

Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo

Effect of agrochemicals on soil microorganisms of a rice culture

Giovanni Chaves-Bedoya^{1*}, Martha Lucia Ortiz-Moreno² y Luz Yineth Ortiz-Rojas³

¹Grupo de Investigación PLANTAE, Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Francisco de Paula Santander, San José de Cúcuta, Colombia. ²Centro de Ciencias Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, Brasil. ³Grupo de Investigación PLANTAE. Departamento de Ciencias Agrícolas y Ciencias Pecuarias. Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente. Universidad Francisco de Paula Santander, San José de Cúcuta, Colombia. * *Autor de correspondencia gchavesbe@gmail.com

Rec.:30.05.12 Acep.: 26.08.13

Resumen

En un Oxisol de los Llanos Orientales de Colombia, en condiciones de campo se evaluó el efecto de la aplicación de agroquímicos sobre los microorganismos presentes en un cultivo de arroz secano. Los agroquímicos evaluados fueron Glifosato, Bispiribac, Azoxystrobin y Malatión, aplicados en dosis comerciales, en un diseño experimental de bloques con medidas repetidas. Para el recuento de microorganismos se tomaron muestras compuestas de suelo rizosférico usando la metodología de transectos. A partir de las muestras fueron realizados conteos microbianos empleando dilución en placa y los datos se analizaron empleando análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples. En los conteos se encontraron bacterias Gram (+), Gram (-), actinomicetos, y los grupos funcionales fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo, junto con los hongos *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. Los hongos, los actinomicetos y los solubilizadores de fósforo fueron los microorganismos más afectados por los agroquímicos, con reducciones en la abundancia. Las bacterias presentaron comportamientos variables dependiendo del agroquímico y los fijadores de nitrógeno fueron estimulados por los tratamientos. Estos resultados indican que los agroquímicos utilizados en el estudio pueden impactar de diferente manera los microorganismos que se encargan de la descomposición de la materia orgánica.

Palabras clave: Agroquímicos, microorganismos, suelo, xenobióticos.

Abstract

This paper show an analysis of the effect of agrochemicals used in a rice crop on the abundance of Oxisol soil microorganisms in the region of the Eastern Plains of Colombia, under field conditions. Evaluated Agrochemicals were Glyphosate, Bispiribac, Azoxystrobin and Malathion, applied in commercial dosages, in a block design with repeated measures. For the enumeration of microorganisms, soil samples were taken from rhizospheric soil using the transects methodology. From the samples, microbial counts were carried out using the method of dilution in plate and the data were analyzed using the Minitab 14 software using analysis of variance and test for multiple comparisons. In the counts bacteria Gram (+), Gram (-), actinomycetes, and functional groups: nitrogen fixers, and phosphorus solubilizing, together with the fungus, *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., and *Penicillium* spp. were found. In general, fungi, actinomycetes and the phosphorus solubilizing microorganisms were more affected by the agrochemicals with reductions in their abundance. Bacteria presented varying behaviors depending

on the agrochemical and the nitrogen fixers were stimulated by the treatments. These results indicate that the chemicals may impact in different ways to the microorganisms that are responsible for the decomposition of organic matter.

Key words: Agrochemicals, microorganisms, soil, Xenobiotics.

Introducción

El suelo es un ecosistema vivo y dinámico, posee una amplia variedad de organismos que realizan múltiples funciones, entre ellas la degradación de la materia orgánica (M.O.). Por su parte, los organismos edáficos son considerados una reserva viva de nutrientes, que es vital para el mantenimiento de la calidad del suelo. Los microorganismos permanecen en contacto con el ambiente del suelo y son indicadores ideales de la contaminación por sustancias xenobióticas como los agroquímicos (Atlas y Barthe, 2002).

Las plagas y enfermedades reducen de manera significativa la producción de los cultivos. Para prevenir los efectos devastadores de estos organismos nocivos se emplean agroquímicos (fungicidas, herbicidas e insecticidas) diseñados para controlar los patógenos o enfermedades en los cultivos comerciales. Estos productos son un componente importante de la agricultura moderna, pero su empleo continuo puede ocasionar numerosos problemas e influir en los microorganismos benéficos del suelo; entre aquellos se encuentran los fungicidas que se emplean con más frecuencia que otra clase de agroquímicos en regiones tropicales (Dardis y Walsh, 2000).

