

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EFFECTO DE LOS HERBICIDAS MCPA, 2,4-DB, FLUMETSULAM,
BENTAZON Y HALOXIFOP METIL SOBRE EL DESARROLLO
RADICAL Y AEREO DE PLANTAS DE TREBOL ROSADO**
(*Trifolium pratense* L)

Tesis de grado presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de la Frontera como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

HERNAN GUILLERMO BREVIS BAIER

TEMUCO-CHILE

2003

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EFFECTO DE LOS HERBICIDAS MCPA, 2,4-DB, FLUMETSULAM,
BENTAZON Y HALOXIFOP METIL SOBRE EL DESARROLLO
RADICAL Y AEREO DE PLANTAS DE TREBOL ROSADO**
(Trifolium pratense L)

Tesis de grado presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de la Frontera como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

HERNAN GUILLERMO BREVIS BAIER
PROFESOR GUIA: GRACIELA PALMA CIFUENTES

TEMUCO-CHILE

2003

Profesor Guía:

GRACIELA PALMA C.

Dr. en Cs mención Química

Profesores consejeros:

FERNANDO ORTEGA K.

Ingeniero Agrónomo PH.D

NELSON ESPINOZA N.

Ingeniero Agrónomo M.Sc

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Trébol rosado (<i>Trifolium pratense</i> L.).....	3
2.1.1	Antecedentes generales.....	3
2.2	Factores bióticos limitantes de la producción de trébol rosado.....	5
2.2.1	Plagas.....	5
2.2.2	Enfermedades	7
2.2.3	Malezas.....	8
2.2.3.1	Control de malezas	9
2.3	Herbicidas	10
2.3.1	Clasificación de los herbicidas	10
2.3.1.1	Herbicidas hormonales	11
2.3.1.2	Herbicidas inhibidores de la biosíntesis de lípidos.....	12
2.3.1.3	Herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos	12
2.3.1.4	Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis	12
2.3.2	Selectividad de los herbicidas.....	13
2.3.3	Fitotoxicidad de los herbicidas	13
2.3.4	Herbicidas utilizados en control de malezas en trébol rosado.....	13

2.3.5	Efecto de los herbicidas sobre los cultivos.....	14
2.3.6	Efecto de los herbicidas sobre hongos del suelo	14
2.3.7	Efecto de los herbicidas sobre leguminosas forrajeras	15
3	MATERIALES Y METODOS	19
3.1	Materiales	19
3.2	Métodos	20
3.2.1	Preparación del sustrato.....	20
3.2.2	Preparación de las semillas.....	20
3.2.3	Obtención de plántulas	21
3.2.4	Riego y fertilización	21
3.2.5	Transplante a macetas.....	21
3.2.6	Diseño experimental	21
3.2.7	Aplicación de herbicidas	22
3.2.8	Evaluación de fitotoxicidad en plantas de trébol rosado	22
3.2.8.1	Evaluación de fitotoxicidad en el follaje	23
3.2.8.2	Daño del herbicida en la raíz	24
3.2.8.3	Diámetro de corona.....	24
3.2.8.4	Largo de raíz principal y altura de plantas	24
3.2.8.5	Peso seco de raíces y parte aérea	24
3.2.9	Análisis estadístico	24

4	RESULTADOS Y DISCUSION	25
4.1	Efecto de los herbicidas en la parte aérea de las plantas de trébol rosado	25
4.1.1	Fitotoxicidad visual en el follaje de las plantas	25
4.1.2	Efecto en el diámetro de corona de las plantas.....	30
4.1.3	Efecto en la altura de las plantas	32
4.1.4	Efecto en el peso seco del follaje de las plantas	34
4.2	Efecto de los herbicidas en el sistema radical de las plantas de trébol rosado	39
4.2.1	Fitotoxicidad visual en la raíz de las plantas	39
4.2.2	Efecto en el largo de la raíz de las plantas.....	45
4.2.3	Efecto en el peso seco de las raíces de las plantas.....	47
5	CONCLUSIONES	51
6	RESUMEN	52
7	SUMMARY	53
8	LITERATURA CITADA.....	54
	ANEXOS.....	59

1. INTRODUCCIÓN

El trébol rosado (*Trifolium pratense* L.), es una de las principales especies forrajeras cultivadas en Chile, especialmente en la zona sur de nuestro país. La importancia de esta especie se basa en el uso como materia prima para consumo animal y en la comercialización de su semilla, tanto en Chile como en el extranjero. En nuestro país, así como en todo el mundo, esta forrajera tiene una baja persistencia siendo utilizada plenamente sólo dos años y en algunos casos hasta tres años. Este comportamiento se debe a múltiples factores, entre los que podemos mencionar, factores ambientales y la incidencia de plagas y enfermedades entre otros.

Estudios realizados en nuestro país indican que el ataque de un insecto fitófago, *Hylastinus obscurus* (Coleóptera: Scolytidae) y la acción de hongos fitopatógenos, del género *Fusarium*, son los principales responsables de este hecho. La infestación de raíces de trébol por *H. obscurus* ha sido relacionada con la presencia de hongos fitopatógenos pudridores de la raíz y aunque no está totalmente clara su relación, estudios previos señalan que *H. obscurus* tiene preferencia por raíces infectadas por hongos.

Existen antecedentes que indican que los herbicidas afectan las poblaciones de hongos del suelo y la fisiología y desarrollo de los cultivos, predisponiendo principalmente a las raíces de las plantas al ataque de hongos fitopatógenos. La relación Insecto-Hongo-Planta puede estar influenciada por el uso de algunos herbicidas utilizados en el control de malezas de esta forrajera.

Las recomendaciones de uso de los herbicidas están basadas en su selectividad al cultivo, aun cuando después de aplicados es frecuente observar efectos fitotóxicos iniciales que no afectarían el posterior desarrollo del cultivo. La fitotoxicidad de los herbicidas sobre los cultivos normalmente es evaluada en condiciones de campo con el fin de determinar su efecto sobre el rendimiento del cultivo.

Hipótesis:

La aplicación de los herbicidas MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil, provocan fitotoxicidad en plantas de trébol rosado, afectando su desarrollo radical y aéreo.

Objetivo:

Evaluar el efecto producido por los herbicidas MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil, aplicados en diferentes dosis, sobre el desarrollo radical y aéreo de las plantas de trébol rosado.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Trébol rosado (*Trifolium pratense* L.).

2.1.1 Antecedentes generales. El trébol rosado es una especie originaria del Asia Menor y del Sureste de Europa (Duke, 1983). Su semilla fue introducida a Inglaterra desde Alemania en el año 1650, y probablemente fue traída hasta América por colonos Ingleses. En la actualidad está ampliamente distribuida a través de todo el mundo, y es un importante recurso forrajero en Europa, Centro Oeste de Asia, Norteamérica, Nueva Zelanda y Australia (Wilsie, 1962).

Rojas (1966), señala que en Chile fue introducida en el año 1869 a la provincia del Maule, y en nuestros días su cultivo se extiende entre la tercera y duodécima región, concentrándose principalmente entre las Regiones Octava y Décima (López, 1996).

El trébol rosado es una leguminosa perenne de vida corta (Demanet *et al.*, 1996). Usualmente es productiva por dos a tres años, o más en ambientes libres de plagas y enfermedades. Su crecimiento más vigoroso se produce desde primavera hasta la primera parte del verano, permaneciendo en dormancia en estado de roseta durante el invierno (Frame, 2000).

Esta forrajera posee una raíz pivotante que alcanza profundidades de hasta un metro, con numerosas raíces secundarias, característica que le confiere gran resistencia a la sequía. Dispone de una corona ancha, de la cual se desarrollan los tallos que pueden alcanzar una altura de sesenta centímetros, las hojas son trifoliadas, grandes y abundantes, generalmente presentan una marca característica de color verde claro en el centro de cada folíolo. Sus flores son de color rosado a violeta y están dispuestas en forma de cabezuela, presentan cada una de estas cien a ciento veinte flores como promedio. De las leguminosas es la que presenta menor nodulación. Es una especie de alta productividad y valor nutritivo (Cuevas y Balocchi, 1983).

Según Cuevas y Balocchi (1983), el trébol rosado se adapta a variadas condiciones de suelo, obteniendo su máxima producción en suelos fértiles, bien drenados, con buena capacidad de retención de agua, y de textura media a pesada. Romero y Bonert (1979) indican además, que ésta prospera bien en suelos moderadamente ácidos (pH sobre 5,5), lo que coincide con el MAFF (1983), quienes señalan que el trébol rosado es una de las leguminosas forrajeras más resistentes a la acidez del suelo.

Romero y Bonert (1979), también señalan que es una leguminosa de clima templado y algo húmedo, en áreas de secano se adapta bien donde las lluvias son mayores a 1.000 mm anuales y las sequías no mayores a tres meses. Por otra parte, Torres y Sierra (1991), indican que necesita algunas precipitaciones en verano para un mejor comportamiento. Con respecto a la temperatura dice que esta especie necesita 7° C como mínimo para iniciar crecimiento activo, y que la planta detiene su crecimiento con temperaturas inferiores a 10° C y superiores a 38° C.

El trébol rosado es la especie forrajera más importante en Chile, su superficie representa un 27% del total de praderas sembradas en Chile y en la Novena Región su importancia relativa es aún mayor debido a que representa el 50% del total de praderas sembradas (Figueroa, 1998).

Según López (1996), esta especie forrajera es la más utilizada para corte en la zona centro-sur, alcanzando una producción aproximada de 10.000 kg ha⁻¹ de materia seca.

Demagnet y Mora (1996), indican como recurso económico importante, la producción de semillas de esta especie, la que en nuestro país alcanza un rendimiento promedio de 340 kg ha⁻¹, destinándose a esta actividad aproximadamente 5.000 ha, tanto como para consumo interno como para exportación (Figueroa, 1998).

2.2 Factores bióticos limitantes de la producción de trébol rosado.

2.2.1 Plagas. En la zona sur de Chile el trébol rosado es hospedero de más de una docena de especies de insectos fitófagos, los cuales no necesariamente se les debe denominar plaga, ya que muchos de ellos, son solo ocasionalmente dañinos y raramente alcanzan densidades de importancia económica para el cultivo (Cisternas y Norambuena, 1991).

Existen autores que entregan largas listas de insectos catalogados como plagas o como insectos asociados al trébol rosado, sin embargo en la realidad sólo dos especies de insectos se comportan como plagas, estas especies son Cuncunilla negra (*Dallaca pallens*) y el barrenador de la raíz del trébol rosado *Hylastinus obscurus* (Marsham), (Cisternas y Norambuena, 1991).

Dallaca pallens B, (Lepidóptera: Hepialidae) corresponde a una mariposa de vuelo crepuscular y nocturno, los daños provocados en las praderas de trébol rosado son producidos por los estados larvales de este insecto, estos se alimentan de los tejidos aéreos de las plantas, generalmente cortándolas a nivel del cuello, la intensidad del daño esta relacionada directamente con la cantidad de insectos presentes en la pradera (Aguilera *et al.*, 1996).

Hylastinus obscurus (Coleóptera: Scolytidae) es un coleóptero que está presente en Europa y Estados Unidos (Aguilera, 1989), y cuya presencia en Chile fue detectada en el año 1971 (Matamala, 1976). El trébol rosado es su principal hospedero en Chile no determinándose aún hospederos secundarios (Cisternas y Norambuena, 1991). Además en el extranjero se ha señalado a este insecto como el principal responsable de la baja productividad del trébol rosado, tanto en semillas como en forraje (Steiner y Alderman, 1999).

Actualmente su distribución abarca principalmente desde la VIII a la X región, siendo la IX Región la zona con más alto índice de ataque (Aguilera *et al.*, 1996).

El insecto adulto es de cuerpo duro, color café anaranjado cuando recién emerge, tornándose luego un color café violáceo oscuro. La hembra una vez apareada deposita sus huevos individualmente en el interior de las raíces a ambos lados de una galería helicoidal o vertical entre la epidermis y el cilindro vascular (Matamala, 1976).

El daño es causado por los estados de larva y adulto, los cuales se alimentan de los tejidos radicales, principalmente de la corteza y a veces del cilindro vascular, esto último dependiendo del tamaño y diámetro radical como además de la densidad de insectos por raíz. En estado adulto forma en las raíces una galería de oviposición de forma helicoidal o vertical al eje del cilindro vascular, lo que facilita la entrada de hongos fitopatógenos, saprófitos, bacterias y otros insectos que se desarrollan en los tejidos en descomposición. Las larvas construyen sus galerías perpendiculares a la galería de oviposición y son ellas las que dañan fuertemente el cilindro vascular, particularmente cuando las raíces son de menor diámetro y las larvas alcanzan mayor desarrollo (Cisternas y Norambuena, 1991).

Según Carrillo y Mundaca (1974), la intensidad de ataque en praderas de segundo y tercer año varía entre 70 y 100% de plantas atacadas, estos índices son mayores que los entregados por Matamala (1976), quien señala que en praderas de segundo, tercer y cuarto año el porcentaje de plantas atacadas varía entre 26% y 92%. Según este autor el daño no es tan severo en plantas que desarrollan más de una raíz, lo que es más común en suelos francos y menos frecuente en suelos arcillosos.

2.2.2 Enfermedades. Las enfermedades que afectan el trébol rosado pueden llegar a ejercer un importante rol en la productividad de esta forrajera, algunos tipos pueden reducir la densidad de la población de plantas, y otras, el rendimiento y la calidad de semilleros y empastadas (Kilpatrick, 1954).

Entre las enfermedades que atacan al trébol rosado podemos distinguir entre las que actúan a nivel aéreo, ya sea en flores, semillas, tallo u hojas y las que actúan a nivel radical. Dentro de las enfermedades más comunes, que actúan en las raíces se encuentran las llamadas “Pudriciones radicales” las que en su mayoría son provocadas por hongos de suelo del genero *Fusarium*, entre ellas podemos mencionar *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum* (Wilsie, 1962). Estos hongos se caracterizan por ser habitantes comunes en el suelo y habitualmente su presencia esta condicionada a ciertos factores ambientales como mal drenaje y baja fertilidad del suelo, además de la actividad de otros patógenos, daño de insectos y/o a la acción de nematodos. Las plantas afectadas por especies de *Fusarium* presentan un sistema radical débil, de coloración café oscura a rojiza, producto de la acción del patógeno sobre el tejido, tanto en las raíces principales como laterales. Normalmente, los síntomas de este tipo de enfermedades se presentan en forma de manchones en el potrero y de preferencia en suelos con mal drenaje o muy húmedos. En ataques severos se reduce la población de plantas con lo que se puede llegar a una pradera improductiva en pocos años. Este tipo de hongos se diseminan por el agua de riego y las labores culturales. Sobreviven activamente como saprófitos sobre residuos vegetales y en forma pasiva a la forma de esporas asexuales de resistencia (clamidosporas). Su control se basa en la rotación de cultivos y practicas culturales, como mejorar el drenaje y la fertilización entre otras (Galdámes, 1991).

