

“Persistencia de herbicidas residuales de la familia de la Acetolactato Sintasa (ALS) y su incidencia en la productividad de cultivos sensibles en la rotación en sistemas agrícolas del NO bonaerense”

Tesis presentada para optar el título de *Magister Scientiae* de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata.

Ing. Agr. Martín Ángel Principiano



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales

Director

Dr. (MSci.). Ing. Agr. Horacio A. Acciaresi

Jurado

Dr. (MSci.) Ing.
Agr. Francisco
Bedmar

Ing. Agr. (MSci.)
Mario Raúl Vigna

Dr. Ing. Agr. Julio
Scursoni

22 de noviembre de 2019

DEDICATORIA

A Irina, por su apoyo permanente e incondicional.

AGRADECIMIENTOS

El primer agradecimiento es para Horacio A. Acciaresi por haberme guiado y acompañado en esta etapa con toda su experiencia profesional y calidad humana. La paciencia, el detalle, la seriedad en su proceder, la honestidad, la sinceridad en las palabras son algunas de las cosas que me quedan de las tantas charlas que hemos tenido. Ha sido para mí un período de mucho aprendizaje. Horacio, estaré siempre agradecido. Esta etapa me deja entre muchas cosas, un amigo.

A toda mi familia, Irina, Alicia, mis padres (Ismael y Alejandrina) y mis cuñados (Flor y Fede) que han estado para lo que necesité sin importar el día y horario. Debo agradecer especialmente a mis padres y Alicia quien me han ayudado muchísimo en el transcurso de esta linda etapa que ha llegado a su fin.

A la familia Hernández (Raúl, Liliana, Pablo y Patricia), platenses que me han abierto las puertas de sus casas en un momento económico crítico para mí. Prácticamente sin conocerme me brindaron todo y más. Siempre estaré agradecido por ello. Cualquier cosa que haga con el fin de agradecerles no alcanzará.

Finalmente, a mis compañeros de trabajo de malezas INTA Pergamino, Gabriel, Victoria, Eugenia y Marcelo. Para mí un orgullo ser parte del grupo y espero que lo mismo sientan ustedes.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
RESUMEN	II
ABSTRAC	III
LISTADO DE TABLAS	IV
LISTADO DE FIGURAS	V
ABREVIATURAS	VI
1. PLANTEO TEÓRICO	1
1.1. Hipótesis	2
1.2. Objetivo general	3
1.3. Objetivos específicos	3
1.4. Estructura de la tesis	4
2. LOS HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ENZIMA ALS EN LOS SISTEMAS AGRÍCOLAS EXTENSIVOS	6
2.1. Clasificación y modo de acción	6
2.2. Características de los activos herbicidas utilizados	7
2.2.1. <i>Imazetapir (C₁₅H₁₉N₃O₃)</i>	7
2.2.2. <i>Metsulfurón (C₁₄H₁₅N₅O₆S)</i>	7
2.2.3. <i>Clorsulfurón (C₁₂H₁₂ClN₅O₄S)</i>	7
2.2.4. <i>Clorimurón (C₁₅H₁₅ClN₄O₆S)</i>	7
2.2.5. <i>Diclosulam (C₁₃H₁₀Cl₂FN₅O₃S)</i>	8
2.3. Persistencia edáfica de herbicidas residuales inhibidores de la ALS	8
2.4. Interacción por aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS	10
2.5. Persistencia y efecto sobre cultivos sensibles que continúan en la rotación 11	
2.6. Factores que afectan la residualidad de herbicidas en el suelo	12
2.6.1. <i>Propiedades edáficas</i>	12
2.6.2. <i>Condiciones climáticas</i>	13
2.6.3. <i>Propiedades del herbicida</i>	13
2.7. Análisis de herbicidas en el suelo mediante bioexperimentos	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	16

3.1. Residualidad por aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja y colza	16
3.1.1. <i>Estudio en campo</i>	16
3.1.2. <i>Estudio mediante bioexperimentos</i>	20
3.2. Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS mediante la realización de bioensayos	21
3.2.1. <i>Bioexperimentos en girasol</i>	21
<i>Determinación del tipo de interacción generada</i>	22
3.3. Determinación de la persistencia edáfica de herbicidas residuales ALS	23
3.3.2. <i>Bioexperimentos en soja</i>	23
3.4. Análisis estadístico	24
3.4.1. <i>Estudio en campo</i>	24
3.4.2. <i>Estudio mediante bioensayos</i>	24
4. RESULTADOS	26
4.1. Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja y colza	26
4.1.1. <i>Características climáticas durante el periodo que duró el experimento en campo</i>	26
4.1.2. <i>Estudio en campo</i>	29
4.1.2.1. Soja.....	29
4.1.2.2. Colza.....	34
4.1.3. <i>Estudio mediante bioexperimentos</i>	38
4.1.3.1. Soja.....	38
4.1.3.2. Colza.....	40
4.2. Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS	42
4.2.1. <i>Variables climáticas medidas para el periodo 2017-18</i>	42
4.2.2. <i>Bioexperimentos en girasol</i>	43
4.3. Persistencia fitotóxica de herbicidas residuales ALS sobre el cultivo de soja	47
4.3.2. <i>Bioexperimentos en soja</i>	47
5. Discusión	52
6. Conclusiones	623
7. Literatura citada	67