Los agroquímicos son fuente de carbono y nitrógeno y se degradan principalmente por la actividad microbiana. La entrada continua de estos compuestos en el ecosistema del suelo puede afectar los microorganismos y su actividad, lo que ocasiona modificación de los procesos biológicos esenciales para la fertilidad y la productividad de los cultivos (Alvear *et al.*, 2006; Cycoñ *et al.*, 2010). La persistencia y dispersión de estos compuestos en el suelo depende de las propiedades físico-químicas del agroquímico, de las características del suelo y las condiciones climáticas (Caldiz *et al.*, 2007; Hernández-Soriano *et al.*, 2007; Sawunyama y Bailey, 2001).

Los pesticidas disminuyen la actividad de enzimas del suelo y pueden influir en la mayoría de las reacciones bioquímicas, entre ellas: la mineralización de la M.O., la nitrificación, la denitrificación, la amonificación, las reacciones redox, y la metanogénesis (Hussain *et al.*, 2009).

Entre las metodologías para determinar los efectos colaterales y residuales de los pesticidas en la microbiología del suelo se encuentran la tasa de respiración microbiana, el recambio de M.O. la biomasa microbiana y las actividades microbianas como fijación de nitrógeno, nitrificación, denitrificación y actividad enzimática (Chen *et al.*, 2003; Cycoñ *et al.*, 2010; Pozo *et al.*, 1994).

En los Llanos Orientales de Colombia, el arroz es uno de los principales cultivos y en Colombia ocupa el segundo lugar por área sembrada (Gutiérrez Alemán *et al.*, 2011). La actividad arrocería se caracteriza por el alto uso de agroquímicos (Gutiérrez Alemán *et al.*, 2011), sin embargo no se conoce el efecto de estas prácticas sobre la microbiota del suelo; por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diversos agroquímicos sobre los microorganismos edáficos en un Oxisol cultivado con arroz seco en los Llanos Orientales de Colombia.

Materiales y métodos

Localización

El trabajo se realizó en un Oxisol franco arcilloso en un área de 300 m², en la vereda Bella Suiza del municipio de Villavicencio, Colombia. El ecosistema es sabana nativa y el sitio experimental se encontraba a 04°07.088 N 073°30.313 O, a 348 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 27 °C. La precipitación anual es de 1807.7 mm con 112 días de lluvia y una humedad relativa de 75%. Los muestreos de suelo para análisis se tomaron entre abril y agosto de 2009. Al comienzo del ensayo se tomó una muestra de 500g de suelo

para el análisis de las propiedades físico-químicas (Atlas y Barthe, 2002).

Fase de campo

El manejo del cultivo de arroz seco se hizo de forma convencional, tal como lo realizan los productores de la región. El lote original de sabana nativa fue dividido en 30 bloques de 100 m². La preparación del suelo consistió en arado con cincel rígido y rastrillo para la siembra del cultivo. Un mes más tarde se aplicó una dosis equivalente de Glifosato a razón de 2.5 lt/ha como herbicida pre-emergente (tratamiento 1 -T1) y 12 días después se realizó la siembra a voleo de la semilla de arroz seco variedad Progreso. Veinte días después de la germinación se aplicó herbicida Bispiribac (0.4 lt/ha) como selectivo posemergente (tratamiento 2 -T2) para malezas gramíneas de hoja angosta. Cuarenta días después de la germinación se aplicó el fungicida Azoxystrobin a razón de 0.5 lt/ha (tratamiento 3 -T3) para el manejo de hongos en el cultivo. Finalmente, 65 días después de la germinación, se aplicó el insecticida Malatión en dosis de 1.5 lt/ha (tratamiento 4 -T4). Las aplicaciones de la secuencia de agroquímicos se consideró como tratamiento fijo para las parcelas bloques, por tanto el diseño experimental fue de medidas repetidas con bloques completamente aleatorizados.

