

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 369**

51 Int. Cl.:

A01N 57/20 (2006.01)

A01N 39/04 (2006.01)

A01N 39/02 (2006.01)

A01P 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2012 PCT/US2012/034523**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2012 WO12148820**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2012 E 12776600 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2701486**

54 Título: **Método para mitigar las malas hierbas en un campo de plantas de algodón**

30 Prioridad:

27.04.2011 US 201161479538 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

02.11.2016

73 Titular/es:

**DOW AGROSCIENCES LLC (100.0%)
9330 Zionsville Road
Indianapolis, IN 46268, US**

72 Inventor/es:

**RICHBURG, JOHN S.;
WRIGHT, TERRY R.;
BRAXTON, LEON B. y
ROBINSON, ANDREW E.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 588 369 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para mitigar las malas hierbas en un campo de plantas de algodón

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un método para mitigar la vegetación indeseable en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo auxinas y al glifosato, que comprende aplicar a la localización en la que se desea la mitigación una mezcla de cantidades efectivas de 2,4-DB y glifosato.

Antecedentes

- 10 El uso de una mezcla de herbicidas auxínicos y glifosato para mitigar la vegetación indeseable en un campo de un cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo auxinas y al glifosato puede causar una lesión transitoria al cultivo que podría retrasar su desarrollo. La lesión transitoria visible puede incluir una combinación de caída de las hojas, enrollamiento de las hojas, y curvatura conjunta de los peciolo denominada epinastia. Otras lesiones transitorias que pueden ser visibles 10 a 14 días después de la aplicación incluyen flejado de las hojas, malformaciones, y epinastia sobre las hojas. Tales lesiones transitorias de principio de temporada Pueden dar lugar a una extensión indeseable del tiempo de maduración del cultivo de algodón, provocando que el cultivador incurra en gastos adicionales y posiblemente que se reduzca el rendimiento global del cultivo.

15 La presente invención aborda y resuelve los problemas asociados con las lesiones del cultivo que son el resultado de la aplicación de una mezcla de un herbicida auxínico y glifosato para mitigar la vegetación indeseable en un campo que contenga un cultivo resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato incluyendo la precocidad retardada resultante de una lesión causada por herbicidas al inicio de la temporada.

- 20 El documento WO2008/051633 describe un método para tratar malas hierbas en un cultivo que es tolerante a los herbicidas auxínicos. Se ejemplifica el tratamiento que usa una mezcla de glifosato y 2,4-D.

El documento US2008/119361 describe un método para tratar malas hierbas aplicando una mezcla que comprende un herbicida y un herbicida auxínico. La mezcla preferida es glifosato y dicamba.

Descripción de la invención

- 25 Un objeto de la presente invención es un método para mitigar la vegetación indeseable en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato que comprende aplicar a la localización en la que se desea la mitigación cantidades efectivas de 2,4-DB y glifosato.

Otro objeto de la presente invención es un método donde la lesión al cultivo de algodón resistente a los herbicidas se reduce en relación a una aplicación de una mezcla de cantidades ácido-equivalentes de 2,4-D y glifosato.

- 30 Objetos y ventajas adicionales de la presente invención serán fácilmente evidentes para los expertos en esta técnica a partir de la siguientes descripción detallada, donde se describen realizaciones de la invención simplemente a modo de ilustrar el mejor modo contemplado de llevar a cabo la invención. La descripción se ha de considerar como de naturaleza ilustrativa y no como restrictiva.

Modo(s) de llevar a cabo la invención

- 35 La presente invención se describirá más completamente de aquí en adelante. Realmente, estas invenciones pueden realizarse en muchas formas diferentes y no se deben interpretar que se limiten a las realizaciones puestas de manifiesto en la presente memoria; más bien, estas realizaciones se proporcionan para que esta descripción satisfaga los requisitos legales aplicables. Los números iguales se refieren a elementos iguales a lo largo de toda la memoria descriptiva.

- 40 Muchas modificaciones y otras realizaciones de las invenciones puestas de manifiesto en la presente memoria vendrán a la mente de un experto en la técnica a la que pertenecen estas invenciones que tienen el beneficio de las enseñanzas presentadas en las descripciones anteriores. Por lo tanto, se ha de entender que las invenciones no son para que se limiten a las realizaciones específicas descritas y se entiende que las modificaciones y otras realizaciones están incluidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Aunque en la presente memoria se emplean términos específicos, solo se usan en un sentido genérico y descriptivo y no con fines limitantes.