RESUMEN

El conocimiento de la persistencia de herbicidas residuales en el suelo en esquemas de control químico de malezas es importante de cara a racionalizar su uso y minimizar el impacto ambiental de su utilización. A pesar del amplio uso de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS en los sistemas agrícolas del noroeste (NO) bonaerense, es escaso el conocimiento acerca de la persistencia y los efectos de la aplicación en secuencia sobre los cultivos de la rotación. El objetivo general de esta tesis fue detectar y cuantificar la persistencia de herbicidas residuales de la familia de la Acetolactato Sintasa (ALS) y su incidencia en la productividad de cultivos de soja (*Glycine max* L.) y colza (*Brassica napus* L.) en el NO bonaerense, con el fin de racionalizar su uso y morigerar sus efectos en el tiempo. Los aspectos estudiados en esta tesis se dividieron en tres secciones. Así, la primera sección abarcó aspectos relacionados al estudio en campo y mediante bioexperimentos del efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS (metsulfurón, 60 %, 10 g.p.f.ha⁻¹; metsulfurón/clorsulfurón, 12,5 %/ 62,5 %, 15 g.p.f.ha⁻¹; imazetapir, 10 %, 1000 cc.p.f.ha⁻¹; clorimurón, 25 %, 80 g.p.f.ha⁻¹; diclosulam, 84 %, 30 g.p.f.ha⁻¹) sobre el cultivo de soja y colza. En la segunda sección, se estudió mediante la realización de bioexperimentos con girasol (*Helianthus annuus* L.), el tipo de interacción generada (aditiva, sinérgica o antagónica) por efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS (metsulfurón, 60 %, 10 g.p.f.ha⁻¹; imazetapir, 10 %, 1000 cc.p.f.ha⁻¹; clorimurón, 25 %, 80 g.p.f.ha⁻¹; diclosulam, 84 %, 30 g.p.f.ha⁻¹) que pudieran potenciar la residualidad sobre los cultivos sensibles que continúen en la rotación. Por último, en la tercera sección se determinó la residualidad fitotóxica de diferentes ingredientes activos herbicidas inhibidores de la ALS (metsulfurón, 60 %, 10 g.p.f.ha⁻¹; metsulfurón/clorsulfurón, 12,5 %/ 62,5 %, 15 g.p.f.ha⁻¹) sobre el cultivo de soja mediante la realización de bioexperimentos para las condiciones edafoclimáticas de la región NO bonaerense. Los resultados obtenidos indican que la superposición de herbicidas residuales inhibidores de la ALS aplicados durante el periodo de barbecho químico previo a la siembra del cultivo de soja, no afectó el establecimiento, el crecimiento, el desarrollo y la producción en grano del cultivo de soja que siguió en la rotación. Las propiedades edáficas del sitio experimental y las condiciones de precipitaciones ocurridas durante el período experimental luego de la aplicación de los herbicidas residuales ALS, permiten inferir que favorecieron la

disipación de los mismos con lo que no se generó un efecto fitotóxico sobre el cultivo de colza que continuo en la rotación. Los bioexperimentos permitieron detectar concentraciones biológicamente activas de herbicidas residuales ALS en el suelo. No obstante, los resultados obtenidos mediante los bioexperimentos no coincidieron con las respuestas del cultivo de soja en campo. La interacción generada por la acumulación de ingredientes activos de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS en el suelo fue de tipo aditiva. El tiempo necesario entre la aplicación de metsulfurón y la ausencia de fitotoxicidad en soja fue de 60 días, mientras que para metsulfurón/clorsulfurón, el tiempo necesario fue 120 días. Los resultados obtenidos en esta tesis brindan información acerca de la persistencia de herbicidas ALS en un suelo del NO de la provincia de Buenos Aires y cómo la aplicación en secuencia de herbicidas residuales del grupo de los ALS incide en el comportamiento de los cultivos en rotación agrícola en la región.

Palabras claves: malezas, residualidad, fitotoxicidad, apilamiento, bioexperimentos.

ABSTRAC

The knowledge of the persistence of residual herbicides in the soil in chemical weed control schemes is important to rationalize their use and minimize the environmental impact of their use. Despite the extensive use of residual herbicides inhibitors of the ALS enzyme in the agricultural systems of the northwest (NW) of Buenos Aires, knowledge about the persistence and the effects of sequential application on rotation crops is scarce. The general objective of this thesis was to detect and quantify the persistence of residual herbicides of the Acetolactate Sintasa family (ALS) and its incidence on the productivity of soya (*Glycine max* L.) and rape (*Brassica napus* L.) crops in the NW of Buenos Aires, in order to rationalize its use and to moderate its effects over time. The aspects studied in this thesis were divided into three sections. Thus, the first section covered aspects related to the field and bioexperiments study of the effect of the sequential application of residual herbicides inhibitors of ALS (metsulfuron, 60%, 10 g.p.f.ha⁻¹, metsulfuron / chlorsulfuron, 12.5% / 62.5% , 15 g.p.f.ha⁻¹, imazetapyr, 10%, 1000 cc.p.f.ha⁻¹, chlorimuron, 25%, 80 g.p.f.ha⁻¹, diclosulam, 84%, 30 g.p.f.ha⁻¹) on the cultivation of soybean and rapeseed. In the second section, it was studied through the realization of bioexperiments with sunflower (*Helianthus annus* L.), the generated type of interaction (additive, synergistic or antagonistic) due to the sequential application of residual herbicides inhibitors of ALS (metsulfuron, 60%, 10 g.p.f.ha⁻¹, 15 g.p.f.ha⁻¹, imazetapyr, 10%, 1000 cc.p.f.ha⁻¹, chlorimuron, 25%, 80 g.p.f.ha⁻¹, diclosulam, 84%, 30 g.p.f.ha⁻¹) that could enhance the residual on sensitive crops that continue in the rotation. Finally, in the third section the phytotoxic residuality of different residual herbicidal active ingredients ALS (metsulfuron, 60%, 10 g.p.f.ha⁻¹, metsulfuron / chlorsulfuron, 12.5% / 62.5% , 15 g.p.f.ha⁻¹) was determined on the soybean crop by performing bioexperiments for edaphoclimatic conditions of the NO region of Buenos Aires. The results obtained indicate that the superposition of residual ALS herbicides applied during the period of chemical fallow prior to the planting of the soybean crop, did not affect the establishment, growth, development and grain production of the soybean crop that followed in the rotation. The edaphic properties of the experimental site and the climatic conditions that occurred during the experimental period after the application of the residual ALS herbicides, allow to infer that they favored the dissipation of the same, which did not generate a phytotoxic effect on the rapeseed crop that continued in the rotation. The bioexperiments allowed to detect biologically active concentrations of residual ALS

