UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

PREDICCIÓN DE LOS EFECTOS DE RESIDUALIDAD DE HERBICIDAS UTILIZADOS EN SOJA SOBRE CULTIVO DE COLZA EN SUCESIÓN

por

Bernardo ACUÑA

Mario ISOLA

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO
URUGUAY
2019

Tesis aprobada por:

Director: ----------

Ing. Agr. Dra. Grisel Fernández

Ing. Agr. Juana Villalba

Ing. Agr. Luciana Rey

Fecha: 09 de agosto de 2019

Autores: ----------

Bernardo Acuña Pérez

Mario Isola Bocchiardo

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestras familias y tutora de tesis por su apoyo y dedicación.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PAGINA DE APROBACIÓN II
AGRADECIMIENTOS III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES VI
1. INTRODUCCIÓN 1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 2
2.1. LOS PROBLEMAS DEL USO DE HERBICIDAS PERSISTENTES EN LAS ROTACIONES DEL URUGUAY 2
2.2. PERSISTENCIA DE HERBICIDAS EN SUELO 3
2.3. HERBICIDAS ENSAYADOS EN EL PRESENTE ESTUDIO 5
2.3.1. Diclosulam 5
2.3.2. Flumioxazin 5
2.3.3. Sulfentrazone 6
2.3.4. S-Metolaclor 7
2.3.5. Metribuzin 7
2.3.6. Diflufenican 8
2.3.7. Lightning 9
2.3.8. Fomesafen 10
3. MATERIALES Y MÉTODOS 11
3.1. LOCALIZACIÓN 11
3.2. BIOENSAYOS Y TRATAMIENTOS 11
3.3. METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN 12
3.4. DETERMINACIONES 13
3.4.1. Largo de raíz 13
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL 13
3.6. PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN 13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 15
4.1. RESULTADOS DE BIOENSAYOS 15
4.1.1. Primer fecha de evaluación (132 días post aplicación) 15

4.1.2. Segunda fecha de evaluación (195 días post aplicación) 16
4.1.3. Tercera fecha de evaluación (216 días post aplicación) 18
4.2. VALOR PREDICTIVO DE LOS BIOENSAYOS 20
5. CONCLUSIONES 22
6. RESUMEN 23
7. SUMMARY 24
8. BIBLIOGRAFÍA 25

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No. Página

1. Descripción de los tratamientos. ……...11
2. Efecto de la dosis segunda fecha de evaluación……17
3. Efecto de la dosis tercera fecha de evaluación……..19

Figura No.

1. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreo 1. ……15
2. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreo 2. ……17
3. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreo 3. ……18
4. Resultados de la interacción dosis por tratamiento…..……19

1. INTRODUCCIÓN

La colza (*Brassica sp.)* es un cultivo de invierno que ha tomado relevancia en el país en los últimos años, como una alternativa dentro de la rotación agrícola frente al trigo (*Triticum aestivum*) y la cebada (*Hordeum vulgare*).

Es una atractiva opción para los sistemas de rotación agrícola del Uruguay, ya que posee ciertas ventajas, entre las cuales se destacan: mayor eficacia en control de malezas gramíneas, interrupción del ciclo de enfermedades, diversificación de sistema de producción y posibilidad de realizar doble cultivo anual, además por presentar un ciclo relativamente corto, esto favorece a la liberación de la chara temprano para el cultivo siguiente.

A pesar de estas ventajas, el cultivo presenta ciertas limitantes, dado que el cultivo principal de la mayoría de las rotaciones es soja (*Glycine max*). En soja al presente, se utilizan varios herbicidas con importante persistencia lo que introduce riesgo de afectar la colza como cultivo sucesor, limitando su crecimiento, desarrollo y/o rendimiento final.

Al ser un nuevo cultivo en el país, se carece de información nacional respecto a este tema. Pero, por otra parte, siendo que la persistencia es un fenómeno de alta complejidad, determinada por muy diversos factores que presentan además diversas interacciones (Hollis, 1991) también la información en las regiones donde se han realizado estudios al respecto presenta deficiencias. En los últimos años, se ha venido enfatizando en la posibilidad de la utilización de bioensayos, que permitan la predicción más ajustada para condiciones particulares de suelo y clima asociada a la utilización de los herbicidas de riesgo.

Considerando lo anteriormente mencionado, el objetivo de este trabajo fue estudiar la potencialidad de la utilización de un bioensayo, relativamente sencillo propuesto por Szmigielski et al. (2008), en la predicción de los efectos de persistencia en colza, de tratamientos herbicidas comúnmente utilizados en soja.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LOS PROBLEMAS DEL USO DE HERBICIDAS PERSISTENTES EN LAS ROTACIONES DEL URUGUAY

El monocultivo de soja, en este país ha traído consigo algunos problemas, uno de ellos, es el desarrollo de resistencias de las malezas dado el permanente uso de ciertos principios activos. Parte del desarrollo de estas resistencias, se debió, a las malas prácticas agrícolas y por no realizar un manejo integrado de malezas, así como también el uso no adecuado de herbicidas en sub o sobre dosis (Papa, 2009).

Esta es una de las razones por las cuales los agricultores, han optado por el uso de herbicidas alternativos, muchos de los cuales presentan importante persistencia.

Esto ha generado problemas secundarios, afectando la rotación de cultivos, debido a que el control de las diferentes especies de malezas por parte de los herbicidas persistentes, pueden también afectar el cultivo en sucesión de la rotación. Este efecto residual es denominado también “carryover” (Olivera, 1996).

Como es descripta por Iriarte y López (2014), la alta intensificación agrícola en los últimos años con la introducción de la soja en el país, hace necesaria una rotación de cultivos adecuada para reducir la presión de malezas, insectos y enfermedades, mejorar las condiciones de almacenaje de agua y fertilidad. La inclusión de colza se presenta como una alternativa promisoria en los lugares donde las condiciones climáticas permiten solamente la realización de cereales de invierno (trigo y cebada). Cuando se incluye colza, en una secuencia de cultivos en la que también se siembran oleaginosas de verano, es importante tener en cuenta la historia previa de la chacra y el manejo que se ha realizado del mismo, especialmente en lo que se refiere al uso de herbicidas que pueden presentar fitotoxicidad para colza.

La colza, como cultivo alternativo a introducir en una rotación presenta cierta limitante, esta especie es muy sensible a la residualidad de herbicidas en suelo, debido a esto, para Brown et al. (2008) es esencial conocer el historial de uso de herbicida de cualquier campo antes de la siembra de colza.

2.2. PERSISTENCIA DE HERBICIDAS EN SUELO

Varios herbicidas, de uso común, poseen efecto de residualidad, esto quiere decir que, persisten en el suelo con capacidad de acción por tiempos prolongados.

Este periodo en el cual existe persistencia de herbicida, es afectado según diferentes características del suelo que determinan distintos procesos químicos y/o físicos, los procesos químicos encargados de determinar los diferentes niveles de degradación y/o adsorción de los herbicidas son afectados por: la humedad, el pH, el contenido de materia orgánica, la textura y la temperatura del suelo. Los procesos físicos que afectan la persistencia son lixiviación, escurrimiento y volatilización. También depende de los microorganismos del suelo, del contacto con la luz y del tipo y dosis del herbicida.