Microbiología de suelos y análisis de datos

Para el conteo de microorganismos en el suelo se tomaron cinco muestras compuestas de 500 g a una profundidad entre 0 y 20 cm usando la metodología de transectos en cada parcela bloque. Los muestreos iniciales se hicieron antes de la aplicación de los agroquímicos y 3 días después de la aplicación de cada producto; las muestras fueron conservadas en bolsas plásticas refrigeradas (4 – 6 °C) y llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Fundación de Asesorías para el Sector Rural (Fundases) y el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

La abundancia de los microorganismos fue medida por la técnica de dilución seriada (UFC/g suelo) en medios específicos para cada grupo microbiano, así, los hongos en papa-

dextrosa-agar; las bacterias Gram(-) en agar MacConkey y las Gram(+) y los fijadores de nitrógeno según la metodología propuesta por Matsumoto *et al.* (2005). Para determinar los solubilizadores de fósforo se empleó el medio Picovskaya (Nautiyal, 1999). Los conteos de microorganismos fueron analizados con el software estadístico Minitab 14 empleando análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de Dunnett ($P < 0.05$).

Resultados y discusión

Características del suelo

Los resultados de los análisis físico-químicos del suelo mostraron que los valores (cmol/kg) de Ca (8.3), Mg (2.3), K (1.2) y CICE (18.7) son altos, por lo que este suelo es atípico para los Oxisoles que predominan en los Llanos Orientales de Colombia. No obstante el pH (4.38), el Al (4.8 cmol/kg), la M.O. (2.1%), el P (10 mg/kg), el Fe (256 mg/kg) y el Mn (45 mg/kg) se encuentran dentro de los valores para este tipo de suelo (Rippstein *et al.*, 2001; Varela *et al.*, 2009).

Población de microorganismos

En el suelo testigo, las bacterias Gram (+) presentaron una población de $2.0 \pm 0.5 \times 10^6$ UFC/g de suelo y las Gram (-) de $2.5 \pm 0.5 \times 10^6$ UFC/g. El recuento de actinomicetos fue de $1.5 \pm 1.3 \times 10^5$ UFC/g. Los fijadores de nitrógeno de $2.75 \pm 0.25 \times 10^4$ UFC/g. Los solubilizadores de fósforo $8.75 \pm 0.25 \times 10^5$ UFC/g. Los hongos más frecuentes fueron *Penicillium*, *Fusarium* y *Trichoderma* con $5.25 \pm 0.25 \times 10^3$ UFC/g, $2.5 \pm 0.5 \times 10^3$ UFC/g y $1.5 \pm 0.5 \times 10^3$ UFC/g, respectivamente. El recuento de micelios estériles fue de $8.5 \pm 0.5 \times 10^3$ UFC/g. Estos valores son más altos que los encontrados por Sierra *et al.* (2009) y Varela *et al.* (2009) para suelos cultivados y naturales, respectivamente. Los conteos de los microorganismos fueron altos –hongos totales = 6.3×10^2 UFC/g, solubilizadores de fósforo = 3.1×10^4 UFC/g, fijadores de nitrógeno 1×10^3 UFC/g– lo cual puede estar relacionado con la disponibilidad de nutrientes en el suelo, no así con el contenido de M.O. y el pH ácido. El pH ácido y los altos niveles de aluminio y hierro estimulan las poblaciones de solubilizadores de fósforo

y fijadores biológicos de nitrógeno (Schloter *et al.*, 2003) (Cuadro 1).

Bacterias Gram(+)

Los resultados mostraron diferencias ($P < 0.05$) en la presencia de bacterias Gram(+) en el suelo con los diferentes tratamientos. De acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Dunnett (Dunnett, 1980) estas bacterias no fueron afectadas por la aplicación de Glifosato (T1) ni por Malatión (T4). El Bispiribac (T2) mostró efecto benéfico sobre los conteos de bacterias Gram(+), mientras que con el Azoxystrobin (T3) se observó un efecto negativo sobre el conteo de estas bacterias (Figura 1).