herbicides in the soil. However, the results obtained through the bioexperiments did not coincide with the responses of soybean cultivation in the field. The interaction generated by the accumulation of active ingredients of residual herbicides inhibitors of the ALS enzyme in the soil was of the additive type. The time required between the application of metsulfuron and the absence of phytotoxicity in soybeans was 60 days, while for metsulfuron / clorsulfuron, the time required was 120 days. The results obtained in this thesis provide information about the persistence of ALS herbicides in a soil of the NO of the province of Buenos Aires and how the sequential application of residual herbicides of the ALS group affects the behavior of crops in agricultural rotation in the region.

Keywords: weeds, residuality, phytotoxicity, stacking, bioexperiments.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de los ingredientes activos herbicidas utilizados.....	8
Tabla 2. Tratamientos de herbicidas residuales y fechas de aplicación en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramalo.....	17
Tabla 3. Escala de evaluación de fitotoxicidad europea utilizada.....	18
Tabla 4. Esquema de tratamientos de herbicidas residuales aplicados en un suelo Serie Ramallo para determinar el tipo de interacción generada por los residuos edáficos en girasol.....	21
Tabla 5. Número de plantas emergidas por metro cuadrado y altura hasta el brote terminal (cm) en el cultivo de soja en diferentes etapas fenológicas de soja para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	30
Tabla 6. Número de nódulos por planta en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS), peso seco (PS) total de nódulos por planta, peso seco (PS) de raíces, nodulación específica (g nódulos/ g raíz) para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	30
Tabla 7. Fitotoxicidad visual (%) y materia seca aérea (MSA) del cultivo de soja en distintos estados fenológicos para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo	31
Tabla 8. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC), radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi), eficiencia de uso de la radiación (EUR) durante el periodo de plena floración (R_2) y máximo tamaño de granos (R_6) para cada uno de los tratamientos herbicidas y el control sin herbicidas residuales en el cultivo de soja en un suelo Serie Ramallo.....	33
Tabla 9. Número de granos por metro cuadrado ($NG\ m^{-2}$), peso de mil granos (P1000) y producción en grano ($kg\ ha^{-1}$) para cada uno de los tratamientos herbicidas y el control sin herbicidas residuales en el cultivo de soja en un suelo Serie Ramallo.....	33
Tabla 10. Número de plantas emergidas por metro cuadrado y altura hasta el brote terminal (cm) en el cultivo de colza para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto del cultivo de soja en un suelo Serie Ramallo.....	34
Tabla 11. Fitotoxicidad visual (%) y materia seca aérea (MSA) del cultivo de colza en distintos estados fenológicos para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en soja en un suelo Serie Ramallo.....	35

Tabla 12. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC), radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi), eficiencia de uso de la radiación (EUR) en colza durante el periodo de floración (F ₁) y silicuas de más de cuatro centímetros de largo (G ₄) para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	37
Tabla 13. Número de granos por metro cuadrado (NG m ⁻²), peso de mil granos (P1000) y producción en grano en colza para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	37
Tabla 14. Materia seca aérea (gramos) de soja para cada tratamiento aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo y para cada fecha de muestreo.	39
Tabla 15. Materia seca radical (gramos) de soja para cada tratamiento aplicados en un suelo serie Ramallo y para cada fecha de muestreo.....	40
Tabla 16. Longitud de raíz principal (cm) de colza para cada tratamiento aplicado en un suelo serie Ramallo y para cada fecha de muestreo.....	41
Tabla 17. Materia seca aérea (gramos) en girasol observada y predicha (calculada) para cada combinación de herbicidas residuales ALS aplicados en un suelo Serie Ramallo.....	45
Tabla 18. Materia seca radical (gramos) en girasol observada y predicha (calculada) para cada combinación de herbicidas residuales ALS aplicados en un suelo Serie Ramallo.....	46
Tabla 19. Longitud de raíz principal (cm) de soja para cada herbicida y para cada fecha de muestreo en 2017 aplicados en un suelo serie Ramallo.....	48
Tabla 20. Longitud de raíz principal (cm) de soja para cada tratamiento y para cada fecha de muestreo en 2018 aplicados en un suelo serie Ramallo.....	48
Tabla 21. Parámetros a y b del modelo propuesto de efectos del momento de muestreo sobre las variables longitud de raíz principal (LRP), materia seca aérea (MSA) y materia seca radical (MSR).....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de trabajo abordado en el marco teórico y experimental del estudio.....	5
Figura 2. Precipitación mensual (mm) para el periodo agosto 2016-octubre 2017.....	27
Figura 3. Precipitación acumulada (mm) para el período agosto 2016-octubre 2017.....	27
Figura 4. Precipitación, evaporación y balance hídrico mensual acumulado (mm) durante el periodo que duró el experimento en campo.....	28
Figura 5. Temperatura mínima (T° mín), media (T° med) y máxima (T° máx) mensual (°C) para el período agosto 2016-noviembre 2017.....	28
Figura 6. Materia seca aérea (MSA) del cultivo de soja bajo doce tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo Serie Ramallo.....	31
Figura 7. Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi) del cultivo de soja en función del estado fenológico para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	32
Figura 8. Materia seca aérea (MSA) del cultivo de colza bajo doce tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo Serie Ramallo.....	35
Figura 9. Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi) del cultivo de colza en función del estado fenológico bajo once tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo Serie Ramallo.....	36
Figura 10. Longitud de la raíz principal (LRP) relativa para cada momento de muestreo y para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo.....	38
Figura 11. Precipitación mensual (mm) para el periodo agosto-diciembre 2017 y agosto-diciembre 2018.....	42
Figura 12. Precipitación acumulada (mm) para el período agosto-diciembre 2017 y agosto-diciembre 2018.....	42
Figura 13. Precipitación, evapotranspiración y balance hídrico mensual acumulado (mm) durante el periodo que duró el experimento en campo en 2017 y 2018.....	43
Figura 14. Temperatura mínima, media y máxima mensual (°C) para el período agosto-diciembre 2017 y 2018.	43
Figura 15. Proporción de longitud de raíz principal en girasol relativa observada y predicha (calculada) para cada combinación de herbicidas residuales ALS aplicados en un suelo Serie Ramallo del partido de San Nicolás durante los años 2017 y 2018.....	44
Figura 16. Valores observados y valores predichos de acuerdo con el modelo de regresión no lineal de longitud de raíz principal (LRP), materia seca aérea (MSA)	

