

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 270**

51 Int. Cl.:

A01P 13/00 (2006.01)

A01N 39/02 (2006.01)

A01N 39/04 (2006.01)

A01N 57/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2012 PCT/US2012/034503**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2012 WO12148818**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2012 E 12777718 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.08.2016 EP 2701488**

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

30 Prioridad:

27.04.2011 US 201161479533 P

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

20.02.2017

73 Titular/es:

**DOW AGROSCIENCES LLC (100.0%)
9330 Zionsville Road
Indianapolis, Indiana 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 2 602 270 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 controlar las malas hierbas en un campo de plantas de algodón

5 REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD

Esta solicitud reivindica el beneficio de la fecha de presentación del Número de Serie de Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos 61/479.533, presentada el 27 de abril de 2011, para "MÉTODO PARA CONTROLAR MALAS HIERBAS EN UN CAMPO DE PLANTAS DE ALGODÓN".

10 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a un método para controlar la vegetación indeseada en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina y glufosinato, que comprende la aplicación en la localización en la que se desea el control de una mezcla de cantidades efectivas de 2,4-DB y glufosinato.

15 ANTECEDENTES

El uso de una mezcla de herbicidas auxínicos y de glufosinato para controlar la vegetación indeseada en un campo de un cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina y glufosinato puede producir daños transitorios al cultivo que podrían retrasar su desarrollo. Los daños transitorios visibles pueden incluir una combinación de caída de hojas, enrollamiento de hojas y curvatura de peciolo, conocidos en conjunto como epinastia. Otro daño transitorio que puede ser visible de 10 a 14 días después de la aplicación incluye el arrugamiento de las hojas, la malformación y epinastia en las hojas. Dichos daños transitorios tempranos pueden dar como resultado una extensión no deseada del tiempo necesario para que el cultivo maduro, obligando al agricultor a incurrir en gastos adicionales y posiblemente reduciendo el rendimiento global del cultivo.

25 El documento WO2008/051633 describe un método de tratamiento de malas hierbas que incluye plantar un cultivo con tolerancia, por ejemplo, a 2,4-D y usar 2,4-D como herbicida.

La presente invención aborda y resuelve los problemas asociados a daños en cultivos resultantes de la aplicación de una mezcla de un herbicida auxínico y glufosinato para controlar la vegetación indeseada en un campo que contiene un cultivo resistente a herbicidas de auxina y glufosinato, que incluye precocidad retardada como resultado de un daño temprano por herbicida.

30 EXPOSICIÓN DE LA INVENCION

Un objetivo de la presente invención es un método para controlar la vegetación indeseada en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a herbicidas de auxina y glufosinato, que comprende aplicar en la localización en donde se desea el control cantidades efectivas de 2,4-DB y glufosinato.

Otro objetivo de la presente invención es un método en el que el daño al cultivo resistente a herbicida se reduce respecto a una aplicación de una mezcla de una cantidad equivalente de ácido de 2,4-D y glufosinato.

Objetivos y ventajas adicionales de la presente invención serán fácilmente evidentes para los especialistas en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada, en donde se describen realizaciones de la invención simplemente a modo de ilustración del mejor modo de llevar a la práctica la invención. Como cabe entender, la invención es capaz de presentar otras realizaciones diferentes, y sus diversos detalles pueden aceptar modificaciones en varios aspectos obvios, todo ello sin alejarse del alcance de la invención. Por consiguiente, la descripción debe considerarse como de naturaleza ilustrativa y no restrictiva.

45 MODO(S) PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

Las presentes invenciones se describirán más detalladamente a continuación. De hecho, estas invenciones pueden materializarse de muchas formas diferentes y no deberían contemplarse como limitadas a las realizaciones presentadas en la presente memoria; sino más bien, dichas realizaciones se proporcionan de tal modo que esta descripción satisfaga los requerimientos legales aplicables. Números similares se refieren a elementos similares en todo el texto.

Al especialista en la técnica a la que pertenecen estas invenciones le vendrán a la mente muchas modificaciones y otras realizaciones de las invenciones establecidas en la presente memoria que presenten el beneficio de los conocimientos presentados en las descripciones incluidas a continuación. Por lo tanto, debe entenderse que las invenciones no deben considerarse limitadas a las realizaciones específicas descritas y que se pretende que las modificaciones y otras realizaciones se incluyan dentro del alcance de las reivindicaciones anexas. Aunque en la presente memoria se emplean términos específicos, se usan únicamente en un sentido genérico y descriptivo y no con fines de limitación.

