

مجله پژوهش در علوم کشاورزی، سال سوم،
شماره دوم، زمستان ۱۳۸۶ (صفحه ۱۸۴-۱۷۸)

زیست سنجی پسماند علفکش کلروسولفورون در خاک با استفاده از گیاه شاخص شاهی (*Lepidium sativum* L.)

زهیر یعقوبی اشرفی^{*}، محسن بهشتیان^۲، صدیقه صادقی^۱ و امید یونسی^۱
۱- دانشجویان کارشناسی ارشد، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران
۲- دانشجوی دکتری، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۱۸

چکیده

کلروسولفورون از جمله علفکش هائی است که دارای فعالیت پسماندگی در خاک می باشد. بقایای این علفکش در خاک ممکن است به گیاهان بعدی که در تناوب قرار می گیرند، خسارت وارد کند. زیست سنجی روشی مناسب برای ردیابی پسماندهای علفکش هایی که از لحاظ زیستی فعال هستند، می باشد. به منظور ردیابی بقایای فعال علفکش کلروسولفورون (دزهای صفر تا ۰/۱۲۵ میلی گرم در لیتر) آزمایشی گلخانه ای به صورت طرح کاملاً تصادفی (CRD) در گلخانه های تحقیقاتی دانشکده علوم زراعی و دامی پردیس کشاورزی کرج دانشگاه تهران در تابستان ۱۳۸۵ با استفاده از گیاه شاخص شاهی *Lepidium sativum* L. به اجرا درآمد. از مدل های لجستیکی ۴ و ۳ پارامتر برای تعیین واکنش وزن خشک و ارتفاع گیاه به دزهای علفکش استفاده شد. کمترین دز کلروسولفورون (۰/۰۲۵ میلی گرم در لیتر) به طور معنی داری وزن خشک و ارتفاع گیاه شاهی را کاهش داد. I₀ (دزی که باعث ۲۰ درصد کاهش خشک می گردد) کلروسولفورون برای وزن خشک و ارتفاع به ترتیب برابر ۰/۰۲۳ و ۰/۰۴۷ میلی گرم در لیتر بود. در کل نتایج بدست آمده نشان دهنده این است که برای کلروسولفورون، وزن خشک، و ارتفاع گیاه شاخص شاهی از حساسیت کافی برای ردیابی این علفکش ها برخوردار هستند. جوانه زنی شاهی تحت تاثیر علفکش و دزهای آن قرار نگرفت.

کلمات کلیدی: زیست سنجی، گیاه شاخص، پسماند، علفکش، کلروسولفورون

مقدمه

دارند که از حساسیت بیشتر برای ردیابی باقیمانده علفکش‌ها در خاک برخوردارند، لیکن بکارگیری این روش‌ها هزینه‌بر و مستلزم وجود تکنولوژی‌های خاصی است که در اغلب مواقع دستیابی سریع به آنها میسر نیست (۹). علاوه بر این، عوامل زیادی می‌توانند جذب علفکش توسط گیاه را تحت تاثیر قرار دهند و بنابراین فراهمی زیستی علفکش بیش از مقدار باقیمانده اصلی علفکش حائز اهمیت است (۷). در نتیجه زیست سنجی روشی مناسب برای ردیابی مقادیر اندک باقیمانده فیتوتوکسیک علفکش در خاک به شمار می‌آید (۱۰، ۱۲، ۱۳).