y materia seca radical (MSR) en soja para metsulfurón en 2017 y 2018, aplicados en un suelo Serie Ramallo.....50

Figura 17. Valores observados y valores predichos de acuerdo al modelo de regresión no lineal de longitud de raíz principal (LRP), materia seca aérea (MSA) y materia seca radical (MSR) en soja para metsulfurón/clorsulfurón en 2017 y 2018, aplicados en un suelo Serie Ramallo.....51

ABREVIATURAS

- ALS: Acetolactato sintasa
- B₆: Seis hojas verdaderas desarrolladas en colza
- BQL: Barbecho químico largo
- BQC: Barbecho químico corto
- CG: Cromatografía de gases
- CIC: Capacidad de intercambio catiónico
- Clori: Clorimurón
- Conc: Concentración del activo en porcentaje
- DDA: Días desde la aplicación
- DDE: Días desde la emergencia
- Diclo: Diclosulam
- DDS: Días desde la siembra
- DT₅₀: Vida media
- EUR: Eficiencia en el uso de la radiación
- F₁: Floración en colza
- FBN: Fijación biológica de nitrógeno
- G₁: Caída de pétalos, silicuas de 2 centímetros de largo
- G₄: Silicuas de más de cuatro centímetros de largo en colza
- g.i.a.ha⁻¹: Gramos de ingrediente activo por hectárea
- g.m⁻²: Gramos por metro cuadrado
- g Mj⁻¹: Gramos por megajoule
- g.mol⁻¹: Gramos por mol
- g.m⁻² día⁻¹: Gramos por metro cuadrado por día
- g MS m⁻²: Gramos de materia seca por metro cuadrado
- g.p.f.ha⁻¹: Gramos de producto formulado por hectárea
- GUS: Índice de lixiviación de Gustafson
- HPLC: Cromatografía líquida de alta presión
- Imaz: Imazetapir
- K_{oc}: Coeficiente de adsorción
- LRP: Longitud de raíz principal
- Mj m⁻².día⁻¹: Megajoule por metro cuadrado por día
- Met: Metsulfurón

Met/Clors: Metsulfurón/Clorsulfurón
mg l⁻¹: Miligramos por litro
MO: Materia orgánica
mPa: Megapascal
MSA: Materia seca aérea
MSR: Materia seca radical
N₂: Nitrógeno molecular
NH₄: Nitrógeno amoniacal
NG m⁻²: Número de granos por metro cuadrado
P1000: Peso de mil granos
p.f.: Producto formulado
pKa: Coeficiente de partición iónica
PS: Peso seco
R₁: Inicio de floración
R₂: Plenitud en la floración
R₃: Inicio de formación de vainas
R₄: Vainas completamente desarrolladas
R₅: Inicio de llenado de granos
R₆: Semillas completamente desarrolladas
RFAi: Radiación fotosintéticamente activa interceptada
RP: Raíz principal
RS: Raíces secundarias
STS: Sojas tolerantes a herbicidas sulfonilureas
TCC: Tasa de crecimiento del cultivo
V_c: Grupo de maduración de soja cinco corto
V₁: Primer nudo en soja
V₆: Sexto nudo en soja

1. PLANTEO TEÓRICO

Los sistemas de producción de cultivos extensivos del noroeste (NO) de la provincia de Buenos Aires están caracterizados, generalmente, por un sistema de labranza cero (siembra directa), la utilización de cultivares de soja resistentes al herbicida glifosato y el uso intensivo de este principio activo (Frene, 2014). En ausencia de labranzas, las labores mecánicas destinadas al control de malezas se reemplazan por herbicidas (Frene, 2014). Es por ello, que en estos sistemas es necesaria la realización de barbechos químicos previo a la siembra del cultivo que continua en la rotación (Reddy *et al.*, 1999). El barbecho químico es la etapa que precede al cultivo e incluye el periodo comprendido entre el primer tratamiento con herbicidas posterior a la cosecha del cultivo antecesor y la siembra del cultivo sucesor en la rotación (Norris, 1996). La base del control químico en el barbecho está constituida por herbicidas no selectivos (ej.: glifosato o paraquat), acompañados por herbicidas de acción hormonal (ej.: 2,4 D, picloram, dicamba, fluroxipir) y compuestos de acción residual (Frene, 2014).