A su vez, estos procesos químicos y físicos se encuentran relacionados directamente, ya que la susceptibilidad de un herbicida a ser adsorbido o degradado por procesos químicos, se relaciona con la cantidad a ser escurrido, lixiviado y/o volatilizado y viceversa.

En referencia a los procesos químicos que determinan persistencia, Johnson et al. (2005) aseguran que, la materia orgánica (MO) del suelo le proporciona sitios de unión adicionales a los herbicidas, manteniéndolo fuera del alcance de las raíces del cultivo. El contenido de MO es también un buen indicador de la actividad micro-floral, así un suelo con mayor contenido de MO proporciona fuentes adicionales de alimento para la micro-flora que descomponen los herbicidas. A medida que la MO disminuye, lo hace en conjunto la degradación microbiana del herbicida, aumentando así el potencial de residualidad.

Suelos de textura más pesada, con mayor contenido de arcilla, poseen una mayor adsorción de los herbicidas residuales, disminuyendo el potencial daño de los cultivos posteriores.

El pH actúa de diferente manera dependiendo del herbicida, algunos productos en un extremo de pH se unen fuertemente a las partículas y son relativamente libres en el otro extremo. Por ejemplo la descomposición de la imidazolinonas es más lenta en suelos ácidos (pH<6) y la sulfonilurea lo es en suelos alcalinos (pH>7,5).

La degradación microbiana e hidrolítica de los herbicidas disminuye ante una situación de sequía, aumentando la adsorción del producto a las partículas del suelo. La mayor proporción de los microbios descomponedores son aeróbicos, la saturación del suelo y la consecuente falta de oxígeno aumentan la residualidad de la molécula herbicida. Luego de estos eventos,

puede llevar un tiempo la recuperación de la población microbiana, afectando las futuras descomposiciones.

La temperatura del suelo afecta de diferente manera según la población microbiana que lo componga, disminuyendo la actividad con temperaturas bajas y altas por encima de cierto rango, entre estos límites se tiene un rango óptimo de acción microbiana en el cual aumenta la descomposición.

Los procesos físicos como lixiviación se definen como el “lavado” del herbicida hacia los perfiles más profundos del suelo, debido a la percolación del agua por efecto gravitatorio. Su magnitud se determina según la cantidad, frecuencia e intensidad de agua recibida, a mayor volumen de agua recibida mayor lixiviación (Hollis, 1991).

Volatilización es la evaporación del herbicida, el cual puede perderse hacia la atmosfera o redistribuirse a través de las partículas del suelo. Este proceso es afectado según las propiedades físicas y fisicoquímicas del herbicida (presión de vapor, solubilidad, estructura y características de adsorción – desorción, Braschi, 2011).

Escurrimiento es la escorrentía del agua sobre la superficie del suelo, que lleva consigo el herbicida disuelto o partículas de suelo con éste adsorbido, este escurrimiento superficial se da debido a que el agua recibida es mayor a la capacidad de infiltración del suelo. A su vez, éste depende del tipo de herbicida, las propiedades del suelo, las condiciones climáticas y las características topográficas (Sophocleous, 2002).

Colquhoun (2006) afirma que un número limitado de herbicidas son propensos a la foto-descomposición, esta ocurre cuando la energía del sol descompone un herbicida, la incorporación de estos herbicidas al suelo disminuye el efecto de este proceso.

Un término utilizado generalmente para describir la residualidad es el de vida media, se define como el tiempo requerido para disipar la mitad de la cantidad del herbicida aplicado. Varía según el tipo y dosis del herbicida, abarcando desde unos pocos días hasta años.

La persistencia es mediada a través de diferentes métodos, los más utilizados son los métodos químicos y biológicos. El fin de estos es evaluar el tiempo durante el cual el herbicida permanece activo en el suelo pudiendo causar efecto sobre la vegetación, indiferentemente sea una mala hierba o un cultivo implantado. Los métodos químicos son específicos, sensibles y miden de forma cuantitativa el residuo de herbicida (Galletti et al. 1995, Stout et al. 1997, Szmigielska et al. 1998). Presenta una complejidad mayor, dada que son costosos, requieren equipos analíticos sofisticados y disolventes de extracción,

necesitando más tiempo para la obtención de los resultados (Szmigielski et al., 2011).

El bioensayo como método biológico, se presenta como una evaluación simple de realizar, que arroja sus resultados en poco tiempo y de bajo costo. A diferencia del químico, éste no es específico, pudiendo cuantificar el efecto residual de todos los herbicidas presentes en el suelo (Johnson, 2005). Los resultados de este método son evaluados en diferentes parámetros como longitud de raíz o brotes, peso fresco o seco de los mismos, área foliar o altura de planta, estimación visual, efecto fisiológicos y morfológicos (Horowitz, 1976). Para estas evaluaciones se necesita una muestra control con la cual se pueda comparar los resultados.

2.3. HERBICIDAS ENSAYADOS EN EL PRESENTE ESTUDIO

2.3.1. Diclosulam

Este herbicida, correspondiente a la familia química de las triazolpirimidinas, pertenece al grupo de inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS), la cual es responsable de la síntesis de aminoácidos alifáticos como valina, leucina e isoleucina. Actúa sobre especies de hoja ancha, se absorbe vía foliar y radicular, de forma muy rápida, translocándose por floema y también xilema acumulándose en los meristemos.

Lavorenti et al. (2003) describen al diclosulam con una vida media de 60 a 90 días, dependiendo de las condiciones de clima, suelo y pH.

La Universidad de Georgia, estado ubicado al Sureste de los Estados Unidos que posee un clima sub tropical, siendo gradualmente más frio hacia el Norte a medida que se aleja del Océano Atlántico, con nevadas escasas y precipitaciones de 130 mm promedio anuales, presenta para este herbicida una de las restricciones de tiempo de espera más importantes para efectuar la siembra del cultivo de colza, éste es de al menos 30 meses posterior a la aplicación (Buntin, 2007).

2.3.2. Flumioxazin

Forma parte de la familia química de las N-fenil-ítalimidas y del grupo de inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa (PPO), grupo que al entrar en contacto con la luz desorganizan la membrana, son absorbidos por hoja y raíz,

pero con una translocación muy limitada, actúan principalmente sobre hojas anchas.

Montoya (2017) describe la interacción de este herbicida en el suelo, como un herbicida inestable, con bajo potencial de lixiviación. Las propiedades de adsorción son altas, siendo mayor en suelos pesados y menor en livianos.

En diferentes regiones de los Estados Unidos se realizaron estudios sobre este herbicida. A partir de sus resultados se extraen los datos de vida media, los cuales fueron muy variables, ubicándose entre 5 – 42 días (Federoff, 1996).

En el estado de Saskatchewan ubicado en el centro Sur de Canadá, donde las temperaturas pueden alcanzar los -50°C, se recomienda que para sembrar colza posterior a la aplicación de flumioxazin, debe transcurrir al menos unos 12 meses para evitar daños en el cultivo (Colquhoun, 2006).

2.3.3. Sulfentrazone

Pertenece al mismo grupo que el flumioxazin pero se encuentra dentro de otra familia química, las triazolinonas.

Es un principio activo de moderada adsorción a los coloides del suelo, alto riesgo de lixiviación y carryover. La persistencia y disponibilidad de éste, es más dependiente del contenido de MO y textura que del pH, siendo más adsorbido a mayor contenido de arcilla y materia orgánica, con mayor movilidad en texturas arenosas. En el caso del pH, la adsorción es menor con pH mayores a 7, aumentando así su disponibilidad. Su persistencia se encuentra entre los 110 – 280 días (Montoya, 2017).