2.2.3 Malezas. Una maleza es, por definición, una especie de planta indeseable en la comunidad biológica que el hombre intenta explotar. En praderas, se podría considerar como malezas a plantas venenosas, o en su defecto de baja palatabilidad, de bajo valor nutritivo para el ganado, o simplemente, contaminantes de la mezcla forrajera deseada. En Chile, las pérdidas económicas ocasionadas por las malezas en la producción pecuaria son difíciles de estimar y se dispone de escasa información al respecto, pero incluyen pérdidas que son consecuencia del efecto directo de la interferencia de las malezas con las especies forrajeras, tales como la menor cantidad y calidad de forraje disponible, menor ganancia de peso de los animales y menor longevidad de las praderas. La prevalencia de las distintas especies de malezas puede variar de una región a otra, incluso entre localidades de una misma región, dependiendo no solamente del clima, suelo, rotación de cultivos, sino también de la clase de ganado que consume la pradera. Durante el establecimiento, la pradera puede ser infestada indistintamente por malezas dicotiledóneas (hoja ancha) y monocotiledóneas (hoja angosta), ya sean anuales, bianuales o perennes, dependiendo principalmente del banco de semillas existentes en el suelo y de la época de siembra de la pradera. Sin embargo, en praderas sembradas de dos o más años y naturalizadas, las malezas más comunes son las perennes. Las malezas anuales, principalmente dicotiledóneas, son particularmente importantes durante el establecimiento de las praderas. Su importancia radica en que, al constituirse en las especies prevalentes durante el primer año, pueden determinar, en gran medida la calidad de la pradera en los años subsiguientes (Espinoza y Díaz, 1996).

2.2.3.1 Control de malezas. Controlar una especie de maleza significa reducir la población a un mínimo de individuos, de modo que no afecte económicamente la producción del sistema agrícola. En praderas existen básicamente cuatro métodos de control de malezas: control cultural, control mecánico, control biológico y control químico. El control de malezas, es fundamental para maximizar el rendimiento de trébol rosado debido a que las malezas compiten con el cultivo por espacio, luz, nutrientes y agua, además de constituir un hospedero alternativo para patógenos.

Aguila (1966), señala que el control de especies residentes debe iniciarse tan pronto como se estime que su proporción resulta perjudicial para la vida del semillero o se considere que cause cualquier otro daño indirecto.

Bariggi y Silva (1963), indican que los cortes de limpieza son una buena ayuda para controlar las malezas, siendo aconsejable emplear este sistema en semilleros establecidos en otoño. No se aconseja cuando se ha sembrado en primavera y en caso que un exceso de otras especies lo justifique, deben efectuarse temprano en primavera, pues de lo contrario el rendimiento será afectado desfavorablemente.

Luchsinger (1985), sostiene que una forma de disminuir el efecto de las malezas sobre la producción de semillas de trébol rosado es ubicarlo en una rotación de cultivos, que permita en los cultivos precedentes un buen control de malezas.

Aguila (1966), afirma que a través del uso de herbicidas se pueden eliminar muchas malezas, tanto en establecimientos en líneas como al voleo, añadiendo que su empleo tiene que ser considerado como un medio de lograr una acción más efectiva, más rápida o más definitiva.

2.3 Herbicidas.

Los herbicidas, son sustancias químicas que, aplicadas sobre el follaje de las plantas o directamente al suelo o al agua, son capaces de destruir la vegetación o simplemente inhibir su desarrollo. Estos compuestos pueden tener comportamientos diferentes bajo distintas circunstancias, pudiendo así controlar mediante herbicidas selectivos, una serie de especies indeseables sin dañar al cultivo que interesa (Rivas, 1993).

2.3.1 Clasificación de los herbicidas. Los herbicidas pueden ser clasificados de acuerdo a varios criterios. Según la época de aplicación se clasifican en herbicidas de presembrado y en herbicidas de postsembrado; estos a su vez pueden ser pre y postemergentes. Desde el punto de vista del transporte en la planta, los herbicidas se clasifican en sistémicos, cuando absorbidos por el tejido foliar o radical y transportados vía floema, xilema o ambos; alcanzan el sitio específico en donde ejercen su acción tóxica, generalmente los centros de crecimiento y de elevada actividad metabólica. Los herbicidas sistémicos pueden ser aplicados al suelo y en ese caso se transportan vía xilema hacia el follaje, o aplicados al follaje y en ese caso se transportan vía floema hacia el resto de los tejidos aéreos y subterráneos. Por el contrario, los herbicidas de contacto, una vez que atraviesan la cutícula se transportan muy limitadamente, ejerciendo su acción en forma muy rápida. La mayoría de los herbicidas de contacto ejercen su acción sobre el follaje, aunque existen herbicidas de suelo que afectan tejidos radicales. El modo de acción de un herbicida se refiere a la razón biológica por la cual ocurre la muerte de la maleza. En general, el modo de acción comprende todos los eventos que implican la absorción, el transporte y la acción tóxica del mismo. La muerte de una maleza puede ocurrir por la alteración de uno o varios procesos claves o puede ser que la suma de los daños provocados en varios sitios provoque un daño irreversible (Ware, 1994).

Los herbicidas pueden actuar sobre las malezas interfiriendo en distintos procesos, como en la biosíntesis de pigmentos, en la biosíntesis de lípidos bloqueando la acción de la enzima acetil coenzima A carboxilasa (ACCase), en la biosíntesis de aminoácidos interrumpiendo la acción de la enzima acetolactato sintetasa (ALS). Además de los mecanismos mencionados, también existen herbicidas que interrumpen el proceso de fotosíntesis alterando las funciones de la cadena de transporte de electrones en el fotosistema II. Otro grupo de herbicidas como los hormonales provocan un crecimiento acelerado de algunos tipos de células interfiriendo con el normal crecimiento y desarrollo de las plantas (Hess, 1986).

De acuerdo a este criterio los herbicidas, según sea su naturaleza química pueden interferir parcial o totalmente en el desarrollo de las plantas, dependiendo del o los sitios de acción en que actúen.

2.3.1.1 Herbicidas hormonales. Los herbicidas MCPA y 2,4-DB, pertenecen al grupo químico de los fenoxiacéticos y son aplicados a nivel foliar. El movimiento de estos herbicidas en la planta es principalmente a través del floema con los carbohidratos, aunque también pueden ser transportados junto a los minerales y el agua por el xilema. Los herbicidas hormonales producen efectos similares a los producidos por las auxinas vegetales. Su modo de acción no es del todo conocido, aunque provocan múltiples efectos en la planta, tales como el aumento en la producción de etileno, aumento de la síntesis de ARN y ADN, del pH intracelular, del potencial de membrana, del intercambio de potasio y la síntesis de proteínas. Como consecuencia hay una estimulación del crecimiento y elongación celular dando lugar a un desarrollo anormal de la planta. En dicotiledóneas los síntomas son de severa epinastia (crecimiento longitudinal desigual) de hojas, pecíolos y tallos, dando lugar a estructuras deformes. Las hojas presentan una proliferación de nerviaciones que se disponen muy próximas entre sí y los tallos se hinchan y rasgan longitudinalmente. Estos síntomas culminan con una necrosis de las hojas y posterior muerte de la planta (Hess, 1986).

2.3.1.2 Herbicidas inhibidores de la biosíntesis de lípidos. Haloxifop metil pertenece al grupo químico de los ariloxi fenoxipropionatos. Este herbicida es aplicado al follaje y transportado en la planta vía xilema y floema. Los ácidos grasos de cadena larga son necesarios en la formación de los componentes lipídicos de las membranas y ceras cuticulares. Los herbicidas ariloxifenoxipropiónicos inhiben la enzima involucrada en la biosíntesis de los ácidos grasos, la acetil coenzima A carboxilasa. La falta de producción de ácidos grasos conduce rápidamente al desorden de las membranas, lo cual se refleja en el cese de la división celular y la necrosis del tejido meristemático (Hess, 1986).

2.3.1.3 Herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos. Flumetsulam pertenece al grupo químico de las triazolpirimidinas; es de aplicación foliar y transportado principalmente vía floema, aunque también puede ser transportado vía xilema. Los herbicidas inhibidores de la síntesis de aminoácidos, actúan bloqueando la acción de una enzima específica, llamada acetolactato sintetasa (ALS) interrumpiendo así la producción de aminoácidos y con ello el normal crecimiento y desarrollo de la planta (Hess, 1986).

2.3.1.4 Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis. Bentazon pertenece al grupo químico de los benzotidiazoles, es de aplicación foliar con mínima traslocación en la planta. Los herbicidas pertenecientes a este grupo actúan inhibiendo la acción de una proteína llamada D-1 la cual es pieza fundamental en el transporte de electrones en el fotosistema II de la fotosíntesis. Esta acción se refleja en la detención de la fijación de dióxido de carbono y producción de carbohidratos (Hess, 1986).

2.3.2 Selectividad de los herbicidas. La selectividad, hace referencia a la capacidad que posee un herbicida de ejercer su modo de acción y causar daños en la maleza pero no en la especie cultivada. Las razones por las cuales un herbicida es selectivo son de variada naturaleza y en muchos casos desconocidas. A veces se debe a que simplemente no es absorbido, por las características que posee la cutícula; porque se degrada a derivados no tóxicos; o, porque se conjuga con un componente celular inactivándose (Ware, 1994).

2.3.3 Fitotoxicidad de los herbicidas. La fitotoxicidad dice relación con los efectos nocivos causados a la fisiología de las plantas por agentes químicos externos cualquiera sea su naturaleza. En el caso de los herbicidas, la fitotoxicidad es el daño producido a las plantas por la aplicación de un tratamiento herbicida. El daño puede deberse a la interferencia sobre procesos enzimáticos o a la alteración de la estructura celular de las plantas. Estas alteraciones en la fisiología de la planta son visibles a través de distintos síntomas, como menor crecimiento, clorosis y/o necrosis de tejidos.

2.3.4 Herbicidas utilizados en control de malezas en trébol rosado. Existe una gran variedad de herbicidas posibles de ser utilizados en control de malezas en trébol rosado. Entre ellos encontramos herbicidas de preemergencia y postemergencia del cultivo y las malezas, que pueden controlar malezas mono y dicotiledóneas, sean estas anuales, bianuales o perennes. Los herbicidas MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil, son algunos de los herbicidas comúnmente utilizados en el control de malezas mono y dicotiledóneas en el cultivo de trébol rosado en Chile. Estos herbicidas son de aplicación postemergente y son absorbidos preferentemente por el follaje, pero también presentan absorción por las raíces. Estos herbicidas son de acción sistémica, a excepción de bentazon que es de contacto.

Estos herbicidas son aplicados en a lo menos dos estados de desarrollo del cultivo, durante el primer año, cuando la planta se encuentra en el estado de dos a cuatro hojas trifoliadas y, en el segundo año, en los meses de agosto o septiembre (AFIPA, 1996).

2.3.5 Efecto de los herbicidas sobre los cultivos. En el rol primario de reducir la competencia con malezas, los herbicidas pueden tener otros efectos, directos e indirectos en el crecimiento de las plantas del cultivo y los microorganismos presentes en el suelo. Algunos herbicidas pueden causar daño directo a las plantas del cultivo, afectando los mecanismos de defensa a enfermedades y predisponiendo a estas plantas, a las enfermedades de la raíz (Dissanayake *et al.*, 1998).

Altman y Rovira (1989), indican que muchos productos químicos, particularmente los herbicidas, producen cambios en la fisiología y desarrollo de las plantas del cultivo que podrían resultar en considerables alteraciones en la susceptibilidad a enfermedades. Estos cambios incluyen reducción en la formación de cera en las hojas; cambios en el metabolismo de carbohidratos, nitrógeno y glucósidos; y alteraciones en el crecimiento de la planta, favoreciendo el ataque de patógenos (Altman y Campbell, 1977).

El daño a las plantas provocado por los herbicidas puede resultar en una alteración de la permeabilidad de la membrana de los tejidos de la raíz y la subsiguiente liberación de sustancias al medio (Altman y Rovira, 1989).

2.3.6 Efecto de los herbicidas sobre hongos del suelo. En estudios realizados en el extranjero se ha determinado que los herbicidas tienen efectos directos e indirectos sobre el crecimiento de poblaciones de hongos del suelo. Según Katan y Eshel (1973), la incidencia y severidad de las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos está determinada por el efecto de los herbicidas sobre el crecimiento de las poblaciones de hongos, así como también por la susceptibilidad inducida por los herbicidas en el hospedero.

Dissanayake *et al.* (1998), en un estudio realizado sobre el efecto de herbicidas sobre el desarrollo de pudrición radical provocada por *Pythium arrhenomanes* en caña de azúcar, determinaron que los herbicidas afectaron la población de este hongo, influyendo en la incidencia y severidad de esta enfermedad.

Karr *et al.* (1979), efectuaron una investigación para analizar el efecto de distintos herbicidas sobre el crecimiento de poblaciones de hongos, y verificaron que el uso de bajas dosis del herbicida bensulide estimula el crecimiento de poblaciones de *Rhizoctonia solani*.

Lévesque *et al.* (1987), en estudios realizados con glifosato sobre cepas de *Fusarium spp* determinaron que la densidad de los inóculos de este hongo aumentaron cuando estos fueron expuestos a distintas dosis de este herbicida.

2.3.7 Efecto de los herbicidas sobre leguminosas forrajeras. Los estudios realizados en Chile y el mundo se enfocan principalmente en la cuantificación del rendimiento de materia seca de esta forrajera. En éstos se verifican los efectos provocados por distintos grupos de herbicidas sobre el crecimiento de las plantas y la fitotoxicidad provocada por los herbicidas, mencionada como un cambio en la coloración o en el normal aspecto de las plantas estudiadas.

La tolerancia de una especie vegetal a un herbicida es determinada por varios factores, tales como biológicos (inherentes a la planta), fisico-químicos (inherentes al herbicida) y ambientales (Mársico, 1980; Warren, 1990).

Appleby y Dawson (1990), indican que, en general las leguminosas forrajeras tienden a ser más tolerantes a la mayoría de los herbicidas sistémicos en la medida que aumenta su crecimiento.

Evers *et al.* (1993), encontraron que en condiciones de invernadero los herbicidas 2,4-DB y bentazon aplicados durante el estado de cuatro a cinco hojas trifoliadas, redujeron el crecimiento de los tréboles, encarnado, subterráneo, rosado y blanco.

En estudios realizados en condiciones ambientales naturales, en tréboles subterráneo, blanco, encarnado y rosado, Griffin *et al.* (1984) encontraron que, transcurridos 45 días después de la aplicación de los herbicidas, el rendimiento de materia seca de todas las especies de tréboles, exceptuando el encarnado, fue reducido significativamente con el herbicida dicamba. Este mismo efecto, aunque más severo en todas las especies de tréboles, ocurrió con la mezcla dicamba - 2,4-D. En cambio, 2,4-D, en dosis de $1,12 \text{ kg ha}^{-1}$ no afectó el rendimiento de trébol subterráneo, afectó levemente el de trébol blanco, y severamente el de los tréboles encarnado y rosado. La vicia mostró una alta susceptibilidad ya que fue destruida con todos los tratamientos herbicidas.

Evers *et al.* (1993), encontraron que los tréboles subterráneo y alejandrino toleraron adecuadamente los herbicidas pronamida en las dosis de $1,7$ y $3,4 \text{ kg ha}^{-1}$, y bentazon en las dosis de $0,8$ y $1,7 \text{ kg ha}^{-1}$, aplicados durante el establecimiento de las forrajeras.