هولاری و همکاران (۱۹۹۹) حساسیت زیست سنجی در ردیابی باقیمانده‌های برخی علفکش‌های سولفونیل اوره را نسبت به تکنیک‌های شیمیایی مورد مقایسه قرار دادند و دریافتند که این دو روش مکمل یکدیگر هستند. آنها توانستند مقادیر ۰/۱ تا ۱ (میکروگرم ماده موثره در کیلوگرم خاک) باقیمانده علفکش را به کمک زیست سنجی ردیابی کنند (۵). در مطالعه ارتگا و همکاران (۲۰۰۴)، در غلظت ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر هگزازینون و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر سیمازین به ترتیب ۳۵/۶٪ و ۸۵٪ گیاهان (شاهی) از بین رفتند که این مقدار با شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. سویلانو و همکاران (۲۰۰۱)، I₅₀ (دزی که باعث ۵۰٪ بازدارندگی می‌شود) برای علفکش‌های سولفوسولفورون و تریاسولفورون را بین ۰/۹ تا ۲/۹ میکروگرم در لیتر گزارش کردند. از گیاهان شاخص متفاوتی مانند آفتابگردان (۴) کلاهو، عدس، ذرت، نخود و لوبین (*Lupinus angustifolius* L.) برای ردیابی پسماندهای علفکش‌های سولفونیل در زیست سنجی استفاده شده است (۱۲). اسمیت و همکاران (۲۰۰۵) در زیست سنجی درون مزرعه‌ای از گیاهان زراعی ذرت، پنبه، سورگوم دانه‌ای و سویا برای تعیین میزان پایداری علفکش‌های ایمازاکوئین و پایرتیوباک استفاده کردند. ارتگا و همکاران (۲۰۰۴) نیز از

کلروسولفورون به ترتیب متعلق به خانواده‌های شیمیایی سولفونیل اوره است که خاصیت علفکشی خود را از طریق بازدارندگی آنزیم استولاکتات سیتتازیا استو هیدروکسی اسید سیتتاز (اولین آنزیم در بیوسنتز اسیدهای آمینه زنجیره‌ای شاخه‌دار) اعمال می‌کند (۱). این علفکش تنها مانع سنتز اسیدهای آمینه شاخه‌دار (لوسین، ایزولوسین و والین) می‌گردد و اثرات ثانویه آنها نیز به صورت جلوگیری از رشد گیاه به علت ممانعت از تقسیم سلولی ظاهر پیدا می‌کند (۱۴). از جمله ویژگی‌های مهم این علفکش میزان مصرف بسیار کم آن است، به طوری که میزان مصرف سولفونیل اوره‌ها بین ۸ تا ۸۰ گرم در هکتار متغیر است. علاوه بر این، تفاوت بسیار زیادی بین گیاهان از نظر حساسیت به علفکش‌های سولفونیل اوره وجود دارد. بطور مثال، چغندر قند ۱۰۰۰ مرتبه بیشتر از گندم نسبت به کلروسولفورون حساس است (۱۴). کلروسولفورون در غلات دانه ریز نظیر گندم، جو و یولاف جهت کنترل بسیاری از علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ استفاده می‌شود (۲). میزان مصرف این علفکش بسیار پائین و بین ۴ تا ۲۰ گرم در هر هکتار متغیر است (۱۲). این علفکش به صورت WG/۷۵ با نام تجاری گلین فرموله شده (۳) و نیمه عمر آن در خاک حدود ۴ تا ۶ هفته گزارش شده است (۳).

کلروسولفورون در خاک دارای فعالیت پسماندگی است (۲) و بقایای آن در خاک می‌تواند به محصولات حساسی مانند آفتابگردان، کلزا و چغندر قند که در تناوب قرار می‌گیرند صدمه وارد کند (۷). از این رو اتخاذ روشی ساده و در عین حال کارآمد در ردیابی بقایای فعال این علفکش‌ها در خاک ضروری به نظر می‌رسد. زیست سنجی یکی از روش‌هایی است که برای ردیابی پسماندهای علفکش که از لحاظ زیستی فعال هستند، به کار می‌رود (۹، ۱۰، ۱۲). روش‌های تجزیه‌ای و ایمونولوژیکی نیز وجود