En condiciones de alta humedad, 80% de la capacidad de campo, temperatura elevada (40°C) en los primeros 30cm de suelo, fue donde se degrado de forma más rápida según Brum et al. (2013). Los mismos autores constataron valores de vida media (TD50) que variaron de 34 a 116 días, a pesar de alcanzar dichos resultados para algunos tratamientos del experimento no se pudieron estimar los valores de vida media debido a su alta persistencia.

Sin embargo, Blanco et al. (2005) analizaron el comportamiento del herbicida, aplicado en soja para cultivos próximos y concluyeron que, con una dosis de 0,6 kg i.a. ha^{-1} el producto persiste en suelo hasta 376 días luego de su aplicación y al utilizar el doble de dosis la masa fresca de la planta prueba fue menor a la testigo y la persistencia del herbicida fue mayor a 540 días.

La Universidad de Idaho y la Universidad Estatal de Oregón, órganos académicos de los Estados Unidos, realizaron para la región fría del Noroeste

un manual de recomendaciones para el cultivo de colza donde determinan tiempos de espera diferentes que se deben respetar luego de la aplicación de ciertos herbicidas para la siembra del cultivo de colza, recomendando así para sulfentrazone un tiempo mínimo de 24 meses (Brown et al., 2008).

2.3.4. S-Metolaclor

Compone el grupo de inhibidores de ácidos de cadena larga (K3) de la familia de las cloroacetamidas, estas inhiben la elongación celular en zonas meristemáticas del coleoptile y raíz, poseen una limitada translación y actúan básicamente sobre gramíneas anuales.

Montoya (2017) lo detalla como moderadamente afín a ser retenido por los coloides del suelo, y posee una vida media de 21 - 40 días aproximadamente. Esta es afectada principalmente por la degradación microbiana.

Altstaedt et al. (1999) al evaluar la vida media de s-metolaclor obtuvieron un valor de 14 días, 10 días menor al obtenido en regiones templadas, debido principalmente, a perdidas por degradación microbiana y volatilización.

Como señalan Chinnusamy et al. (2012) la vida media del s-metolaclor, en distintos tipos de suelo, se situó en 22,42 días promedio con una disipación bifásica, es decir, una rápida fase inicial de disipación hasta los 20 días y luego esta se vuelve lenta.

Debido a su baja residualidad este principio activo no presenta restricciones al momento de ser sembrado un cultivo de colza (Brown et al., 2008).

2.3.5. Metribuzin

Su mecanismo de acción es la inhibición del fotosistema II, se encuentra dentro de la familia de las triazinas que inhiben el transporte de electrones, se caracteriza por su rápida absorción radicular y su actividad edáfica es corta. Controla hojas anchas y algunas gramíneas

De la Cruz (2010), describe, al metribuzin como altamente soluble y lixiviable, de baja adsorción en suelo y su principal mecanismo de degradación es microbiano.

Metribuzin es un herbicida muy susceptible a la lixiviación, lo que indica que es muy afectado por las precipitaciones que ocurren luego de la aplicación del mismo. Rossi et al. (2013) estudiaron la dinámica sobre rastrojo de caña de azúcar, y concluyeron que a mayor acumulación de milímetros post aplicación mayor es su lixiviación, siendo esto inversamente proporcional al contenido de rastrojo o materia orgánica del suelo. Cuando el herbicida fue aplicado sin lluvia persistió por un periodo aproximado de 28 días.

La utilización de metribuzin de forma secuencial, requiere de al menos, 20 días para que los microorganismos puedan recuperarse del efecto fitotóxico (Annapurnad et al., 2015). Estos resultados, se ubican dentro del rango de vida media que posee el herbicida, entre 17 y 25 días, con una tasa de disipación cinética de primer orden siendo rápida en el inicio y más lenta luego de 3 o 4 semanas, además se constató que la tasa de degradación se vio afectada por la temperatura, siendo esta más rápida a 30°C que a 20°C (Savage, 1977).

La recomendación realizada por Brown et al. (2008) de este herbicida es una restricción de 12 meses para la siembra de colza posterior a la aplicación del mismo.

2.3.6. Diflufenican

Este herbicida, pertenece al grupo F de la clasificación de modo de acción por lo tanto es un inhibidor de la síntesis de caroteno y se encuentra dentro de la familia misceláneos (F1).

Este principio activo, fue descripto en el congreso de 1995 de la Sociedad Española de Malherbología, dada sus evaluaciones para la producción de un herbicida mezcla con glifosato. Diflufenican presenta baja solubilidad y una fuerte adsorción a las partículas del suelo, lo que le da la característica de no ser fácilmente lixiviable. En evaluaciones de campo, con lluvias de 205-230 mm, el 89-94% del producto se encontró en los primeros dos centímetros de suelo, no encontrándose trazas de producto por debajo de los cinco centímetros.

Con lo que respecta a la degradación en suelo, esta descomposición se produce por hidrolisis química y actividad microbiana. La luminosidad y las altas temperaturas aceleran la degradación, el suelo debe encontrarse con humedad para que sus moléculas se encuentren activas.

Dado lo descripto anteriormente, su característica de baja solubilidad, fuerte adsorción y de baja lixiviación, junto con las condiciones óptimas de temperatura moderada, baja luminosidad y condiciones de humedad en suelo,

el producto persiste entre 4-6 meses en aplicaciones de otoño y entre 2-2,5 en aplicaciones de verano (Miro y López de Medina, 1995).

En el trabajo de Bulcke et al. (2000) se utilizó entre otros; diflufenican a una dosis de 250 g de i.a. ha^{-1} en huertas, en las que nunca se había aplicado este producto y en otras que hacía tres años se aplicaba. Los resultados arrojaron que no hubo diferencias en la vida media entre ambas parcelas siendo esta de 65 días.

2.3.7. Lightning

Lightning es el nombre comercial del herbicida mezcla de dos principios activos: imazetapir (52,5%) y imazapir (17,5%). Ambos pertenecen a la familia de las imidazolinonas y se clasifica por su mecanismo de acción dentro del grupo B, inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS), esta enzima es la responsable de la síntesis de aminoácidos alifáticos: valina, leucina e isoleucina, su absorción en planta es foliar y radicular. Controla hoja ancha y algunas gramíneas.

Es un herbicida de moderada a larga vida media, siendo más persistentes en suelos ácidos, debido a que en suelos básicos se dan procesos de hidrolisis alcalina (Montoya, 2017).

En Argentina, se evaluó el imazetapir según dosis de aplicación en dos momentos, pre y post emergencia, y precipitaciones acumulada en el periodo posterior a la aplicación, se concluyó en este trabajo que, este herbicida aplicado en preemergencia fue más fitotóxico en el año de menor precipitación, y contrariamente la aplicación de postemergencia fue más efectiva el año de mayor precipitaciones. Obteniendo, una respuesta por igual a la variación en la dosis, ya sea en aplicaciones pre o postemergencia, a mayor concentración de principio activo aplicado mayor efecto se observaba (Vitta et al., 2005).