- 45 La presente invención se dirige a un método para mitigar la vegetación indeseable en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo auxinas y al glifosato, que comprende aplicar a la localización en la que se desea la mitigación una cantidad efectiva de 2,4-DB y glifosato.

- 50 Cuando se usa en esta memoria descriptiva y a menos que se indique otra cosa, el término "herbicida" se refiere a una molécula o combinación de moléculas que retarda o de cualquier manera mata las plantas indeseables, no deseadas; tales como, pero no limitadas a, malas hierbas perjudiciales o molestas, plantas de hoja ancha, hierbas y juncias; y de esta manera puede usarse para la protección de cultivos. La frase "cantidad efectiva" quiere decir

una cantidad de herbicida necesaria para producir un efecto deseado observable para reducir el crecimiento de las plantas no deseadas, incluyendo los efectos de necrosis de las plantas, muerte de las plantas, inhibición del crecimiento, inhibición de la reproducción, inhibición de la proliferación, y eliminación, destrucción, o de cualquier otra manera disminución de la aparición y la actividad de plantas indeseables, no deseadas. Las plantas indeseables, no deseadas, incluyen malas hierbas tolerantes a los herbicidas o resistentes a los herbicidas tales como malas hierbas tolerantes al glifosato o resistentes al glifosato.

"Herbicida auxínico" incluye herbicidas que tienen la estructura química ariloxialcanoato tales como las auxinas tipo fenoxiacetato (por ej., 2,4-D y MCPA), auxinas tipo fenoxibutanoato (por ej., 2,4-DB y MCPB) y auxinas tipo piridiloxiacetato (por ej., fluroxipir y triclopir).

Con las plantas de la invención pueden emplearse numerosos genes que proporcionan resistencia a los herbicidas auxínicos. Los cultivos de algodón pueden transformarse para que contengan cualquiera de una familia de genes de resistencia (designados AAD) que codifican una enzima, ariloxialcanoato dioxigenasa (AAD), la cual a continuación inactiva un herbicida auxínico en la planta. Tal resistencia herbicida puede ser conferida mediante genes *AAD-1* (originalmente de *Sphingobium herbicidovorans*), *AAD-12* (originalmente de *Delftia acidovorans*), y *AAD-13* que se describen en la Publicación PCT WO 2005/107437, la Publicación PCT WO 2007/053482, y la Publicación PCT US 2010/0251432 A1.

El glifosato es otro herbicida con un modo diferente de acción que los herbicidas auxínicos. La resistencia al glifosato se da en plantas que son transformadas con el gen EPSPS, y se describió en primer lugar en el documento US 4940835A.

Una mezcla de glifosato y un herbicida auxínico, tal como 2,4-DB, se aplica mediante un método conveniente a la localización en la que se desea la mitigación de las malas hierbas. Se entiende que la "localización" incluye suelo, semillas, y plántones, así como vegetación establecida. La actividad herbicida es exhibida por una mezcla de 2,4-DB y glifosato cuando se aplica directamente a la planta o a la localización de la planta en cualquier etapa de crecimiento o antes de plantar o del brote. El efecto observado depende de la especie de planta a mitigar, la etapa de crecimiento de la planta, los parámetros de aplicación de dilución y el tamaño de gota de pulverización, el tamaño de partícula de los componentes sólidos, las condiciones medioambientales en el momento del uso, el compuesto específico empleado, los compuestos auxiliares específicos y los vehículos empleados, el tipo de suelo, y factores similares, así como de la cantidad de compuesto químico aplicada. Estos y otros factores pueden ajustarse como se conoce en la técnica para promover la acción herbicida pretendida. En general, se prefiere aplicar mezclas de 2,4-DB y glifosato después del brote a la vegetación indeseable relativamente inmadura para conseguir la máxima mitigación de las malas hierbas.

El algodón (*Gossypium spp.*) es el cultivo de fibras textiles más importante del mundo y es uno de los cultivos de semillas oleaginosas más importante del mundo. Las plantas de algodón proporcionan una fuente de comida para los seres humanos, pienso para el ganado, y es una materia prima para la industria. La semilla de algodón se prensa para obtener aceite para cocinar y la carne residual de la semilla de algodón se usa como pienso para animales. Los usos industriales del algodón incluyen mechas para velas, bramante y multitud de productos de tela.