El Bispiribac (2.6-bis [(4.6-dimethoxy 2- pyrimidinyl) oxy] benzoato) pertenece al grupo del ácido pyrimidinyl oxybenzoico, compuesto que se aplica en el control pos-emergente de varias malezas. En el caso de arroz, el efecto de los herbicidas es indirecto ya que el incremento del tamaño del grano ocurre en la medida que estos combaten las malezas. Los herbicidas como el Bispiribac actúan sobre la acetolactato sintasa inhibiendo el crecimiento por el bloqueo de la síntesis de aminoácidos (Osuna *et al.*, 2002). En el Sudeste de Asia y América Latina se ha observado que este tipo de herbicida tiene excelente selectividad en el cultivo de arroz (Osuna *et*

al., 2002; Taniguchi *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2003). En este estudio, los resultados sugieren que el efecto del herbicida sobre los microorganismos del suelo es moderado, ya que su aplicación ocasionó disminución de tres de los grupos evaluados, siendo más significativo el efecto sobre los solubilizadores de fósforo.

Bacterias Gram(-)

Los resultados de la prueba Dunnett mostraron que el Azoxystrobin (T3) tuvo un efecto negativo ($P < 0.05$) en la presencia de bacterias Gram(-) (Figura 1) .

El producto es una estrobirulina que funciona inhibiendo la respiración mitocondrial al unirse a los complejos del citocromo-b; unión que inhibe la transferencia de electrones de este citocromo al citocromo-c y la producción de energía a través de la fosforilación oxidativa. Esta inhibición de producción de ATP resulta en la muerte del microorganismo (Barlett *et al.*, 2002). El Azoxystrobin se emplea como fungicida foliar. Este tipo de fungicidas aplicados como ‘spray’ se acumulan en alta proporción en el suelo y bajo ciertas condiciones pueden reducir la diversidad de hongos en el suelo (Adetutu *et al.*, 2008). No obstante algunos microorganismos pueden usar los agroquímicos como fuente de carbono (Radosevich *et al.*, 1995),

Cuadro 1. Efectos de diferentes agroquímicos sobre microorganismos en un Oxisol de los Llanos Orientales de Colombia cultivado con arroz seco.

Microorganismo/ tratamiento	Producto agroquímico			
	Glifosato	Bispiribac	Azoxystrobin	Malatión
Gram +	NE	+	-	NE
Gram -	NE	NE	-	NE
Actinomicetos	NE	-	-	-
Fijadores N	+	NE	++	+
Solubilizadores P	----	----	----	-
<i>Penicillium</i>	----	-	-	NE
<i>Fusarium</i>	----	----	----	++
<i>Trichoderma</i>	NE	+	+	----
Micelios estériles	-	+	+++	+

NE, sin efecto. Los símbolos (-) o (+) indican el nivel de inhibición o efecto positivo de los pesticidas sobre los microorganismos.