Gianelli et al. (2011) que estudiaron la residualidad del imazapir aplicado en un cultivo de verano y su efecto fitotóxico en el cultivo siguiente, obtuvieron como resultado, una residualidad para el cultivo de colza en sucesión, que oscila entre 138 y 207 días desde aplicado el producto. Esta variación en días, corresponde a las distintas dosis aplicadas (dosis normal y dosis doble) y precipitaciones acumuladas, variables que afectan la persistencia del herbicida. Con este resultado, concluyeron que la siembra de colza, requiere un periodo mínimo de espera entre aplicación-siembra de 5 a 7 meses y una acumulación de precipitación entre 500 y 635 mm para la siembra de colza.

Brown et al. (2008) detallan que, para la siembra de canola en Estados Unidos, se debe tener precaución frente a campos con historial de aplicaciones de imazetapir dado que su restricción de siembra es de 40 meses, a su vez recomiendan previo a la siembra, la realización de bioensayos a campo con el fin de observar síntomas de daños por herbicidas.

2.3.8. Fomesafen

Este post emergente, clasificado dentro del grupo de inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa (PPO), pertenece a la familia de las difeniléteres y controla principalmente hojas anchas.

Posee una solubilidad de relación inversa al pH, las investigaciones sobre su vida media son muy variables, van desde 15 a 100 días. Su degradación es principalmente microbiana, viéndose favorecida en condiciones anaeróbicas (Montoya, 2017).

La Universidad de Georgia también estudio este herbicida y determino, una restricción de 18 meses desde su aplicación a la siembra de colza (Buntin, 2007).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

Los bioensayos que constituyeron la etapa experimental de este estudio fueron conducidos en la cámara de crecimiento del laboratorio de Malherbología de la Estación Experimental Mario A. Cassinoni, de la Facultad de Agronomía en el departamento de Paysandú.

3.2. BIOENSAYOS Y TRATAMIENTOS

Los bioensayos consistieron en la evaluación de la potencial persistencia fitotóxico de 8 herbicidas comúnmente utilizados en cultivo de soja sobre colza en sucesión. A tales efectos y siguiendo la metodología propuesta por Szmigielski et al. (2008), se procedió a la evaluación del crecimiento de plántulas de colza, en muestras de suelo, colectadas en un experimento en el que se aplicaron los herbicidas durante el ciclo de cultivo de una soja.

El experimento a campo fue conducido también en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni en uno de los potreros dedicados a las actividades experimentales, localizado en las coordenadas 32°22'40.83"S y 58°3'46.50"O y que según la carta de suelos 1:1000000 (Altamirano et al., 1976), se ubica sobre la unidad de suelos San Manuel, con predominancia de suelos de tipo Brunosoles Éutricos Típicos (Háplicos) de textura limo-arcillosa.

Los tratamientos, correspondieron a un total de 18 tratamientos con 8 herbicidas a dosis recomendada y dosis doble y dos testigos sin aplicación tal como se detalla a continuación en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Dosis	Herbicida (principio activo)	Herbicida (nombre comercial)	Dosis de herbicida p.c./ha	Contenido de ingrediente activo
1	1	Diclosulam	Spider	25 g	21 g
	2			50 g	42 g
2	1	Flumioxazin	Versátil	150 cc	72 g
	2			300 cc	144 g
3	1	Sulfentrazone	Boral	500 cc	250 g

	2			1000 cc	500 g
4	1	S-metolaclor	Dual Gold	1500 cc	1440 g
	2			3000 cc	2880 g
5	1	Metribuzin	Sencor	1000 cc	480 g
	2			2000 cc	960 g
6	1	Diflufenican	Boydal	250 cc	125 g
	2			500 cc	250 g
7	1	Imazetapir + Imazapir	Lightning	114 g	60 g + 20 g
	2			228 g	120 g + 40 g
8	1	Fomesafen	Fomax	1000 cc	250 g
	2			2000 cc	500 g
9		Testigos: sin aplicación (2)			

3.3. METODOLOGÍA DE INSTALACIÓN

Los bioensayos se condujeron siguiendo la metodología propuesta por Szmigielski et al. (2008). De esta forma las muestras de suelo fueron extraídas de cada uno de los 18 tratamientos instalados a campo a 7 cm de profundidad, los días 10/04/2018, 12/06/2018 y 03/07/2018 a los 132, 195 y 216 días post-aplicación de los tratamientos. Luego, fueron mezcladas, uniformizadas y almacenadas en freezer a -18°.

Previo a la instalación de los bioensayos las muestras fueron descongeladas, tamizadas y colocadas en bolsas experimentales. Se utilizaron 5 repeticiones y 50 gramos de suelo por repetición.

En cada bolsa se sembraron 6 semillas de colza (*Brassica juncea*) y se humedeció la tierra hasta alcanzar capacidad de campo, nivel que fue mantenido toda la etapa experimental. Así preparada las bolsas fueron llevadas a cámara de crecimiento con régimen de luz continua y temperatura constante de 21°C durante 72 horas.

3.4. DETERMINACIONES

3.4.1. Largo de raíz

Pasadas las 72 horas en la cámara de crecimiento, se extrajeron las plántulas, se procedió al lavado en forma cuidadosa y se determinó el largo de raíz en mm con una regla.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los 18 tratamientos resultantes de la combinación de los 8 herbicidas más los testigos sin aplicación en 2 dosis fueron evaluados, utilizando un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con 5 repeticiones. Los bloques correspondieron a igual ubicación dentro de la cámara, sin traducir diferencias en las condiciones de luz y/o temperatura.

El modelo estadístico utilizado correspondiendo a un DBCA fue:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \rho_j + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1,2,\ldots,t$
$j = 1,2,\ldots,r$

Donde y_{ij} es el valor observado para i tratamiento y j bloque (repetición), μ es la media del experimento, τ_i es el valor del efecto del tratamiento i, ρ_j es el valor del efecto del bloque j y ε_{ij} es el valor del efecto del error experimental.

Las hipótesis estadísticas establecidas fueron:

Ho: no hay efecto de los tratamientos de herbicidas en el crecimiento de la raíz de plántulas de colza.

Ha: al menos uno de los tratamientos de herbicidas tuvo efecto en el crecimiento de la raíz de plántulas de colza.

3.6. PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN

Se utilizó el programa informático INFOSTAT para realizar el procesamiento estadístico de los datos, realizándose el análisis de varianza (ANAVA) de las variables estimadas y cuando fue detectado efecto significativo,

se analizaron las medias a través de análisis de comparación múltiple de Tukey al 5%.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