Díaz *et al.* (1992), en estudios realizados en condiciones de campo en la IX Región indican que, los tréboles rosado y alejandrino toleraron adecuadamente los herbicidas aplicados en presiembra, (EPTC, benfluralin y trifluralin), y los aplicados en preemergencia, (imazetapir y propizamida), ya que no se observaron síntomas de fitotoxicidad en la planta ni disminución en la producción de materia seca.

Por otra parte, cuando los tréboles rosado y encarnado fueron asperjados con herbicidas post-emergentes, se observó que MCPA en dosis de $0,75 \text{ kg ha}^{-1}$ y 2,4-DB en dosis de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$, no ocasionaron reducción en la producción de materia seca, no obstante haberse observado fitotóxicidad en la planta a los pocos días de la aplicación. Sin embargo, en dosis mayores hubo pérdida de fitomasa con ambos herbicidas. Este efecto negativo en la producción de forraje también ocurrió con 2,4-D y bromoxinil, aunque en este caso, en todas las dosis aplicadas. En contraste con lo anterior, el herbicida bentazon en todas las dosis aplicadas fue bien tolerado por los tréboles rosado y encarnado, mientras que cianazina solo por trébol encarnado. En este mismo trabajo, las gramíneas falaris, festuca, ballica y pasto ovilla, toleraron adecuadamente los herbicidas MCPA, 2,4-DB, picloram y dicamba. Sin embargo, el herbicida 2,4-D, en dosis de $1,5 \text{ kg ha}^{-1}$ afectó negativamente la producción de materia seca de festuca y pasto ovilla, y el herbicida bromoxinil la producción de materia seca de las cuatro especies, particularmente en dosis de $0,9 \text{ kg ha}^{-1}$ (Díaz *et al.*, 1992).

Estudios realizados por Darwent y Pankiw (1976), sobre el efecto de herbicidas post emergentes en el rendimiento de semilla de trébol rosado concluyeron que los herbicidas MCPA y 2,4-DB en dosis de $0,56 \text{ kg ha}^{-1}$ y $0,28 \text{ kg ha}^{-1}$ respectivamente, afectaron negativamente la producción, provocando síntomas epinásticos que derivaron en menor producción de flores, peso y número de semillas.

En alfalfa, Tonks *et al.* (1991), indican que, 2,4-DB éster ocasionó daño en las plantas en los dos años en que se hicieron los ensayos, caracterizado por epinastia, clorosis y menor altura en el primer corte, en relación al tratamiento testigo en que no se aplicó herbicida. Bromoxinil también dañó la alfalfa en los dos años y redujo la altura en uno. El daño por este herbicida se caracterizó por necrosis en las hojas y detención del crecimiento. Tanto bentazon como 2,4-DB amina no ocasionaron daño en la planta ni afectaron la altura en ningún año. Respecto a los rendimientos, 2,4-DB amina y éster lo redujeron durante el primer corte en aproximadamente un 20% el primer año, en cambio bentazon y bromoxinil no lo redujeron. El segundo año, 2,4-DB éster y bromoxinil disminuyeron el rendimiento del primer corte en 40 y 37%, respectivamente. Estos

resultados confirman los obtenidos en trabajos previos, en el sentido que el 2,4 DB y bromoxinil pueden afectar las plántulas de alfalfa (Peregine y Norris, 1998).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Materiales.

Trébol rosado: La semilla de trébol rosado utilizada correspondió a material C2 producido por el programa de fitomejoramiento de forrajeras de INIA Carillanca, la variedad seleccionada como material experimental, correspondió a Quiñequeli-INIA, variedad diploide de amplio uso en la IX Región.

Suelo: En este experimento fue utilizado suelo tipo trumao, correspondiente al orden andisol, clasificado como Dystrandep el cual fue extraído desde un sector de praderas de INIA Carillanca.

Vermiculita: Se utilizó vermiculita como parte del sustrato de crecimiento de las plantas de trébol rosado, ya que sus características físicas y químicas aseguran un buen desarrollo radical.

Agua destilada El agua utilizada en el riego del experimento fue destilada en el departamento de Ciencias Químicas de la Universidad de la Frontera.

Solución nutritiva: La solución nutritiva utilizada para fertilizar las plantas de trébol rosado fue la descrita por Hewitt, E. J (Anexo 1).

Herbicidas : Los herbicidas usados en este experimento, corresponden a algunos de los más utilizados en trébol rosado para el control postemergente de malezas dicotiledóneas y gramíneas, anuales y perennes.

Estos son:

Cuadro 1. Herbicidas utilizados en el estudio y dosis recomendadas.

Herbicida	Nombre comercial	Dosis (g i. a. ha ⁻¹)*	Dosis (p. c. ha ⁻¹ .)*
Flumetsulam	Preside 80 WG	39	50
Bentazon	Basagran	1.200	2,5
MCPA	MCPA 750 SL	750	1,0
2,4-DB	Venceweed 100 EC	387,5	0,5
Haloxifop metil	Galant Plus (R)	31	1,0

. i. a. = Ingrediente activo.

p. c. = Producto comercial.

3.2 Métodos.

3.2.1 Preparación del sustrato. El sustrato utilizado en este experimento correspondió a una mezcla de suelo y vermiculita, en proporción 1:1 en volumen. Esta mezcla fue seleccionada, debido a que sus cualidades físicas y químicas aseguran un buen desarrollo radical de las plantas. El suelo, debido a su alto contenido de humedad, fue expuesto al ambiente bajo condiciones de invernadero durante 4 días, después de lo cual fue tamizado con un tamiz de 2 mm de criba. Ambos materiales fueron esterilizados mediante calor en una autoclave, utilizando un tiempo de esterilización de 1,5 hr por cada ciclo de esterilización.

3.2.2 Preparación de las semillas. Las semillas usadas en este experimento fueron almacenadas a una temperatura de 5° C. El día 9 de Octubre de 2002 fueron extraídos y pesados 5 g, posteriormente fue desinfectada con una solución de Hipoclorito de Sodio al 10%; luego de 30 minutos de tratamiento, las semillas fueron lavadas hasta eliminar por completo la solución desinfectante.

3.2.3 Obtención de plántulas. Entre el día 9 y 10 de Octubre de 2002, fueron preparadas 37 almacigueras plásticas, cada una con 72 cavidades de un volumen aproximado de 100 ml por cavidad, a éstas les fue vertido el sustrato hasta completar el volumen de las cavidades. En este sustrato fueron sembradas las semillas de trébol rosado a una profundidad de entre 0,1 y 0,2 cm. Una vez concluida la siembra todas las almacigueras fueron regadas con agua destilada y mantenidas en uno de los invernaderos del departamento de Ciencias Químicas de la Universidad de la Frontera.

3.2.4 Riego y fertilización. Durante el período de crecimiento, a los 48-49 días de siembra las plantas fueron observadas diariamente con el objetivo de mantener condiciones de humedad y temperatura que aseguraran un crecimiento homogéneo, las frecuencias de riego dependieron de las necesidades de las plantas, verificando visualmente la humedad del suelo en forma diaria. Una vez que estas alcanzaron el estado de primera hoja verdadera a primera hoja trifoliada les fue aplicada la solución nutritiva antes mencionada (anexo 1), en dosis de 1ml por planta.

3.2.5 Transplante a macetas. El día 27 y 28 de Noviembre las plantas desarrolladas en las almacigueras, en un estado de 1-2 hojas trifoliadas fueron transplantadas a macetas plásticas de un volumen aproximado de 1.000 ml, a cada una de las macetas fueron transplantadas 6 plantas, totalizando 216 macetas y 1.296 plantas, esta labor fue desarrollada con instrumentos que aseguraron un buen manejo de las plantas durante el transplante.

3.2.6 Diseño Experimental. El experimento consistió, en la evaluación de 5 herbicidas más un tratamiento testigo sin aplicación de herbicidas, estos fueron aplicados en tres dosis: una equivalente al 50% de la recomendada, otra dosis equivalente a la recomendada y otra equivalente al 200% de la recomendada para cada herbicida (AFIPA, 1999). Los tratamientos fueron evaluados cada 10 días en el lapso de un mes. Para el montaje del ensayo y en el análisis de los datos fue utilizado un diseño de bloques completamente al azar.

Los resultados obtenidos para cada una de las dosis aplicadas se consideraron como un ensayo independiente. La unidad experimental correspondió a una maceta con 6 plantas de trébol rosado. En total fueron utilizadas 216 macetas con 1.296 plantas de trébol rosado.

3.2.7 Aplicación de herbicidas. Las soluciones herbicidas fueron preparadas en matraces aforados, las concentraciones fueron obtenidas a partir de diluciones de la solución mas concentrada. Estas fueron asperjadas el día 6 de Diciembre de 2002, para esta labor se utilizaron atomizadores individuales calibrados para asperjar un volumen de solución herbicida de 0.226ml por maceta.

3.2.8 Evaluación de fitotoxicidad en plantas de trébol rosado.

Cada 10 días las plantas fueron retiradas del invernadero siendo evaluada la fitotoxicidad de los herbicidas según el siguiente procedimiento.

La evaluación visual de fitotoxicidad a nivel foliar fue apreciada en la maceta, asignando a cada una de las seis plantas de la unidad experimental un valor numérico de acuerdo a las características observadas en ellas, una vez realizada esta observación, las plantas fueron cuidadosamente separadas del sustrato con agua destilada y depositadas en pocillos plásticos con agua destilada, a continuación se tomaron aleatoriamente tres de las seis plantas de cada unidad experimental verificando la presencia o ausencia de daño en la raíz principal, posteriormente fue medida la altura de planta y el largo de raíz principal, finalmente las plantas fueron cortadas a nivel de la corona para realizar la medición de peso seco de raíces y follaje.

3.2.8.1 Evaluación de fitotoxicidad en el follaje. Las plantas fueron evaluadas con una escala de daño en el follaje, esta fue confeccionada por la Asociación Latinoamericana de Malezas (A.L.A.M) para interpretar los síntomas presentados por plantas afectados por uso de herbicidas postemergentes, en esta se asignan distintos niveles de fitotoxicidad de acuerdo a las características observadas en las plantas, como clorosis, necrosis y/o malformaciones en la planta. (Medrano *et al.*, 1997).

Cuadro 2. Escala modificada de A.L.A.M (1) para evaluar fitotoxicidad en follaje

Escala	Nivel	Descripción
0	Sin daño	Sin efecto
1	Sin daño	Leve retardo en el crecimiento.
2	Leve	Clorosis leve en algunos folíolos.
3	Leve	Clorosis moderada en algunos folíolos.
4	Leve	Lesiones cloróticas pequeñas.
5	Moderado	Clorosis intensa, mal formación en el tallo.
6	Moderado	Zonas cloróticas, planta afectada recuperable.
7	Moderado	Daño severo, algunos folíolos totalmente necróticos.
8	Severo	Gran parte de los folíolos necróticos y deformaciones y/o daño en el tallo.
9	Severo	Totalidad de los folíolos necróticos.
10	Muerte de planta	Planta muerta.

(1) Medrano *et al.* (1997).

3.2.8.2 Daño del herbicida en la raíz. Las plantas fueron observadas bajo lupa con aumentos de 10 y 30x, tomando aleatoriamente una muestra de 3 plantas por cada maceta, los daños fueron evaluados según una escala de daño de 1-3 donde 1 = raíz sana, 2 = raíz con daño y 3 = raíz necrótica, las raíces fueron fotografiadas con una cámara digital marca Olympus.

Cuadro 3. Escala de daño en raíces

Escala	Nivel
1	Raíz sana
2	Raíz dañada
3	Raíz necrótica

3.2.8.3 Diámetro de corona. Las plantas fueron retiradas del sustrato lavando posteriormente sus raíces con agua destilada, a continuación se midieron los diámetros de las coronas de cada planta con un pie de metro digital marca Electronic Digital Caliper.

3.2.8.4 Largo de raíz principal y altura de plantas. El largo de la raíz principal y la altura de las plantas de trébol rosado fueron medidas con regla métrica.

3.2.8.5 Peso seco de raíces y parte aérea. Una vez realizadas las evaluaciones anteriores las plantas de cada maceta fueron cortadas a nivel del cuello, separando las raíces del follaje siendo luego introducidas en bolsas de papel, los pesos secos de raíces y follaje de los tratamientos fueron obtenidos después de secar las muestras en estufa de secado por 48 hr a 65° C.

3.2.9 Análisis estadístico. Para el análisis de los datos cualitativos de fitotoxicidad en el follaje y raíces de plantas de trébol rosado fue utilizada la prueba no paramétrica chi-cuadrado, en tanto que para las variables cuantitativas como altura de plantas, largo de raíz principal, diámetro de corona y pesos secos de follaje y raíces fue utilizado análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de promedios de Tukey, con un nivel de significancia de un 5%.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados obtenidos al evaluar el efecto de los herbicidas MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil sobre plantas de trébol rosado en estado de 2-3 hojas trifoliadas, bajo condiciones de invernadero. Estos resultados se presentan a través de evaluaciones de fitotoxicidad sobre el follaje y raíces de esta forrajera.

4.1 Efecto de los herbicidas en la parte aérea de las plantas de trébol rosado.

El efecto de los herbicidas utilizados, en el follaje de las plantas de trébol rosado fue registrado a través de evaluaciones cualitativas y cuantitativas de la fitotoxicidad provocada por los herbicidas.

4.1.1 Fitotoxicidad en el follaje de las plantas. La fitotoxicidad provocada por los herbicidas estudiados, sobre el follaje de las plantas de trébol rosado fue evaluada cualitativamente mediante una escala de fitotoxicidad reconocida por la A.L.A.M (Cuadro 2). Los resultados de estas evaluaciones fueron analizados con la prueba de estadística no paramétrica Chi-cuadrado, esta prueba fue utilizada porque permitió diferenciar los efectos provocados por los herbicidas, dosis y tiempos estudiados.

En el cuadro 4 se presentan los resultados promedio de cada herbicida (media de dosis y tiempos de evaluación).

Cuadro 4. Fitotoxicidad de los herbicidas en el follaje de plantas de trébol rosado según escala de fitotoxicidad de la A.L.A.M, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento (media de dosis y tiempos de evaluación para cada herbicida)

Escala	Nivel	Testigo	MCPA	2,4-DB	Flumetsulam	Bentazon	Haloxifop metil
0	Sin daño	71,2	6,0	16,7	17,6	19,0	34,7
1	Sin daño	26,5	11,1	38,9	28,2	22,7	36,1
2	Leve	2,3	21,3	25,5	23,6	13,0	22,7
3	Leve		25,5	8,3	14,8	13,4	5,1
4	Leve		10,2	8,3	3,2	1,9	1,4
5	Moderado		3,2	0,9	7,9	5,6	
6	Moderado		6,0	1,4	2,1	2,8	
7	Moderado		3,7		2,3	4,6	
8	Severo		6,5			6,9	
9	Severo		3,7			3,2	
10	Planta muerta		2,8			6,9	

$P < 0.000008$. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

El análisis estadístico realizado a los datos permitió diferenciar los herbicidas evaluados, comprobando que estos tuvieron distintos efectos en las plantas de trébol rosado. En comparación al testigo, el herbicida de menor fitotoxicidad sobre el follaje de las plantas fue haloxifop metil con un 71% de plantas sin daño (0-1). Este herbicida afectó a un reducido numero de plantas, en un 29% de las plantas la fitotoxicidad solo fue leve (2-4).