El género *Gossypium* es muy grande, actualmente contiene 50 especies. Dos especies tetraploides de *Gossypium* tienen fibras de semillas hilables llamadas hilas. Estas dos especies son *G. hirsutum* (denominada algodón de las Tierras Altas Americanas) y *G. barbadense* (denominada algodón Pima).

El algodón es una planta dicotiledónea con flores perfectas, es decir, el algodón tiene órganos masculinos que producen polen y órganos femeninos separados que reciben polen en la misma flor. La flor de algodón cultivado está rodeada por tres brácteas triangulares que forman lo que se conoce comúnmente como cuadrados. La flor contiene una corola abierta con cinco pétalos, una columna estaminal que porta racimos de estambres y que forma un tubo que encierra el estilo. El pistilo compuesto consta de tres a cinco carpelos con estigmas que sobresalen por encima de las anteras. El ovario se desarrolla en una cápsula con tres a cinco lóculos. De siete a nueve semillas se establecen dentro de cada cerradura o lóculo. En el día anterior a la antesis, una corola trenzada emerge del cuadrado. En el día de la antesis, la corola se abre y se produce el derrame de polen. La corola se vuelve roja al día siguiente de la antesis y luego cae de la planta. La polinización se produce con la apertura de las anteras y el derramamiento de polen sobre el estigma o con el depósito de polen sobre el estigma por los insectos.

Por "planta" se entiende plantas completas, órganos de plantas (por ej., hojas, tallos, raíces, etc.), semillas, células de plantas, propágulos, embriones y progenie de los mismos. Las células de las plantas pueden ser diferenciadas o no diferenciadas (por ej., callos, células de cultivo en suspensión, protoplastos, células de las hojas, células de las raíces, células del floema, y polen).

Las "plantas transgénicas" o "plantas transformadas" o plantas, células o tejidos "transformados de manera estable", se refieren a plantas que han incorporado o integrado secuencias de ácido nucleico exógeno o fragmentos de ADN en la célula de las plantas. Por "transformación estable" se entiende que el constructo nucleótido introducido en una planta se integra en el genoma de la planta y es capaz de ser heredado por la progenie de la misma.

Los compuestos herbicidamente activos ácido 4-(2,4-diclorofenoxi)butírico o 2,4-DB y glifosato se describen, por ejemplo, en Tomlin, Clive (editor) (2009) "The Pesticide Manual," 15ava Edición, British Crop Protection Council (BCPC), páginas 306-308 y 513-516.

5 Los compuestos auxiliares agrícolas y los vehículos adecuados que son útiles para preparar las mezclas herbicidas de la Invención son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los vehículos líquidos que pueden ser utilizados incluyen agua, tolueno, xileno, nafta de petróleo, aceite de cultivos, acetona, metil etil cetona, ciclohexanona, tricloroetileno, percloroetileno, acetato de etilo, acetato de amilo, acetato de butilo, propilenglicol monometil éter y dietilenglicol monometil éter, metanol, etanol, isopropanol, alcohol amílico, etilenglicol, propilenglicol, glicerina, y similares. El agua es en general el vehículo de elección para la dilución de concentrados. Los vehículos sólidos que se pueden usar incluyen talco, arcilla pirofilita, sílice, arcilla atapulgita, arcilla caolín, kieselguhr, tiza, tierra de diatomeas, cal, carbonato de calcio, arcilla bentonita, tierra de Fuller, semilla de cáscaras de algodón, harina de trigo, harina de soja, piedra pómez, harina de madera, harina de cáscara de nuez, lignina, y similares.