علفکش‌ها، به غیر از آبیاری اول، سایر آبیاری‌ها به صورت تحتانی انجام گرفت. گیاهان تحت نور طبیعی و دمای °C ۲۰-۱۷ و ۲۵-۲۰ شب/روز نگهداری شدند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار به اجرا در آمد. درصد جوانه‌زنی ۱ هفته، ارتفاع گیاه ۳ و ۶ هفته پس از کاشت، وزن خشک بخش هوایی گیاه و تعداد گیاهان به گل رفته نیز ۶ هفته پس از کاشت (انتهای رشد رویشی) اندازه‌گیری شد. جهت برازش منحنی‌های پاسخ (وزن خشک و ارتفاع گیاه) به علفکش دز، از مدل لوگ لجستیک ۴ و ۳ پارامترها استفاده شد (۱۱). لازم به توضیح است که مدل لوگ لجستیک، نوع جدید مدل‌های رگرسیونی غیر خطی بوده با توجه به میزان بدست آمده از داده‌های آزمایش موسوم به دز پاسخ بدست آمده است. طبق این مدل پاسخ گیاه در برابر دز علفکش برابر است با لوگ جمع اثر، منهای میانگین اثر دز، که با افزایش تعداد پارامترها بر تعداد نهاده‌های فرمول افزوده می‌شود. براینده منحنی‌های بدست آمده به صورت معادله خطی ۳ و ۴ پارامتری بیان می‌شود. که معادله این منحنی‌ها به صورت زیر است (۱۱):

$$Y = M_{in} + ((M_{ax} - M_{in}) / (1 + \exp(b \cdot (\log(X) - \log(ID_{50})))) \quad (1)$$

در این معادله Y برابر است با وزن خشک بخش هوایی گیاه (بر حسب گرم) یا ارتفاع گیاه (بر حسب سانتی‌متر)، X غلظت یا دز علفکش (بر حسب میلی‌گرم در لیتر)، M_{in} حد پائین (حداقل وزن خشک یا ارتفاع)، M_{ax} حد بالا (حداکثر وزن خشک و ارتفاع)، ID_{50} مقدار علفکشی است که وزن خشک یا ارتفاع گیاه را به ۵۰٪ حداکثر، تقلیل می‌دهد و b شیب خط در محدوده ID_{50} است. در مواردی که برای M_{in} (حد پائین) عدد منفی بدست می‌آید، از مدل سه پارامتره استفاده گردید. معادله ۲ پارامتره با قرار دادن $M_{in} = 0$ در معادله (1) بدست می‌آید (۱۱):

گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) برای ردیابی پسماندهای فیتوتوکسیک علفکش‌های سیمازین و هگزازینون استفاده کردند. باتوجه به خطرات زیست محیطی سموم آفت کش و کاربرد تناوب زراعی در کشاورزی سنتی و همین‌طور کشاورزی جدید، تعیین مدت زمان بقای آفت کش‌ها و سموم در محیط مزرعه ضروری به نظر می‌رسد. بدین منظور برای تعیین میزان پسماند علفکش کلروسولفورون در خاک، از روش زیست‌سنجی که روش ارزان و در عین حال آسان، با کارایی مناسب است استفاده گشت. در این آزمایش از گیاه شاهی به خاطر حساسیت زیاد و همچنین دوره رشد کوتاه آن (۹) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم زراعی و دامی پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران در تابستان سال ۱۳۸۵ به اجرا در آمد. بافت خاک، متوسط و از نوع افق مالیک و مالی سول انتخاب گشت. خصوصیات خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول-۱ ارائه شده است. علفکش مورد آزمایش شامل کلروسولفورون (75% WG) بود. دزهای مورد نظر علفکش در آب مقطر حل شد و بطور یکنواخت با حجم خاک لازم برای هر تیمار مخلوط گردیدند. خاک‌های تیمار شده به مدت ۲۴ ساعت در پاکت‌های پلاستیکی سر بسته قرار گرفتند تا علفکش بطور یکنواخت در خاک پخش شود. غلظت‌های کلروسولفورون شامل صفر (شاهد)، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر بود. این دزها با توجه به نیمه عمر علفکش‌ها و مقدار علفکشی که پس از ۶ ماه می‌تواند در خاک باقی بماند، انتخاب شدند. ۱۵ عدد بذر شاهی (*Lepidium sativum* L.) در گلدان‌هایی به قطر و ارتفاع ۱۰ cm کشت گردید. به منظور جلوگیری از شستشوی