Los herbicidas 2,4-DB y flumetsulam no afectaron a nivel foliar a un 56 y 46% de plantas respectivamente; ambos herbicidas dañaron de manera leve la parte foliar de aproximadamente un 42% de las plantas (2-4), además se observó un 2 y 12% de plantas afectadas entre los estados 5-7, considerada como fitotoxicidad moderada. Estos herbicidas no provocaron fitotoxicidad severa ni muerte en las plantas tratadas.

De los herbicidas evaluados los que alcanzaron mayor efecto fitotóxico sobre el follaje de las plantas de trébol rosado, fueron MCPA y bentazon. Estos herbicidas no provocaron daño a un 17 y 42% de las plantas, respectivamente; afectaron levemente a un 57 y 28% de las plantas, respectivamente (2-4). Además, afectaron severamente a un 10% de las plantas (8-9), incluso causaron la muerte de aproximadamente un 3 y 7% de las plantas tratadas, respectivamente.

En el cuadro 5 se presenta el grado de fitotoxicidad promedio de cada dosis (media de herbicidas y tiempos de evaluación) en el follaje de las plantas de trébol rosado.

Cuadro 5. Efecto de las dosis de herbicidas, sobre el follaje de las plantas de trébol rosado según escala de fitotoxicidad de la A.L.A.M, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento. (media de herbicidas y tiempos de evaluación).

Escala de fitotoxicidad	Nivel	Dosis de herbicida (% dosis recomendada)		
		50 %	100 %	200 %
0	Sin daño	36,9	27,3	18,3
1	Sin daño	42,0	26,2	13,7
2	Leve	15,3	21,3	17,6
3	Leve	4,2	15,0	14,4
4	Leve	1,6	4,2	6,7
5	Moderado		1,6	7,2
6	Moderado		1,4	4,2
7	Moderado		0,2	5,1
8	Severo		0,9	6,0
9	Severo		0,9	2,5
10	Planta muerta		0,9	4,4

P<0.000005. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Los datos indican que, los herbicidas en la mitad de la dosis recomendada, no causaron daño a un 79% de las plantas. Por otra parte, el 21% de las plantas afectadas, sólo alcanzaron un nivel leve de fitotoxicidad en todos los tiempos medidos.

En la dosis de 100% o recomendada no hubo daño en un 53% de las plantas tratadas. Del 47% de plantas afectadas, un 41% correspondió a daño leve, un 2% a daño moderado (5-7), y un 2% a daño severo (8-9). Esta dosis provocó la muerte a un 1% de las plantas evaluadas.

La dosis equivalente al 200% de la recomendada, fue la que provocó un mayor efecto fitotóxico en las plantas. Esta dosis no provocó daño a un 32% de las plantas, causó daño leve a un 39% de las plantas, daño moderado a un 17% de las plantas, daño severo a un 9% de las plantas y muerte a un 4% de las plantas.

En el cuadro 6 se presenta el grado de fitotoxicidad promedio en cada tiempo de evaluación (media de herbicidas y dosis) en el follaje de las plantas de trébol rosado.

Cuadro 6. Fitotoxicidad en cada tiempo post aplicación de herbicidas, sobre el follaje de las plantas de trébol rosado según escala de fitotoxicidad de la A.L.A.M, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento. (media de herbicidas y dosis).

Escala de fitotoxicidad	Nivel	Tiempo (Días post aplicación)		
		10	20	30
0	Sin daño	39,8	20,0	22,7
1	Sin daño	21,1	26,9	33,8
2	Leve	16,2	23,4	14,6
3	Leve	11,8	10,0	11,8
4	Leve	3,2	2,3	6,9
5	Moderado	0,2	6,7	1,9
6	Moderado	0,9	3,5	1,2
7	Moderado	2,3	2,6	0,5
8	Severo	2,3	2,3	2,3
9	Severo	2,1		1,4
10	Planta muerta		2,3	3,0

$P < 0.000004$. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Este cuadro nos indica que las plantas de trébol rosado tratadas con los herbicidas presentaron síntomas de fitotoxicidad en el follaje en todos los tiempos de evaluación, aunque fueron variables a través del tiempo. A los 10 días post aplicación, los herbicidas no provocaron daño a un 61% de las plantas (0-1), causaron daño leve (2-4) a un 31% de las plantas, daño moderado (5-7) a un 3% de las plantas y daño severo a un 4% de las plantas. En la evaluación de los 20 días post aplicación, el porcentaje de plantas sin daño se redujo a un 50% del total de plantas, el porcentaje de plantas afectadas levemente (2-4) aumentó a un 36%, y además se incrementó notoriamente el porcentaje de plantas afectadas en forma moderada, el que alcanzó un 13% de plantas. Las plantas afectadas severamente disminuyeron a un 2%, y el porcentaje de plantas muertas correspondió a un 2% del total de plantas. A los 30 días post aplicación se observó un aumento de las plantas sin daño alcanzando a un 57% de las plantas, una disminución de las plantas con daño leve (2-4) y moderado (5-7) a un 33 y 3%, respectivamente, y un aumento de las plantas muertas (10) y con fitotoxicidad severa (8-9) a un 3 y 4% respectivamente.

4.1.2 Efecto en el diámetro de la corona de las plantas. El efecto de los herbicidas en las dosis aplicadas en los tiempos medidos, en el diámetro de corona de las plantas de trébol rosado se muestra en los cuadros 7, 8 y 9.

Cuadro 7. Efecto de los herbicidas en dosis de 50%, sobre del diámetro de corona promedio de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Diámetro corona (mm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	0,96 b	0,83 b	0,95 ab
MCPA	375	0,95 b	1,01 a	1,08 a
2,4DB	193,75	1,25 a	0,91 b	1,11 a
Flumetsulam	19,5	1,00 b	0,83 b	0,99 ab
Bentazon	600	1,08 ab	1,02 a	0,88 b
Haloxifop metil	15,5	0,98 b	0,99 ab	1,00 ab

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para la dosis de 50%, hubo diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo en todos los tiempos medidos. A los 10 días post aplicación, el diámetro de la corona de las plantas tratadas con 2,4-DB difirieron estadísticamente del testigo; a los 20 días post aplicación, MCPA y bentazon también presentaron diferencias significativas con el testigo, mientras que en la evaluación de los 30 días post aplicación los diámetros de corona de las plantas tratadas con herbicidas no tuvieron diferencias significativas con el testigo, aun cuando con MCPA y 2,4-DB hubo tendencia a aumentar el diámetro de corona.

Cuadro 8. Efecto de los herbicidas en dosis de 100%, sobre del diámetro de corona promedio de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Diámetro corona (mm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	1,00 b	1,05 abc	0,90 c
MCPA	750	1,10 ab	1,20 a	1,28 a
2,4-DB	387,5	1,22 a	0,87 bcd	0,96 bc
Flumetsulam	39	0,95 bc	0,69 d	0,95 bc
Bentazon	1200	0,95 bc	0,81 cd	1,13 ab
Haloxifop metil	31	0,83 c	1,07 ab	0,94 bc

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

A los 10 días post aplicación, el herbicida 2,4-DB aumentó significativamente el diámetro de corona promedio de las plantas evaluadas, en cambio las plantas tratadas con haloxifop metil redujeron significativamente este parámetro. Flumetsulam disminuyó significativamente el diámetro de corona a los 20 días post aplicación. MCPA y bentazon aumentaron significativamente el diámetro de corona de las plantas evaluadas a los 30 días post aplicación.

Cuadro 9. Efecto de los herbicidas en dosis de 200%, sobre del diámetro de corona promedio de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Diámetro corona (mm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	0,97 abc	0,93 bc	0,93 a
MCPA	1500	1,08 a	1,20 a	0,90 a
2,4DB	775	1,02 ab	1,10 ab	0,84 a
Flumetsulam	78	0,86 cd	0,89 bc	0,89 a
Bentazon	2400	0,92 bcd	0,85 c	0,83 a
Haloxifop metil	62	0,84 d	0,87 c	0,94 a

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Al igual que en las evaluaciones anteriores hubo diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo, destacando nuevamente la acción del herbicida MCPA, el que aumentó significativamente los diámetros de corona de las plantas evaluadas a los 20 días post aplicación. 2,4-DB también tendió a aumentar el diámetro de corona a esta dosis aunque no presentó diferencias significativas con el testigo en los tiempos medidos. Para este parámetro y en esta dosis, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil tendieron a disminuir el diámetro de corona de las plantas de trébol rosado, aunque sólo este último tuvo diferencias significativas con el testigo a los 10 días post aplicación.

4.1.3 Efecto en la altura de las plantas. El efecto de los herbicidas en las dosis aplicadas en los tiempos evaluados, en la altura de las plantas se muestra en los cuadros 10, 11 y 12.

Cuadro 10. Efecto de los herbicidas en dosis de 50%, sobre la altura promedio de las plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Altura de planta (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	3,98 a	3,52 a	3,73 a
MCPA	375	2,90 b	3,00 bc	2,57 c
2,4-DB	193,75	2,68 bc	3,21 ab	2,74 bc
Flumetsulam	19,5	2,73 bc	2,67 c	3,42 ab
Bentazon	600	3,04 b	3,27 ab	3,28 ab
Haloxifop metil	15,5	2,18 c	2,57 c	3,01 bc

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

En la dosis de 50%, hubo diferencias significativas para el parámetro altura de plantas. A los 10, 20 y 30 días post aplicación destacó el efecto provocado por los herbicidas MCPA y haloxifop metil, los cuales disminuyeron significativamente el tamaño de las plantas. 2,4-DB disminuyó la altura de las plantas a los 10 y 30 días post aplicación del herbicida. Por otra parte flumetsulam disminuyó significativamente la altura de plantas a los 10 y 20 días post aplicación, mientras que bentazon sólo a los 10 días.

Cuadro 11. Efecto de los herbicidas en dosis de 100%, sobre la altura promedio de las plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Altura de planta (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	3,48 a	3,39 a	3,92 a
MCPA	750	2,89 ab	2,74 bc	2,69 b
2,4-DB	387,5	2,68 b	3,05 ab	2,94 b
Flumetsulam	39	2,60 b	2,52 bc	3,21 ab
Bentazon	1200	2,59 b	3,10 ab	3,95 a
Haloxifop metil	31	2,94 ab	2,39 c	3,23 ab

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis de 100%, se observaron diferencias significativas para el parámetro altura de planta. A los 10 días post aplicación, 2,4-DB, flumetsulam y bentazon redujeron significativamente la altura de las plantas. A los 20 días post aplicación, este mismo efecto se observó con MCPA, flumetsulam y haloxifop metil, mientras que, a los 30 días post aplicación sólo con MCPA y 2,4-DB.

Cuadro 12. Efecto de los herbicidas en dosis de 200%, sobre la altura promedio de las plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Altura de planta (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	3,46 a	3,38 a	3,65 a
MCPA	1500	2,80 b	2,99 a	2,67 b
2,4-DB	775	2,82 b	2,99 a	2,98 b
Flumetsulam	78	2,58 b	2,84 a	3,14 ab
Bentazon	2400	2,49 b	2,96 a	2,75 b
Haloxifop metil	62	2,79 b	2,83 a	3,22 ab

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis de 200%, se observaron diferencias significativas para el parámetro altura de planta a los 10 y 30 días post aplicación. A los 10 días, todos los herbicidas disminuyeron la altura de las plantas. A los 20 días, aunque no existieron diferencias significativas con el testigo, todos los herbicidas tendieron a disminuir la altura de las plantas. A los 30 días post aplicación, MCPA, 2,4-DB y bentazon disminuyeron significativamente este parámetro.

4.1.4 Efecto en el peso seco del follaje de las plantas. El efecto de los herbicidas, sobre el peso seco de follaje de las plantas de trébol rosado se muestra en los cuadros 13,14 y 15.

Cuadro 13. Efecto de los herbicidas en dosis de 50%, sobre el peso seco promedio del follaje de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco follaje (mg / planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	9,73 a	9,49 a	8,19 ab
MCPA	375	7,58 ab	7,31 a	5,79 c
2,4-DB	193,75	7,98 ab	7,86 a	5,37 c
Flumetsulam	19,5	6,74 b	7,98 a	9,68 a
Bentazon	600	6,69 b	8,18 a	8,38 ab
Haloxifop metil	15,5	7,29 ab	7,44 a	8,07 ab

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis de 50%, hubo diferencias significativas con el testigo a los 10 y 30 días post aplicación. A los 20 días no hubieron diferencias significativas con el testigo, aunque hubo tendencia a disminuir el peso seco del follaje con todos los herbicidas. A los 30 días, MCPA y 2,4-DB disminuyeron significativamente el peso seco del follaje de las plantas, mientras que a los 10 días este efecto solo se observó con flumetsulam y bentazon. Haloxifop metil tuvo un comportamiento similar al testigo, no existiendo diferencias significativas en ninguno de los tiempos medidos.

Cuadro 14. Efecto de los herbicidas en dosis de 100%, sobre el peso seco promedio del follaje de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco (mg/planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	8,95 a	9,18 a	9,23 a
MCPA	750	6,74 b	7,47 a	6,04 c
2,4-DB	387,5	5,74 c	7,36 a	6,36 bc
Flumetsulam	39	7,25 ab	6,87 a	8,50 ab
Bentazon	1200	5,25 c	6,45 a	7,47 abc
Haloxifop metil	31	7,28 ab	6,75 a	7,62 abc

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis de 100%, hubo diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo, a los 10 y 30 días post aplicación. A los 10 días, MCPA, 2,4-DB y bentazon difirieron estadísticamente con el testigo. A los 20 días, no existieron diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo, aún cuando con todos los herbicidas existió tendencia a disminuir el peso seco de follaje. A los 30 días, MCPA y 2,4-DB, redujeron significativamente el peso seco de las plantas.

Cuadro 15. Efecto de los herbicidas en dosis de 200%, sobre el peso seco promedio del follaje de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco (mg/planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	9,40 a	8,76 a	7,35 a
MCPA	1500	6,05 b	7,09 ab	5,50 ab
2,4 DB	775	6,95 b	7,24 ab	5,83 ab
Flumetsulam	78	6,85 b	7,08 ab	7,31 a
Bentazon	2400	5,38 b	5,32 b	4,86 b
Haloxifop metil	62	7,34 ab	7,47 ab	7,68 a

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis de 200% hubo diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo en todos los tiempos medidos. A los 10 días post aplicación, MCPA, 2,4-DB, flumetsulam y bentazon disminuyeron significativamente el peso seco promedio de las plantas evaluadas. A los 20 días post aplicación sólo bentazon redujo significativamente el peso seco promedio de las plantas evaluadas, mientras que a los 30 días post aplicación, sólo bentazon.

Los resultados obtenidos en la evaluación de fitotoxicidad de los herbicidas en el follaje indican que, bajo condiciones de invernadero y con plantas al estado de dos a tres hojas trifoliadas los herbicidas en las dosis evaluadas provocaron fitotoxicidad al follaje de las plantas de trébol rosado.