Usualmente es deseable incorporar uno o más agentes tensioactivos a las composiciones de la presente invención. Tales agentes tensioactivos se emplean ventajosamente tanto en composiciones sólidas como líquidas, especialmente las diseñadas para ser diluidas con un vehículo antes de su aplicación. Los agentes tensioactivos pueden ser de carácter aniónico, catiónico o no iónico y se pueden emplear como agentes emulsionantes, agentes humectantes, agentes de suspensión, o para otros fines. Los agentes tensioactivos típicos incluyen sales de sulfatos de alquilo, tales como lauril-sulfato de dietanolamónio; sales de alquilarilsulfonato, tales como dodecibencensulfonato de calcio; productos de adición de alquilfenol-óxido de alquileo, tales como nonilfenol-C₁₈ etoxilato; productos de adición de alcohol-óxido de alquileo, tales como tridecil alcohol C₁₆-etoxilato; jabones, tales como estearato de sodio; sales de alquilnaftalensulfonato, tales como dibutilnaftalensulfonato de sodio; ésteres de dialquilo de sales de sulfosuccinato, tales como di(2-ethylhexil)-sulfosuccinato de sodio; ésteres de sorbitol, tales como oleato de sorbitol; aminas cuaternarias, tales como cloruro de lauriltrimetilamónio; ésteres de polietilenglicol de ácidos grasos, tales como estearato de polietilenglicol; copolímeros de bloque de óxido de etileno y óxido de propileno; y sales de mono y dialquil ésteres de fosfato.

Otros compuestos auxiliares usados comúnmente en composiciones agrícolas incluyen agentes compatibilizantes, agentes antiespumantes, agentes secuestrantes, agentes neutralizantes y tampones, inhibidores de la corrosión, colorantes, odorantes, agentes de extensión, compuestos auxiliares de penetración, agentes de adherencia, agentes dispersantes, agentes espesantes, depresores del punto de congelación, agentes antimicrobianos, y similares. Las composiciones también pueden contener otros componentes compatibles, por ejemplo, otros herbicidas, reguladores del crecimiento de las plantas, fungicidas, insecticidas y similares, y se pueden formular con fertilizantes líquidos o sólidos, vehículos de fertilizantes en partículas tales como nitrato de amonio, urea y similares.

La concentración de los ingredientes activos en las composiciones herbicidas de esta invención es en general de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 98 por ciento en peso. A menudo se emplean concentraciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 90 por ciento en peso. En composiciones diseñadas para ser empleadas como concentrados, el ingrediente activo está en general presente en una concentración de aproximadamente 5 a aproximadamente 98 por ciento en peso, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 90 por ciento en peso. Tales composiciones se diluyen típicamente con un vehículo inerte, tal como agua, antes de la aplicación. Las composiciones diluidas usualmente aplicadas a malas hierbas o a la localización de malas hierbas en general contienen aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 1 por ciento en peso de ingrediente activo y preferiblemente contienen aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,05 por ciento en peso.

En los métodos de la presente Invención, la aplicación de las mezclas herbicidas de 2,4-DB y glifosato se pueden llevar a cabo igualmente en pre-siembra, en pre-brote, y en post-brote del cultivo. Se prefiere la aplicación pre-brote y/o poco después del post-brote. "Pre-brote" se define como la aplicación del herbicida durante el período antes del brote de la planta de cultivo de la tierra. "Post-brote" se define como la aplicación del herbicida durante el período después del brote de la planta de cultivo de la tierra donde el follaje de la planta de cultivo entra en contacto con el herbicida. Preferiblemente, la mezcla de 2,4-DB y glifosato se aplica al cultivo de algodón post-brote y durante la etapa de crecimiento vegetativo del cultivo de algodón.

La mezcla herbicida de compuestos auxínicos y glifosato de la presente Invención puede ser aplicada junto con uno o más de otros herbicidas para mitigar una variedad más amplia de vegetación indeseable. Cuando se utiliza en combinación con otros herbicidas, la mezcla presentemente descrita se puede formular con el o los otros herbicidas, mezclar en un depósito con el o los otros herbicidas, o aplicarse secuencialmente con el o los otros herbicidas. Algunos de los herbicidas que se pueden emplear junto con las mezclas de la presente invención incluyen glufosinato, paraquat, ALS-inhibidores (por ej., sulfonilureas, imidazolinonas, triazolopirimidina, sulfonanilidas, etc.), inhibidores de HPPD (por ej., mesotriona, isoxaflutol, etc.), inhibidores de PPO (por ej., piraflufeno, fomesafeno, etc.), dicamba, bromoxinilo, ariloxialcanoatos, ariloxifenoxipropionatos (comúnmente referido como "fops"), auxinas, y otros, algunos de los cuales pueden requerir ingeniería genética para dotar al cultivo con selectividad a estos herbicidas.