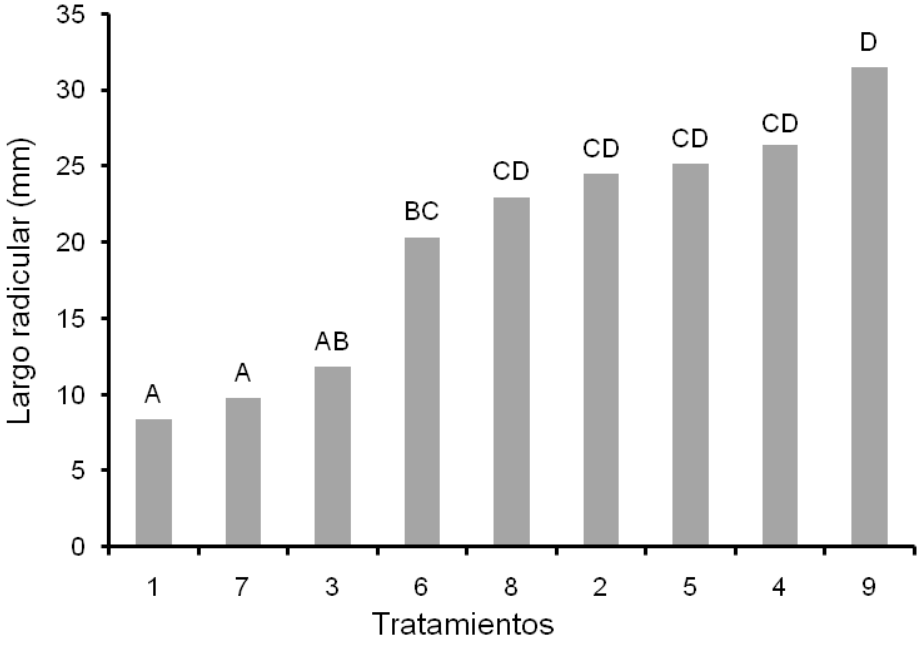
A continuación, se presentan y se discuten los resultados obtenidos en el siguiente estudio, de las tres fechas evaluativas de los bioensayos y su comparación con la información bibliográfica obtenida.

4.1. RESULTADOS DE BIOENSAYOS

4.1.1. Primer fecha de evaluación (132 días post aplicación)

El resultado del ANAVA arrojó un coeficiente de variación elevado (77,36%) para esta determinación y un efecto muy significativo de tratamiento ($p<0,0001$). No se detectó efecto de la dosis ni de la interacción dosis por tratamiento.

Con este resultado puede afirmarse que aun existiendo tratamientos que difieren en su efecto, en todos los casos los efectos de la dosis recomendada resultaron similares a la doble dosis como se observa en la Figura 1.



T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo.

Figura 1. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreó 1

Como puede verse en la Figura 1, cuatro de los tratamientos ensayados (T1, T7, T3 y T6) mostraron largos radiculares menores al testigo. Las reducciones encontradas en estos tratamientos fueron de 73, 69, 62 y 35 por ciento respectivamente en relación al testigo (T9). Los demás tratamientos (T2, T4, T5 y T8) no presentaron diferencias significativas respecto al tratamiento 9.

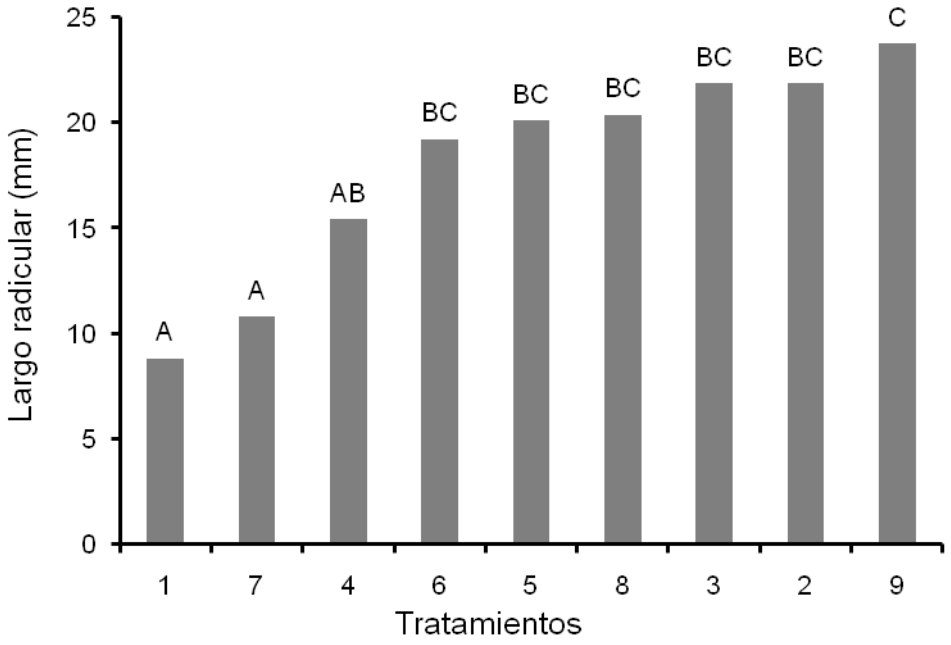
Cabe mencionar que los mayores efectos ocurrieron en los tratamientos 1, 7 y 3, mostrando el T6 un comportamiento intermedio, inclusive asemejándose a los restantes tratamientos aun manteniendo su diferencia con el testigo.

Para ambos tratamientos 1 y 7 el resultado fue el esperado considerando su alta persistencia. En el caso del tratamiento 7 lo observado coincide con la información bibliográfica. Gianelli et al. (2011) obtuvieron un efecto de residualidad del imazapir dentro de los 138 y 207 días como ocurre en este experimento, afectando al cultivo de colza.

4.1.2. Segunda fecha de evaluación (195 días post aplicación)

En esta fecha de muestreo el análisis de varianza mostró un coeficiente de variación de 69,37%, existiendo un efecto significativo entre tratamientos ($p<0,0001$) y también efecto de la dosis ($p=0,002$).

Como puede observarse en la Figura 2 los tratamientos 1 y 7 se mantienen diferenciados significativamente, al igual que en la fecha de muestreo anterior con respecto a los demás tratamientos. El cambio más llamativo es el comportamiento del tratamiento 4 que reduce su longitud radicular en comparación con los tratamientos 3 y 6.



T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo.

Figura 2. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreó 2

El comportamiento de sulfentrazone (T3) y diflufenican (T6) ya no se diferencian del testigo en esta fecha, como sucedió en la primera fecha de muestreo, siguiendo lo biológicamente esperado. En esta misma línea dado el transcurso del tiempo, el conjunto de las medias de los tratamientos reduce su variabilidad.

En cuanto a la dosis, como se mencionará se encontró un efecto dosis significativo aunque no fue el esperado (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la dosis segunda fecha de evaluación

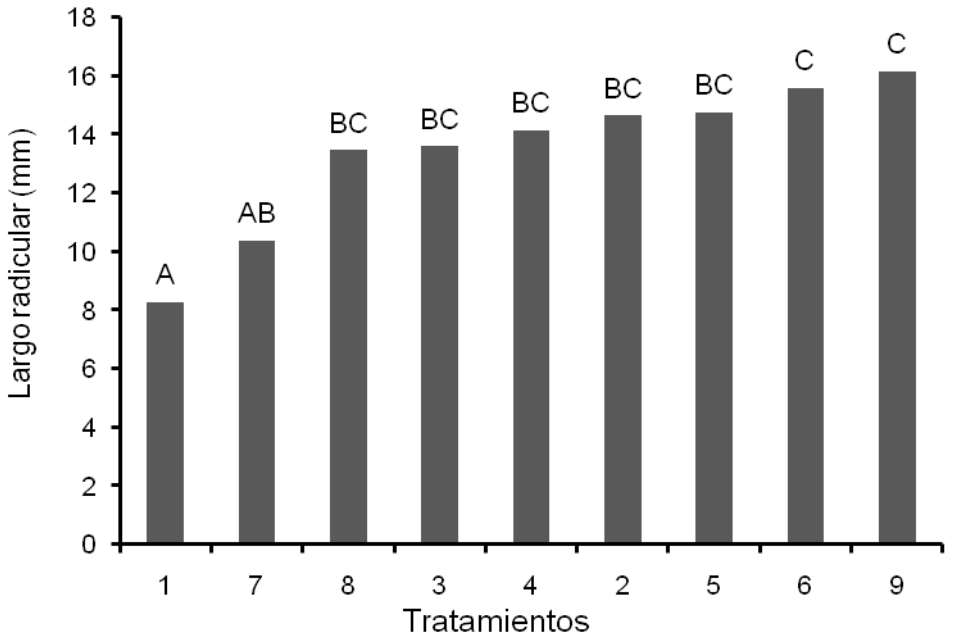
Efecto dosis		
Dosis	Media	
1	16,36	A
2	19,71	B

La dosis recomendada causó mayor efecto sobre la longitud de la raíz que la doble. Tal como fuera conducida esta investigación no fue posible encontrar una explicación para este efecto.