Los niveles de fitotoxicidad alcanzados por los herbicidas fueron de distinta magnitud; haloxifop metil solo provocó fitotoxicidad leve al follaje de un bajo porcentaje de plantas, aun cuando fue asperjado con el doble de la dosis recomendada, este efecto era esperable ya que este herbicida es recomendado para el control de especies gramíneas. En general, las plantas de trébol rosado fueron susceptibles a los herbicidas recomendados para el control de malezas dicotiledoneas, si bien es cierto los herbicidas 2,4-DB y flumetsulam, provocaron fitotoxicidad en el follaje de las plantas, esta no fue considerable, ya que estos herbicidas solo provocaron fitotoxicidad moderada a un bajo porcentaje de plantas. De todos los herbicidas evaluados, los mas fitotóxicos sobre el follaje de las plantas fueron MCPA y bentazon en la dosis recomendada y con el doble de las dosis recomendada. Los síntomas de fitotoxicidad observados en las plantas fueron distintos entre los grupos de herbicidas, para los herbicidas hormonales los síntomas más característicos fueron clorosis y epinastia, en el caso de bentazon los síntomas fueron clorosis y posterior necrosis de los tejidos afectados. Estos síntomas concuerdan con los reportados en la literatura por Hess (1986) para plantas susceptibles. Considerando el factor tiempo, los síntomas fueron observados en las plantas desde el comienzo de las evaluaciones, siendo más notorio su efecto a los 20 días post aplicación, en esta fecha de medición se observaron los mayores porcentajes de plantas afectadas con un 53% de plantas con distintos niveles de fitotoxicidad. En la última evaluación se puede apreciar una disminución de un 10% en la cantidad de plantas dañadas, lo que nos sugiere que las plantas que fueron afectadas moderadamente se recuperaron; además se observó un aumento de un 1% en las plantas muertas, porcentaje de plantas posiblemente representado por las plantas con daño severo en el tiempo anterior. Si bien es cierto, este estudio fue desarrollado bajo condiciones de invernadero, los resultados concuerdan en alguna medida con los obtenidos por Díaz *et al.* (1992), quienes en evaluaciones realizados en condiciones de campo en la IX región observaron que MCPA y 2,4-DB provocaron fitotoxicidad a plantas de trébol rosado al poco tiempo de aplicación de estos herbicidas. Otros autores como Griffin *et al.* (1984), determinaron que plantas de trébol rosado en estado de cuatro a cinco hojas trifoliadas son afectadas en un 60% con la aplicación del herbicida 2,4-D en dosis de $1,12 \text{ kg ha}^{-1}$, aun cuando este herbicida no fue estudiado en este trabajo, pertenece a la familia de los herbicidas hormonales, por lo que sus efectos probablemente son semejantes a los presentados por los herbicidas hormonales estudiados.

Los síntomas provocados en el follaje de las plantas por los herbicidas hormonales MCPA y 2,4-DB coinciden con algunos síntomas descritos por Hess (1986), el que señala como síntomas en las plantas no tolerantes un crecimiento longitudinal desigual de tallos y hojas (epinastia), provocado por un acelerado crecimiento celular.

Los resultados obtenidos en la evaluación del diámetro de corona de las plantas de trébol rosado indicaron que los herbicidas evaluados tuvieron efectos sobre este parámetro. Los herbicidas flumetsulam, bentazon y haloxyfop metil en todas las dosis aplicadas no mostraron efectos claros durante el ensayo; sin embargo, al comienzo del ensayo 2,4-DB aumentó el diámetro de corona con la dosis menor y con la dosis recomendada, MCPA aumentó el diámetro de corona a partir de los 20 días post aplicación, con la mitad y el doble de la dosis recomendada, en tanto que al final del ensayo este herbicida afectó a las plantas con la dosis recomendada. Estos resultados indican que uno de los efectos de los herbicidas hormonales aplicados en plantas de trébol rosado en estado de 2-3 hojas trifoliadas, es aumentar el diámetro de la corona, estos resultados coinciden con la literatura ya que esta indica que uno de los síntomas provocados por este tipo de herbicidas corresponde al crecimiento acelerado de algunos grupos de células (Hess, 1986).

La evaluación del efecto provocado por los herbicidas sobre la altura de las plantas reflejó que todos los herbicidas afectaron este parámetro. La acción de los herbicidas flumetsulam, bentazon y haloxyfop metil fue más notoria en la primera evaluación, mientras que el efecto provocado en este parámetro por los herbicidas MCPA y 2,4-DB fue claramente observado en todas sus dosis al final del estudio. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Evers *et al.* (1993), quienes observaron que en condiciones de invernadero los herbicidas 2,4-DB y bentazon aplicados durante el estado de cuatro a cinco hojas trifoliadas, redujeron el crecimiento del trébol rosado.

Los resultados obtenidos en la evaluación del peso seco de follaje, reflejaron que las plantas tratadas con los herbicidas flumetsulam y bentazon algo afecta este parámetro al inicio del ensayo con la mitad de la dosis recomendada. Los herbicidas MCPA, 2,4-DB disminuyeron el peso seco de las plantas evaluadas al final del ensayo en todas las dosis aplicadas, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Díaz *et al.* (1992), en el sentido que estos herbicidas redujeron la producción de materia seca de esta forrajera con dosis mayores a la de 100% de ingrediente activo recomendado.

Como se mencionó con anterioridad, los herbicidas evaluados correspondieron a herbicidas de distinto modo de acción, la fitotoxicidad provocada por los herbicidas hormonales fue claramente mayor que los otros herbicidas, este efecto sugiere que el trébol rosado en estado de dos a tres hojas trifoliadas es susceptible a aplicaciones de este grupo de herbicidas, la menor fitotoxicidad en el follaje del trébol rosado alcanzada por 2,4-DB en comparación a MCPA puede estar relacionada con la metabolización de este compuesto en la planta. Según Puricelli y Leguizamón (2003), el herbicida 2,4-DB no es fitotóxico en sí mismo, sino debido a la formación del metabolito 2,4-D mediante una reacción de beta-oxidación. La selectividad de este herbicida radica en que algunas especies son capaces de efectuar la beta-oxidación y otras no, o lo hacen a niveles muy reducidos.

4.2 Efecto de los herbicidas en el sistema radical de las plantas de trébol rosado.

El efecto de los herbicidas utilizados, en los tiempos evaluados sobre la raíz de las plantas de trébol rosado esta determinado por evaluaciones cualitativas y cuantitativas de la fitotoxicidad provocada por los herbicidas.

4.2.1 Fitotoxicidad en la raíz de las plantas. En esta evaluación las plantas fueron observadas bajo lupa con aumentos 10 y 30x, el daño fue observado en la raíz principal, sector inmediatamente bajo la corona de la planta hasta el comienzo de las raíces secundarias. A los resultados obtenidos les fue aplicada la escala de daño en raíces anteriormente descrita (Cuadro 3), la cual expresó según el estado en que se encontraban las raíces de las plantas evaluadas (sana, dañada o necrótica). Los resultados de estas evaluaciones fueron analizados con la prueba de estadística no paramétrica Chi-cuadrado.

El efecto de los herbicidas (media de dosis y tiempos de evaluación), sobre las raíces de las plantas de trébol rosado están indicados en los cuadros 16, 17 y 18.

Cuadro 16. Fitotoxicidad de los herbicidas (media de dosis y tiempos de evaluación), sobre la raíz principal de plantas de trébol rosado según escala de daño en raíces, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento.

Condición	Testigo	MCPA	2,4-DB	Flumetsulam	Bentazon	Haloxifop metil
Sana	100	49,1	80,6	68,5	77,8	77,8
Dañada		46,3	19,4	30,6	21,3	22,2
Necrótica		4,6		0,9	0,9	

P<0.000003. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Todos los herbicidas evaluados provocaron fitotoxicidad a la raíz principal de las plantas de trébol rosado, aunque distinta según el herbicida utilizado. Destacó el efecto provocado por MCPA, el cual dañó a un 46% de las raíces principales de las plantas evaluadas; flumetsulam causó daño a la raíz de un 31% de las plantas tratadas, mientras que los herbicidas 2,4-DB, bentazon y haloxifop metil a un 19, 21 y 22% de las raíces de las plantas evaluadas, respectivamente.

Cuadro 17. Fitotoxicidad producida por las dosis herbicidas (media de herbicidas y tiempos de evaluación), sobre la raíz principal de plantas de trébol rosado, según escala de daño en raíces, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento.

Condición	Dosis de herbicida (% dosis recomendada)			
	0	50 %	100 %	200 %
Sana	100	82,2	67,2	62,8
Dañada		17,8	32,2	33,9
Necrótica			0,6	3,3

$P < 0.000004$. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Las dosis de herbicidas presentaron diferencias para el parámetro de daño en raíz principal. La dosis de los herbicidas equivalente al 50% de la recomendada, dañó al 18% de las raíces principales de las plantas evaluadas, mientras que las dosis de 100 y 200%, causaron daño al 32 y 34% de las raíces principales. Esto indica que, los daños en la raíz principal fueron mayores al incrementar la dosis de los herbicidas.

Cuadro 18. Efecto del tiempo post aplicación de herbicidas (media de herbicidas y dosis), sobre la raíz principal de plantas de trébol rosado, según escala de daño en raíces, expresado en porcentaje del total de plantas para cada tratamiento.

Condición	Tiempo (Días post aplicación)		
	10	20	30
Sana	76,4	68,0	77,8
Dañada	23,6	30,6	20,4
Necrótica		1,4	1,8

$P < 0.000007$. Según prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Según los datos obtenidos a los 10 días post aplicación, un 24% de las raíces principales evaluadas presentaron daño, aumentando a los 20 días post aplicación a un 32% de raíces dañadas, el día 30 post aplicación el porcentaje de raíces dañadas disminuyó a un 22%.

Las figuras que se presentan a continuación corresponden a los efectos fitotóxicos provocados por los herbicidas en la dosis de herbicida recomendado.



A

Figura 1. Fotografía digital, bajo lupa de tres raíces principales del testigo.

A: 10 días con aumento 1 x 10.

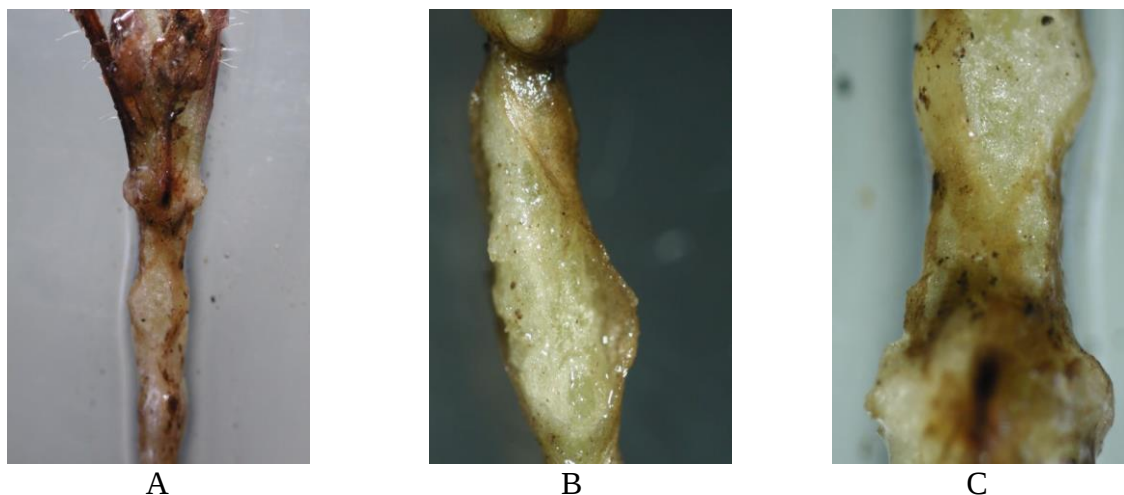


Figura 2. Fotografía digital, bajo lupa de raíces principales tratadas con MCPA en dosis de 750 g ha⁻¹ de ingrediente activo. A: 10 días con aumento 1 x 10, B: 20 días con aumento 1 x 10, C: 30 días con aumento 1 x 30.



Figura 3. Fotografía digital bajo lupa, de raíces principales tratadas con 2,4-DB en dosis de 388 g ha⁻¹ de ingrediente activo. A: 10 días con aumento 1 x 10, B: 20 días con aumento 1 x 10, C: 30 días con aumento 1 x 10.

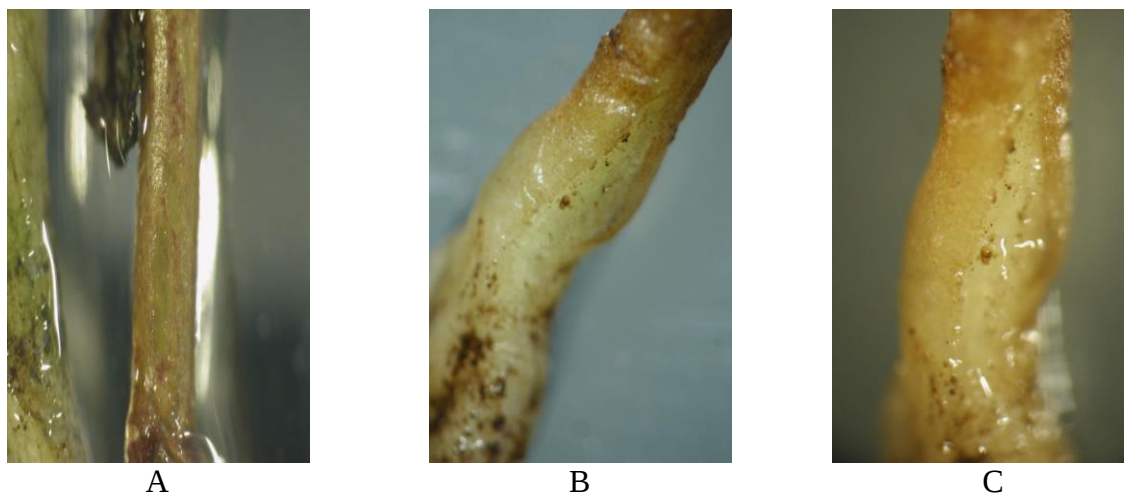


Figura 4. Fotografía digital bajo lupa, de raíces principales tratadas con flumetsulam en dosis de 39 g ha^{-1} de ingrediente activo. A:10 días con aumento 1 x 10, B: 20 días con aumento 1 x 30, C: 30 días con aumento 1 x 30.

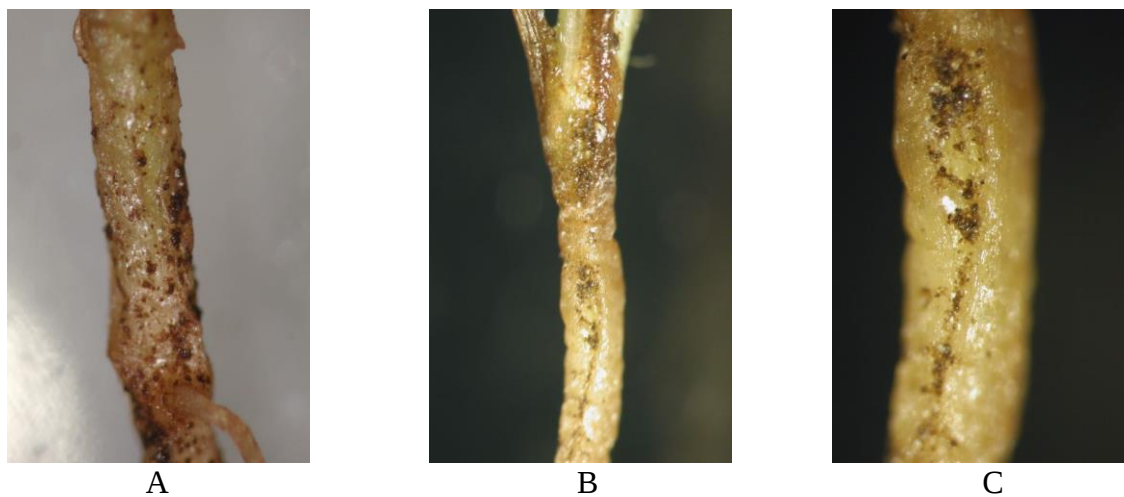


Figura 5. Fotografía digital bajo lupa, de raíces principales tratadas con bentazon en dosis de 1.200 g ha^{-1} de ingrediente activo. A:10 días con aumento 1 x 10, B: 20 días con aumento 1 x 10, C: 30 días con aumento 1 x 30.