La presente invención se basa en un método para controlar la vegetación indeseada en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a herbicidas de auxina y glufosinato que comprende aplicar en la localización donde se desea realizar el control una cantidad efectiva de 2,4-DB y glufosinato.

Tal como se usa en esta especificación y a menos que se indique lo contrario, el término “herbicida” se refiere a una molécula o combinación de moléculas que retardan, o matan, plantas no deseadas; tales como, aunque sin limitación, malas hierbas perjudiciales o molestas, plantas de hoja ancha, césped y juncos; y puede usarse de este modo para la protección de cultivos. La expresión “cantidad efectiva” significa una cantidad de herbicida necesaria para producir un efecto deseado observable para reducir el crecimiento de plantas indeseadas, que incluye los efectos de necrosis vegetal, muerte vegetal, inhibición de crecimiento, inhibición de la reproducción, inhibición de la proliferación, y la eliminación, destrucción o reducción de la presencia y la actividad de plantas indeseadas. Las plantas no deseadas incluyen malas hierbas tolerantes a herbicidas tales como las malas hierbas tolerantes a glifosato.

Un “herbicida de auxina” incluye herbicidas que tienen una estructura química de ariloxialcanoato, tal como las fenoxiacetato auxinas (p.ej., 2,4-D y MCPA), fenoxibutanoato auxinas (p.ej., 2,4-DB y MCPB) y pirdiloxiacetato auxinas (p.ej., fluroxipir y triclopir).

Se pueden emplear numerosos genes de resistencia a herbicida auxínico con las plantas de la invención. Los cultivos de algodón pueden ser transformados para incluir cualquiera de una familia de genes de resistencia (designados *ADD*) que codifican para una enzima, la ariloxialcanoato dioxigenasa (*AAD*), lo cual desactiva entonces un herbicida de auxina *in planta*. Dicha resistencia a herbicida puede ser conferida por los genes *AAD-1* (originalmente de *Sphingobium herbicidovorans*), *AAD-12* (originalmente de *Delftia acidovorans*), y *AAD-13*, tal como se describe en la publicación PCT WO 2005/107437, la publicación PCT WO 2007/053482 y la publicación PCT US 2010/0251432 A1.

El glufosinato es otro herbicida con un modo de acción diferente a los herbicidas auxínicos. La resistencia a glufosinato es proporcionada a plantas que están transformadas con el gen *PAT*, que se aisló originalmente de *Streptomyces viridochromogenes* y se describió por vez primera en el documento US 5273894A.

Una mezcla de glufosinato y un herbicida auxínico tal como el 2,4-DB se aplica mediante un método conveniente a la localización en la que se desea realizar el control de malas hierbas. La “localización” pretende incluir suelo, semillas y plantas de semilleros, así como vegetación establecida. La actividad herbicida es exhibida por una mezcla de 2,4-DB y glufosinato cuando se aplica directamente a la planta o a la localización de la planta en cualquier estadio de crecimiento o antes de plantar o de la emergencia. El efecto observado depende de la especie vegetal a controlar, del estadio de crecimiento de la planta, de los parámetros de aplicación de dilución y tamaño de gota de pulverización, del tamaño de partícula de los componentes sólidos, de las condiciones ambientales en el momento del uso, del compuesto específico empleado, de los adyuvantes y los vehículos específicos empleados, del tipo de suelo, y de otros factores similares, así como de la cantidad de producto químico aplicado. Éstos y otros factores pueden ajustarse tal y como se conoce en la técnica para promover la acción herbicida pretendida. Generalmente, se prefiere aplicar mezclas de 2,4-DB y glufosinato en etapas de post-emergencia a una vegetación indeseada relativamente inmadura para alcanzar el máximo control de las malas hierbas.

El algodón (*Gossypium* spp.) es el cultivo de fibra textil más importante del mundo y es uno de los cultivos de semillas de aceite más importantes del mundo. Las plantas de algodón proporcionan una fuente de alimentos humanos, piensos para ganado, y materias primas para la industria. La semilla del algodón se prensa para obtener aceite de cocina y la harina de semilla de algodón residual se usa como pienso para animales. Los usos industriales del algodón incluyen mechas de velas, cordeles, papel y una multitud de productos tejidos.

El género *Gossypium* es muy amplio, conteniendo actualmente 50 especies. Dos especies tetraploides de *Gossypium* presentan fibras de semilla tejibles denominadas hebras. Estas dos especies son *G. hirsutum* (denominada algodón de tierras altas americanas) y *G. barbadense* (denominada algodón de Pima).

