímico que en el quenching fotoquímico, coincidiendo con lo observado en otras especies sometidas a estreses ambientales. Frankart *et al.* (2003) sugieren que el quenching no fotoquímico es el marcador biológico más apropiado para detectar daños por herbicidas tanto a campo como en laboratorio.

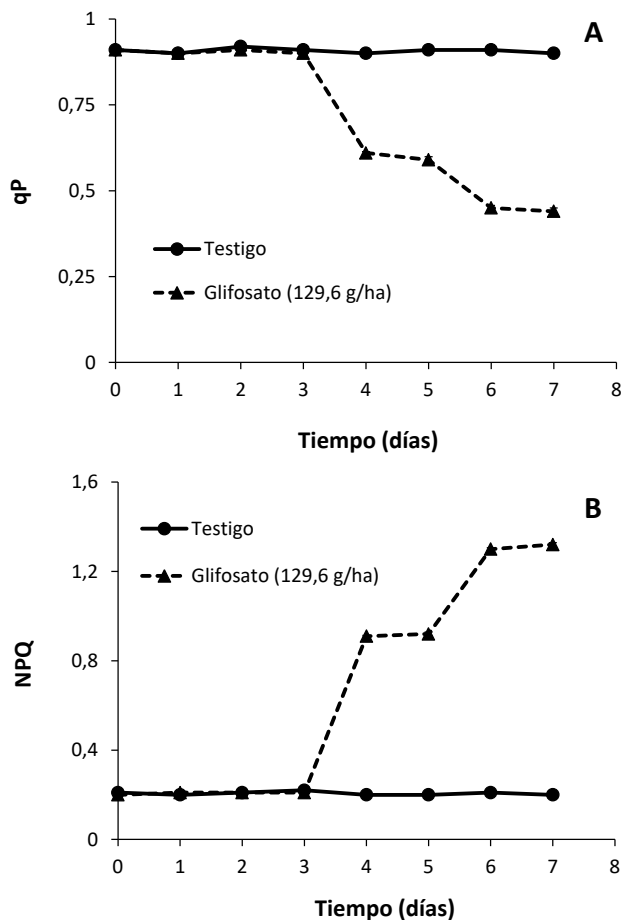


Figura 5. Quenching fotoquímico, qP (A) y quenching no fotoquímico, NPQ (B) en hojas de plantines de *E. camaldulensis* tratados con 0 (testigo) o 129,6 g/ha de glifosato (Meloni, datos inéditos).

Estos resultados indican que el glifosato disminuyó la proporción de centros de reacción activos en el fotosistema II, e incrementó la pérdida de energía absorbida a través de su disipación como calor.

A partir del sexto día se detectó una disminución en la relación F_v/F_m (Figura 6), lo que demuestra que a largo plazo el glifosato produce fotoinhibición (daños en las proteínas D_1 y D_2 del fotosistema II).

La relación F_v/F_m solo manifiesta alteraciones en casos de estrés severo, y su disminución en los de plantines de *E. camaldulensis* coincidió con la aparición de necrosis pronunciada en la mayoría de las hojas. En este sentido el estrés generado por el glifosato en *E. camaldulensis* fue más severo que el producido por Bentazona en soja, donde no se detectaron cambios en la relación F_v/F_m pese a que se registró una inhibición en la etapa fotoquímica de la fotosíntesis (Souza *et al.*, 2014).

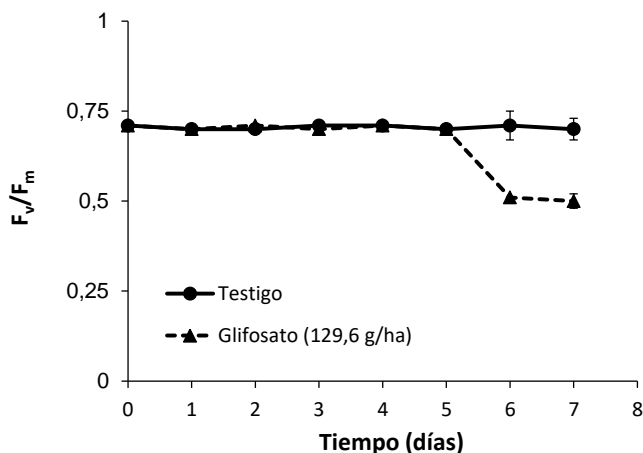


Figura 6. Relación F_v/F_m en hojas de plantines de *E. camaldulensis* tratados con 0 (testigo) o 129,6 g/ha de glifosato (Meloni, datos inéditos).

Consideraciones finales

Pese a que *E. camaldulensis* posee un gran potencial para el desarrollo forestal del noroeste argentino, su tolerancia a herbicidas debe ser estudiada en profundidad. Esto se debe a que dichos productos son aplicados frecuentemente para el control de malezas, tanto en viveros como en plantaciones. Por otra parte la aplicación de herbicidas a través de avionetas en cultivos extensivos como soja, puede facilitar su deriva hacia plantaciones forestales.