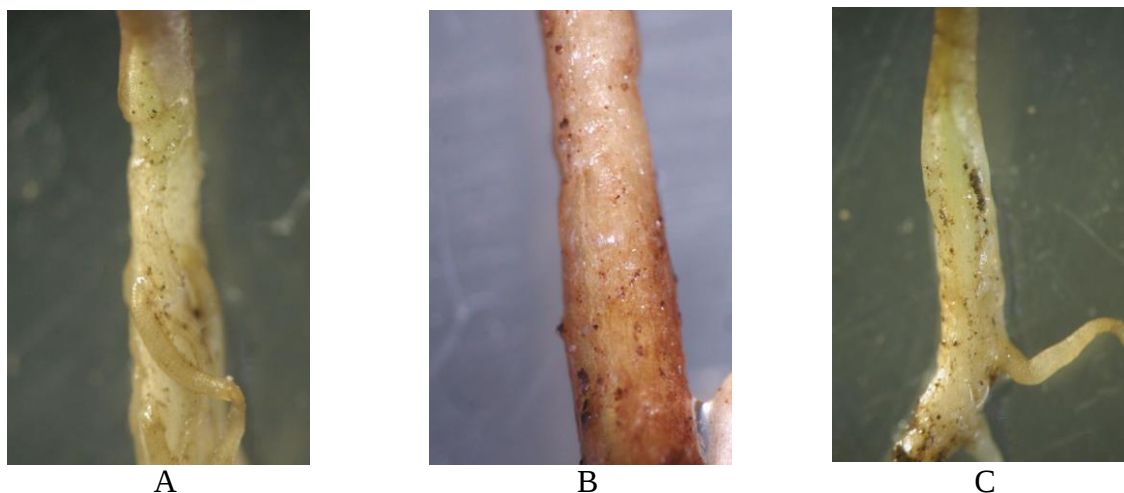


Figura 6. Fotografía digital bajo lupa, de raíces principales tratadas con haloxifop metil en dosis de 31 g ha⁻¹ de ingrediente activo. A:10 días con aumento 1 x 10, B: 20 días con aumento 1 x 10, C: 30 días con aumento 1 x 10.

En general todos los herbicidas evaluados causaron algún porcentaje de daño a la raíz principal de las plantas evaluadas, incluso haloxifop metil, herbicida recomendado para el control de especies gramíneas. Como se puede apreciar en las figuras presentadas anteriormente, el tipo de daño observado fue distinto para los herbicidas evaluados, las plantas tratadas con los herbicidas hormonales MCPA y 2,4-DB, mostraron raíces principales engrosadas con fisuras longitudinales de variados tamaños, además de estos síntomas en algunas plantas se estimuló el crecimiento de raíces secundarias. Las plantas tratadas con los herbicidas flumetsulam y haloxifop metil no mostraron este engrosamiento en la raíz pero sí, fisuras longitudinales. Las plantas tratadas con bentazon presentaron estriamientos perpendiculares a la raíz principal.

4.2.2 Efecto en el largo de la raíz de las plantas. El efecto de los herbicidas en las dosis aplicadas y en los tiempos medidos, sobre el largo de la raíz principal de las plantas de trébol rosado se muestra en los cuadros 19, 20 y 21.

Cuadro 19. Efecto de los herbicidas en dosis de 50%, sobre el largo de la raíz principal de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Largo de raíz principal (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	15,45 a	14,84 a	14,89 a
MCPA	375	12,38 b	13,17 a	11,04 c
2,4-DB	193,75	13,94 ab	13,90 a	11,25 bc
Flumetsulam	19,5	14,10 ab	13,11 a	14,58 ab
Bentazon	600	12,08 b	13,24 a	14,18 abc
Haloxifop metil	15,5	13,95 ab	12,72 a	13,83 abc

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

MCPA en esta dosis disminuyó significativamente el largo de la raíz principal a los 10 y 30 días post aplicación, 2,4-DB tendió a disminuir el largo de la raíz principal en todos los tiempos medidos, siendo significativa su reducción el día 30 post aplicación. Flumetsulam tuvo un comportamiento similar al testigo en los tiempos medidos. Bentazon inicialmente redujo el largo de raíz principal, pero a los 20 y 30 días tuvo un comportamiento similar al testigo. Haloxifop metil tuvo un comportamiento similar al testigo en los tres tiempos evaluados.

Cuadro 20. Efecto de los herbicidas en dosis de 100%, sobre el largo de la raíz principal de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Largo de raíz principal (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	12,96 a	13,11 a	12,64 ab
MCPA	750	12,85 a	13,70 a	11,59 b
2,4-DB	387,5	14,15 a	12,50 a	12,80 ab
Flumetsulam	39	11,87 a	11,74 a	14,31 a
Bentazon	1200	11,90 a	12,65 a	12,01 ab
Haloxifop metil	31	13,73 a	13,12 a	13,43 ab

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En la dosis recomendada no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los herbicidas y el testigo en los diferentes tiempos de evaluación.

Cuadro 21. Efecto de los herbicidas en dosis de 200%, sobre el largo de la raíz principal de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Largo de raíz principal (cm)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	15,13 a	11,93 ab	14,98 a
MCPA	1500	12,86 ab	12,96 ab	11,55 bc
2,4-DB	775	12,92 ab	11,10 b	9,83 c
Flumetsulam	78	12,65 ab	12,66 ab	13,97 ab
Bentazon	2400	14,13 ab	11,42 b	10,14 c
Haloxifop metil	62	11,97 b	14,45 a	13,03 bc

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

En la dosis de 200%, se observaron diferencias en todos los tiempos evaluados. A los 10 días, sólo haloxifop metil tuvo diferencias significativas con el testigo. A los 20 días, no existieron diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo, mientras que a los 30 días, los herbicidas MCPA, 2,4-DB, bentazon y haloxifop metil disminuyeron significativamente el largo de raíz principal.

4.2.3 Efecto en el peso seco de las raíces de las plantas. El efecto de los herbicidas en las dosis aplicadas, sobre el peso seco de raíces de las plantas de trébol rosado se muestra en los cuadros 22, 23 y 24.

Cuadro 22. Efecto de los herbicidas en dosis de 50%, sobre el peso seco de raíces de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco (mg/planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	8,73 a	8,76 a	8,30 ab
MCPA	375	7,50 a	6,02 a	5,62 b
2,4-DB	193,75	6,67 a	6,55 a	5,16 b
Flumetsulam	19,5	7,98 a	7,69 a	8,85 ab
Bentazon	600	5,73 a	7,50 a	8,23 ab
Haloxifop metil	15,5	7,00 a	6,00 a	9,55 a

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

A los 10 y 20 días post aplicación en la dosis de 50%, no existieron diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo. Sin embargo a los 30 días, los herbicidas MCPA y 2,4-DB redujeron significativamente el peso seco de las raíces.

Cuadro 23. Efecto de los herbicidas en dosis de 100%, sobre el peso seco de raíces de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco (mg/planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	10,25 a	8,23 a	8,95 a
MCPA	750	8,53 a	5,09 b	7,09 a
2,4-DB	387,5	7,49 a	6,55 ab	6,27 a
Flumetsulam	39	6,98 a	6,70 ab	8,23 a
Bentazon	1200	4,95 a	5,06 b	8,77 a
Haloxifop metil	31	6,58 a	5,69 ab	6,67 a

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

A los 10 y 30 días post aplicación en dosis de 100%, no existieron diferencias significativas entre los herbicidas y el testigo. Sin embargo, hubo tendencia a alcanzar un menor peso seco de las raíces con todo los herbicidas. A los 20 días, MCPA y bentazon redujeron significativamente el peso seco de las raíces.

Cuadro 24. Efecto de los herbicidas en dosis de 200%, sobre el peso seco de raíces de plantas de trébol rosado.

Herbicida	Dosis (g ha ⁻¹)	Peso seco (mg/planta)		
		10 días	20 días	30 días
Testigo	-	9,56 a	8,89 a	8,36 a
MCPA	1500	7,06 a	5,74 bc	5,67 a
2,4-DB	775	7,65 a	5,91 bc	5,48 a
Flumetsulam	78	9,25 a	6,62 ab	7,20 a
Bentazon	2400	6,29 a	4,98 c	6,31 a
Haloxifop metil	62	7,22 a	6,49 ab	7,80 a

Letras diferentes verticalmente, indican diferencias según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

A los 10 y 30 días post aplicación en dosis de 200%, no existieron diferencias estadísticamente significativas con el testigo, aunque con la mayoría de los herbicidas hubo tendencia a reducir el peso seco de las raíces de las plantas de trébol rosado. A los 20 días post aplicación, 2,4-DB, MCPA y bentazon redujeron significativamente el peso seco de las raíces de las plantas evaluadas.

El análisis de los resultados obtenidos en la evaluación de fitotoxicidad en raíces de plantas de trébol rosado, indican que todos los herbicidas estudiados provocaron fitotoxicidad a las raíces de las plantas de trébol rosado, los herbicidas que dañaron a un menor porcentaje de plantas fueron 2,4-DB, bentazon y haloxifop metil con porcentajes de daño de un 20% aproximadamente, es importante hacer notar que haloxifop metil es un herbicida recomendado para el control de especies gramíneas y bentazon es un herbicida de contacto, sin acción sistémica. En contraste con lo anterior flumetsulam y MCPA fueron los herbicidas que provocaron la mayor fitotoxicidad sobre las raíces de las plantas evaluadas, con porcentajes de daño de un 31 y 46% respectivamente.

La evaluación de las dosis utilizadas indica que estos daños aparecieron con más frecuencia en las plantas evaluadas a medida que las dosis fueron mayores y el efecto del tiempo post aplicación indicó que los herbicidas presentaron su mayor efecto sobre las raíces a los 20 días post aplicación de los herbicidas.

El tipo de daño observado fue distinto para los herbicidas evaluados, las plantas tratadas con los herbicidas hormonales MCPA y 2,4-DB, mostraron raíces principales engrosadas con fisuras longitudinales de variados tamaños, los síntomas observados en las plantas tratadas con estos herbicidas concuerdan con los descritos por Hess (1986), para plantas susceptibles. Los síntomas fueron observados en las plantas desde el comienzo de las evaluaciones, siendo más notorio su efecto a los 20 días post aplicación, en esta fecha de medición se observaron los mayores porcentajes de raíces afectadas con un 31% de plantas afectadas con distintos niveles de fitotoxicidad. Las plantas tratadas con los herbicidas flumetsulam y haloxifop metil no mostraron engrosamiento en la raíz pero sí, fisuras longitudinales. Las plantas tratadas con bentazon presentaron estriamientos perpendiculares a la raíz principal.

El análisis del parámetro largo de raíz principal indica que bajo estas condiciones y en este estado de desarrollo del trébol rosado, los herbicidas afectan el crecimiento de la raíz principal, especialmente los herbicidas MCPA y 2,4-DB con la mitad de la dosis recomendada al inicio y al final del ensayo, no se observaron resultados concluyentes para los herbicidas flumetsulam, bentazon y haloxifop metil, aun cuando estos afectaron el crecimiento de la raíz principal de las plantas de trébol al final del ensayo, con el doble de la dosis recomendada.

Los resultados obtenidos en la evaluación del peso seco de las raíces de plantas de trébol rosado indican que los herbicidas estudiados redujeron el peso de las raíces de las plantas de trébol; al comienzo del ensayo y en todas las dosis evaluadas no se observaron diferencias con respecto al testigo con ninguno de los herbicidas estudiados. Los herbicidas MCPA, 2,4-DB y bentazon fueron los que provocaron mayor reducción del peso seco de las raíces de las plantas de

trébol rosado, este efecto fue observado con mayor claridad en las plantas tratadas con el doble de la dosis recomendada a los 20 días post aplicación.

Los tratamientos herbicidas evaluados bajo estas condiciones resultaron ser fitotóxicos para las plantas de trébol rosado, el herbicida que provocó mayor fitotoxicidad fue MCPA, herbicida que además de provocar daño en el follaje de esta planta, afectó de manera importante los tejidos de la raíz, daños que posiblemente puedan predisponer a esta forrajera a ser colonizada por hongos fitopatógenos. Según Dissanayake *et al.* (1998), en el rol primario de reducir la competencia con malezas, los herbicidas pueden tener otros efectos, directos e indirectos en el crecimiento de las plantas del cultivo y los microorganismos presentes en el suelo. Algunos herbicidas pueden causar daño directo a las plantas del cultivo, afectando los mecanismos de defensa a enfermedades y predisponiendo, a estas plantas a las enfermedades de la raíz. Según Katan y Eshel (1973), la incidencia y severidad de las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos está determinada por el efecto de los herbicidas sobre el crecimiento de las poblaciones de hongos, así como también de la susceptibilidad inducida por los herbicidas en el hospedero. Altman y Rovira (1989), indican que los herbicidas producen cambios en la fisiología y desarrollo de las plantas del cultivo, que podrían resultar en considerables alteraciones en la susceptibilidad a enfermedades. Estos cambios incluyen reducción en la formación de cera en las hojas, cambios en el metabolismo de carbohidratos, nitrógeno, glucósidos y alteraciones en el crecimiento de la planta, favoreciendo el ataque de patógenos (Altman y Campbell, 1977).

5. CONCLUSIONES

Plantas de trébol rosado creciendo en condiciones de invernadero y tratadas con herbicidas al estado de 2-3 hojas trifoliadas, mostraron síntomas de fitotoxicidad en el follaje y raíces por efecto de todos los herbicidas evaluados. La severidad de estos síntomas en el follaje fue distinta según el herbicida, observándose un mayor daño con los herbicidas MCPA y bentazon, en las dosis equivalentes al 100 y 200% de la recomendada.

Tanto MCPA como 2,4-DB, provocaron: el mayor aumento en el diámetro de corona, como la mayor reducción en la altura de plantas y la mayor disminución del peso seco del follaje.

En las raíces estos síntomas fueron: fisuras de diversos tamaños y profundidad.

Los herbicidas que dañaron a un mayor porcentaje de raíces fueron MCPA y flumetsulam, en todas las dosis evaluadas. La severidad de los síntomas presentadas en las raíces fue más notorio al incrementar las dosis.

Los herbicidas MCPA y 2,4-DB provocaron una mayor disminución en el largo de raíz principal y peso seco de raíces, este último parámetro también fue afectado por el herbicida bentazon.