El algodón es una planta dicotiledónea con flores perfectas, es decir, el algodón tiene órganos masculinos productores de polen y órganos femeninos separados receptores de polen en la misma flor. La flor de algodón cultivada está rodeada por tres brácteas que forman lo que se conoce comúnmente como cuadrados. La flor contiene una corola abierta con cinco pétalos, una columna estaminal que porta agrupaciones de estambres y que conforma un tubo que encierra al estilo. El compuesto pistilo consta de tres a cinco carpelos con estigmas que sobresalen por encima de las anteras. El ovario se desarrolla en una cápsula de tres a cinco lóculos o cápsula. En cada lóculo o esclusa se fijan de siete a nueve semillas. En el día previo a la antesis, una corola enrollada emerge del cuadrado. En el día de antesis, la corola se abre y se produce el derramamiento del polen. La corola se vuelve roja el día después de la antesis y después cae de la planta. La polinización se produce con la apertura de las anteras y el derramamiento del polen sobre el estigma o con la deposición de polen sobre el estigma realizada por insectos.

Por “planta” se entienden plantas completas, órganos de plantas (p.ej., hojas, tallos, raíces, etc.), semillas, células vegetales, propágulos, embriones y progenie de las mismas. Las células vegetales pueden ser diferenciadas o no diferenciadas (p.ej., callos, células de cultivo en suspensión, protoplastos, células de hoja, células de raíz, células de floema y polen).

“Plantas transgénicas” o “plantas transformadas” o plantas, células o tejidos “transformados establemente”, se refieren a plantas que han incorporado o integrado secuencias exógenas de ácido nucleico o fragmentos de ADN en la célula vegetal. Por “transformación estable” se entiende que la construcción de nucleótidos introducida en una planta se integra en el genoma de la planta y es capaz de ser heredada por su progenie.

5 Los compuestos herbicidamente activos ácido 4-(2,4-diclorofenoxi)-butírico o 2,4-DB y glufosinato se describen, por ejemplo, en Tomlin, Clive (editor) (2009) "The Pesticide Manual", Edición Decimoprimerá, British Crop Protection Council (BCPC), páginas 306-308 y 587-589.

10 Los adyuvantes y vehículos agrícolas adecuados que son útiles para la preparación de las mezclas herbicidas de la invención son bien conocidos por los especialistas en la técnica. Los vehículos líquidos que pueden usarse incluyen agua, tolueno, xileno, nafta de petróleo, aceite de cultivo, acetona, metil etil cetona, ciclohexanona, tricloroetileno, percloroetileno, acetato de etilo, acetato de amilo, acetato de butilo, propilen glicol monometil éter y dietilen glicol monometil éter, metanol, etanol, isopropanol, alcohol amílico, etilen glicol, propilen glicol, glicerina, y otros similares.

15 Generalmente el vehículo elegido para la dilución de concentrados es agua. Los vehículos sólidos que pueden usarse incluyen talco, arcilla pirofilita, sílice, arcilla atapulgita, arcilla caolín, diatomita, caliza, tierra de diatomeas, cal, carbonato cálcico, arcilla bentonita, tierra de Fuller, cáscaras de semilla de algodón, harina de trigo, harina de soja, piedra pómez, serrín, harina de cáscara de nuez, lignina, y otros similares.

20 Habitualmente es deseable incorporar uno o más agentes superficialmente activos a las composiciones de la presente invención. Dichos agentes tensioactivos se emplean de forma ventajosa tanto en composiciones líquidas como sólidas, especialmente aquellos diseñados para ser diluidos con el vehículo antes de la aplicación. Los agentes tensioactivos pueden ser de carácter aniónico, catiónico o no iónico y pueden emplearse como agentes emulsionantes, agentes humectantes, agentes de suspensión, o para otros propósitos. Los agentes tensioactivos

25 típicos incluyen sales de alquil sulfatos, tales como dietanolamonio lauril sulfato; sales de alquiarilsulfonato, tales como dodecilbencenosulfonato cálcico; productos de adición de alquilfenol-óxido de alquilenos, tales como nonilfenol-C₁₈ etoxilato; productos de adición de alcohol-óxido de alquilenos, tales como tridecil alcohol-C₁₆ etoxilato; jabones, tales como estearato sódico; sales de alquilnaftalensulfonato, tales como dibutilnaftalensulfonato sódico; sales de dialquil ésteres de sulfosuccinato, tales como di(2-etilhexil)-sulfosuccinato sódico; ésteres de sorbitol, tales como oleato de sorbitol; aminas cuaternarias, tales como cloruro de lauril trimetilamonio; ésteres de polietilen glicol de ácidos grasos, tales como estearato de polietilen glicol; copolímeros de bloque de óxido de etileno y óxido de propileno; y sales de ésteres de mono- y di-alquilfosfato.