Dentro de los herbicidas residuales empleados en el período de barbecho químico, los herbicidas inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS) son los más utilizados por su efectividad en el control de malezas, bajo costo y media a larga persistencia en el suelo (Brown, 1990). La existencia de cultivos resistentes a herbicidas ALS, las bajas dosis de aplicación y la baja toxicidad en mamíferos contribuyeron a realizar un uso excesivo de estos herbicidas (Brown, 1990; Vencill, 2002). Bajo determinadas condiciones edafoclimáticas algunos herbicidas inhibidores de la ALS (o sus metabolitos), pueden persistir en el suelo en las siguientes estaciones de crecimiento (Cantwell *et al.*, 1989; Goetz *et al.*, 1990; Hill *et al.*, 1998). Esta persistencia prolongada puede potencialmente dañar a los cultivos sensibles que continúan en la rotación (Loux *et al.*, 1989; Barnes y Lavy, 1991; Monks y Banks, 1991; Kotoula-Syka *et al.*, 1993a; Kotoula-Syka *et al.*, 1993b; Junnila *et al.*, 1994; Moyer, 1995; Moyer y Esau, 1996; Onofri, 1996; Cobucci *et al.*, 1998; O'Sullivan *et al.*, 1998; Battaglin *et al.*, 2000; Moyer y Hamman, 2001; Alonso-Prados *et al.*, 2002; Alister y Kogan, 2005; Schoenau *et al.*, 2005; Poienaru y Sarpe, 2006; Szmigielski *et al.*, 2011; Bedmar y Gianelli, 2014).

A su vez, un aspecto que cobra cada vez más importancia es la superposición o apilamiento (“stacking”) de herbicidas en el suelo por el uso continuado (Shaw y Wixson, 1991; Moyer y Hamman, 2001; Johnson *et al.*, 2005; Geisel, 2007; Robinson, 2008). Este apilamiento puede incrementar paulatinamente los problemas de persistencia que pueden resultar en situaciones de fitotoxicidad aditiva (el efecto del apilamiento de dos o más

herbicidas es similar a la suma de sus efectos individuales) o sinérgica (el efecto del apilamiento de dos o más herbicidas es superior a la suma de sus efectos individuales) sobre los cultivos de la rotación (Nash, 1981; Johnson *et al.*, 2005).

El conocimiento de la persistencia de herbicidas residuales en el suelo en esquemas de control químico de malezas es importante de cara a racionalizar su uso y minimizar el impacto ambiental de su utilización. Los periodos de residualidad varían en función del herbicida, el tipo de suelo, las condiciones climáticas post-aplicación y la sensibilidad de la especie considerada (Gianelli *et al.*, 2011; Bedmar y Gianelli, 2014). Por tal motivo, los valores determinados de persistencia pueden variar sustancialmente entre regiones, años y cultivos, por lo que es de fundamental importancia generar información para cada región en donde se pretenda establecer la persistencia de un herbicida en el ambiente (Bedmar y Gianelli, 2014).

A pesar del amplio uso de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS en los sistemas agrícolas del NO bonaerense, es escaso el conocimiento acerca de la persistencia y los efectos de la aplicación en secuencia sobre los cultivos de la rotación.

En este contexto, resulta importante determinar la persistencia y cómo la aplicación en secuencia de herbicidas residuales del grupo inhibidores de la ALS incide en el comportamiento de los cultivos en rotación agrícola en la región, a fin de racionalizar su uso regional.

1.1. En base al planteo teórico establecido se proponen las siguientes **hipótesis:**

A. La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS previo a la siembra del cultivo de soja (*Glycine max* L.) genera efectos fitotóxicos que afectan el establecimiento, crecimiento y producción de grano sobre el cultivo de soja que continúa en la rotación.

Predicción: La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS en barbecho químico disminuye el número de plantas emergidas, crecimiento y producción en grano del cultivo de soja.

B. La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS durante el período de barbecho (previo a la siembra de soja) afecta los cultivos sensibles sembrados un año después que suceden en la rotación.

Predicción: La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS en barbecho químico de soja disminuye el número de plantas emergidas, crecimiento y producción en grano del cultivo de colza sembrado un año después de la aplicación.

C. La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS produce interacciones entre los residuos generados por los mismos.

Predicción: La interacción producida por la acumulación de activos residuales ALS en el suelo es de tipo aditiva.

1.2. Objetivo general

Detectar y cuantificar la persistencia de herbicidas residuales de la familia de la Acetolactato Sintasa (ALS) y su incidencia en la productividad de cultivos de soja y colza en el NO bonaerense, con el fin de racionalizar su uso y morigerar sus efectos en el tiempo.

1.3. Objetivos específicos

- A. Determinar el efecto de la aplicación en secuencia de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS (durante el período de barbecho químico), sobre el establecimiento, crecimiento y producción de grano de soja en lotes productivos del NO Bonaerense.
- B. Evaluar el efecto de la aplicación en secuencia de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS (pulverizados durante el barbecho químico previo al cultivo de soja de primera), sobre el establecimiento, crecimiento y producción de grano de colza sembrada luego de la cosecha del cultivo de soja de primera.
- C. Determinar la eficiencia del uso de bioexperimentos como metodología de diagnóstico de residuos herbicidas inhibidores de la enzima ALS a los efectos de corroborar los resultados obtenidos en condiciones de campo.
- D. Determinar mediante la realización de bioexperimentos si la presencia de residuos de herbicidas residuales ALS genera efectos fitotóxicos interactivos aditivos, sinérgicos o antagónicos que potencien la residualidad sobre los cultivos de la rotación.