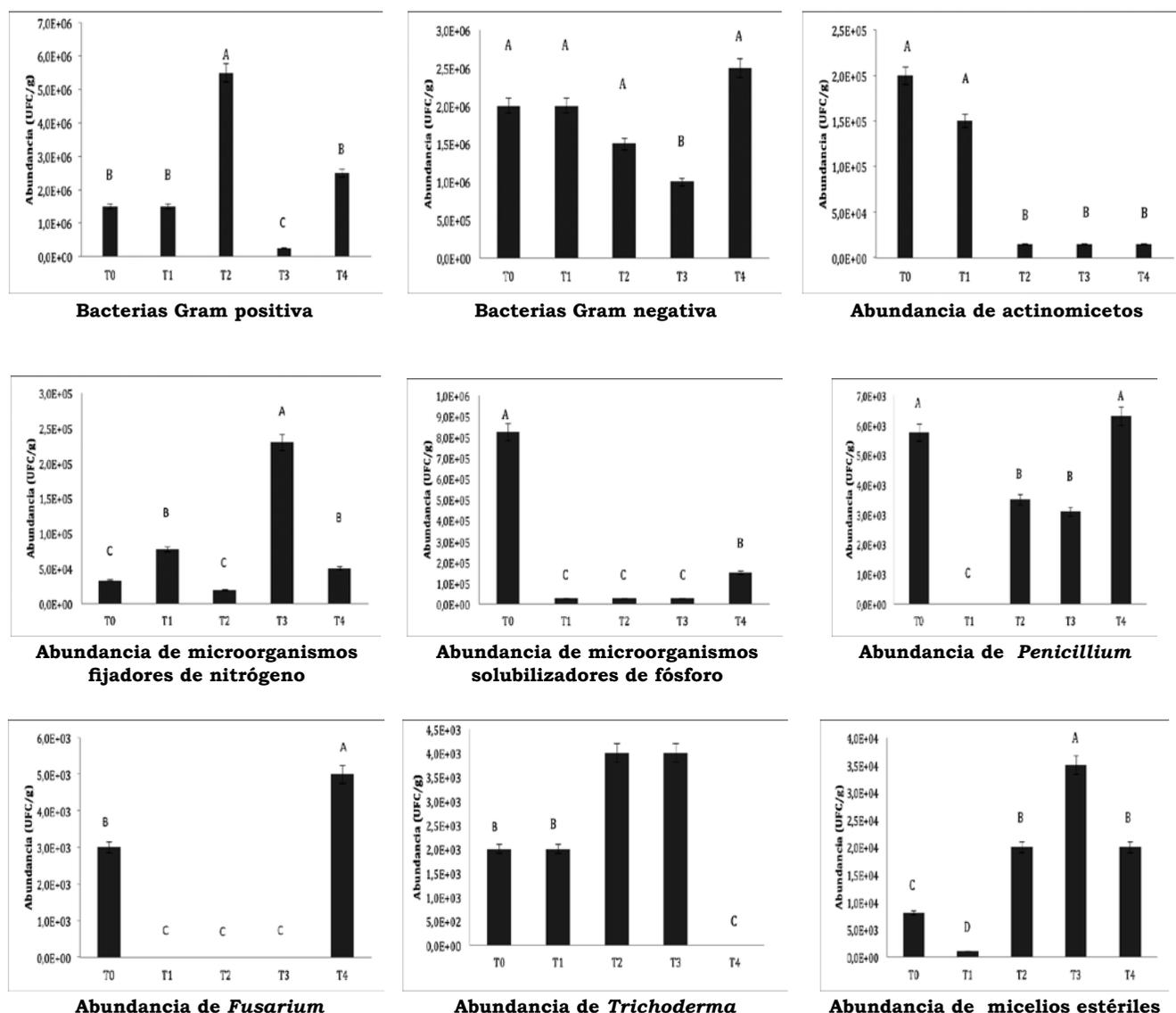


Figura 1. Efecto de la aplicación de agroquímicos en los microorganismos de un Oxisol cultivado con arroz en los Llanos Orientales de Colombia. T0: control, T1: Glifosato, T2: Bispiribac, T3: Azoxystrobin, T4: Malatión. Las barras indican desviación estándar y las letras indican los grupos de significancia ($P < 0.05$) según la prueba de Dunnett.

lo que consecuentemente explicaría el incremento de algunas poblaciones de microbios después de la aplicación de herbicidas como Bispiribac y el mismo Azoxystrobin, lo que sugiere la capacidad de los microorganismos presentes en el suelo para metabolizar este tipo de producto.

Actinomicetos

Los tratamientos Malatión, Azoxystrobin y Bispiribac afectaron de forma negativa la po-

blación de estos microorganismos, lo cual no se observó con Glifosato ($P < 0.05$) (Figura 1).

Fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo

Los microorganismos fijadores de nitrógeno fueron estimulados por los tratamientos Glifosato (T1), Malatión (T4) y en mayor medida por Azoxystrobin (T3) ($P < 0.01$) (Figura 1). Busse *et al.* (2001) encontraron que el Glifosato no tuvo efecto sobre las comunidades

de microorganismos en suelos cultivados con pino.