4.1.3. Tercera fecha de evaluación (216 días post aplicación)

Al igual que en el muestreo anterior, se encontró significancia para el efecto de tratamientos y las dosis, de igual p-valor (0,0001 y 0,002 respectivamente), y se detectó también efecto significativo para la interacción dosis por tratamiento (p=0,002).

Los tratamientos 1 y 7, como en los muestreos anteriores resultan los únicos con largo de radícula distinto al testigo (Figura 3).



T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo.

Figura 3. Largo radícula (mm) en la fecha de muestreó 3

Como en los muestreos anteriores los tratamientos 1 y 7 son los únicos diferentes al testigo.

De forma esperada la discriminación entre las medias de los tratamientos disminuyó notoriamente y esto se puede demostrar a partir de la reducción del tratamiento más significativo (T1) con respecto al testigo (T9) para el que la reducción disminuye ahora a solo un 49%. Cabe destacar que el efecto del tratamiento 6 fue disminuyendo significativamente desde la primera

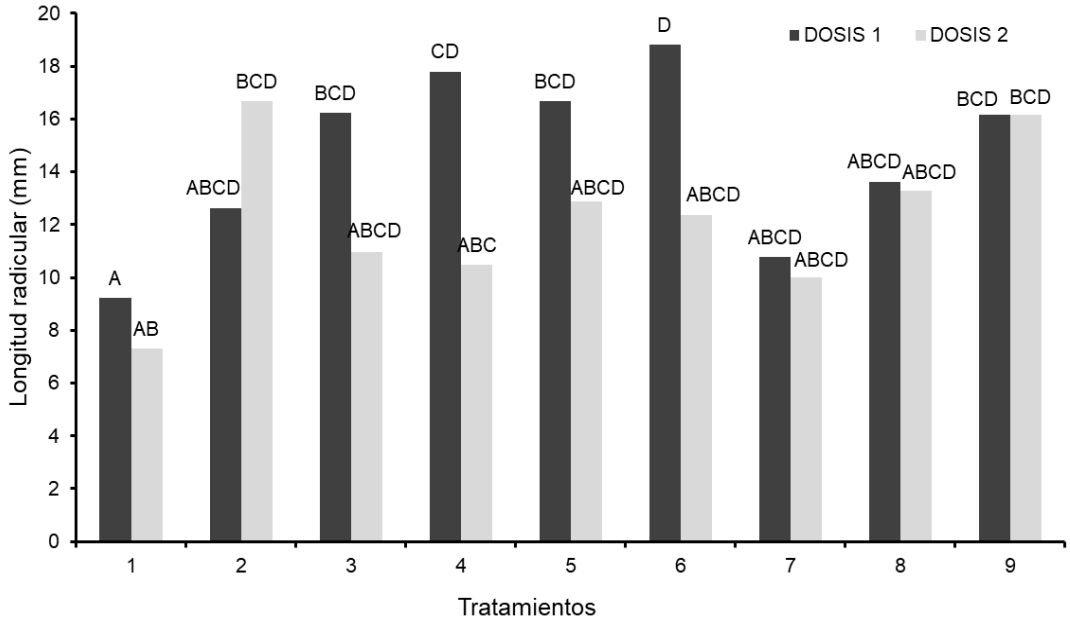
fecha de evaluación en adelante, con resultado muy similar al testigo en éste último.

En contrapartida con el caso anterior, en el cual también existió un efecto dosis, en éste se observó el resultado esperado, donde la media de los tratamientos con dosis doble generó una mayor reducción en la variable medida (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de la dosis tercera fecha de evaluación

Efecto dosis		
Dosis	Media	
2	12,24	A
1	14,66	B

Como se observa pese a existir un efecto dosis la diferencia entre las dosis es escasa. Considerando el análisis de la interacción permite profundizar en este aspecto (Figura 4).



T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo.

Figura 4. Resultados de la interacción dosis por tratamiento

Como puede observarse, pese a existir efecto significativo de la interacción, el test de separación de medias no logró diferenciar entre las medias de dosis en ninguno de los tratamientos. La significancia de la

interacción tiene relación con las diferencias en el comportamiento de varios tratamientos. Así, flumioxazin (T2) fue el único tratamiento en el que la dosis más baja mostró una tendencia a mayor reducción de la longitud de radícula que la dosis mayor. Cabe aclarar que aun siendo evidente a nivel de las medias no se diferenciaron estadísticamente.

Los restantes tratamientos, aun mostrando mayores reducciones en la dosis 2 que en la dosis 1, presentaron variación en la magnitud del efecto. De esta forma s-metolaclor (T4) el largo de la de radícula en la dosis 1 es muy similar al del testigo y 70% más larga que la estimada en la dosis 2. A diferencia de este tratamiento en el caso del fomesafen (T8), prácticamente no existen diferencias siendo el largo de radícula en la dosis 2 el 98% del estimado en la dosis 1. También importa aclarar en este caso que tampoco en ningún tratamiento el test de Tuckey logró diferenciar entre medias de dosis a nivel de tratamientos.

4.2. VALOR PREDICTIVO DE LOS BIOENSAYOS

Los mayores tiempos de espera según información generada en regiones con climas más fríos que el que ocurre en Uruguay, corresponden a diclosulam, seguido de sulfentrazone y luego imizadolinonas y fomesafen. Intermedios resultan los tiempos de espera para flumioxazin y metribuzin, sin restricciones en el caso de metolaclor y sin información en el caso de diflufenican aunque se citan vidas medias prolongadas para este herbicida.

Considerando los resultados de los bioensayos, existe una coincidencia respecto a los más peligrosos, constándose restricciones tanto en diclosulam como en la mezcla de imidazolinonas y sulfentrazone en el bioensayo de menor intervalo y manteniéndose en todos los intervalos en el caso de los dos primeros.

Fomesafen aún sin diferenciarse del testigo, siempre mostró un comportamiento intermedio pero muy cercano a los que, podría interpretarse, presentaron los mayores riesgos.

El comportamiento de s-metolaclor, denunciando riesgos en el bioensayo a los 195 días post aplicación llama la atención pues está considerado como el de menor riesgo en función de su baja persistencia, aunque alguna bibliografía reciente (Cornelius y Bradley, 2017) cuestiona la utilización de cortos intervalos aplicación–siembra.

En cuanto a diflufenican, que también se mostrara riesgoso en el bioensayo a los 132 días post aplicación no existe bibliografía para discutir este resultado.