La presente mezcla se puede aplicar a malas hierbas o a su localización mediante el uso de fumigadores, pulverizadores, y aplicadores de gránulos convencionales de tierra o aéreos, por adición al agua de riego, y por otros medios convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

5 En un aspecto de la presente invención, la lesión al cultivo de algodón resistente a los herbicidas provocada aplicando cantidades efectivas de 2,4-DB y glifosato se reduce en relación a una aplicación de cantidades efectivas de 2,4-D y glifosato. La reducción de lesiones de los herbicidas reduce ventajosamente el estrés sobre el cultivo, con lo que posiblemente se reduce el tiempo de maduración del cultivo o incluso haciendo que el cultivador se ahorre gastos y aumente el rendimiento global del cultivo.

10 Sin pretender ligarse a ninguna teoría, se planteó la hipótesis de que el 2,4-DB no es un herbicida robusto hasta que se somete a beta-oxidación en la planta. Esta etapa metabólica adicional y/u otros factores da lugar al aumento de la capacidad de la planta AAD-transformada para tolerar las aplicaciones de 2,4-DB en comparación con 2,4-D. Este concepto se puede aplicar a todos los cultivos AAD-transformados, pero es particularmente útil cuando se aplica a los cultivos AAD-transformados, incluyendo el algodón, que tienen una resistencia más baja al 2,4-D.

15 Por "lesión" se entiende el porcentaje de follaje que es epinástico (tiene caída de las hojas, enrollamiento de las hojas, curvatura de los peciolo) como es visualmente evaluado por un experto en la técnica. La menor lesión de mezclas de 2,4-DB y glifosato con respecto a mezclas de 2,4-D y glifosato es observable en cuestión de minutos después de la aplicación de estos herbicidas y sigue siendo observable durante un período de tiempo prolongado a partir de entonces, tal como 2 horas después de la aplicación a 30 días después de la aplicación, incluyendo 3 horas después de la aplicación a 19 días después de la aplicación y que además incluye 6 horas después de la aplicación a 24 horas después de la aplicación.

20 El objeto de la invención también es aplicable a cultivos de algodón transgénicos resistentes a los herbicidas tipo ariloxialcanoatos que comprenden uno o más genes con resistencia a los herbicidas, que incluyen, pero no se limitan a, genes con resistencia a glifosato, ALS (imidazolinona, sulfonilurea), ariloxialcanoato, HPPD y PPO, a fin de proporcionar plantas resistentes a los herbicidas compatibles con opciones de gestión más amplias y robustas de mitigación de malas hierbas y de resistencia a los herbicidas.

25 Para la aplicación de post-brote, en general se emplean dosis de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2.240 gramos de equivalente ácido/hectárea (g ea/ha), y preferiblemente 1 a aproximadamente 1120 g ea/ha. Para las aplicaciones de pre-brote, en general se emplean dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 2.240 g ea/ha. Las dosis más altas diseñadas en general dan una mitigación no selectiva de una amplia variedad de vegetación indeseable. Las dosis más bajas típicamente dan una mitigación selectiva y pueden emplearse en la localización de cultivos de algodón. En realizaciones de la invención, una dosis de aplicación preferida de 2,4-DB para las operaciones de después del brote es de al menos 280 g ea/ha, preferiblemente de aproximadamente 280 g ea/ha a aproximadamente 2.240 g ea/ha y una dosis de aplicación preferida de glifosato para las operaciones de después del brote es de al menos 400 g ea/ha, preferiblemente de aproximadamente 560 g ea/ha a aproximadamente 2.300 g ea/ha.

30 En las descripciones previas, se exponen numerosos detalles específicos, tales como materiales específicos, estructuras, productos químicos, procesos, etc., para proporcionar una mejor comprensión de la presente invención. Sin embargo, la presente invención se puede practicar sin tener que recurrir a los detalles específicamente expuestos. En otros casos, las estructuras de procesado bien conocidas no se han descrito en detalle a fin de no oscurecer innecesariamente la presente invención.

35 En la presente descripción sólo se muestran y describen la realización preferida de la invención y unos pocos ejemplos de su versatilidad. Se ha de entender que la presente invención es capaz de ser usada en varias otras combinaciones y entornos y es capaz de cambios o modificaciones dentro del alcance del concepto inventivo como se expresa en la presente memoria.