$$Y = M_{ax} / (1 + \exp(b \cdot (\log(X) - \log(ID_{50})))) \quad (2)$$

جدول-۱. برخی خصوصیات خاک مورد استفاده در آزمایش.

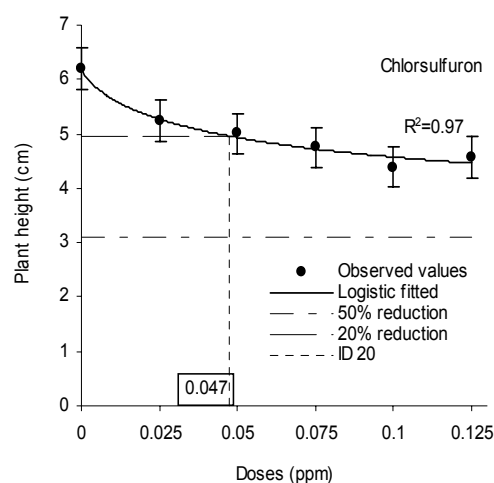
لومی رسی	بافت خاک
۲۵	شن (%)
۳۹	سیلت (%)
۳۶	رس (%)
۷/۸	pH
۴/۶	EC (dS/m)
۲۴/۶	CEC (meq/100 gr)

داشت، ولی در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر علی‌رغم کاهش ارتفاع تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. I_{20} (دزی که باعث کاهش ۲۰٪ ارتفاع می‌گردد) محاسبه شده برای این علفکش برابر ۰/۰۴۷ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول-۲). بالاترین دز کلروسولفورون (۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر) ارتفاع شاهی را ۲۸٪ نسبت به شاهد کاهش داد. طبق معادله لجستیک، شیب بیشتر (b بزرگتر) کاهش ارتفاع شاهی (با افزایش غلظت) در مقایسه با شیب کاهش ارتفاع شاهی پس از کاربرد غلظت‌های مختلف علفکش کلروسولفورون نیز بازگوکننده این موضوع است (جدول-۲). این علفکش در بالاترین دز (۳۰ میلی‌گرم در لیتر) ارتفاع شاهی را ۴۲/۵٪ نسبت به شاهد کاهش داد. همانند ارتفاع نتایج مشابهی نیز از تاثیر دزهای کلروسولفورون بر وزن خشک شاهی بدست آمد. در این مورد نیز تنها بین شاهد و غلظت‌های مختلف علفکش تفاوت معنی‌داری وجود داشت ولی بعد از دز ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر، افزایش غلظت علفکش کاهش معنی‌داری در وزن خشک شاهی را موجب نگردید (شکل-۲). I_{20} محاسبه شده برای وزن خشک برابر ۰/۰۲۳ میلی‌گرم در لیتر بود که این مقدار تقریباً نصف I_{20} محاسبه شده برای ارتفاع (۰/۰۴۷ میلی‌گرم در لیتر) است (جدول-۲). بنابراین، اگرچه نتایج تجزیه واریانس

برازش مدل‌های فوق توسط نرم افزار Curve Expert 1.3 انجام گرفت. I_{20} (مقدار علفکش لازم برای ۲۰٪ کاهش وزن خشک یا ارتفاع) نیز توسط این نرم افزار محاسبه گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها (به روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD)) بوسیله نرم افزار SAS (SAS Institute Inc., 1997) و رسم گراف‌ها توسط نرم افزار EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