35 Otros adyuvantes usados habitualmente en composiciones agrícolas incluyen agentes compatibilizadores, agentes antiespumantes, agentes secuestrantes, agentes neutralizantes y tampones, inhibidores de corrosión, colorantes, odorantes, agentes de propagación, aditivos de penetración, agentes de fijación, agentes dispersantes, agentes espesantes, depresores del punto de congelación, agentes antimicrobianos, y otros similares. Las composiciones también pueden contener otros componentes compatibles, por ejemplo, otros herbicidas, reguladores del crecimiento de la planta, fungicidas, insecticidas, y otros similares, y pueden formularse con fertilizantes líquidos o

40 sólidos, vehículos de fertilizante particulado tal como nitrato amonio, urea y similares.

La concentración de los ingredientes activos en las composiciones herbicidas de esta invención generalmente es 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

45 como concentrados, el ingrediente activo generalmente está 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. Dichas composiciones se diluyen típicamente con un vehículo inerte, tal como agua, antes de la aplicación. Las composiciones diluidas aplicadas normalmente a las malas hierbas o a la localización de las malas hierbas contienen generalmente de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 1 por ciento en peso de

50 ingrediente activo y preferiblemente contienen de 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 glufosinato puede llevarse a cabo indistintamente en la pre-siembra, en la pre-emergencia y en la post-emergencia del cultivo. Se

55 prefiere la aplicación en la pre-emergencia y/o la post-emergencia temprana. “Pre-emergente” se define como la aplicación del herbicida durante el periodo previo a la emergencia de la planta de cultivo del suelo. “Post-emergencia” se define como la aplicación del herbicida durante el periodo posterior a la emergencia de la planta de cultivo del suelo, en donde el follaje de la planta de cultivo entra en contacto con el herbicida. Preferiblemente, la mezcla de 2,4-DB y glufosinato se aplica al cultivo de algodón en post-emergencia y durante el estadio de crecimiento vegetativo del cultivo de algodón.

60

La mezcla herbicida de compuestos de auxina y glufosinato de la presente invención puede aplicarse en conjunción con uno o más herbicidas para controlar una variedad más amplia de vegetación indeseada. Cuando se usa en conjunción con otros herbicidas, la mezcla descrita en la presente memoria puede formularse con otro herbicida o herbicidas, mezclarse en un tanque con otro herbicida o herbicidas, o aplicarse secuencialmente con el otro herbicida o herbicidas. Alguno de los herbicidas que pueden emplearse en conjunción con las mezclas de la

65

5 presente invención incluye glifosato, paraquat, inhibidores de ALS (p.ej., sulfonilureas, imidazolinonas, triazolpirimidina sulfonanilidas, etc.), inhibidores de HPPD (p.ej., mesotriona, isoxaflutol, etc.), inhibidores de PPO (p.ej., piraflufen, fomesafen, etc.), dicamba, bromoxinil, ariloxialcanoatos, airloxifenoxipropionato (comúnmente denominados herbicidas "fop", tal como el quizalofop), auxinas, y otros, algunos de los cuales pueden requerir de ingeniería genética para dotar al cultivo de selectividad hacia dichos herbicidas.

La presente mezcla puede aplicarse a malas hierbas o a su localización mediante el uso de rociadores, pulverizadores y aplicadores de gránulos, aéreos o de suelo, convencionales, mediante la adición de agua de irrigación, y mediante otros medios convencionales conocidos por los especialistas en la técnica.

10 En un aspecto de la presente invención, el daño al cultivo de algodón resistente a herbicida producido al aplicar cantidades efectivas de 2,4-DB y glufosinato es reducido en comparación con una aplicación de cantidades efectivas de 2,4-D y glufosinato. La reducción del daño debido a los herbicidas reduce de forma ventajosa el estrés sobre el cultivo, posiblemente reduciendo de este modo el tiempo de maduración del cultivo, o incluso haciendo que el agricultor ahorre costes y aumente el rendimiento final del cultivo.