- E. Determinar la persistencia fitotóxica para la región de metsulfurón y metsulfurón/clorsulfurón mediante la manifestación de fitotoxicidad mediante bioexperimentos en soja.

1.4. Estructura de la tesis

Los aspectos estudiados en esta tesis se dividieron en tres secciones detallados en el diagrama de la figura 1.

Así, la primera sección abarcó aspectos relacionados al estudio en campo y mediante bioexperimentos del efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS sobre el comportamiento de cultivos de la rotación agrícola en la región. En la segunda sección, se estudió el tipo de interacción generada (aditiva, sinérgica o antagónica) por efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS, que pudieran potenciar la residualidad sobre los cultivos sensibles que continúen en la rotación. Por último, en la tercera sección se determinó la residualidad fitotóxica de diferentes ingredientes activos residuales inhibidores de la ALS sobre soja mediante la realización de bioexperimentos para las condiciones edafoclimáticas de la región NO bonaerense.

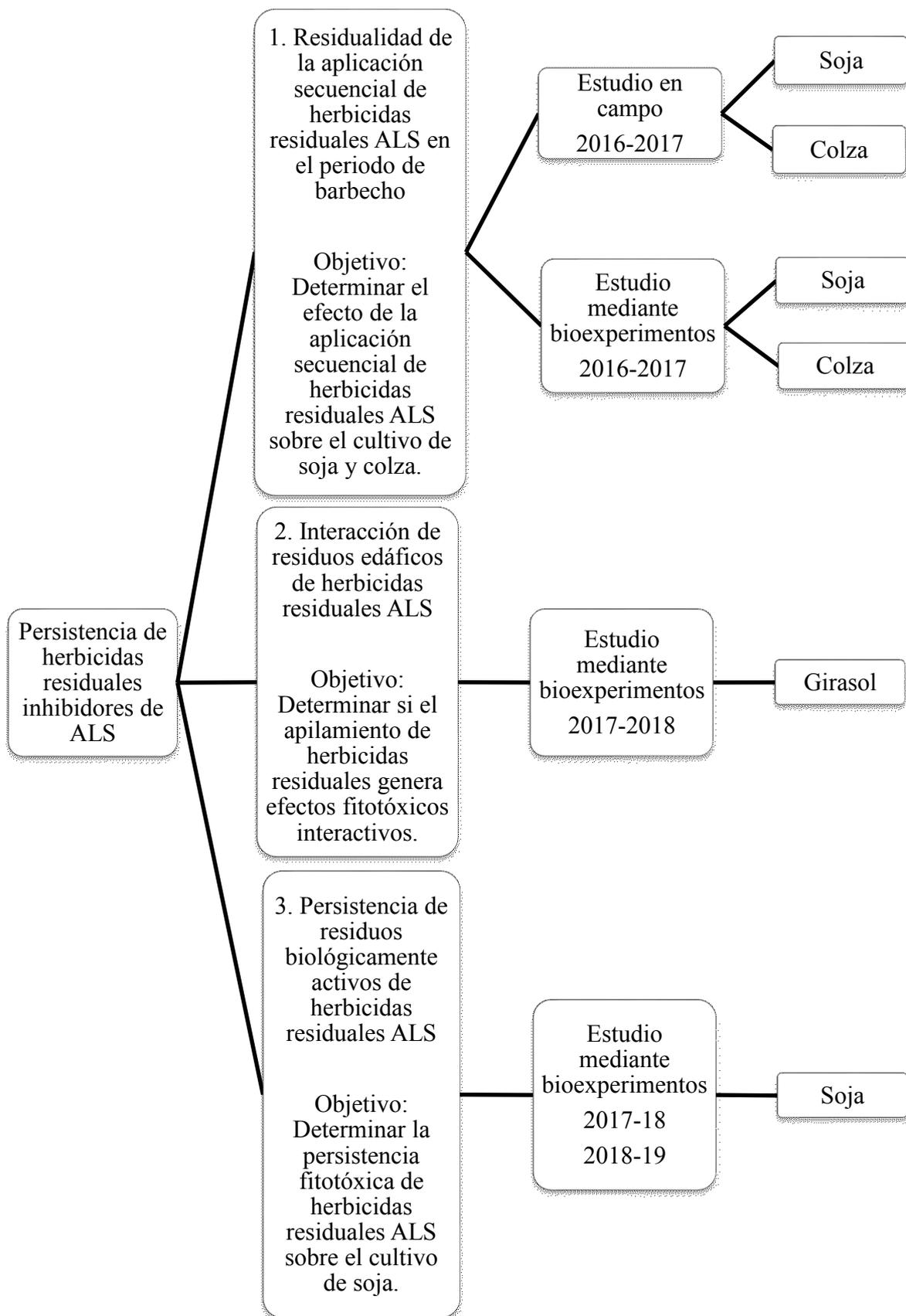


Figura 1. Esquema de trabajo abordado en el marco teórico y experimental del estudio.

