

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	121
II. MATERIALES Y MÉTODOS	123
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	125
IV. CONCLUSIONES	130
V. AGRADECIMIENTOS	130
VI. RESUMEN Y SUMMARY	130
VII. BIBLIOGRAFÍA	131

EFFECTO DE LA TRIFLURALINA SOBRE ALGUNAS PROPIEDADES
BIOLOGICAS DE UN SUELO CULTIVADO CON MANI
(*Arachis hypogaea* L.).

R. P. PONTE; L. del V. OLIVA; M. I. ACOSTA *

I. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

El empleo de productos químicos en la agricultura con el objeto de controlar enfermedades, plagas y malezas con el consecuente incremento en el rendimiento es cada día más intensivo. En el caso particular de estas últimas y con el propósito de reducir al máximo su competencia, es una práctica común en los cultivos de maní (*Arachis hypogaea* L.), la aplicación de herbicidas de presiembra.

Este cultivo reviste gran importancia en la Provincia de Córdoba, por cuanto contribuye con más del 90 % a la producción total de Argentina. Está muy difundido entre los productores de esta oleaginosa en la zona, la aplicación de herbicidas en dosis dobles a las aconsejadas en los marbetes comerciales, desconociéndose sus consecuencias sobre la actividad normal de la microflora de estos suelos. Para ser empleados en la agricultura los pesticidas no deben interferir en el equilibrio biológico del suelo; muchos de ellos son biodegradados lentamente y pueden afectar procesos biológicos de importancia.

* Ings. Agrs. Prof. Adjunto, Jefe de TT. PP. y Ayudante de 1ª Cát., respectivamente, de la Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.

El estudio de este problema se ha intensificado en los últimos años proponiéndose programas de investigación para evaluar su acción y efectos colaterales en la transformación de diversos elementos esenciales, actividad enzimática, dinámica de la microflora del suelo, actividad respiratoria, etc.

La bibliografía consultada sobre el tema indica una gran variabilidad de resultados que dependen del cultivo, producto, dosis y momento de aplicación. Jenkinson y Powlson (1976) analizaron el aumento del metabolismo de un suelo debido a la microflora, luego de ser tratado con diferentes esterilizantes. Otros autores trabajando con Aldrin, Heptacloro y P.C.N.B. (Terraclor) concluyeron que aumentan la actividad nitrogenosa mientras que Vapan y Dazomet la anulan (Brown et al, 1962). Sankaran et al (1974), enunciaron que el Alaclor incrementa la nodulación en raíces laterales de maní con un consecuente aumento en los rendimientos. Ensayos a campo —en cultivo de sorgo— y laboratorio realizados en Río Cuarto, Provincia de Córdoba, (Frioni, 1981), demuestran que aplicaciones de Atrazina, Linurón y 2-4-D amina en dosis normales no afectaron profundamente a la microflora del suelo, mientras que dosis mil veces superiores afectaron algunos grupos funcionales desapareciendo todas las diferencias al final de la experiencia.

Con respecto a la Trifluralina, las pruebas realizadas indican que a concentraciones normales, diez o cien veces superiores, la nodulación, el crecimiento de las plantas, la producción de semillas y la fijación de nitrógeno fueron deprimidas en *Cicer arietinum* (Mishra y Gaur, 1975), mientras que otros autores (Lopes et al, 1971), concluyeron que este herbicida no afecta la nodulación en plantas inoculadas de *Phaseolus vulgaris* c.v. Carioca. Por su parte, Hamdi y Teweik (1969), trabajando con caupí y testando nodulación, actividad de *Azotobacter* y nitrificación concluyeron que cuando se aplicó el día de la siembra, la Trifluralina inhibió nodulación y crecimiento y las estimuló cuando la aplicación se hizo veintisiete días después. *Azotobacter* no fue afectado pero los nitrificadores resultaron muy sensibles a él.