15 Sin pretender establecer ninguna teoría, se propone la hipótesis de que el 2,4-DB no es un herbicida robusto hasta que es sometido a una oxidación beta *in planta*. Esta etapa metabólica adicional y/u otros factores dan como resultado un aumento de la capacidad de la planta transformada con AAD para tolerar aplicaciones de 2,4-DB en comparación con 2,4-D. Este concepto se puede aplicar a todos los cultivos transformados con AAD pero es particularmente útil cuando se aplica a cultivos transformados con AAD, incluyendo el algodón, que presentan una menor resistencia a 2,4-D.

20 Con "daño" se pretende indicar el porcentaje de follaje que esta epinástico (que presenta caída de hojas, enrollamiento de hojas, curvatura de peciolo) según se evalúa visualmente por parte de un especialista en la técnica. El daño reducido de mezclas de 2,4-DB y glufosinato respecto a mezclas de 2,4-D y glufosinato es observable en los primeros minutos tras la aplicación de dichos herbicidas, y posteriormente continúa siendo observable durante un periodo de tiempo extendido, tal como de 2 horas después de la aplicación hasta 30 días después de la aplicación, incluyendo de 3 horas después de la aplicación a 19 días después de la aplicación, incluyendo de 6 horas después de la aplicación a 24 horas después de la aplicación.

25 La invención objeto de la presente memoria también es aplicable a cultivos de algodón resistentes a herbicidas de auxina transgénicos que comprende uno o más genes adicionales de resistencia a herbicidas, que incluyen, aunque sin limitación, glifosato, ALS- (imidazolinona, sulfonilurea), un segundo ariloxialcanoato-, HPPD-, PPO-, y genes de resistencia a glufosinato, de tal modo que se proporcionan plantas resistentes a herbicidas compatibles con un control de malas hierbas y opciones de manejo de resistencia a herbicidas más amplios y más robustos.

30 Para una aplicación post-emergencia, generalmente se emplean tasas de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2.240 gramos de ácido equivalente/hectárea (g ae/ha), y preferiblemente de 1 a aproximadamente 1.120 g ae/ha. Para aplicaciones pre-emergencia, generalmente se emplean tasas de aproximadamente 1 a aproximadamente 2.240 g ae/ha. Las tasas más elevadas designadas generalmente proporcionan un control no selectivo de una amplia variedad de vegetación indeseada. Las tasas más bajas normalmente proporcionan un control selectivo y pueden emplearse en la localización de los cultivos de algodón. En las realizaciones de la invención, una tasa de aplicación preferida de 2,4-DB para operaciones post-emergencia es de al menos 280 g ae/ha, preferiblemente de aproximadamente 280 g ae/ha a aproximadamente 2.240 g ae/ha. Una tasa de aplicación preferida de glufosinato para operaciones post-emergencia es de al menos 300 g ae/ha, preferiblemente de aproximadamente 300 g ae/ha a aproximadamente 1.000 g ae/ha.

35 En las descripciones previas, se han fijado numerosos detalles específicos, tales como materiales, estructuras, productos químicos, procesos, etc., específicos para proporcionar una mejor comprensión de la presente invención. Sin embargo, la presente invención puede llevarse a cabo sin recurrir a los detalles mostrados específicamente. En otros ejemplos, no se han descrito en detalle estructuras de procesamiento bien conocidas a fin de no ocultar innecesariamente la presente invención.

40 En la presente memoria solo se muestra y se describe la realización preferida de la invención y unos pocos ejemplos de su versatilidad. Debe entenderse que la presente invención es capaz de usarse en varias combinaciones y entornos diferentes, y es capaz de aceptar cambios o modificaciones dentro del alcance del concepto inventivo tal como se expresa en la presente memoria.

60 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar determinadas realizaciones preferidas de la invención. Estos ejemplos no deberían considerarse como limitaciones de las reivindicaciones. Los especialistas en la técnica deberían apreciar que las técnicas descritas en los siguientes ejemplos representan estrategias específicas usadas para ilustrar los modos preferidos para llevarla a práctica.

Las plantas de algodón transformadas con los genes *AAD-1* o *AAD-12*, codifican una proteína de ariloxialcanoato dioxigenasa (AAD). Las plantas transformadas con el gen *PAT*, codifican una proteína de fosfotricina acetil transferasa (PAT). Por consiguiente, las plantas de algodón transformadas con ambos genes, *AAD* y *PAT*, presentan resistencia a ambos herbicidas, auxina y glufosinato.