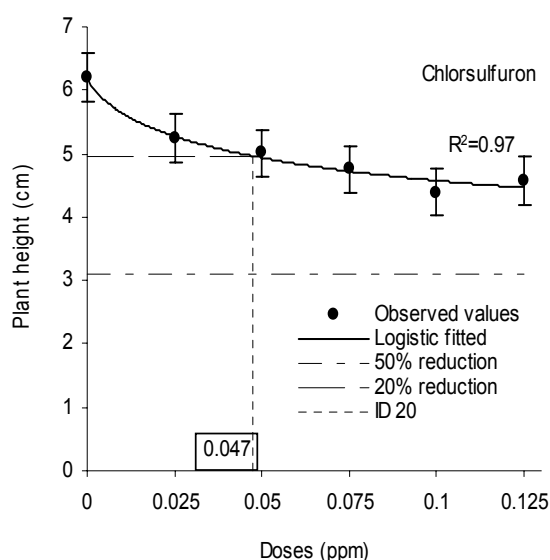
جوانه‌زنی شاهی تحت تاثیر هیچ یک از دزهای علفکش به کار برده شده، قرار نگرفت، به طوری که متوسط جوانه‌زنی در یک هفته پس از کاشت ۹۲٪ بود. در سه هفته پس از کاشت هیچ یک از دزهای علفکش تاثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه شاهی نداشتند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند)، ولی ارتفاع نهایی آن (۶ هفته پس از کاشت) به طور معنی‌داری توسط علفکش کلروسولفورون کاهش پیدا کرد (شکل-۲). در تیمار کلروسولفورون تنها بین شاهد و سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر ارتفاع وجود



شکل-۱. تاثیر دزهای مختلف علفکش کلروسولفورون بر ارتفاع گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) شش هفته پس از کاشت. اعداد داخل مستطیل بر روی محور X نشان دهنده I_{20} (دزی که باعث ۲۰٪ کاهش ارتفاع می‌گردد) می‌باشد. خطوط عمودی روی دایره‌های توپر (مقادیر مشاهده شده)، LSD در سطح ۵٪ را نشان می‌دهند.

هیچ یک از دزهای علف‌کش مورد آزمایش تاثیری بر جوانه‌زنی شاهی نداشتند. عدم تاثیر این دزهای علف‌کش بر جوانه‌زنی با توجه به نحوه عمل آنها دور از انتظار نیست. چرا که این علف‌کش تنها مانع سنتز اسیدهای آمینه شاخه‌دار (لوسین، ایزولوسین و والین) می‌گردند و اثرات ثانویه آنها نیز به صورت جلوگیری از رشد گیاه به علت ممانعت از تقسیم سلولی تظاهر پیدا می‌کند (۱۴). کندی اثر این علف‌کش که معمولاً به صورت تدریجی مرگ گیاه را موجب می‌گردد نیز می‌تواند توضیحی برای عدم تاثیر معنی‌دار آنها بر ارتفاع گیاه در ۳ هفته پس از کاشت باشد (۱۴). ارتگا و همکاران (۲۰۰۴)، در ردیابی بقایای علف‌کش‌های سیمازین و هگزازینون با استفاده از گیاه شاهی نشان دادند که درصد گیاهان مرده در ۲۱ روز پس از کاشت از حساسیت کافی برخوردار است ولی بیشترین حساسیت را در ۴۲ روز پس از کاشت گزارش کردند. در مجموع اندازه‌هیچ از یک دو صفت اندازه‌گیری شده (وزن خشک و ارتفاع) در دزهای به کار برده شده به میزان ۵۰٪ کاهش پیدا نکرد؛ این بدان معنا است که برای علف‌کش کلروسولفورون I50 خارج از دامنه دزهای اعمال شده بوده و به غلظت‌های بالاتری از علف‌کش‌ها احتیاج است. مدل لجستیک در ناحیه I50 متقارن است (۱۱) و در نتیجه در اکثر آزمایشات از این شاخص (I50) استفاده می‌شود، ولی بسته به آزمایش و شرایط ممکن است I های دیگری مانند I90، I10 و I20 نیز مورد استفاده قرار گیرند. به عنوان مثال شرایط تنش خشکی و یا شوری، تغییر مقدار مواد آلی خاک، میزان رطوبت، تغییرات ضریب تبادل کاتیونی و غیره نیز بر آن تاثیر دارند.