Teniendo en cuenta la falta de uniformidad en los datos bibliográficos sobre el efecto de la Trifluralina en la actividad biológica del suelo, se diseñó esta experiencia para determinar la incidencia de dosis normales y dobles de este producto, aplicadas en presiembra en un cultivo de maní. Con ese objeto se evaluó su efecto sobre la microflora del suelo por recuento de los principales grupos funcionales de microorganismos: celulolíticos aerobios (ciclo del carbono), nitrificadores y fijadores de nitrógeno de vida libre del Género *Azotobacter* (ciclo del nitrógeno);

efecto sobre las cepas nativas de *Rhizobium* mediante análisis de nodulación y actividad biológica global como reflejo de las actividades metabólicas de la microflora total. Finalmente, también se determinó la influencia del herbicida sobre el rendimiento del cultivo de maní.

II. MATERIALES Y METODOS

El ensayo se realizó en la Estación Experimental Agropecuaria Manfredi - (I.N.T.A.), Pcia. de Córdoba, durante las campañas 1977/78 y 1978/79; en suelo cuyas características se presentan en el CUADRO N° 1.

CUADRO N° 1

Características del suelo de la E. E. A. Manfredi

Suelo Haplustol éntico	HORIZONTES		
	Ap	A/C	Cca.
Profundidad (cm)	0 - 23	23 - 53	Más de 53
M.O. (%)	1,9	0,9	0,4
Arcilla (%)	16	12	10
Limo (%)	69	71	73
Arena fina (%)	15	17	17
pH	6,2	7,0	8,2
Ca (m.e./100 gr.)	9,2	10,4	
Mg (m.e./100 gr.)	1,1	1,5	
K (m.e./100 gr.)	2,5	1,7	
Valor T (m.e./100 gr.)	15,0	14,2	
% Saturación	86,0	96,0	
Na (m.e./100 gr.)	0,1	0,1	

El cultivo fue *Arachis hypogaea* L. var. "Colorado irradiado INTA" y se utilizó el diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones, en parcelas de 2,80 m × 10 m. con cuatro surcos espaciados 0,70 m.

Los tratamientos fueron:

1 - Testigo

2 - 1,5 litros/ha. de Trifluralina (E - 44,5 %)

3 - 2,5 litros/ha. de Trifluralina (E - 44,5 %)

El control de malezas en el tratamiento 1 (Testigo) se efectuó en forma manual, encontrándose principalmente: *Portulaca oleracea* L. (Verdolaga), *Amaranthus quitensis* H.B.K. (Yuyo colorado), *Verbesina encelioides* (Cav.) Benth. et Hook (Santa María), *Cucurbita andreana* Naud (Zapallito silvestre), *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop (Pasto cuaresma) y *Echinochloa* spp.

El herbicida se aplicó en el día de la siembra con máquina pulverizadora en las dosis indicadas, incorporándolo con rastra de discos de doble acción hasta una profundidad aproximada de 0,08 m.

La siembra se realizó en época normal para la especie y la zona (9/12/77), con sembradora manual a una distancia entre plantas de 0,10 m., lo que dió una densidad de siembra de 140.000 plantas por hectárea.

Las muestras de suelo (0,10-0,15 m.) se obtuvieron de la mezcla de tres submuestras al azar por parcela, tomadas con barreno de los dos surcos centrales dejando 0,50 m. de cabecera; para analizar nodulación, se tomaron al azar 10 plantas por parcela. Se cosechó a los 110 días el primer año y a los 140 días el segundo año, en una superficie de 14 m² correspondientes a los dos surcos centrales. Las muestras se analizaron una vez llegadas al laboratorio determinándose la humedad para expresar los resultados en peso seco de suelo. En el CUADRO N° 2, se consignan las fechas de muestreo y las características climáticas de los dos ciclos de ensayo.

CUADRO N° 2

CICLO 1977/78

Muestreo	Fecha	Temp.media mensual de aire °C	Temp.media del suelo 0,05m-0,10m	Precipitación mensual mm.	N° días con lluvia
Suelo . . .	9/12/77	21	24,4 – 23,7	362,5	15
Suelo . . .	4/01/78	20,6	24,8 – 24,4	125,7	9
Nodulación.	12/01/78				
Suelo . . .	7/02/78	19,8	25,1 – 23,2	24,7	7
Suelo y nodulación.	9/03/78	18,5	22,5 – 23,7	221,0	13
Cosecha . .	29/03/78				

CUADRO N° 2

(Continuación)