No obstante, en el presente trabajo se observaron efectos negativos de este herbicida sobre la presencia de los microorganismos solubilizadores de fósforo, al igual que en los hongos *Penicillium*, *Fusarium* y en los micelios estériles, lo cual indica cierto grado de susceptibilidad de estos al Glifosato. En general, los tratamientos con agroquímicos ocasionaron reducciones drásticas en los microorganismos del suelo en cuanto al control ($P < 0.05\%$) (Figura 1).

Penicillium*, *Fusarium* y *Trichoderma

La población de este hongo en el suelo fue eliminada por Glifosato (T1) y reducida de manera drástica por Bispiribac (T2) y Azoxystrobin (T3), mientras que el Malatión (T4) no tuvo efecto significativo en este tipo de hongo (Figura 1).

Fusarium fue eliminado por la aplicación de Glifosato (T1), Bispiribac (T2) y Azoxystrobin (T3), mientras que con Malatión (T4) presentó un leve aumento (5×10^3 UFC/g vs. 3×10^3 UFC/g ($P < 0.05$)) (Figura 1).

Los conteos de *Trichoderma* indicaron que el Malatión eliminó este hongo, mientras que el Bispiribac (T2) y el Azoxystrobin (T3) tuvieron un efecto positivo en su abundancia y el Glifosato no lo afectó (Figura 1).

La abundancia de los micelios estériles varió ($P < 0.01$) entre tratamientos (Figura 1). Los tratamientos Bispiribac (T2), Azoxystrobin (T3) y Malatión (T4) favorecieron un aumento, mientras que el Glifosato (T1) tuvo un efecto negativo.

Conclusión

- En este estudio, la respuesta de los microorganismos presentes en un Oxisol de los Llanos Orientales de Colombia a la aplicación de agroquímicos en dosis comerciales fue variable y dependiente del tipo de producto. Algunos de ellos mostraron capacidad para metabolizar un producto, mientras que el mismo producto ocasionó efectos negativos en otros microorganismos. Los microorganismos solubilizadores de fósforo fueron los más sensibles a la aplicación de agroquimi-

cos, mostrando una reducción altamente significativa cuando se aplicó Glifosato, Bispiribac, y Azoxystrobin y significativa cuando se aplicó Malatión.

Referencias

- Adetutu, E. M.; Ball, A. S.; y Osborn, A. M. 2008. Azoxystrobin and soil interactions: degradation and impact on soil bacterial and fungal communities. *J. Appl. Microbiol.* 105:1777 - 1790.
- Alvear, M. L.; Lopez, R.; Rosas, A.; y Espinoza, N. 2006. Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre algunas actividades biológicas. *Rev. Cien. Suelo y nutr. Veg.* 6:64 - 76.
- Atlas, R. y Barthe, R. 2002: *Ecología microbiana y microbiología*. Editorial Addison Wesley.
- Barlett, D. W.; Clough, J. M.; Godwin, A. R.; Hall, A. A.; Hamer, M.; y Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manag. Sci* 58:647 - 662.
- Busse, M. D.; Ratcliffe, A. W.; Shestak, C. J.; y Powers, R. F. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long term control on soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 33:1777 - 1789.
- Caldiz, D. O.; Rolon, D. A.; DI Rico, J.; y Andreu, A. B. 2007. Performance of dimethomorph + mancozeb applied to seed potatoes in early management of late blight (*Phytophthora infestans*). *Potato Res.* 50:59 - 70.
- Chen, S. K.; Edwards, C. A.; y Subller, S. 2003. The influence of two agricultural biostimulants on nitrogen transformations, microbial activity and plant growth in soil microcosms. *Soil Biol. Bioch.* 35:9 - 19.
- Cycoń, M.; Piotrowska-Seget, Z.; y Kozdrój, J. 2010. Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soil. *Intern. Biodeter. Biodegrad.* 64:316 - 323.
- Dardis, J. y Walsh, E. J. 2000. Studies on the effectiveness of metconazole in controlling *Fusarium* head blight caused by *Fusarium culmorum* in spring wheat (*Triticum aestivum* L). *Cereal Res. Comm.* 28:443 - 448.
- Dunnett, C. W. 1980. Pairwise multiple comparisons in the unequal variance case. *J. Am. Stat. Assoc.* 75:796 - 800.
- Gutiérrez Alemán, N.; Barón Valbuena, J.; Roa Prieto, J.; Castro Medina, G. E.; Mendoza, G.; y Lennis Vargas, D. A. 2011. Dinámica del sector arrocero de los Llanos Orientales de Colombia. Federación Nacional de Arroceros, Fedearroz. Bogotá, D.C.
- Hernández-Soriano, M. C.; Mingorance, M. D.; y Peña, A. 2007. Interaction of pesticides with a surfactant-modified soil interface: Effect of soil

- properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 306:49 - 55.
- Hussain, S.; T., S.; Saleem, M.; Arshad, M.; y Khalid, A. 2009. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. Chapter 5. *Adv. Agron.* 102:159 - 200.
- Lo, C. C. 2010. Effect of pesticides on soil microbial community. *J Environ. Sci. Health B* 45:348 - 359.
- Matsumoto, L. S.; Martínez, A. M.; Avanzi, M. A.; Albino, U. B.; Brasil, C. B.; Saridakis, D. P.; Rampazo, L. G.; Zangaro, W.; y Andrade, G. 2005. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. *Appl. Soil Ecol.* 28:57 - 65.
- Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett* 170:265 - 270.
- Osuna, M. D.; Vidotto, F.; Fischer, A. J.; Bayer, D. E.; De Prado, R.; y Ferrero, A. 2002. Cross-resistance to bispyribac-sodium and bensulfuron-methyl in *Echinochloa phyllopogon* and *Cyperus difformis*. *Pesticide Biochem. Physiol.* 73:9 - 17.
- Pal, R.; Chakrabarti, K.; Chakraborty, A.; y Chowdhury, A. 2010. Degradation and Effects of pesticides on soil microbiological parameters-A Review *Intern. J. Agric. Res.* 5:625 - 643.
- Pozo, C.; Salmerón, Y.; Rodelas, B.; Martínez-Toledo, M. Y.; y González-López, J. 1994. Effects of the herbicide alachlor on soil microbial activities. *Ecotoxicology* 3:4 - 10.
- Radosevich, M.; Traina, S. J.; Hao, Y. L.; y Tuovinen, O. H. 1995. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:297 - 302.
- Rippstein, G.; Amézquita, E.; Escobar, G.; y Grollier, C. 2001. Condiciones Naturales de la sabana, En: G. Rippstein, G. Escobar, y F. Motta (eds.). *Agroecología y biodiversidad de las sabanas en los Llanos Orientales de Colombia*, CIAT, Cali-Colombia. 121 p.
- Sawunyama, P.; y Bailey, G. W. 2001. Modeling the interaction of agrochemicals with environmental surfaces: pesticides on rutile and organo-rutile surfaces. *J. Mol. Structure* 541:119 - 129.
- Schlöter, M.; Dilly, O.; y Munch, J. C. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosys. Environ.* 98:255 - 262.
- Sierra, L.; Gómez-Sarmiento, M.; y Varela, A. 2009. Efecto del uso del suelo y la época climática sobre grupos funcionales microbianos: Relación con variables edáficas (Región cafetera). *Suelos Ecuatoriales* 39:15 - 0.
- Taniguchi, Y.; Kawata, M.; Ando, I.; Shimizu, T.; y Ohshima, M. 2010. Selecting genetic transformants of indica and indica-derived rice cultivars using bispyribac sodium and a mutated ALS gene. *Plant Cell Reports* 29:1287 - 1295.
- Varela, A.; Ramírez, D.; Prieto, D.; Borda, N.; Largo, Y.; Bustos, G.; y Duarte, P. 2009. Aspectos ecológicos de bacterias nitrificantes y desnitrificantes en la Orinoquía colombiana. *Suelos Ecuatoriales* 39:95 - 99.
- Watanabe, O.; Yokoyama, M.; Fujita, S.; Miyazaki, T.; y Wada, N. 2003. The development of rice herbicide and growth retardant, bispyribac-sodium. *J. Weed Sci. Tech.* 1:24 - 33.