Dichas plantas transformadas se usan en los siguientes ejemplos para demostrar la resistencia a herbicidas de auxina, específicamente 2,4-DB y 2,4-D cuando se mezclan con un herbicida de glufosinato. *AAD1*, *AAD-12* o *PAT* también pueden usarse como marcadores seleccionables durante la transformación de la planta y en cultivos de cría. El propio gen *AAD-1*, para resistencia a herbicidas en plantas, fue descrito por vez primera en el documento WO 2005/107437 (ver también US 2009-0093366). El propio gen *AAD-12*, para resistencia a herbicidas en plantas, fue descrito por vez primera en el documento WO 2007/053482(A2) (ver también US 2005-731044P). El propio gen *PAT*, para resistencia a herbicidas en plantas, fue descrito por vez primera en el documento US 5273894A.

EJEMPLO 1

2,4-DB y 2,4-D, mezclados con glufosinato, proporcionan un control de malas hierbas similar en algodón transformado con *AAD-1* y *PAT*

Se llevó a cabo un experimento para comparar las eficacias de 2,4-DB mezclado con glufosinato y 2,4-D mezclado con glufosinato para controlar malas hierbas en algodón transformado con los genes *AAD-1* y *PAT* en nuevas zonas de cultivo próximas a Greenville, MS (3 localizaciones); Chula, GA; Condado de Macon, GA; Attapulgus, GA; Memphis, TN; Newport, AR; y Fresno, CA. El diseño experimental fue de cuatro réplicas por zona con parcelas de tratamiento en bloques completos aleatorizados. Cada parcela contenía plantas de algodón en dos filas que tenían una longitud de 6,1 metros. Las malas hierbas y las plantas de algodón fueron plantadas a entre cinco y quince centímetros de altura para un tratamiento de aplicación sencilla. Los tratamientos con herbicida consistieron en Butyrac 200 (2,4-DB) y Weedar 64 (2,4-D) mezclado cada uno de ellos con dos concentraciones diferentes (840 g ae/ha y 1120 g ae/ha) con Ignite 280 (glufosinato) a 542 g ae/ha para un total de cuatro tratamientos. Las especies de malas hierbas fueron evaluadas visualmente una vez por semana durante tres semanas después de la aplicación de herbicida para determinar el porcentaje de plantas muertas o que mostraran daños graves relacionados con el herbicida (en donde el 0% representa no actividad y el 100% representa la muerte de todas las plantas objetivo).

Para casi todas las especies objetivo y todas las semanas de medición, se obtuvieron mayores niveles de control con la mayor tasa de aplicación de 1120 g ae/ha de 2,4-DB ó 2,4-D. Por lo tanto, en base a la eficacia, se prefiere la tasa de aplicación de 1120 g ae/ha sobre la de 840 g ae/ha para 2,4-DB y 2,4-D cuando están mezclados con glufosinato para controlar malas hierbas en este algodón tolerante a herbicidas. A 1120 g ae/ha, el control fue >90% de plantas de malas hierbas muertas o dañadas gravemente a las tres semanas de la aplicación, excepto para las plantas de *Amaranthus* que eran resistentes al glifosato (AMAPA gly-res). Al final de la tercera semana de aplicación, el control de plantas AMAPA gly-res fue del 79% con 2,4-DB más glufosinato y del 75% con 2,4-D más glufosinato. En la Tabla 1 se muestran los resultados del control de malas hierbas una semana después de la aplicación de 2,4-DB ó 2,4-D mezclados con glufosinato en parcelas de este algodón tolerante a herbicida.

TABLA 1

Porcentaje de control de especies de malas hierbas en algodón transformado con <i>AAD-1/PAT</i> , una semana después de la aplicación de 2,4-DB ó 2,4-D a 1120 g ae/ha, mezclados ambos con glufosinato a 542 g ae/ha (n=36 parcelas)		
Especies ^a	2,4-DB + glufosinato	2,4-D + glufosinato
ACCOS	100	100
ACNHI	99	99
AMAPA	98	97
AMAPA GLY-res	96	91
AMARE	100	100
AMASS ^b	98	98
CASOB	100	100
DEDTO	99	99
IAQTA	99	99
IPOHG	99	100
IPOSS	98	99
MOLVE	98	99
RCHSC	99	99
SEBEX	100	100
SIDSP	95	95
SOLNI	100	100

Abreviaturas: AAD, ariloxialcanoato dioxigenasa; g ae/ha, gramos de ácido equivalente por hectárea; GLY-res, resistente a glifosato; PAT, fosfotricina acetiltransferasa.

^aCódigo de especies mantenido por la European Plant Protection Organization. ^bTodas las especies *Amaranthus* excluyendo AMAPA.