CICLO 1978/79

Muestreo	Fecha	Temp. media mensual de aire °C	Temp. media del suelo 0,05m-0,10m	Precipitación mensual mm.	N° días con lluvia
Suelo . . .	1/12/78	21,5	25,0 – 23,8	166,7	8
Suelo . . .	18/12/78				
Suelo . . .	4/01/79	22,6	26,1 – 25,5	93,5	7
Suelo . . .	6/02/79	21,1	24,8 – 24,1	207,4	10
Nodulación.	8/03/79	18,7	22,2 – 21,8	21,5	6
Suelo . . .	28/03/79				
Cosecha . .	20/04/79	14,5	17,1 – 16,8	93,3	6

Las determinaciones efectuadas fueron:

– Densidades microbianas.

Número de organismos celulolíticos aerobios y nitrificadores en medio selectivo líquido. (Pochon y Tardieux, 1962).

Número de organismos del género *Azotobacter*, por recuento en placa con medio selectivo sólido de Margaret Brown (1962).

– Número de nódulos y peso seco de los mismos (65°C) en diez plantas por parcela.

– Actividad biológica global por evolución de dióxido de carbono en 7 días de incubación a 28°C (Dommergues, 1968).

Se evaluó el rendimiento en grano de las distintas parcelas.

La metodología estadística utilizada en el primer año corresponde a un análisis de perfiles; usándose para corroborar la primera hipótesis H_{01} , el criterio de Wilks; para la segunda, H_{02} una estadística T^2 de Hottelling y para la tercera, H_{03} una estadística F de Snedecor. En el segundo año, se observó una interacción entre fechas y tratamientos por lo que se realizó un análisis de la varianza para cada uno de los casos. Las diferencias se detectaron por Prueba de "F" y Test de Tukey.

III. RESULTADOS Y DISCUSION

En el CUADRO N° 3 se consignan los resultados para el grupo de organismos celulolíticos aerobios. No se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos en el análisis estadístico de la varianza, en ninguno de los dos ensayos.

En ambos ciclos hubo una marcada disminución en el número de microorganismos en el segundo muestreo, lo que coincide con el período de lluvia y temperaturas elevadas. En el primer año de ensayo, en todos los casos, a los sesenta días hubo un incremento de la densidad siendo siempre los valores del testigo superiores a los tratamientos. En el segundo año la dinámica fue similar aunque con una regularidad no tan manifiesta.

CUADRO N° 3

Log₁₀ del número de organismos celulolíticos aerobios por gramo de suelo seco. Promedio de cuatro repeticiones. Ciclos 1977/78 y 1978/79.

Tratamiento	Ciclo 1977/78				Ciclo 1978/79				
	MUESTREO				MUESTREO				
	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Testigo	3,90	3,57	6,93	5,94	5,43	3,89	4,40	4,43	5,54
Treflán									
1,5 l/ha	3,90	2,96	6,04	6,08	5,43	3,89	4,34	5,65	5,30
Treflán									
2,5 l/ha	3,90	3,32	6,64	5,36	5,43	3,43	4,28	4,61	5,52
Prueba de "F"	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = no significativo.

La importancia del grupo de celulolíticos aerobios radica en que la celulosa representa cuantitativamente el componente más importante de la materia orgánica que se incorpora al suelo. Hay opiniones de diferentes autores que señalan a este grupo como sensible a tratamientos con productos químicos, pero habiendo sido realizados durante períodos de tiempo prolongado (LiTse et al, 1978), y con herbicidas diferentes a la Trifluralina (Voets et al 1974; Frioni, 1981).

El proceso de celulolisis en los períodos de alta humedad edáfica se lleva a cabo fundamentalmente por organismos anaerobios; este factor y el escaso aporte de sustrato por parte del cultivo en los primeros muestreos, explica en gran parte la disminución en los valores obtenidos.

Con referencia a los organismos nitrificadores, los datos que se consignan en el CUADRO N° 4 reflejan que en ambos ciclos no se obtuvieron diferencias significativas en el análisis de la varianza.

Se observó cierta regularidad en la densidad de este grupo notándose una disminución en los primeros muestreos posiblemente debido a la escasez de sustrato (1,9 % de materia orgánica en el primer horizonte).