En la Universidad Nacional de Santiago del Estero se realizaron ensayos de simulación de deriva de glifosato sobre plantines de *E. camaldulensis*; demostrando que la especie es sensible a dicho herbicida.

Como indicadores ecofisiológicos del daño producido en hojas se sugiere el uso de variables de fluorescencia, ya que es un método no destructivo que puede aplicarse en condiciones de campo. La variable más sensible en caso estudiado fue el quenching no fotoquímico, seguida por el quenching fotoquímico y la relación F_v/F_m .

Debido a la gran variabilidad genética que caracteriza a las especies forestales, en futuros ensayos deberán compararse las respuestas de diferentes familias de *E. camaldulensis*. Como apoyo a las variables ecofisiológicas se caracterizará la presencia de barreras foliares a la penetración de herbicidas, mediante estudios de epidermis. También se evaluará el daño producido por el glifosato a nivel anatómico, para realizar una correlación estructura-función.

En la Figura 7 se resumen las respuestas fisiológicas de plántulas de *E. camaldulensis* a la aplicación de glifosato.

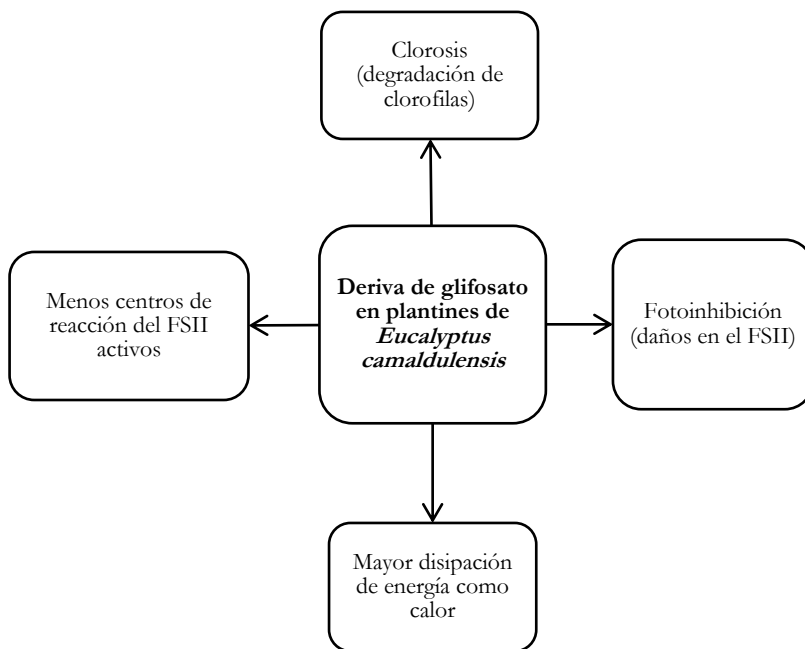


Figura 7. Respuestas fisiológicas de plántulas de *E. camaldulensis* a la aplicación de glifosato.

Referencias Bibliográficas

- Alcántara de la Cruz, R.; F. Barro; J.A. Domínguez Valenzuela (2016) "Physiological, morphological and biochemical studies of glyphosate tolerance in Mexican Cologania (*Cologania broussonetii* (Balb.) DC.)". *Plant Physiol. Biochem.* 98: 72-80.
- Aparicio, J.L.; F. Larocca; F. Dalla Tea (2005) "Silvicultura de establecimiento de *Eucalyptus grandis*". *Revista de Información sobre Investigación y Desarrollo Agropecuario.* 5: 66-69.
- Beale, I.; E. Clodovero Ortiz (2013). "El Sector Forestal Argentino: eucaliptos". *Revista de Divulgación Técnica Agrícola y Agroindustrial.* 53: 1-10.
- Buonasera, K.; M. Lambrea; G. Rea; E. Touloupakis; M.T. Giardi (2011) "Technological applications of chlorophyll a fluorescence for the assessment of environmental pollutants". *Anal Bioanal Chem.* 401: 1139–1151.
- Brestic, M; M. Zivak (2013) "PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications". *Em: Rout, G.R. ; A.B. Das. Molecular stress physiology of plants.* Pp. 81-131.