Por otra parte, importa considerar que este tipo de bioensayos fue originalmente propuesto, para la determinación de riesgos potenciales con herbicidas sulfonilureas y se desconoce su aplicabilidad en otras familias y/o modos de acción de herbicidas.

El presente estudio, arriesgó su aplicabilidad en diferentes herbicidas en consideración de las metodologías muy similares (Bertholdsson, 2004) utilizadas para la determinación de potenciales efectos alelopáticos. En este tipo de bioensayos también se estudia el efecto de la absorción radicular de sustancias de composición química y acción bioquímica desconocida en el crecimiento radicular de plántulas, fundado en las expectativas de efectivas absorciones en esos estadios y en la esperable alta sensibilidad de procesos como la división celular también de alta actividad en etapas tempranas del desarrollo.

5. CONCLUSIONES

Se encontró coincidencia en los resultados de los bioensayos y la información en la bibliografía para los herbicidas diclosulam, mezcla de imidazolinonas y sulfentrazone, sugiriendo restricciones para la siembra de colza en caso de haber sido utilizados en soja antecesora.

6. RESUMEN

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni en la ciudad de Paysandú, Uruguay. Tuvo por objetivo estudiar la potencialidad de la utilización de un bioensayo, relativamente sencillo propuesto por Szmigielski, en la predicción de los efectos de persistencia en colza, de tratamientos herbicidas comúnmente utilizados en soja. Los tratamientos (T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo) fueron aplicados previo al cultivo de soja con excepción del T8 de post aplicación, sembrando una colza en sucesión. El diseño experimental fue de bloques completos al azar (DBCA) con 5 repeticiones. Utilizando muestras de suelo colectadas a los 132 días, 195 y 216 post aplicación de los herbicidas en soja se instaló el bioensayo con *Brassica juncea* como especie indicadora, el que fue conducido en cámara de crecimiento en condiciones de temperatura y luz controlada. Pasadas 72 horas se estimo el largo de radícula tal como sugiere el método. En coincidencia con las recomendaciones en la bibliografía los resultados señalaron que los herbicidas diclosulam, sulfentrazone y mezcla de imidazolinonas aplicados en soja presentan riesgos potenciales para el cultivo de colza en sucesión.

Palabras clave: Bioensayo; Residualidad; Colza.

7. SUMMARY

The current study was carried out at the experimental station Dr. Mario A. Cassinoni in the city of Paysandú, Uruguay. The objective was to study the potential of the use of a relatively simple bioassay proposed by Szmigielski in the prediction of the persistence effects in rapeseed of herbicide treatments commonly used in soy. The treatments (T1= Diclosulam, T2= Flumioxazin, T3= Sulfentrazone, T4= S-metolaclor, T5= Metribuzin, T6= Diflufenican, T7= Imazetapir+Imazapir, T8= Fomesafen, T9= Testigo) were applied prior to the soy sowing, except for the T8 applied afterwards, sowing rapeseed in succession. The experimental design was random complete blocks with 5 repetitions. Using soil samples collected at 132, 195 and 216 days post-herbicide application in soy, the bioassay was installed with *Brassica juncea* as the indicating species, being conducted in a growing chamber under temperature and light controlled conditions. After 72 hours, the radicle length was estimated as suggested by the method. In accordance with the bibliography recommendations, the results pointed out that the herbicides diclosulam, sulfentrazone and the blend of imidazolinones applied in soy show potential risks for the succeeding rapeseed crop.

Keywords: Bioassay; Residuality; Rapeseed.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Altamirano, A.; Aguirre, L.; Álvarez, C.; Cayssials, R.; Da Silva, H.; Echeverría, A.; Falco, L.; Liesegang, J.; May, H.; Molfino, J.; Morelli, C.; Panario, D.; Piñeyrua, J.; Puentes, R.; Sacco, G.; Sganga, J.; Terra, J.; Trambauer, A.; Victora, C.; Acosta, G.; Palacios, C. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay. Montevideo, Uruguay, Instituto Geográfico Militar. Esc. 1:1.000.000.

2. Altstaedt, A.; Amelung, W.; Laabs, V.; Pinto, A.; Zech, W. 2000. Leaching and degradation of corn and soybean pesticides in an Oxisol of the Brazilian Cerrados. Chemosphere. 41(9):1441-1449.

3. Annapurna, K.; Das, T. K.; Sairam, R. K.; Singh, S. B.; Tuti, M. D. 2015. Effect of sequential application of metribuzin on selectivity and weed control in soybean. International Journal of Pest Management. 61(1):17-25.

4. Bertholdsson, N. O. 2004. Variation in allelopathic activity over 100 years of barley selection and breeding. (en línea). Weed Research. 44(2):78-86. Consultado 03 jun. 2019. Disponible en https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3180.2003.00375.x

5. Blanco, F. M. G.; Velini, E. D. 2005. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com soja e seu efeito em culturas sucedâneas. Planta Daninha. 23(4):693-700.

6. Braschi, I.; Gessa, C. E.; Blasioli, S. 2011. The Fate of herbicides in Soil. (en línea). In: Kortekamp, A. ed. Herbicides and Environment. Rijeka, Croatia, IntechOpen. cap. 8, pp. 175-194. Consultado 12 abr. 2019. Disponible en http://cdn.intechweb.org/pdfs/12586.pdf

7. Brown, J.; Davis, J. B.; Lauver, M.; Wysocki, D. 2008. US canola association canola growers' manual. (en línea). Iowa, US Canola Association. 71 p. Consultado 02 abr. 2019. Disponible en http://www.uscanola.com/site/files/956/102387/363729/502632/Canola_Grower_Manual_FINAL_reduce.pdf

8. Brum, C. S.; Franco, A. A.; Scorza Júnior, R. P. 2013. Degradação do herbicida sulfentrazone em dois solos de Mato Grosso do Sul. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 17(5):558-564.

9. Bulcke, R.; Cools, K.; Dekkers, T.; Eelen, H.; Neus, O.; Rouchaud, J. 2000. Soil dissipation of diuron, chlorotoluron, simazine, propyzamide, and diflufenican herbicides after repeated applications in fruit tree orchards. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 39(1):60-65.

10. Buntin, G. D.; Grey, T. L.; Harris, G. H.; Phillips, D.; Prostko, E. P.; Raymer, P.; Buck, J. W.; Smith, N. B.; Sumner, P. E.; Woodruff, J. 2007. Canola production in Georgia. (en línea). UGA Cooperative Extension Bulletin no.1331. 25 p. Consultado 02 abr. 2019. Disponible en http://extension.uga.edu/publications/detail.html?number=B1331&title=Canola%20Production%20in%20Georgia

11. Chinnusamy, C.; Janaki, P.; Meena, S. 2012. Field dissipation of herbicides under different crops in Tamil Nadu. Madras Agricultural Journal. 99:794-798.

12. Colquhoun, J. 2006. Herbicide persistence and carryover. (en línea). Madison, WI, University of Wisconsin Extension. 3 p. Consultado 02 abr. 2019. Disponible en http://learningstore.uwex.edu/assets/pdfs/A3819.pdf

13. Cornelius, C. D.; Bradley, K. W. 2017. Carryover of common corn and soybean herbicides to various cover crop species. (en línea). Weed Technology. 31(1):21-31. Consultado 03 jun. 2019. Disponible en https://www.cambridge.org/core/journals/weed-technology/article/carryover-of-common-corn-and-soybean-herbicides-to-various-cover-crop-species/EA3288E05BCC3F6A2AE5C58EAF11EDE6

14. De la Cruz, E.; Bravo, V.; Ramírez, F. 2010. Manual plaguicidas de Centroamérica. Heredia, Universidad Nacional de Costa Rica. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas. s.p.