شباهت بسیار زیاد این دو صفت (ارتفاع و وزن خشک) در پاسخ به دزهای علف‌کش کلروسولفورون را نشان می‌دهد ولی برآزش مدل‌های رگرسیونی بیانگر حساسیت بیشتر وزن خشک نسبت به ارتفاع در پاسخ به دزهای علف‌کش است، به بیان دیگر کاهش وزن خشک اندام هوایی شاهی شاخص بهتری برای شناسایی پسماند علف‌کش کلروسولفورون بود.



شکل ۲- تاثیر دزهای مختلف علف‌کش کلروسولفورون بر وزن خشک گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) شش هفته پس از کاشت. اعداد داخل مستطیل بر روی محور X نشان دهنده I20 (دزی که باعث ۲۰٪ کاهش وزن خشک می‌گردد) می‌باشند. خطوط عمودی روی دایره‌های توپر (مقادیر مشاهده شده)، LSD در سطح ۵٪ را نشان می‌دهد.

جدول ۲- معادلات لجستیک ۴ و ۳ پارامتره برازش داده شده به داده‌های وزن خشک و ارتفاع شاهی، تحت تاثیر دزهای مختلف

علف کش‌های کلروسولفورون

علف‌کش	معادله	I_{20}^* (ppm)	R^2
کلروسولفورون			
وزن خشک	$Y = 0.73 / (1 + \exp(0.46 \cdot \log(X) - \log(0.34)))$	۰/۰۲۳	۰/۹۶
ارتفاع	$Y = 3.34 + ((6.19 - 3.34) / (1 + \exp(0.73 \cdot \log(X) - \log(0.07))))$	۰/۰۴۷	۰/۹۷

* دزی که باعث ۲۰٪ کاهش وزن خشک یا ارتفاع می‌گردد.

** حداکثر کاهش وزن خشک شاهی در دزهای ایمازاتابنز ۱۵٪ بود

یاد شده است (۶). رشد ریشه نیز گاهی برای افزایش دقت و حساسیت مورد ارزیابی قرار گرفته است. از بین خصوصیات ریشه، وزن خشک و طول ریشه بیشترین حساسیت را نشان داده‌اند (۸، ۱۲). در ذرت طول ریشه و در آفتابگردان وزن خشک ریشه حساسیت بیشتری به علف‌کش‌های سولفونیل اوره داشتند (۸). درصد گیاهانی که به گل می‌روند نیز می‌تواند معیار مناسبی برای ردیابی علف‌کش‌ها باشد، چراکه فرایند گل دهی به انرژی زیادی نیاز دارد و کاهش تعداد گل نشان دهنده تاثیر سوء علف‌کش بر گیاه است (۹). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که حساسیت ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی شاهی به کلروسولفورون برای ردیابی سریع و آسان پسماندهای این علف‌کش کفایت می‌کند و می‌توان از این تکنیک در این راستا استفاده کرد. با توجه به اینکه این روش از دقت مطلوب برخوردار است و از طرفی در قیاس با روش‌های دیگر نظیر کروماتوگرافی و HPLC ارزان تر است و عملیات اجرایی نیز راحت و آسان است، در کشور ما کاربرد فراوانی خواهد داشت.