CUADRO N° 4

Log₁₀ del número de organismos nitrificadores por gramo de suelo seco.
Promedio de cuatro repeticiones. Ciclo 1977/78 y 1978/79.

Tratamiento	Ciclo 1977/78				Ciclo 1978/79				
	MUESTREO				MUESTREO				
	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Testigo	5,15	3,30	4,25	3,49	3,54	3,45	4,23	4,08	4,20
Treflán 1,5 l/ha.	5,15	3,45	4,04	4,60	3,54	3,61	4,04	4,23	4,15
Treflán 2,5 l/ha.	5,15	3,68	4,08	3,95	3,54	3,15	3,66	4,11	4,00
Prueba de "F"	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.

n. s. = no significativo

Los nitrificadores constituyen un grupo específico de mucha importancia pues de su actividad mineralizadora depende directamente la disponibilidad de nitratos absorbibles por los cultivos. Los resultados coinciden con los de la bibliografía que señalan que los herbicidas en dosis normales no alteran mayormente el nitrógeno mineral en el suelo (Lewis et al, 1978), aunque Handy (1969) los cita como muy sensible a la Trifluralina.

En el CUADRO N° 5 se consignan las variaciones en el número de fijadores de nitrógeno de vida libre (Género *Azotobacter*) en los distintos muestreos. La dinámica de este grupo no fue afectada durante el primer año por los tratamientos con Trifluralina. Se observó un aumento en la densidad hasta los sesenta días posteriores a la siembra, lo que coincide con un período de altas precipitaciones registradas en este ciclo. El segundo año de ensayos presentó diferencias significativas en dos períodos de muestreo; a los quince y treinta días de la siembra, el tratamiento con 1,5 litros por hectárea sufrió un efecto depresivo con respecto al testigo que desapareció a los sesenta días. Muestrcos posteriores denotaron un aumento regular en todos los trataminetos, también explicable por las mayores precipitaciones.

CUADRO N° 5

Log₁₀ del número de organismos fijadores de nitrógeno de vida libre (Género *Azotobacter*) por gramo de suelo seco. Promedio de cuatro repeticiones. Ciclo 1977/78 y 1978/79.

	Ciclo 1977/78				Ciclo 1978/79				
	MUESTREO				MUESTREO				
Tratamiento	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Testigo	4,00	5,18	7,15	5,73	5,82	5,89 b	5,98 b	6,18	6,85
Treflán 1,5 l/ha.	4,00	5,99	7,32	5,66	5,82	6,15 a	6,38 a	5,93	6,04
Treflán 2,5 l/ha.	4,00	5,00	7,04	5,50	5,82	6,28 a	6,20 a	5,99	6,59
Prueba de "F"	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	+	+	n.s.	n.s.

+ : significativo al 5 %.

n.s.: no significativo.

Test de Tukey = Los resultados que presentan la misma letra no tienen diferencia significativa entre sí al nivel 5 %.

Hay antecedentes que señalan un significativo estímulo en el número de *Azotobacter* luego de tratamientos con herbicidas (Tu, 1978; Voets, et al, 1974), mientras que Audus (1970) puntualiza que se requieren dosis mucho más altas que las normales utilizadas en el control de malezas, para inhibir el crecimiento y metabolismo respiratorio de *Azotobacter*. Se puede inferir de los datos, que el incremento del número en los primeros muestreos puede deberse a la disminución de la competencia con los otros organismos heterótrofos por el material energético, lo que coincide con lo afirmado por Carpio y Merzari (1975).

Cuando el ecosistema suelo-vegetación se altera por la destrucción de la cubierta vegetal a causa de la implantación de un cultivo, hay un incremento de nitrógeno debido a la fijación lo que explica el aumento de densidad en las primeras etapas. Se coincide con la bibliografía en que no hay un efecto inhibitorio sobre *Azotobacter* a pesar de la disminución temporaria en el tratamiento con 1,5 litros por hectárea en el ciclo 1978/79.

Los datos referidos al efecto del herbicida sobre *Rhizobium* spp. se consignan en el CUADRO N° 6. No se observaron diferencias significativas en el análisis de la varianza.

Estos resultados no coinciden con los obtenidos por otros autores que indican que serían inhibidos por los herbicidas, al igual que el creci-

miento (Hamdi et al, 1969, Mishra, 1975), aunque hay otros factores como materia orgánica, pH y tipo de suelo que pueden alterar estos resultados y no siempre son tenidos en cuenta.