EJEMPLO 2

Las plantas de algodón transformadas con *AAD-1* y *PAT* presentan una resistencia significativamente incrementada a 2,4-DB en comparación con 2,4-D mezclados con glufosinato

Se evaluó las plantas de algodón transformadas con los genes *AAD-1* y *PAT* para determinar su resistencia a los compuestos herbicidas 2,4-DB y 2,4-D mezclados con glufosinato en un experimento de invernadero. Se mezclaron los herbicidas Butoxona® (2,4-DB) y Weedar 64 (2,4-D) con Ignite 280 (glufosinato) y se aplicaron a las plantas de algodón en cuatro tratamientos (Tabla 2). El diseño experimental fue de cuatro réplicas de una planta por tratamiento. Las plantas fueron cultivadas en macetas y los tratamientos no fueron aleatorizados. Las plantas se encontraban en el estado de hoja 3 a 4 cuando fueron rociadas. Las plantas de algodón rociadas fueron evaluadas visualmente para determinar el porcentaje de follaje que mostraba daños relacionados con los herbicidas en los días 0, 1, 2, 4 y 12 después de la aplicación.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de daños medios observados en plantas de algodón después de rociarlas con 2,4-DB ó 2,4-D con glufosinato. Los daños observados en las plantas fueron estadísticamente significativos y menores a los 12 días después de la aplicación para 2,4-DB mezclado con glufosinato en comparación con tasas idénticas de aplicación de 2,4-D mezclado con glufosinato, excepto en los días 2 y 4 tras la aplicación, en los que no se observó una diferencia significativa para la mayor tasa de aplicación.

TABLA 2

Daño medio con el tiempo para 2,4-DB ó 2,4-D aplicados con glufosinato post-emergencia en algodón transformado con <i>AAD-1/PAT</i>						
Tratamiento con herbicida		Daño medio (%) ^{ab}				
Mezcla	Tasa (g ae/ha)	0 DAA	1 DAA	2 DAA	4 DAA	12 DAA
2,4-DB + glufosinato	1120 + 542	1,8 b	0,5 c	5,3 b	2,5 c	6,8 c
2,4-DB + glufosinato	2240 + 1084	4,3 b	9,5 b	17,3 a	15,0 a	8,0 c
2,4-D + glufosinato	1120 + 542	15,3 a	8,8 b	14,0 a	8,3 b	21,3 b
2,4-D + glufosinato	2240 + 1084	18,5 a	23,0 a	19,5 a	17,0 a	26,0 a
HSD de Tukey (P=0,05)		5,7	6,9	6,5	5,4	4,3

Abreviaturas: AAD, ariloxialcanoato dioxigenasa; DAA, días tras la aplicación; g ae/ha, gramos de ácido equivalente por hectárea; HSD, diferencia honestamente significativa.
^aDaño determinado visualmente como el porcentaje de follaje de planta de algodón epinástico; n=4 plantas. ^bMedias seguidas de la misma letra no difieren significativamente.

EJEMPLO 3

Las plantas de algodón transformadas con *AAD-12* y *PAT* presentan una resistencia moderadamente incrementada a 2,4-DB en comparación con 2,4-D mezclados con glufosinato

Se evaluó las plantas de algodón transformadas con los genes *AAD-12* y *PAT* para determinar su resistencia a los compuestos herbicidas 2,4-DB y 2,4-D mezclados con glufosinato en un experimento de invernadero. Se mezclaron los herbicidas Butoxona® (2,4-DB) y Weedar 64 (2,4-D) con Ignite 280 (glufosinato) y se aplicaron a las plantas de algodón en cuatro tratamientos (Tabla 3). El diseño experimental fue de cuatro réplicas de una planta por tratamiento. Las plantas fueron cultivadas en macetas y los tratamientos no fueron aleatorizados. Las plantas se encontraban en el estado de hoja 3 a 4 cuando fueron rociadas. Las plantas de algodón rociadas fueron evaluadas visualmente para determinar el porcentaje de follaje que mostraba daños relacionados con los herbicidas en los días 0, 1, 2, 4 y 12 después de la aplicación.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de daños medios observados en plantas de algodón después de rociarlas con 2,4-DB ó 2,4-D con glufosinato. En general, los porcentajes de control observados no fueron diferentes de forma estadísticamente significativa entre los tratamientos. Comparando tasas de concentración idénticas entre las mezclas de herbicidas, la única diferencia entre los herbicidas se observa para el día 1 tras la aplicación, en donde la menor tasa de 2,4-DB mezclado con glufosinato dio como resultado un daño significativamente menor a las plantas de algodón que la menor tasa de 2,4-D mezclado con glufosinato.