El herbicida que más daño provocó en las plantas de trébol rosado, tanto a nivel radical como aéreo fue MCPA, observándose una mayor severidad en la dosis de 200% de la recomendada.

6. RESUMEN

En este trabajo se evaluó el efecto fitotóxico provocado por los herbicidas MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazon y haloxifop metil sobre el desarrollo radical y aéreo de plantas de trébol rosado cv. Quiñequeli-INIA, en un ensayo bajo condiciones de invernadero. Las evaluaciones de fitotoxicidad fueron realizadas sobre el follaje y raíces de las plantas utilizando dos escalas de fitotoxicidad y realizando mediciones de diámetro de corona, altura de planta, largo de raíz principal y peso seco de la planta. Las plantas de trébol rosado fueron cultivadas en macetas sobre una mezcla vermiculita-suelo estéril aplicando los herbicidas en tres dosis (50, 100 y 200% de la dosis recomendada a los agricultores), cuando las plantas se encontraban en el estado de dos a tres hojas trifoliadas, además fueron utilizados testigos sin aplicación de herbicida como referencia. El ensayo consistió en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Para el análisis estadístico de los datos cualitativos se utilizó la prueba de estadística no paramétrica Chi-cuadrado. En el caso de las evaluaciones cuantitativas, fue utilizado análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de promedios de Tukey, con un nivel de significancia de un 5%. El análisis estadístico de los datos obtenidos indica que MCPA y bentazon son los herbicidas de mayor efecto fitotóxico sobre el follaje, provocando deformación de tallos, necrosis de hojas y muerte de plantas. Por otra parte, MCPA y Flumetsulam afectaron al mayor porcentaje de raíces de las plantas de trébol rosado, daño que se manifestó con la aparición de llagas o fisuras longitudinales en las raíces. Finalmente, los herbicidas MCPA, 2,4-DB, y bentazon fueron los que provocaron la mayor reducción del peso seco de las raíces.

7. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the phytotoxicity of the herbicides MCPA, 2,4-DB, flumetsulam, bentazone and haloxyfop-methyl on red clover seedlings cv. Quiñequeli-INIA. Leaf, stem and root growth and damage was evaluated. Tissue damage was estimated by visual scores while, crown diameter, plant height, root length and dry matter weight of shoots and roots were measured. The assay was conducted in greenhouse conditions and the herbicides were applied at three rates, (50, 100 and 200% of the doses applied by farmers). Red clover seeds were sown on plastic pots filled with sterilized vermiculite-soil mixture (1:1) and herbicides were applied on seedlings at the two to three trifoliate leaf stage.

A randomized block design with four replicates was used. Tissue damage data were analyzed by non parametric chi- square test while quantitative data were subjected to analysis of variance and Tukey test at the 5% level of significance. The results indicated that MCPA and bentazone produced more damage to the leaves and stems causing stem deformation, leaf necrosis and death of plants. On the other hand, MCPA and flumetsulam affected the roots of a higher proportion of plants, causing injuries and longitudinal fissures on roots.

Finally, MCPA, 2,4-DB and bentazone were the herbicides with higher effect in the reduction of root dry matter.

8. LITERATURA CITADA

AFIPA. 1999. Manual Fitosanitario. 731p.

Appleby, A. P. and Dawson, J. H. 1990. Timing of herbicide application. In Holt, H. A. (ed) Herbicide Action Course. Purdue University. West Lafayette. Illinois. P: 299-308.

Aguila, H. 1966. Producción de semillas forrajeras. Ed Universitaria, Santiago. Chile. 200p.

Aguilera, A. 1989. Ficha entomológica de la IX Región de la Araucanía. *Hylastinus obscurus* (Marsham) (Coleóptera: Scolytidae). Instituto de Investigaciones Agropecuarias. IPA-Carillanca 8:2.

Aguilera, A., Cisternas, E., Gerding, M. y Norambuena, H. 1996. Plagas de las Praderas. En *Praderas para Chile*. I. Ruiz (ed.). INIA. Ministerio de Agricultura. Segunda edición Pág:309-339.

Altman, J. and Campbell, C. 1977. Effect of herbicides on plant diseases Ann. Rev. Phytopathol. 15:361-385.

Altman, J and Rovira, A. 1989. Herbicide-pathogen interactions in soil-borne root diseases. Can. J. Plant Pathol. 11:166-172.

Bariggi, C. y Silva, J. 1963. Cultivo del trébol rosado Quiñequeli y de la alfalfa Liqueñ para la producción de semilla certificada. Ministerio de Agricultura. Oficina de Estudios Especiales. Santiago. Chile. 28p.

Carrillo, R. y Mundaca, N. 1974. Biología de *Hylastinus obscurus* (Marsham); Coleóptera Scolytidae. Agricultura Técnica. Chile. 34(1): 29-35.

Cisternas, A. y Norambuena, M. 1991. Plagas Insectiles. En Producción y utilización de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.). Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Remehue. Serie Remehue N°13. Osorno. Chile. 97p.

- Cuevas, E. y Balocchi, O.** 1983. Producción de forraje. Facultad de Cs. Agrarias. Instituto de Producción Animal. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. Serie B7. 201p.
- Darwent, A. L. and Pankiw, P.** 1976. Effects of several herbicides on red clover seed production. *Can. J. Plant. Sci.* 56:413-415.
- Demagnet, R., Neira, I. y Cantero, M.** 1996. Pasturas en el sur de Chile. II Especies Leguminosas. Publicación docente N°3. Departamento de Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 113p.
- Demagnet, R. y Mora, M. L.** 1996. Manejo de fertilidad de semilleros de trébol rosado. Informe de asistencia técnica a CORFO. Instituto de Agroindustria. Universidad de la Frontera. Temuco. 245p.
- Díaz, S. J., Demagnet, R. y Zapata, M.** 1992. Tolerancia de forrajeras a herbicidas. *Agroanálisis* (98): 12-14.
- Dissanayake, N., Hoy, J., and Griffin, J.** 1998. Herbicide effects on sugar cane growth, Phythium root rot, and Phythium arrhenomanes. *Phytopathol.* 88:530-535.
- Duke, J.** 1983. *Trifolium pratense* L. Handbook of Energy Crop (unpublished).
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/trifolium_pratens.html
- Espinoza, N. y Díaz, J.** 1996. Malezas en praderas. En *Praderas para Chile*. I. Ruiz (ed.). INIA. Ministerio de Agricultura. Segunda edición Pág:342-355.
- Evers, G. W., Grichar, W. J., Pohler, C. L. and Shubert, A. M.** 1993. Tolerance of three annual forage legumes to selected postemergence herbicides. *Weed technol.* 7(3): 735-739.
- Figuerola, J. S.** 1998. Comportamiento productivo de trece cultivares de *Trifolium pratense* L. en el secano de la Región de la Araucanía. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 90p.

- Frame, J.** 2000. *Trifolium pratense* L. Grassland Database. Food and Agriculture Organization (FAO). <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/gbase/data/pf000349.html>
- Galdames, R.** 1991. Enfermedades fungosas. En: Producción y utilización de trébol rosado (*Trifolium pratense* L) Torres y Dumont (eds). Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Remehue. Serie Remehue. Osorno. Chile 13:45-51.
- Griffin, J. L., Watson, V. H., Knigh, W. E. and Cole, A. W.** 1984. Forage legume response to dicamba and 2,4-D applications. *Agronomy Journal* 76 (3): 487-492.
- Hess, F. D.** 1986. Herbicide effects on plant structure, physiology, and biochemistry. in: *Pesticide Interactions In Crop Production*. Pág:14-31.
- Hewitt, E. J.** 1952. Jared and water culture, used in the study of plant nutrition. *Tech. Commun Vol 22* Farham Roy Bucks. *Common Agric Rev*.
- Karr, G. W., Gudauskas, R. T. and Dickens, R.** 1979. Effects of three herbicides on selected pathogens and diseases of turfgrasses. *Phytopathol.* 69: 279-282.
- Katan, J. and Eshel Y.** 1973. Interaccions between herbicides and plant pathogens. *Res. Reviews* 45 : 145-177.
- Kilpatrick, R. A.** 1954. Root and crown rots of red clover in Wisconsin and the relative prevalence of associated fungi. *Phytopathol.* 44:252-259.
- Lévesque, C. A., Rahe, J. E. and Eaves, D. M.** 1987. Effect of glyphosate on *Fusarium ssp*: its influence on root colonization of weed, propagule density in the soil, and crop emergence. *Can. J. of Microbiol.* 33:354-360.
- López, H.** 1996. Especies Forrajeras Mejoradas. En *Praderas para Chile*. I. Ruiz (ed.). 2ª ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Pág. 41-108.
- Luchsinger, M.** 1985. Incorporación del trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) para semilla en la empresa agrícola. IX región. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 103p.

- Mársico, O. J. V.** 1980. Herbicidas y fundamentos del control de malezas. Ed. Hemisferio sur. Bueno Aires. Argentina. 298 p.
- Matamala, J.** 1976. Biología, niveles de infestación, daño y combate químico de *Hylastinus obscurus* (Marsham) (Coleóptera: Scolytidae). Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile.
- Ministry of Agriculture Fisheries and Food (Englad) (MAFF).** 1983. Red clover. Printed in Englad for Her Majesty's Stationery Office by Balentine Press Std. Of Rayleigh. Lion House, Willow burn Estate, Alnwick, Northumberland. 11p.
- Medrano, C., Gutiérrez, W., Esparza, D., Montilla, A. y Faneite A.** 1997. Evaluation of post-emergent herbicides for weed control on soybean (*Glycine max* (L.) Merr) in the Maracaibo plateau. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 14: 33-46.
- Peregine, E. K. and Norris, R. F.** 1988. Environmental modification of seedling alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance to bromoxinil. Weed sci. 36 (5): 671-677.
- Pruess, K. P. and Weaver, C. R.** 1958. Estimation of red clover yields losses caused by the clover root borer. J. Econ. Entomol. 51:491-492.
- Puricelli, E. C. y Leguizamón E. S.** 2003. Herbicidas hormonales.
http://www.fcagr.unr.edu.ar/malezas/Apuntes/Herbicidas_Hormonales.doc
- Rivas, H.** 1993. Evaluación del espaciamiento de siembra, poda de raíces en vivero y aplicación de herbicida Velpar en el desarrollo de plantas de *Pinus radiata* D. Don en la provincia de Valdivia, X región. Tesis de Ingeniero Forestal. Universidad de Chile. Santiago, Chile: 110 p.
- Rojas, V. H.** 1966. Rendimiento en semillas y grado de infestación por *Bruchopagus platyptera* WIK, en 4 épocas de rezago de Trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) Var. Quiñequeli. Tesis Ingeniero Agrónomo Universidad de Chile. Santiago 72p.

- Romero, O. y Bonert, R.** 1979. Especies y mezclas forrajeras para la IX región. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Carillanca. Boletín divulgativo N°58. Temuco. Chile. 22p.
- Steiner, J. and Alderman, S.** 1999. Red clover seed production: V Root health and crop productivity. Crop Sci. 39: 1407-1415.
- Tonks, D., Jeffery, L. S. and Weeb, B. L.** 1991. Response of seedling alfalfa (*Medicago sativa*) to four postemergence herbicides. Weed technol. 5 (4): 736-738.
- Torres, A. y Sierra, B.** 1991. Producción y utilización de Trébol rosado (*Trifolium pratense* L.). Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Remehue. Serie Remehue N°13. Osorno. Chile. Pág: 13-25.
- Ware, G. W.** 1994. The Pesticide Book. Thomson Publications. 4th edition. California. U.S.A. 385p.
- Warren, G. F.** 1990. Principles of selective weed control with herbicides. In Holt, H. A. (ed) Herbicide Action Course. Purdue University. West Lafayette. Illinois. P: 1-3.
- Wilsie, C. P.** 1962. Red clover and alsike clover. Forages. The Iowa State University. Press. Amer, Iowa, EE.UU. 707p.

ANEXOS

Anexo 1. Solución nutritiva utilizada en la fertilización del ensayo.

Nutrientes	g/100ml	ML x L
NO ₃ K	3.03	10
(NO ₃) ₂ Ca	7.08	20
SO ₄ Mg.7 H ₂ O	1.84	20
EDTA Fe(II)	0.25	10
SO ₄ Mn	0.22	1
SO ₄ Cu. 5 H ₂ O	0.24	0.1
SO ₄ Zn.2 H ₂ O	0.29	0.1
BO ₃ H ₃	1.86	0.1
MoO ₄ NaNH ₄	0.03	0.1
KH ₂ PO ₄	3	10

Hewitt, E. J. (1952).

Anexo 2. Ficha técnica del herbicida Bentazon.

Ingrediente activo	Bentazon
Nombre químico	3-(1-metiletil)-1H-2,1,3-benzotiodiazin-4-(3H)on-2,2-dióxido
Grupo químico	Benzotiadiazina
Concentración	480 g/L
Formulación	Concentrado soluble (SL)
Nombre comercial	Basagran
Fabricante	BASF AG. Alemania y sus filiales
Toxicidad	Grupo III. Moderadamente tóxico
Peso molecular	240.3
Formula molecular	$C_{10}H_{12}N_2O_3S$
Epoca de aplicación	Post-emergencia
Modo de acción	Contacto. Inhibidor de la fotosíntesis
Selectividad	Selectivo
Tipo de malezas	Dicotiledóneas (Yuyo, rábano, alfilerillo, bolsa del pastor, chamico duraznillo, ortiga, manzanillón, quilloy-quilloi y otras)
Dosis en Trébol rosado	2,5 L ha ⁻¹
Cultivos	Cereales y leguminosas.

Anexo 3. Ficha técnica del herbicida MCPA.

Ingrediente activo	Sal dimetil amina de MCPA
Nombre químico	Sal dimetil amina del ácido-(4-cloro-2-metil fenoxi)acético.
Grupo químico	Fenoxiacético
Concentración	750 g/L
Formulación	Concentrado soluble
Nombre comercial	MCPA 750 SL
Fabricante	A.H. Marks, Inglaterra.
Toxicidad	Grupo II. Altamente tóxico.
Peso molecular	245.7
Formula molecular	$C_{11}H_{16}ClNO_3$
Epoca de aplicación	Post-emergencia
Modo de acción	Sistémico. Hormonal
Selectividad	Selectivo
Tipo de malezas	Dicotiledóneas (Yuyo, romaza, hualtata, correhuela, ortiga, clonqui, cardo, chamico, cardilla, arvejilla, rábano, mostaza, mostacilla, quingüilla, bleto, diente de león, achicoria, y otras)
Dosis en Trébol rosado	1,0 L ha ⁻¹
Cultivos	Cereales y tréboles

Anexo 4. Ficha técnica del herbicida Flumetsulam.

Ingrediente activo	Flumetsulam
Nombre químico	2,6-difluoro-5-metil(1,2,4)triazolo(1,5-a)pirimidina -2-sulfoanilida
Grupo químico	Triazolpirimidinas
Concentración	780 g/Kg
Formulación	Gránulos dispersables en agua
Nombre comercial	Preside 80 WDG
Fabricante	Dow Agro Sciences, Argentina
Toxicidad	Grupo IV. Ligeramente tóxico
Peso molecular	325,3
Formula molecular	$C_{12}H_9F_2N_5O_2S$
Epoca de aplicación	Post-emergencia
Modo de acción	Sistémico. Inhibidor de la enzima ALS.
Selectividad	Selectivo
Tipo de malezas	Dicotiledóneas (Yuyo, rábano, bolsa del pastor, calabacillo, pasto pinito, crepis, vinagrillo, sanguinaria siete venas, berro, quilloi-quilloi y otras)
Dosis en Trébol rosado	50 g ha ⁻¹
Cultivos	Praderas de gramíneas y asociadas a leguminosas

Anexo 5. Ficha técnica del herbicida 2,4-DB.