45 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar ciertas realizaciones preferidas de la Invención. Estos ejemplos no se deben interpretar como limitaciones a las reivindicaciones. Se debe apreciar por los expertos en la técnica que las técnicas descritas en los siguientes ejemplos representan enfoques específicos utilizados para ilustrar modos preferidos para su práctica.

50 Las plantas de algodón transformadas con los genes AAD-1 o AAD-12 codifican una proteína ariloxialcanoato dioxigenasa (AAD). Las plantas de algodón transformadas con el gen EPSPS codifican una proteína 5-enolpiruvil siquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). En consecuencia, las plantas de algodón transformadas tanto con genes AAD como genes EPSPS tienen resistencia tanto a los herbicidas auxínicos como al glifosato.

55 Tales plantas transformadas se usan en los siguientes ejemplos para demostrar resistencia a los herbicidas auxínicos, específicamente 2,4-DB y 2,4-D cuando se mezclan con un herbicida glifosato. AAD-1, AAD-12, o EPSPS también pueden usarse como marcadores seleccionables durante la transformación de las plantas y viveros de cría. El gen AAD-1, en sí mismo, para dar resistencia a los herbicidas en plantas fue descrito en primer lugar en el

documento WO 2005/107437 (véase también el documento US 2009-0093366). El gen *AAD-12*, en sí mismo, para dar resistencia a los herbicidas en plantas fue descrito en primer lugar en el documento WO 2007/053482(A2) (véase también el documento US 2005731044P). El gen *EPSPS*, en sí mismo, para dar resistencia a los herbicidas en plantas fue descrito en primer lugar en el documento US 4940835A.

5 Ejemplo 1

2,4-DB y 2,4-D, mezclados con glifosato, proporcionan similar mitigación de malas hierbas en algodón transformado con *AAD-1* y *EPSPS*

Se llevó a cabo un experimento para comparar las eficacias de 2,4-DB mezclado con glifosato y 2,4-D mezclado con glifosato para mitigar malas hierbas en el algodón transformado con genes *AAD-1* y *EPSPS*, en nueve sitios de campo situados cerca de Greenville, MS (3 localizaciones); Chula, GA; el condado de Macon, GA; Attapulgus, GA; Memphis, TN; Newport, AR; y Fresno, CA. El diseño experimental fue de cuatro réplicas por sitio con parcelas de tratamiento en bloques completos al azar. Cada parcela tenía plantas de algodón en dos filas que eran de 6,1 metros de longitud. Las malas hierbas y plantas de algodón fueron diana de una sola aplicación a cinco a quince centímetros de altura con una de cuatro mezclas diferentes de herbicidas (cuatro tratamientos experimentales). Los herbicidas usados fueron Butyrac 200 (2,4-DB), Weedar 64 (2,4-D), y Durango DMA (glifosato). Los cuatro tratamientos herbicidas fueron: 840 g ea/ha de 2,4-DB mezclado con 840 g ea/ha de glifosato, 1120 g ea/ha de 2,4-DB mezclado con 1120 g ea/ha de glifosato, 840 g ea/ha de 2,4-D mezclado con 840 g ea/ha glifosato, y 1120 g ea/ha de 2,4-D mezclado con 1120 g ea/ha glifosato. Las especies de malas hierbas fueron evaluadas visualmente una vez por semana durante tres semanas después con 840 g ea/ha glifosato, y 1120 g ea/ha de 2,4-D mezclado con 1120 g ea/ha de glifosato. Las especies de malas hierbas fueron evaluadas visualmente una vez por semana durante tres semanas después de la aplicación del herbicida respecto al porcentaje de plantas muertas o que mostraron lesiones graves relacionadas con el herbicida (donde 0% representa la ausencia de la actividad y el 100% representa la muerte de todas las plantas diana).