15. Federoff, N. E.; Liu, L.; Shamin, M. 1996. Flumioxazin: environmental Fate and Ecological Risk Assessment. (en línea). Washington, D. C., United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. pp.15-18. Consultado 03 abr. 2019. Disponible en https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-129034_14-Aug-03_a.pdf

16. Galletti, G. C.; Bonetti, A.; Dinelli, G. 1995. High-performance liquid chromatographic determination of sulfonylureas in soil and water. (en línea). Journal of Chromatography A. 692(1-2):27-37. Consultado 21 may. 2019. Disponible en https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002196739400738U

17. Gianelli, V. R.; Bedmar, F.; Monterubbianesi, M. G. 2011. Persistencia del herbicida Imazapir en el suelo y efectos fitotóxicos sobre cultivos de invierno y de verano. (en línea). Revista de Investigaciones Agropecuarias. 37(1):18-25. Consultado 14 ene. 2019. Disponible en https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/download/2163/pdf

18. Hollis, J. M. 1991. Mapping the vulnerability of aquifers and surface waters to pesticide contamination at the national/regional scale. Pesticides in Soils and Water. BCPC Monograph no. 47:165-174.

19. Horowitz, M. 1976. Application of bioassay techniques to herbicide investigations. (en línea). Weed Research. 16(4):209-215. Consultado 21 may. 2019. Disponible en https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3180.1976.tb00404.x

20. Iriarte, L. B.; López, Z. B. 2014. El cultivo de colza en Argentina. situación actual y perspectivas. (en línea). In: Simposio Latino Americano de Canola (1°., 2014, Passo Fundo, RS, Brasil). Trabajos presentados. Buenos Aires, INTA. pp.1-11. Consultado 10 ene. 2019. Disponible en http://www.cnpt.embrapa.br/slac/cd/pdf/Iriarte%20%20-

%20Desarrollo%20del%20cultivo%20de%20colza%20en%20Argentina....pdf

21. Johnson, E. N.; Moyer, J. R.; Thomas, A. G.; Leeson, J. Y.; Holm, F. A.; Sapsford, K. L.; Schoneau, J. J.; Szmigielski, A. M.; Hall, L. M.; Kuchuran, M. E.; Hornford, R. G. 2005. Do repeated applications of residual herbicides result in herbicide stacking. (en línea). Soil Residual Herbicides: Science and Management. 3:53-70. Consultado 02 abr. 2019. Disponible en https://weedscience.ca/wp-content/uploads/2018/01/Vol-3-Winnipeg_Full_book.pdf

22. Lavorenti, A.; Rocha, A. A.; Prata, F.; Regitano, J. B.; Tornisielo, V. L.; Pinto, O. B. 2003. Comportamento do diclosulam em amostras de um latossolo vermelho distroférrico sob plantio direto e convencional. (en línea). Revista Brasileira de Ciência do Solo. 27:183-190. Consultado 02 abr. 2019. Disponible en https://www.redalyc.org/html/1802/180217698019/

23. Medina, F. L.; Miro, F. 1995. Zarpa, un nuevo herbicida de postemergencia precoz de otoño en olivar. (en línea). In: Congreso de la Sociedad Española de Malherbología (1°., 1995, Madrid). Trabajos presentados. Madrid, Instituto de Estudios Altoaragoneses. pp. 351-356. Consultado 13 ene. 2019. Disponible en https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/564252.pdf

24. Montoya, A. J. C. 2017. Comportamiento de los herbicidas en el suelo. (en línea). INTA Anguil. Boletín de Divulgación Técnica. no. 91. 8 p. Consultado 12 ene. 2019. Disponible en https://2017.congresoaapresid.org.ar/wp-content/uploads/2017/08/Montoya-COMPORTAMIENTO-DE-LOS-HERBICIDAS-EN-EL-SUELO-.pdf

25. Oliveira, V. R.; Scapim, C. A.; Oliveira Jr, R. S.; Pires, N. M. 1996. Efeito do herbicida trifluralin sobre a germinação de sementes e índice mitótico em raízes de milho (*Zea mays* L.). Revista Unimar. 18(1):537-544.

26. Papa, J. C. 2009. Problemas actuales de malezas que pueden afectar al cultivo de soja. (en línea). INTA. Oliveros. Para Mejorar la Producción. no. 42:97-105. Consultado 15 ene. 2019. Disponible

en https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-problemas_actuales_de_malezas.pdf

27. Rossi, C. V. S.; Velini, E. D.; Luchini, L. C.; Negrisoli, E.; Correa, M. R.; Pivetta, J. P.;Costa, A. G. F.; Silva, F. M. L. 2013. Dinâmica do herbicida metribuzin aplicado sobre palha de cana de açúcar (*Saccarum officinarum*). (en línea). Planta Daninha. 31(1):223-230. Consultado 12 ene. 2019. Disponible en https://submission3.scielo.br/index.php/pd/article/view/73661/7678

28. Savage, K. E. 1977. Metribuzin persistence in soil. Weed Science. 25(1):55-59.

29. Sophocleous, M. 2002. Interactions between groundwater and surface water: the state of the science. (en línea). Hydrogeology Journal. 10(1):52-67. Consultado 12 abr. 2019. Disponible en http://www.geol.lsu.edu/blanford/NATORBF/1%20Stream%26Aquifer%20Hydraulic%20Interaction%20Review%20Papers/Sophocleous_Hydreological%20Journal_2002.PDF

30. Stout, S. J.; DaCunha, A. R.; Safarpour, M. M. 1997. Simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at parts-per-billion level by liquid chromatography/electrospray ionization tándem mass spectrometry. (en línea). Journal of AOAC International. 80:426-432. Consultado 21 may. 2019. Disponible en http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9714567

31. Szmigielska, A. M.; Schoenau, J. J.; Greer, K. 1998. Comparison of chemical extraction and bioassay for measurement of metsulfuron in soil. (en línea). Weed Science. 46(4):487-493. Consultado 21 may. 2019. Disponible en https://www.jstor.org/stable/4046069?read-now=1&seq=1#page_scan_tab_contents

32. Szmigielski, A. M.; Schoenau, J. J.; Irvine, A.; Schilling, B. 2008. Evaluating a mustard root-length bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 39(3-4):413-420.

33. _____.; Geisel, B.; Holm, F.; Johnson, E.; Schoenau, J. 2011. Application of a laboratory bioassay for assessment of bioactivity of ALS-inhibiting herbicides in soil. (en línea). Herbicides and - Environment. 10: 217-228. Consultado 21 may. 2019. Disponible en http://cdn.intechweb.org/pdfs/12588.pdf

34. Vitta, J.; Primolini, C.; Escolá, F.; Iñigo, F. 2005. Fitotoxicidad de imazetapir en el cultivo de lenteja. (en línea). Revista De Investigaciones de la UNR. Facultad De Ciencias Agrarias. no. 7: 045-049. Consultado 11 ene. 2019. Disponible en http://www.cienciasagronomicas.unr.edu.ar/journal/index.php/agronom/article/view/187