Ingrediente activo	2,4-DB
Nombre químico	Acido4-(2,4-diclorofenoxi)butírico
Grupo químico	Fenoxiacético
Concentración	775 g/L
Formulación	Concentrado soluble
Nombre comercial	Venceweed Extra 100
Fabricante	Atanor, Argentina.
Toxicidad	Grupo II. Altamente tóxico.
Epoca de aplicación	Post-emergencia
Modo de acción	Sistémico. Hormonal
Selectividad	Selectivo
Tipo de malezas	Dicotiledóneas (Yuyo, rábano, mostacilla, ortiga, chamico, bleto, cardo, bolsa del pastor, alfilerillo, y otras)
Dosis en Trébol rosado	0,5 L ha ⁻¹
Cultivos	Cereales y leguminosas

Anexo 6. Ficha técnica del herbicida Haloxifop-R-metil.

Ingrediente activo	Haloxifop-R-metil
Nombre químico	R-Metil-2-(4-((3-cloro-5-(trifluorometil)-2-piridil)oxi)fenoxi)propanato
Grupo químico	Fenoxipropanoatos
Concentración	31 gr/l
Formulación	Concentrado emulsionable (EC)
Nombre comercial	Galant plus R
Fabricante	Dow Agro Sciences Argentina. S. A.
Toxicidad	Grupo II. Altamente tóxico
Peso molecular	375,7
Formula molecular	$C_{16}H_{13}ClF_3NO_4$
Epoca de aplicación	Post-emergencia
Modo de acción	Sistémico. Inhibidor de la enzima ACCasa.
Selectividad	Selectivo
Tipo de malezas	Gramíneas anuales y perennes
Dosis en Trébol rosado	1,0 L ha ⁻¹
Cultivos	Leguminosas, Raps, Lupino, Remolacha, Maravilla.

Anexo 7. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en follaje para la variable herbicida.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	643,559	50	0,000
N of Valid Cases	1295		

Anexo 8. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en follaje para la variable dosis.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	317,817	20	0,000
N of Valid Cases	1295		

Anexo 9. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en follaje para la variable tiempo.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	142,891	20	0,000
N of Valid Cases	1295		

Anexo 10. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en raíces para la variable herbicida.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	64,861	10	0,000
N of Valid Cases	648		

Anexo 11. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en raíces para la variable dosis.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	45,980	6	0,000
N of Valid Cases	648		

Anexo 12. Tabla de resumen test chi-cuadrado de Pearson, de la escala de fitotoxicidad en raíces para la variable tiempo.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10,035	4	,040
N of Valid Cases	648		

Anexo 13. Tablas de análisis de varianza para el parámetro diámetro de corona, con aplicación del 50% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	147,907	1	147,907	1915,760	0,000
TRAT	1,391	5	0,278	4,667	0,001
REP	1,779	23	7,733E-02	1,297	0,186
Error	6,557	110	5,961E-02		

C.V.: 23,68%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	121,326	1	121,326	2110,226	0,000
TRAT	0,882	5	0,176	3,338	0,008
REP	1,323	23	5,751E-02	1,089	0,369
Error	5,917	112	5,283E-02		

C.V.: 24,66%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	144,400	1	144,400	3955,125	0,000
TRAT	0,797	5	0,159	3,458	0,006
REP	0,840	23	3,651E-02	0,792	0,735
Error	5,303	115	4,611E-02		

C.V.: 21,44%

Anexo 14. Tablas de análisis de varianza para el parámetro diámetro de corona, con aplicación del 100% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	140,586	1	140,586	1829,969	0,000
TRAT	2,063	5	0,413	12,385	0,000
REP	1,777	23	7,726E-02	2,320	0,002
Error	3,664	110	3,331E-02		

C.V.: 18,19%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	129,676	1	129,676	7177,241	0,000
TRAT	4,302	5	0,860	9,610	0,000
REP	0,413	23	1,797E-02	0,201	1,000
Error	10,206	114	8,953E-02		

C.V.: 31,39%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	151,700	1	151,700	4171,632	0,000
TRAT	2,671	5	0,534	9,761	0,000
REP	0,836	23	3,636E-02	0,665	0,871
Error	6,293	115	5,472E-02		

C.V.: 22,79%

Anexo 15. Tablas de análisis de varianza para el parámetro diámetro de corona, con aplicación del 200% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	125,232	1	125,232	3122,628	0,000
TRAT	1,019	5	0,204	9,815	0,000
REP	0,924	23	4,018E-02	1,935	0,012
Error	2,305	111	2,076E-02		

C.V.: 15,19%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	136,890	1	136,890	1075,787	0,000
TRAT	2,459	5	0,492	6,682	0,000
REP	2,927	23	0,127	1,729	0,031
Error	8,464	115	7,360E-02		

C.V.: 27,82%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	101,531	1	101,531	1624,231	0,000
TRAT	0,246	5	4,911E-02	1,084	0,373
REP	1,448	23	6,297E-02	1,390	0,133
Error	4,710	104	4,529E-02		

C.V.: 23,90%

Anexo 16. Tablas de análisis de varianza para el parámetro altura de planta, con aplicación del 50% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1206,006	1	1206,006	1901,389	0,000
TRAT	42,295	5	8,459	15,495	0,000
REP	14,593	23	0,634	1,162	0,294
Error	61,690	113	0,546		

C.V.: 25,58%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1262,353	1	1262,353	2268,909	0,000
TRAT	15,400	5	3,080	9,470	0,000
REP	12,834	23	0,558	1,716	0,034
Error	35,451	109	0,325		

C.V.: 19,04%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1371,268	1	1371,268	682,260	0,000
TRAT	22,915	5	4,583	6,522	0,000
REP	46,436	23	2,019	2,873	0,000
Error	79,403	113	0,703		

C.V.: 26,63%

Anexo 17. Tablas de análisis de varianza para el parámetro altura de planta, con aplicación del 100% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1168,863	1	1168,863	2736,55	0,000
TRAT	13,685	5	2,737	4,713	0,001
REP	9,819	23	0,427	0,735	0,800
Error	66,198	114	0,581		

C.V.: 27,34%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1182,787	1	1182,787	3561,55	0,000
TRAT	17,400	5	3,480	6,419	0,000
REP	7,638	23	0,332	0,613	0,913
Error	62,345	115	0,542		

C.V.: 25,10%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1550,027	1	1550,027	2994,95	0,000
TRAT	30,474	5	6,095	7,611	0,000
REP	11,876	23	0,516	0,645	0,887
Error	89,688	112	0,801		

C.V.: 27,59%

Anexo 18. Tablas de análisis de varianza para el parámetro altura de planta, con aplicación del 200% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1147,516	1	1147,51	1046,80	0,000
TRAT	13,937	5	2,787	6,499	0,000
REP	25,213	23	1,096	2,556	0,001
Error	49,324	115	0,429		

C.V.: 24,22%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1269,838	1	1269,838	1969,16	0,000
TRAT	4,780	5	0,956	2,097	0,071
REP	14,847	23	0,646	1,416	0,118
Error	51,510	113	0,456		

C.V.: 23,31%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1253,516	1	1253,516	1301,46	0,000
TRAT	15,539	5	3,108	6,803	0,000
REP	22,318	23	0,970	2,124	0,005
Error	49,336	108	0,457		

C.V: 21,95%

Anexo 19. Tablas de análisis de varianza para el parámetro largo de raíz principal, con aplicación del 50% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	26830,440	1	26830,440	1946,21	0,000
TRAT	184,866	5	36,973	2,798	0,020
REP	317,077	23	13,786	1,043	0,420
Error	1519,798	115	13,216		

C.V.: 26,96%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	24694,308	1	24694,308	1328,18	0,000
TRAT	78,575	5	15,715	1,128	0,350
REP	428,166	23	18,616	1,336	0,162
Error	1504,897	108	13,934		

C.V.: 28,14%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	24271,889	1	24271,889	915,691	0,000
TRAT	329,338	5	65,868	4,061	0,002
REP	611,068	23	26,568	1,638	0,048
Error	1784,126	110	16,219		

C.V.: 30,29%

Anexo 20. Tablas de análisis de varianza para el parámetro largo de raíz principal, con aplicación del 100% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	24625,456	1	24625,456	1236,03	0,000
TRAT	82,587	5	16,517	1,245	0,293
REP	458,226	23	19,923	1,501	0,084
Error	1526,041	115	13,270		

C.V.: 28,42%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	22904,298	1	22904,298	1674,78	0,000
TRAT	50,237	5	10,047	0,653	0,660
REP	314,416	23	13,670	0,888	0,614
Error	1724,535	112	15,398		

C.V.: 30,82%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	19915,560	1	19915,560	1128,43	0,000
TRAT	113,216	5	22,643	3,031	0,014
REP	423,185	23	18,399	2,463	0,001
Error	739,540	99	7,470		

C.V.: 21,77%

Anexo 21. Tablas de análisis de varianza para el parámetro largo de raíz principal, con aplicación del 200% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	25072,930	1	25072,930	1379,27	0,000
TRAT	159,384	5	31,877	2,321	0,048
REP	418,245	23	18,185	1,324	0,168
Error	1565,453	114	13,732		

C.V.: 28,44%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	21747,880	1	21747,880	1520,39	0,000
TRAT	184,794	5	36,959	2,981	0,014
REP	329,104	23	14,309	1,154	0,302
Error	1401,008	113	12,398		

C.V.: 27,99%

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	20463,041	1	20463,041	2122,75	0,000
TRAT	513,581	5	102,716	6,935	0,000
REP	220,882	23	9,604	0,648	0,884
Error	1614,509	109	14,812		

C.V.: 30,89%

Anexo 22. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de follaje, con aplicación del 50% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,410E-03	1	1,410E-03	499,286	0,000
TRAT	2,516E-05	5	5,032E-06	3,245	0,035
REP	8,475E-06	3	2,825E-06	1,822	0,186
Error	2,326E-05	15	1,551E-06		

C.V.:16,23%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,553E-03	1	1,553E-03	396,949	0,000
TRAT	1,217E-05	5	2,435E-06	1,805	0,172
REP	1,173E-05	3	3,911E-06	2,900	0,070
Error	2,023E-05	15	1,349E-06		

C.V.: 14,44%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,380E-03	1	1,380E-03	1102,679	0,000
TRAT	5,510E-05	5	1,102E-05	4,862	0,008
REP	3,753E-06	3	1,251E-06	0,552	0,655
Error	3,399E-05	15	2,266E-06		

C.V.: 19,85%

Anexo 23. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de follaje, con aplicación del 100% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	8,677E-04	1	8,677E-04	523,557	0,000
TRAT	3,382E-05	5	6,764E-06	2,672	0,076
REP	4,753E-06	3	1,584E-06	0,626	0,612
Error	3,037E-05	12	2,531E-06		

C.V.: 22,95%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,295E-03	1	1,295E-03	1767,332	0,000
TRAT	1,898E-05	5	3,797E-06	1,811	0,171
REP	2,198E-06	3	7,327E-07	0,349	0,790
Error	3,145E-05	15	2,097E-06		

C.V.: 19,70%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,363E-03	1	1,363E-03	179,516	0,001
TRAT	2,964E-05	5	5,928E-06	5,682	0,004
REP	2,278E-05	3	7,592E-06	7,276	0,003
Error	1,565E-05	15	1,043E-06		

C.V.: 13,54%

Anexo 24. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de follaje, con aplicación del 200% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,175E-03	1	1,175E-03	292,654	0,000
TRAT	3,764E-05	5	7,528E-06	8,485	0,001
REP	1,204E-05	3	4,014E-06	4,525	0,019
Error	1,331E-05	15	8,872E-07		

C.V.:13,45%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,147E-03	1	1,147E-03	746,452	0,000
TRAT	2,016E-05	5	4,032E-06	8,193	0,001
REP	4,634E-06	3	1,545E-06	3,139	0,059
Error	6,889E-06	14	4,921E-07		

C.V.: 9,89%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	9,897E-04	1	9,897E-04	5252,500	0,000
TRAT	2,745E-05	5	5,490E-06	4,918	0,007
REP	5,653E-07	3	1,884E-07	0,169	0,916
Error	1,674E-05	15	1,116E-06		

C.V.: 16,30%

Anexo 25. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de raíces, con aplicación del 50% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,267E-03	1	1,267E-03	273,168	0,000
TRAT	2,186E-05	5	4,372E-06	1,233	0,342
REP	1,392E-05	3	4,639E-06	1,308	0,308
Error	5,319E-05	15	3,546E-06		

C.V.: 25,90%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,206E-03	1	1,206E-03	592,007	0,000
TRAT	2,374E-05	5	4,749E-06	1,935	0,148
REP	6,109E-06	3	2,036E-06	0,830	0,498
Error	3,681E-05	15	2,454E-06		

C.V.: 22,09%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,392E-03	1	1,392E-03	328,036	0,000
TRAT	6,449E-05	5	1,290E-05	4,421	0,011
REP	1,273E-05	3	4,244E-06	1,455	0,267
Error	4,376E-05	15	2,917E-06		

C.V.: 22,41%

Anexo 26. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de raíces, con aplicación del 100% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,038E-03	1	1,038E-03	223,977	0,000
TRAT	6,426E-05	5	1,285E-05	2,452	0,094
REP	1,376E-05	3	4,586E-06	0,875	0,481
Error	6,289E-05	12	5,241E-06		

C.V.: 31,10%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	8,568E-04	1	8,568E-04	345,656	0,000
TRAT	2,981E-05	5	5,962E-06	3,561	0,028
REP	7,454E-06	3	2,485E-06	1,484	0,262
Error	2,344E-05	14	1,674E-06		

C.V.: 20,63%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,409E-03	1	1,409E-03	232,662	0,001
TRAT	2,583E-05	5	5,167E-06	1,797	0,174
REP	1,816E-05	3	6,054E-06	2,106	0,142
Error	4,313E-05	15	2,875E-06		

C.V.: 22,13%

Anexo 27. Tablas de análisis de varianza para el parámetro peso seco de raíces, con aplicación del 200% de la dosis a los 10, 20 y 30 días.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,475E-03	1	1,475E-03	509,903	0,000
TRAT	3,362E-05	5	6,723E-06	1,639	0,210
REP	8,677E-06	3	2,892E-06	0,705	0,564
Error	6,153E-05	15	4,102E-06		

C.V.:25,83%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	9,334E-04	1	9,334E-04	394,797	0,000
TRAT	2,891E-05	5	5,782E-06	17,215	0,000
REP	7,138E-06	3	2,379E-06	7,083	0,004
Error	4,702E-06	14	3,359E-07		

C.V.: 9,15%

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Valor F	Significancia
Intercept	1,111E-03	1	1,111E-03	531,521	0,000
TRAT	2,747E-05	5	5,494E-06	2,103	0,122
REP	6,271E-06	3	2,090E-06	0,800	0,513
Error	3,918E-05	15	2,612E-06		

C.V.: 23,76%