CUADRO N° 6

Nodulación: número y peso seco de nódulos por planta (gr.) Promedio de diez plantas. Ciclo 1977/78 y 1978/79.

	Ciclo 1977/78				Ciclo 1978/79	
	Muestreos 30 días		90 días		Muestreo 90 días	
Tratamiento	Nº	P.s.	Nº	P.s.	Nº	P.s.
Testigo	48	0,23	109	0,63	157	1,44
Treflán 1,5 l/ha.	25	0,15	103	0,50	184	1,20
Treflán 2,5 l/ha.	38	0,22	91	0,59	194	1,05
Prueba de "F"	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = no significativo.

La determinación de dióxido de carbono traduce los fenómenos de oxidación biológica reflejando la actividad global de los microorganismos del suelo. En el presente ensayo no se detectaron diferencias significativas por la aplicación de Trifluralina sobre esta actividad. Los datos se consignan en el CUADRO N° 7. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Lewis (1978) con 25 herbicidas o combinaciones de ellos en suelos arcillosos en laboratorio y por Frioni (1981). Hay una leve disminución temporaria en los primeros muestreos, debido quizás a las alteraciones en el equilibrio biológico de la microflora durante la preparación del terreno para la siembra. A posteriori, tiende a bajar nuevamente cuando ocurren los cambios estacionales al final de ciclo del cultivo.

CUADRO N° 7

Evolución del dióxido de carbono: mg.CO₂/7 días/100 gr. suelo seco. Promedio cuatro repeticiones Ciclo 1978/79

Tratamiento	Muestreo				
	1	2	3	4	5
Testigo	221	111	87	129	60
Treflán 1,5 l/ha	221	93	171	109	51
Treflán 2,5 l/ha	221	104	62	99	48
Prueba de "F"	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = no significativo.

Con respecto a los rendimientos del cultivo, los resultados consignados en el CUADRO N° 8 no demostraron diferencias significativas en ninguno de los dos ciclos.

CUADRO N° 8

Rendimiento en kg/ha (fruto y grano). Ciclos 1977/78 y 1978/79

Tratamiento	Ciclo 1977/78		Ciclo 1978/79	
	Fruto	Grano	Fruto	Grano
Testigo	1.484	1.098	1.378	978
Treflán 1,5 l/ha.	1.364	1.009	1.312	932
Treflán 2,5 l/ha.	1.268	919	1.437	1.026
Prueba de "F"	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = no significativo.

IV. CONCLUSIONES

En general, se puede concluir afirmando que la Trifluralina en dosis normales y dobles a las recomendadas comercialmente, no afectaron ninguno de los parámetros estudiados de la microflora ni el rendimiento del cultivo del maní.

V. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Est. Nidia B. de BONGIOVANNI y al Ing. Agr. Raúl MACHIAVELLI, por el análisis estadístico de los datos; a la Dra. Lilian FRIONI y a la Bióloga Adriana ABRIL por sus numerosas y valiosas sugerencias y a la Sección maní de la E. E. A. Manfredi, (INTA) por la colaboración en la siembra de los ensayos.

VI. RESUMEN

Se analizó el efecto de la aplicación de Trifluralina en dosis normales y dobles sobre ciertas propiedades biológicas del suelo, en la zona de Manfredi, Pcia. de Córdoba (Argentina) cultivado con maní y diseño de bloques al azar. Se evaluó la densidad de los grupos de microorganismos celulíticos aerobios, fijadores de nitrógeno de vida libre (Género *Azotobacter*) y nitrificadores; efecto sobre nodulación, actividad biológica global y rendimiento del cultivo. El análisis estadístico no presentó diferencias significativas. Se concluyó que la Trifluralina en dosis normales y dobles a las recomendadas comercialmente, no afectó a ninguno de los parámetros estudiados de la microflora ni el rendimiento del cultivo del maní.