TABLA 3

Daño medio con el tiempo para 2,4-DB ó 2,4-D aplicados con glufosinato post-emergencia en algodón transformado con AAD-12/PAT						
Tratamiento con herbicida		Daño medio (%) ^{ab}				
Mezcla	Tasa (g ae/ha)	0 DAA	1 DAA	2 DAA	4 DAA	12 DAA
2,4-DB + glufosinato	1120 + 542	0,5 a	0,0 b	2,3 b	1,0 c	4,8 a
2,4-DB + glufosinato	2240 + 1084	1,8 a	9,8 a	9,5 a	9,8 a	4,5 a
2,4-D + glufosinato	1120 + 542	3,0 a	7,3 a	5,5 ab	4,0 bc	4,3 a
2,4-D + glufosinato	2240 + 1084	4,8 a	6,3 a	10,0 a	8,0 ab	6,8 a
HSD de Tukey (P=0,05)		5,4	5,5	5,2	4,6	4,5

Abreviaturas: AAD, ariloxialcanoato dioxigenasa; DAA, días tras la aplicación; g ae/ha, gramos de ácido equivalente por hectárea; HSD, diferencia honestamente significativa.

^aDaño determinado visualmente como el porcentaje de follaje de planta de algodón epinástico; n=4 plantas. ^bMedias seguidas de la misma letra no difieren significativamente.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un método para controlar vegetación indeseada en un campo que contiene un cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina y glufosinato, que comprende aplicar a la localización en la que se desea el control una mezcla de una cantidad efectiva de 2,4-DB y una cantidad efectiva de glufosinato.
- 10 **2.** El método de la reivindicación 1, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina es un cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina y glufosinato y en donde el daño al cultivo de algodón resistente a herbicida es reducido en comparación con una aplicación de una mezcla de una cantidad de ácido equivalente de 2,4-D y glufosinato.
- 15 **3.** El método de la reivindicación 2, en donde el daño al cultivo de algodón resistente a herbicida es reducido en comparación con una aplicación de una mezcla de una cantidad de ácido equivalente de 2,4-D y glufosinato a las 6 horas después de la aplicación.
- 20 **4.** El método de la reivindicación 2, en donde el daño al cultivo de algodón resistente a herbicida es reducido en comparación con una aplicación de una mezcla de una cantidad de ácido equivalente de 2,4-D y glufosinato a las 24 horas después de la aplicación.
- 5.** El método de la reivindicación 1, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida es un cultivo de algodón resistente a herbicida de ariloxialcanoato auxina.
- 25 **6.** El método de la reivindicación 2, en donde el daño al cultivo de algodón resistente a herbicida es reducido en comparación con una aplicación de una mezcla de una cantidad de ácido equivalente de 2,4-D y glufosinato para cualquier periodo de tiempo hasta 12 días después de la aplicación.
- 30 **7.** El método de la reivindicación 5, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida de ariloxialcanoato es un cultivo es un cultivo de algodón transgénico.
- 8.** El método de la reivindicación 7, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida de ariloxialcanoato transgénico comprende además al menos un gen adicional de tolerancia a herbicida.
- 35 **9.** El método de la reivindicación 5, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida de ariloxialcanoato comprende un gen que codifica para AAD-1 (ariloxialcanoato dioxigenasa).
- 10.** El método de la reivindicación 5, en donde el cultivo de algodón resistente a herbicida de ariloxialcanoato comprende un gen que codifica para AAD-12 (ariloxialcanoato dioxigenasa).
- 40 **11.** El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad efectiva de 2,4-DB es al menos de 280 gramos de ácido equivalente/hectárea, y en donde la cantidad efectiva de glufosinato es al menos de 300 g ae/ha.
- 45 **12.** El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad efectiva de 2,4-DB es de 280 gramos de ácido equivalente/hectárea a 2.240 gramos de ácido equivalente/hectárea, y en donde la cantidad efectiva de glufosinato es de 300 g ae/ha a 1.000 g ae/ha.
- 13.** El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla de 2,4-DB y glufosinato se aplica al cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina post-emergente.
- 50 **14.** El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla de 2,4-DB y glufosinato se aplica al cultivo de algodón resistente a herbicida de auxina post-emergente durante el estadio vegetativo de crecimiento del cultivo de algodón resistente a herbicida.
- 55 **15.** El método de la reivindicación 1, en donde la vegetación indeseada comprende una mala hierba resistente a glifosato.
- 16.** El método de la reivindicación 1 que comprende aplicar un herbicida adicional a la localización en la que se desea realizar el control.