2. LOS HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA ENZIMA ALS EN LOS SISTEMAS AGRÍCOLAS EXTENSIVOS

2.1. Clasificación y modo de acción

Este grupo de herbicidas actúa inhibiendo la acción de la enzima cloroplástica acetolactato sintasa (ALS) que participa de la síntesis de aminoácidos esenciales como valina, leucina e isoleucina, conocidos como aminoácidos de cadena ramificada (Brown, 1990; Hall *et al.*, 1999; Whitcomb, 1999; Tan *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2007; Arregui y Puricelli, 2008; Shaner, 2014). Pueden ser absorbidos a través del follaje o las raíces y tienen una gran movilidad en el interior de las plantas (Arregui y Puricelli, 2008). Esto proporciona el control de malezas emergidas, y también el control de malezas que emergerán luego de la aplicación de los mismos (Vencill, 2002). Estos herbicidas fueron rápidamente adoptados para su uso en cultivos extensivos dado su amplio espectro y persistencia en el suelo (Brown, 1990) e incluyen las familias químicas de las sulfonilureas (Blair y Martin, 1988; Brown, 1990), las imidazolinonas (Shaner *et al.*, 1984), las triazolopirimidinas (Jabusch y Tjeerdema, 2008) y las sulfonil amino carbonil triazolinonas (Whitcomb, 1999; Vencill, 2002; Shaner, 2014). Su mecanismo de acción le permite controlar un amplio espectro de malezas latifoliadas y gramíneas, tanto anuales como perennes (Cole *et al.*, 2000) y constituye uno de los grupos de herbicidas más difundidos a nivel mundial y con mayor cantidad de ingredientes activos disponibles en el mercado (Cole *et al.*, 2000).

La versatilidad de uso de los herbicidas inhibidores de la enzima ALS permite que puedan aplicarse en períodos de barbecho, en preemergencia y post-emergencia de diferentes cultivos (Shaner, 2014; Vigna *et al.*, 2014).

Los síntomas típicos en plantas sensibles incluyen la anulación o reducción del crecimiento (Arregui y Puricelli, 2008), enrojecimiento de nervaduras, clorosis y necrosis foliar y en algunos casos se puede llegar a la muerte de las plantas (Pinto de Carvahlo *et al.*, 2009). La tolerancia de algunas especies se debe a la rápida metabolización de estos herbicidas a formas inactivas (Brown, 1990). Dada la alta tasa de toxicidad de los herbicidas ALS sobre las plantas sensibles, las dosis de aplicación son notablemente bajas, generalmente entre 3 a 150 g.i.a.ha⁻¹ (Senseman, 2007).

2.2. Características de los activos herbicidas utilizados

2.2.1. Imazetapir ($C_{15}H_{19}N_3O_3$)

Es un herbicida de uso pre y post-emergente selectivo y con acción residual para alfalfa (*Medicago sativa* L.), arveja (*Pisum sativum* L.), maíz (*Zea maíz* L.) tolerante a imidazolinonas (CL), maní (*Arachis hypogaea* L.) y soja (Hart *et al.*, 1991; Arregui y Puricelli, 2016). Controla malezas de hojas anchas y gramíneas anuales y perennes (Ayeni, 1990, 1991, 1992; Hart *et al.*, 1991; Ayeni y Oyekan, 1992). La tolerancia del cultivo de soja a imazetapir ha sido demostrada por Cole *et al.* (1989), Krausz *et al.* (1992) y Krausz y Young (2001).

2.2.2. Metsulfurón ($C_{14}H_{15}N_5O_6S$)

Es un herbicida que actúa en pre y post-emergencia de las malezas. Registrado para ser utilizado en barbecho químico, en trigo (*Triticum aestivum* L.) y en cebada (*Hordeum vulgare* L.) para el control de malezas de hoja ancha (Bedmar *et al.*, 2006; CASAFE, 2019). En trigo y cebada, además de ser utilizado previo a la siembra del cultivo, es posible utilizarlo en post-emergencia (desde inicio de macollaje a inicio de encañazón) (Bedmar *et al.*, 2006).

2.2.3. Clorsulfurón ($C_{12}H_{12}ClN_5O_4S$).

Es un ingrediente activo formulado comercialmente junto al herbicida metsulfurón, registrado para el control en pre y post-emergencia con acción residual de malezas de hoja ancha en el cultivo de trigo y en barbechos químicos de lotes destinados a variedades de soja identificadas como tolerantes a sulfonilureas (STS) (Vigna *et al.*, 2014). En variedades de soja sensibles (no STS), se indica un periodo de 150 días con una acumulación de 250 mm de lluvia entre la aplicación del ingrediente activo y la siembra para que no se detecte fitotoxicidad (Vigna *et al.*, 2014). A su vez, se establece que el uso de este producto debe restringirse a suelos con pH 6 o menores, un contenido de arena de 15 % como máximo y un mínimo de 2,5 % de materia orgánica (Bedmar y Gianelli, 2014).

2.2.4. Clorimurón ($C_{15}H_{15}ClN_4O_6S$).

Es un herbicida pre y post-emergente para el control de malezas de hoja ancha en el cultivo de soja y pasturas (Green *et al.*, 1988; Baughtman *et al.*, 1996). Se lo utiliza

frecuentemente en barbechos químicos previo a la siembra del cultivo de soja, a pesar de no tener registro para este momento (Vigna *et al.*, 2014). Es un herbicida selectivo para soja y la tolerancia ha sido demostrada previamente sobre distintos cultivares (Wilcut *et al.*, 1989; Moseley *et al.*, 1993).

2.2.5. Diclosulam ($C_{13}H_{10}Cl_2FN_5O_3S$).

Es un herbicida selectivo para el control de malezas de hoja ancha y gramíneas anuales en el cultivo de soja y maní (Arregui y Puricelli, 2016). En soja puede ser utilizado en pre-siembra, preemergencia y post-emergencia del cultivo (Vigna *et al.*, 2014).