به طور مثال، پاریش و همکاران (۱۹۹۵)، در گیاهان زراعی مختلف مقادیر I_{20} را برای علف‌کش‌های سولفوسولفورون، تریاسولفورون و کلروسولفورون بدست آوردند (۱۲). در این آزمایش نیز از شاخص I_{20} که بعد از I_{50} بیشتر کاربرد دارد، استفاده شد و همان گونه که پیش‌تر بیان شد این شاخص از درجه حساسیت مناسبی برای وزن خشک در مورد کلروسولفورون برخوردار بود. بنابراین واکنش یک گیاه به علف‌کش‌های مختلف، می‌تواند متفاوت باشد و از این رو در اتخاذ زیست‌سنجی به عنوان روشی برای ردیابی بقایای فعال علف‌کش‌ها، می‌بایست این موضوع مد نظر قرار گیرد. در این آزمایش سه صفت جوانه‌زنی، وزن خشک و ارتفاع گیاه مورد بررسی قرار گرفت؛ مسلماً اگر هر یک از صفات فوق فقط به تنهایی به عنوان معیار در نظر گرفته می‌شدند، نتایج حاصله عدم کارایی روش زیست‌سنجی در ردیابی پسماندهای حداقل یکی از علف‌کش‌ها را در پی می‌داشت. ولی اکنون می‌توان به حساسیت کافی این روش در ردیابی علف‌کش‌های فوق اطمینان پیدا کرد. در برخی مطالعات از ارتفاع و وزن تر به عنوان پارامترهای حساس به علف‌کش‌های سولفونیل اوره

منابع

۱. زند ا. و م. ع. باغستانی. ۱۳۸۱. مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۷۷ صفحه.
۲. غدیری ح. ۱۳۸۱. دانش علف‌های هرز (مبانی و روش‌ها). انتشارات دانشگاه شیراز. ۶۷۸ صفحه.
3. Ahrens W.H. 1998. Herbicide Handbook. Weed Science Society of America, 356 p.
4. Gunther P., W. Pestemer, A. Rahman and H. Nordmeyer. 1993. A bioassay technique to study the leaching behaviour of sulfonylurea herbicides in different soils. Weed Research, 33:177-185.
5. Hollway K.L., D.J. Kookan, D.J. McQuin, M.R. Moerkerk, D.M. Noy and M.A. Smal. 1999. Comparison of sulfonylurea herbicide residue detection in soil by bioassay enzyme-linked immunosorbent assay and HPLC. Weed Research, 39:383-397.
6. Junnila S., H. Heinonen-Tanski, L.R. Ervio and P. Laitinen. 1994. Phytotoxicity persistence and microbial effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soils. Weed Research, 34:413-423.
7. Kotoula-Syka E., I.G. Eleftherohorinos and A.G. Sficas. 1993. Phytotoxicity persistence of chlorsulfuron, metsulfuron-methyl, triasulfuron and tribenuron-methyl in three soils. Weed Research, 33:353-367.
8. Landi P.A. and P. Catizone. 1998. Response of maize inbred line and hybrids to chlorsulfuron. Weed Research, 29:265-271.
9. Ortega M., J.L. Alonso-Prados, M. Villarroya and J.M. Garcai-Baudin. 2004. Detection of phytotoxic residues of hexazinone and simazine by a biological test using *Lepidium sativum* L. var. Cresson. Weed Technology, 18:505-508.
10. Rahman A., T.K. James and P. Gunter. 1993. Bioassay of soil applied herbicides. Proceeding International Symposium Indian Society of Weed Science, 1:95-106.
11. Ritz C. and J.C. Streibig. 2005. Bioassay analysis using R. Journal of Statistics Software, 12:1-14.
12. Sevilano E.H., M. Villarroya J.L. Alonso-Prados and J.M. Garcai-Baudin. 2001. Bioassay to detect MON-37500 and traisulfuron residues in soils. Weed Technology, 15:447-452.
13. Smith M.C., D.R. Shaw and D.K. Miller. 2005. In-field bioassay to investigate the persistence of imazaquin and pyriithiobac. Weed Science, 53:121-129.
14. Zimdhal R.C. 1999. Fundamentals of Weed Science. Academic Press, 635 p.