SUMMARY

The purpose was to analyze the effect of Trifluralina at normal or double dosis, on the biological properties of soil in the area of Manfredi, Provincia de Córdoba, Argentina, where groundnut is cultivated following a random parcels design. Density of aerobic celulolitic microorganisms, nitrogen-fixing (gen. *Azotobacter*) and nitrifying bacteria, effect on nodulation, on the overall biological activity and on the yield of crop, were evaluated. Statistical analysis did not show significant differences. So the conclusion was that Trifluralina at normal dosis, or double dosis to those recommended commercially, does not affect any of parameters studied in relation to the microflora or the yield of crop in groundnut farming.

VII. BIBLIOGRAFIA

- AUDUS, L. J. 1970. The action of herbicides and pesticides on the microflora. Meded. Rijksfac. Landbouwwet. Gent. 35. 465-492.
- BROWN, M. B.; S. K. BURLINGHAM y R. M. JACKSON. 1962. Studies on *Azotobacter* species in soil. I - Comparison of media and techniques for counting *Azotobacter* in soil. Plant and Soil. 17: 309-319.
- CARPIO, D. y A. MERZARI. 1975. Efectos de distintos pesticidas y biocidas sobre la medición de la actividad nitrogenasa en suelos agrícolas. "VII Reunión Argentina de la Ciencia del Suelo". Bahía Blanca. Argentina.
- DOMMERMUES, Y. 1968. Degagement tellurique du CO₂. Mesure et signification. Ann. Inst. Pasteur. 115: 627-656.
- FRIONI, L. 1981. Efecto de Atrazina, Linurón y 2-4-D amina sobre algunas propiedades biológicas de un suelo. Revista Argentina de Microbiología. Vol. 13 n° 1.
- HAMDI, Y. A. y M. TEWEIK. 1969. Effect of the herbicide Trifluralina on nitrogen fixation in *Rhizobium* and *Azotobacter* and on nitrification. Acta microbiol. Pol. 1969. B. I. (18) 537.
- LEWIS, J. A.; G. C. PAPAVIDAS; T. S. HORA. 1978. Effect of some herbicides on microbial activity in soil. Soil Biol. Biochem 10(2): 137-141.
- LI-TSE, O; J. M. DAVIDSON y D. F. ROTHWELL. 1978. Response of soil microflora to high 2,4-D applications. Soil Biol. Biochem. 10 (5): 443-445.
- LOPES, E. S. et al. 1971. Influence of the herbicides EPTC and Trifluralin and of inoculation of seeds with *Rhizobium phaseoli* on nodulation and yield of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Bragantia (1971) 20 (11): 109-106. Seção de Fertilidades do Solo, Instituto Agronômico do Estado de São Paulo, Campinas. Brazil.
- MISHRA, K. C. A. C. GAUR. 1975. Influence of Treflán, Lindane and Ceresun on different parameters of symbiotic nitrogen fixation and yield in *Cicer arietinum*. Zentralblatt für Bacteriologie, Parasitenkunde Infektionskrankheiten Abteilung, 130 (6) 598-602. IARI, New Delhi. India.
- MORRISON, D. F. 1976. Multivariate statistical methods. 2ª ed. McGraw Hill, New York.
- POCHON, J. y P. TARDIEUX. 1962. Techniques d'analyses en Microbiologie du sol. Paris. Ed. de la Tourelle. Saint Mandé.
- POWLSON, D. y D. S. JENKINSON. 1976. The effects of biocidal treatments in metabolism in soil. Soil Biol. Biochem. Vol. 8. Pergamon. Press-Great Britain.
- SANKARAN, S. et al. 1974. Effect of alachlor on nodulation and yield of groundnut. Madras Agricultural Journal. 61 (9): 817-819. Tamil Nadu Agric. Univ. Coimbatore, Tamil Nadu, India.
- SOKAL, R. R. y F. J. ROHLF. 1979. Biometría Ed Blume - Madrid.

- STEEL, R. G. D. and J. H. TORRIE. 1960. Principles and Procedures of statistics McGraw Hill. New York.
- TU, C. M. 1978. Effect of pesticides on acetylene reduction and microorganisms in a sandy loam. Soil. Biol. Biochem. 10 (6): 451-456.
- VOETS, J. P.; P. MEERSCNMAN; W. VERSTRAETE. 1974. Soil microbiological and biochemical effects of long term atrazine applications. Soil Biol. Biochem. 6 (3): 149-152.