

## Metodología sugerida para realizar un Bioensayo

### Muestras de suelo

Obtener muestras de suelo representativas de la situación que se quiere evaluar es clave. Hay que considerar que los herbicidas generalmente no se acumulan de manera homogénea en la chacra. Zonas donde se inicia la operación de pulverización, cabeceras (doble pasada) y/o zonas hacia donde se arrastra suelo superficialmente suelen tener más herbicida que el resto de la chacra. Por cada situación que se quiera evaluar se recomienda tomar un total aproximado de 3 kg de suelo húmedo. Este volumen de suelo debería lograrse con un mínimo de cuatro muestras. Cada muestra debe ser tomada hasta una profundidad de entre 7 y 10 cm y no debe contener rastrojo vegetal en superficie. También se debe sacar una muestra de suelo de un área que no haya recibido herbicida. Puede ser “bajo el alambrado” o en otra chacra próxima. Lo importante es que el suelo sea comparable y se tenga certeza que no recibió tratamientos de herbicidas. Las muestras de suelo, separadas por zonas que se quieran testear, se deben desterronar y mezclar. El suelo no se debe tamizar, pero los agregados no deben ser mayores que un grano de trigo.

### Siembra y crecimiento de las especies a testear

Usar uno o más contenedores perforados del mismo tamaño para cada suelo que se quiera testear y para el suelo sin herbicida. Se pueden usar especies indicadoras (muy susceptibles al herbicida en cuestión) o el cultivo que se quiera sembrar. Sembrar un mínimo de 5 semillas equidistantes entre sí de la especie elegida por cada kg del tipo de suelo que se quiera evaluar, presionando la semilla hasta una profundidad de 5 mm aproximadamente. Inmediatamente luego de la emergencia ralea las plantas para mantener la misma densidad de plantas en todos los contenedores, y periódicamente ir sacando las malezas para que estas no consuman herbicida. Según el tamaño de los contenedores elegidos, una o dos plantas de semilla grande (ej, soja o maíz) o tres plantas de semilla chica (ej, colza o forrajeras) por kg de suelo es una buena regla a seguir. Mantener los contenedores idealmente a una temperatura entre 17 y 28 °C la mayor parte del tiempo y recibiendo luz del sol tanto como sea posible ya que esta es importante para el desarrollo de síntomas por efecto de ciertos herbicidas. Regar los contenedores criteriosamente para mantener la tierra húmeda sin permitir que el suelo se seque por completo o el agua de riego escurra constantemente por los orificios en la parte inferior de los contenedores. Para algunos herbicidas los síntomas pueden tardar hasta tres semanas en desarrollarse luego de la emergencia.

### Observación de síntomas

La observación de problemas de emergencia, pero fundamentalmente de síntomas por fitotoxicidad de herbicidas en el crecimiento inicial, solo debería observarse en las plantas creciendo en el suelo con herbicida. Si las plantas en los contenedores con suelo sin herbicida también mueren o sufren daño, podría ser otra causa en el suelo ajena al herbicida (por ejemplo, un patógeno de suelo o deficiencia de algún nutriente). En la siguiente tabla se resumen los síntomas más comunes en plantas susceptibles ocasionados por herbicidas usados generalmente en cultivos de verano en nuestro país:

| Herbicidas   | Modo de acción  | Síntoma típico en especies susceptibles <sup>1</sup>   |
|--|---|--|
| S-metolaclor<br>Acetoclor<br>Piroxasulfone   | Inhibidores del crecimiento de plántulas (inhiben la síntesis de ácidos grasos de cadena larga).          | <b>Dicotiledóneas:</b> hipocótilo hinchado, tejido calloso en la base del tallo, escaso desarrollo radicular, hojas con forma de corazón y/o ásperas y arrugadas (cuero de chancho).<br><br><b>Gramíneas:</b> plantas enanas, engrosadas de color rojo o púrpura, pueden parecer estresadas por sequía, hojas enrolladas sobre si mismas o despliegue inadecuado de las mismas |
| Metribuzin<br>Simazina   | Inhibidores de la fotosíntesis (fotosistema II).<br>Activación por luz de especies reactivas de oxígeno   | <b>Dicotiledóneas:</b> clorosis y necrosis en las puntas y márgenes de las hojas; clorosis internerval; manchas marrones cerca de los bordes de las hojas<br><br><b>Gramíneas:</b> clorosis y necrosis en las puntas y márgenes de las hojas   |
| Imazethapyr<br>Imazapir<br>Imazapic<br>Diclosulam<br>Thiencarbazono methyl<br>Clorimuron<br>Nicosulfuron | Inhibidores de la enzima ALS  | <b>Dicotiledóneas:</b> clorosis, plantas atrofiadas o con entrenudos acortados, nervaduras rojas o negras en la parte inferior de la hoja<br><br><b>Gramíneas:</b> plantas atrofiadas, clorosis internerval, coloración púrpura de tallos y hojas, raíces de "cepillo de botella"  |
| Fomesafen<br>Flumioxazin<br>Sulfentrazone  | Inhibidores de la enzima PPO.<br>Activación por luz de especies reactivas de oxígeno                      | <b>Dicotiledóneas:</b> retraso en el crecimiento, clorosis y necrosis, hojas arrugadas<br><br><b>Gramíneas:</b> retraso en el crecimiento, clorosis de las nervaduras, necrosis  |
| Biciclopirone<br>Isoxaflutole<br>Topramezone   | "Blanqueadores".<br>Inhibidores de la enzima HPPD.<br>Activación por luz de especies reactivas de oxígeno | <b>Dicotiledóneas:</b> tejido blanco, clorótico y luego necrótico<br><br><b>Gramíneas:</b> tejido translúcido, blanco, clorótico, luego tejido necrótico   |

<sup>1</sup> Las plantas susceptibles pueden presentar uno o más de los síntomas descriptos.

**Fuente:**

Ing. Agr. (Ph.D) Alejandro García; [magarcia@inia.org.uy](mailto:magarcia@inia.org.uy)

Ing. Agr. (Ph.D) Tiago Kaspary; [tkaspary@inia.org.uy](mailto:tkaspary@inia.org.uy)

Malezas INIA La Estanzuela.

**Marzo 2023**

Nota: Agradecemos a quienes decidan realizar bioensayos compartan fotos y comentarios al email [magarcia@inia.org.uy](mailto:magarcia@inia.org.uy), o arrobándonos en las redes sociales twitter (@MalezasU) o Instagram (malezas\_uruguay).

*Referencias*

Klein R.N., Bernards M.L., and Shea P.J. 2008. A Quick Test for Herbicide Carry-over in the Soil. University of Nebraska–Lincoln Extension Publications.

<https://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/g1891.pdf>

Neal, J. 2021. Conducting a Bioassay for Herbicide Residues. NC State Extension Publications.

<https://content.ces.ncsu.edu/conducting-a-bioassay-for-herbicide-residues>

Watson P.R. and Checkel S. 2005. Soil residual herbicide bioassays: Science and practice. Pages 71-79 in R. C. Van Acker, ed. Soil Residual Herbicides: Science and Management. Topics in Canadian Weed Science, Volume 3. Sainte-Anne-de Bellevue, Québec: Canadian Weed Science Society – Société canadienne de malherbologie. [https://www.weedscience.ca/wp-content/uploads/2021/04/Vol-3-Winnipeg\\_Full\\_book.pdf](https://www.weedscience.ca/wp-content/uploads/2021/04/Vol-3-Winnipeg_Full_book.pdf)