Para casi todas las especies objetivo y para cada semana de medida, se obtuvieron niveles iguales o mayores de mitigación con la dosis de aplicación más alta de 1120 g ea/ha de 2,4-DB o 2,4-D mezclados con 1120 g ea/ha de glifosato. Por lo tanto, sobre la base de la eficacia, para mitigar malas hierbas en este algodón tolerante a los herbicidas se prefiere la dosis de aplicación de 1120 g ea/ha a la de 840 g ea/ha para el 2,4-DB o 2,4-D mezclados con glifosato. A 1120 g ea/ha, la mitigación fue > 95% de las plantas de malas hierbas muertas o gravemente lesionadas más de tres semanas después de la aplicación con dos excepciones (Tabla 1). Para las plantas de *Amaranthus* que son resistentes al glifosato (AMAPA Gly-res), la mitigación fue de alrededor de 70% una semana después de la aplicación, a continuación se redujo hasta el 18% con 2,4-DB más glifosato y 37% con 2,4-D más glifosato dos semanas después de la aplicación. Para las especies *Sida spinosa* y *Sida alba* (ambas en SIDSP), la mitigación fue del 79% con 2,4-DB más glifosato una semana después de la aplicación, luego aumentó hasta 95% dos semanas después de la aplicación-igual al 95% de mitigación con 2,4-D más glifosato dos semanas después de la aplicación.

TABLA 1

Porcentaje de mitigación de especies de malas hierbas en algodón transformado con <i>AAD-1/EPSPS</i> , una semana después de la aplicación de 2,4-DB o 2,4-D a razón de 1120 g ea/ha mezclado con glifosato a razón de 1120 g ea/ha (n=36 parcelas)		
Species ^a	2,4-DB + glifosato	2,4-D + glifosato
ACCOS	100	100
ACNHI	99	99
AMAPA	98	98
AMAPA GLY-res ^b	69	72
AMARE	95	100
AMASS ^c	98	99
CASOB	100	100
DEDTO	99	99
IAQTA	97	99
IPOHG	99	100
IPOSS	95	99
MOLVE	99	99

Porcentaje de mitigación de especies de malas hierbas en algodón transformado con <i>AAD-1/EPSPS</i> , una semana después de la aplicación de 2,4-DB o 2,4-D a razón de 1120 g ea/ha mezclado con glifosato a razón de 1120 g ea/ha (n=36 parcelas)		
Species ^a	2,4-DB + glifosato	2,4-D + glifosato
RCHSC	99	99
SEBEX	100	100
SIDSP ^d	79	94
SOLNI	98	100

Abreviaturas: AAD, ariloxialcanoato dioxigenasa; g ea/ha, gramos de equivalente ácido por hectárea; GLY-res, resistente al glifosato; EPSPS, 5-enolpiruvil siquimato-3-fosfato sintasa

^a Código de especie mantenido por la Organización Europea de Protección de las Plantas

^b Después de dos semanas, la mitigación disminuyó a 18% y 37% con 2,4-DB + glifosato y 2,4-D + glifosato, respectivamente

^c Todas las especies *Amaranthus* excluyendo AMAPA

^d Después de dos semanas, la mitigación aumentó hasta 95% tanto con 2,4-DB + glifosato como con 2,4-D + glifosato

Ejemplo 2

Plantas de algodón transformadas con *AAD-1* y *EPSPS* tienen una resistencia a 2,4-DB significativamente aumentada comparada con 2,4-D cuando se mezclan con Glifosato

5 Se evaluó la resistencia a los compuestos herbicidas 2,4-DB y 2,4-D mezclados con glifosato de plantas de algodón transformadas con genes *AAD-1* y *EPSPS* en un experimento de invernadero. Los herbicidas Butoxone® (2,4-DB) y Weedar 64 (2,4-D) se mezclaron con Durango DMA (glifosato) y se aplicaron a las plantas de algodón en cuatro tratamientos (las mezclas y dosis se muestran en la Tabla 2). El diseño experimental fue de cuatro repeticiones de una planta por tratamiento. Las plantas se cultivaron en macetas y los tratamientos no fueron aleatorios. Las plantas estaban en la etapa de 3 a 4 hojas cuando fueron rociadas. Las plantas de algodón rociadas se evaluaron visualmente para detectar el porcentaje de follaje que mostró lesión relacionada con el herbicida los días 1, 3 y 7 después de la aplicación.

15 Los resultados de la lesión media observada en plantas de algodón después del rociado con 2,4-DB o 2,4-D con glifosato se muestran en la Tabla 2. La lesión observada en las plantas fue estadísticamente significativamente menor tres días después de la aplicación para 2,4-DB mezclado con glifosato en comparación con las dosis de aplicación idénticas de 2,4-D mezclado con glifosato.