- Costa, P.R.; A.C. Costa; N. Vilanova; R.M.R. Pereira; D. Martins (2012) “Efeito da deriva simulada de glyphosate em diferentes partes da planta de *Eucalyptus grandis*”. *Ci. Agr.*33: 1663-1672.
- Cruz Hipólito, H.E.; A. Rojano Delgado; J. Domínguez Valenzuela; A. Heredia; M.D. Luque de Castro; R. De Prado (2013) “Glyphosate tolerance by *Clytorea ternatea* and *Neuntonia wightii* plants involves differential absorption and translocation of the herbicide”. *Plant Soil* 347: 221-230.
- Duarte, B.; D. Santos; J.C. Marques; I. Caçador (2013) “Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PSII photochemistry and anti-oxidant feedback- Implications for resilience in climate change”. *Plant Physiology and Biochemistry* 76: 178-188.
- Duke, S.O.; S.B. Powles (2008). “Glyphosate: a once in a century herbicide”. *Pest. Manag. Sci.* 64: 319-325.
- Frankart, C.; P. Eullaffroy; G. Vernet (2003) “Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*”. *Environ Experim Bot* 49: 159–168.
- Garau A.M.; C.M. Ghersa; J.H. Lencoff; J.J. Barañao (2009) “Weeds in *Eucalyptus globulus* subsp. *Maidenii* (F. Muell) establishment: effects of competition on sapling growth and survivorship”. *New Forest* 37:251-264
- García M.A.; S. Ramos (2015). “*Guía Fitosanitaria para Viveros Forestales. Prevención, identificación y control de enfermedades y plagas más comunes en viveros de eucaliptos*”. INTA Concordia. 22 p.
- Gomes, M.T.G.; AC. Luz; M.R. Dos Santos; M.C.P. Batitucci; D.M. Silva; A.R. Falqueto (2012) “Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll *a* fluorescence transient”. *Scientia Horticulturae* 142: 49-56.
- Meloni, D.A. (2014) “*Respuestas fisiológicas de plántulas de Prosopis alba G. sometidas a estrés salino*”. Tesis para optar por el Título de Doctor en Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero, 96 p.
- Minogue, P.J.; A. Osieka (2015). “Selective herbicides for cultivation of *Eucalyptus urograndis* clones”. *Int. J. For. Res.* 5:1-12.
- Mogliá, J.G.; S. Bravo; R. Gerez (2008). “Anatomía comparada del leño de *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) de dos orígenes, ensayados en Santiago del Estero”. *Bol. Soc. Argen. Bot.* 43: 239-246.
- Rohacek K.; J. Soukupova; M. Bartak (2008) “Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress”. *En: Schoefs B (ed) Plant cell compartments – selected topics*. Research Signpost, Trivandrum.
- Sammons, R.D.; T.A. Gaines (2014) “Glyphosate resistance: state of knowledge”. *Pest. Manag. Sci.* 70: 1367-1377.
- Santos Junior, A.; L.D. Tuffi Santos; F.A. Ferreira; L.R. Ferreira; R.C. Felix; G.C. Amaral; L.R. Cruz (2015) “Glyphosate drift in Eucalyptus plants”. *Planta Daninha* 33: 615-621.
- Souza, C.P.; J.J.O. Pinto; E.G. Martínazo; A.T. Peboni; M.E. Fariás; M. Bacarín (2014) “Chlorophyll *a* fluorescence in rice plants exposed of herbicides of group imidazoline”. *Planta Daninha* 32: 141-150.
- Strasser, R.J.; A. Srivastava; M. Tsimilli-Michael (2000). “The fluorescence transient as a tool to characterize an screen photosynthetic samples” *In: Yunas, M., Pathre, U., Mohanty, P. (Eds.), Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adaptation*, pp. 443-480. Taylor and Francis, London, U.K.

- Strasser, R.J.; M. Tsimilli-Michael; A. Srivastava. (2005) "Analysis of the fluorescence transient". In: Papageorgiou, G.C. (Ed.), *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*, p. 321-362. Springer, Germany.
- Tuffi Santos, L.D.; B.F. Sant`anna-Santos; R.M.S.A. Meira; R.A.S Tiburcio; F.A. Ferreira; C.A.D. Melono; E.F.S. Silva (2008) "Danos visuais e anatômicos causados pelo Glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*". *Planta Daninha* 26: 9-16.
- Tuffi Santos, L.D.; B.F. Sant`anna-Santos; R.M.S.A Meira; F.A. Ferreira, R.A.S. Tiburcio; A.F.L. Machado (2009) "Leaf anatomy and morphometry in three eucalyt clones treated with glyphosate". *Braz. J. Biol.* 69: 129-136.
- Velini, E.D.; L.B. Trindade; L.R.M. Barberis; F. Duke (2010) "Growth regulation and other secondary effects of herbicides". *Weed Sci.* 58: 351-354.
- Villalba, J.; C. Montouto; J. Cazaban; P. Caraballo; O. Bentancur (2010) "Efecto del laboreo sobre la eficacia de herbicidas y el crecimiento de *Eucalyptus* spp." *Agrociencia Uruguay* 14: 45-54.
- Yu, Q.; A. Jalaludin; H. Han; M. Chen; R.D. Sammons; S.B. Powles (2015) "Evolution of a double amino acid substitution in the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in *Eleusine indica* conferring high-level glyphosate resistance". *Plant Physiol.*, 167:1440-1447.
- Zushi, K.; S. Kajiwara; M. Naotaka (2012) "Chlorophyll *a* fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit". *Scientia Horticulturae* 148: 39-46.