TABLA 2

Lesión media en el tiempo de 2,4-DB o 2,4-D mezclados con glifosato aplicados después del brote a algodón transformado con <i>AAD-1/EPSPS</i>				
Mezcla herbicida	Dosis (g ea/ha)	Lesión media (%) ^{ab}		
		1 DAA	3 DAA	7 DAA
2,4-DB + glifosato	1120 + 840	0 ^a	0 ^a	7,7 ^a
2,4-DB + glifosato	2240 + 840	0 ^a	0 ^a	11,7 ^a
2,4-D + glifosato	1120 + 840	9,3 ^{a,b}	8,7 ^b	9,3 ^a
2,4-D + glifosato	2240 + 840	6,7 ^a	6,3 ^b	12,7 ^a
LSD (P=.05)		8,7	2,8	6,1

Abreviaturas: AAD, ariloxialcanoato dioxigenasa; DAA, días después de la aplicación; g ea/ha, gramos de equivalente ácido por hectárea; LSD, diferencia significativa mínima

^a Lesión evaluada visualmente como porcentaje de algodón epinástico-follaje de las plantas; n=4 plantas

^b Las medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente

REIVINDICACIONES

1. Un método para mitigar la vegetación indeseable en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato, que comprende aplicar a la localización en la que se desea la mitigación una mezcla de una cantidad efectiva de 2,4-DB y una cantidad efectiva de glifosato.
- 5 2. El método según la reivindicación 1, donde el cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos es un cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato y donde la lesión al cultivo de algodón resistente a los herbicidas es reducida en relación a una aplicación de una mezcla de una cantidad de equivalente ácido de 2,4-D y glifosato.
- 10 3. El método según la reivindicación 2, donde la lesión al cultivo de algodón tolerante a los herbicidas es reducida en relación a una aplicación de una mezcla de una cantidad de equivalente ácido de 2,4-D y glifosato a las 6 horas después de la aplicación.
4. El método según la reivindicación 2, donde la lesión al cultivo de algodón tolerante a los herbicidas es reducida en relación a una aplicación de una mezcla de una cantidad de equivalente ácido de 2,4-D y glifosato a las 24 h después de la aplicación.
- 15 5. El método según la reivindicación 1, donde el cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos es un cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos tipo ariloxialcanoatos.
6. El método según la reivindicación 2, donde la lesión al cultivo de algodón resistente a los herbicidas es reducida en relación a una aplicación de una cantidad de equivalente de una mezcla de 2,4-D y glifosato en cualquier período de tiempo hasta tres días después de la aplicación.
- 20 7. El método según la reivindicación 5, donde el cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo ariloxialcanoatos es un cultivo de algodón transgénico.
8. El método según la reivindicación 7, donde el cultivo de algodón transgénico resistente a los herbicidas tipo ariloxialcanoatos además comprende al menos otro gen tolerante a los herbicidas.
- 25 9. El método según la reivindicación 5, donde el cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo ariloxialcanoatos comprende un gen que codifica a AAD-1 (ariloxialcanoato dioxigenasa).
10. El método según la reivindicación 5, donde el cultivo de algodón resistente a los herbicidas tipo ariloxialcanoatos comprende un gen que codifica a AAD-12 (ariloxialcanoato dioxigenasa).
11. El método según la reivindicación 1, donde la cantidad efectiva de 2,4-DB es al menos 840 gramos de equivalente ácido/hectárea y donde la cantidad efectiva de glifosato es al menos 400 gramos de equivalente ácido/hectárea.
- 30 12. El método según la reivindicación 1, donde la cantidad efectiva de 2,4-DB es de 840 gramos de equivalente ácido/hectárea a 2.240 gramos de equivalente ácido/hectárea y donde la cantidad efectiva de glifosato es de 400 gramos de equivalente ácido/hectárea a 2300 gramos de equivalente ácido/hectárea.
13. El método según la reivindicación 1, donde la mezcla de 2,4-DB y glifosato se aplica al cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato después del brote.
- 35 14. El método según la reivindicación 1, donde la mezcla de 2,4-DB y glifosato se aplica al cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato después del brote durante la etapa vegetativa del crecimiento del cultivo de algodón resistente a los herbicidas auxínicos y al glifosato.
- 40 15. El método según la reivindicación 1, donde la vegetación indeseable comprende una mala hierba resistente al glifosato.
16. El método según la reivindicación 1, que comprende aplicar un herbicida adicional a la localización en la que se desea la mitigación.