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de herbicidas utilizados. Solub.: solubilidad en agua; K_{oc}: coeficiente de partición en carbono orgánico; GUS: índice de Gustafson; pK_a: constante de ionización.

Ingrediente activo	Solub. (mg l ⁻¹)	Peso	Vida	K _{oc}	Presión	Potencial de	pK _a
		Molecular (g mol ⁻¹)	media (días)		de vapor (mPa)	lixiviación (Índice GUS)	
Imazetapir	1400	289,3	60-90	52	1,33x10 ⁻²	6,19	2,10
Metsulfurón	2790	381,4	30	12	1,4x10 ⁻⁸	3,99	3,75
Clorsulfurón	12500	357,8	160	36,3	3,6x10 ⁻⁶	4,17	3,40
Clorimurón	1200	414,8	40	106	4,7x10 ⁻⁷	3,16	4,20
Diclosulam	6,32	406,22	30-65	90	6,7x10 ⁻¹⁰	3,46	4,00

2.3. Persistencia edáfica de herbicidas residuales inhibidores de la ALS

Los herbicidas residuales son compuestos que impiden la emergencia de las malezas debido a la persistencia de sus residuos fitotóxicos en el suelo (Helling, 2005; Bedmar y Gianelli, 2014). Bajo determinadas condiciones ambientales o por un uso indebido, estos herbicidas pueden prolongar su actividad más allá del cultivo o barbecho afectando los cultivos sensibles que continúan en la rotación (Wiese *et al.*, 1988; Hall *et al.*, 1999; Vencill, 2002). Pinto de Carvalho *et al.* (2009) consideran que los daños fitotóxicos pueden ser estructurales (clorosis, necrosis, epinastía, retorcimiento de hojas) o fisiológicos (eficiencia en el uso de la radiación, intercepción de radiación) que causan reducción de la tasa de crecimiento. A su vez, distintos trabajos indican que determinados herbicidas con acción residual pueden afectar el proceso de fijación biológica del nitrógeno (FBN) (De Felipe *et al.*, 1987; Fernández-Pascual *et al.*, 1988; Pozuelo *et al.*, 1989; Fernández-Pascual *et al.*, 1992). En este sentido, Pozuelo *et al.*, 1989, trabajando con herbicidas como linurón, simazina, trifluralina, alaclor y metribuzín informaron

diferencias en el efecto sobre la FBN según el ingrediente activo, familia química y dosis de herbicida empleada.

En otros estudios Edwards y Purcell (2005) determinaron leves efectos de fitotoxicidad sobre la RFAi acumulada por el cultivo por aplicaciones de herbicidas postemergentes en etapas iniciales, con reducciones entre el 2 y 5%.

El daño en los cultivos podría ser explicado por la intensidad de uso (Krausz *et al.*, 1992; Prostko *et al.*, 1996; Hart y Roskamp, 1998), por la persistencia e interacción en el suelo (Geisel, 2007), por la sensibilidad de los cultivos (Al-Khatib y Peterson, 1999; Helling, 2005), por el uso de dosis mayores a las recomendadas (Krausz *et al.*, 1992), y/o por las condiciones ambientales post-aplicación (Maurice, 2005).

La sensibilidad a los residuos de herbicidas inhibidores de la ALS varía con las especies cultivadas (Ball *et al.*, 2003; Greendland, 2003; Alister y Kogan, 2005; Young *et al.*, 2003; Bedmar *et al.*, 2006) e incluso con los cultivares dentro de una misma especie (Rabaey y Harvey, 1997). Las respuestas de los cultivos están relacionadas intrínsecamente con la selectividad respecto a la molécula del herbicida (Pinto de Carvalho *et al.*, 2009), existiendo diferencias muy importantes en el metabolismo de la misma (Cole, 1994).

Existen numerosos antecedentes sobre la persistencia de estos herbicidas residuales ALS en el suelo tanto en el extranjero como en nuestro país (Moyer *et al.*, 1990; Adcock y Banks, 1991; Loux y Reese, 1993; Nelson y Renner, 1998; Soltani *et al.*, 2004; Edwards y Purcell, 2005; Johnson *et al.*, 2002; Bedmar *et al.*, 2006; Vigna *et al.*, 2006; Bellingeri *et al.*, 2009; Salamanco, 2011; Bedmar y Gianelli, 2014).

Se ha demostrado que la vida media de metsulfuron en suelos superficiales incubados bajo condiciones de temperatura y humedad uniformes en ocho lugares del Reino Unido osciló entre 23 y 73 días (Walker *et al.*, 1989). James *et al.* (1995) informaron que la vida media de metsulfuron varió de 8 a 36 días en Nueva Zelanda.

En Argentina, Bedmar *et al.*, (2005), en un trabajo realizado en Balcarce (Buenos Aires), sobre un suelo franco con un contenido de materia orgánica de 5,8 % y pH 5,4 determinaron que el tiempo entre la aplicación de metsulfurón (7 g.p.f.ha⁻¹) y la ausencia de fitotoxicidad fue de 26 a 44 días en soja. Salamanco (2011), en Balcarce (Buenos Aires) sobre un suelo franco con un contenido de materia orgánica de 6,3% y pH 5,5 determinó que fueron necesarios entre 42 y 133 días para no observar síntomas de fitotoxicidad en soja luego de la aplicación de metsulfurón (7 y 14 g.p.f.ha⁻¹). Bellingeri *et al.*, (2009) en un estudio realizado en Balcarce (Buenos Aires) sobre un suelo franco

con un contenido de arcilla de 24 %, materia orgánica de 5,7 % y pH 6,3 determinaron que fueron necesarios 153 días en girasol entre la aplicación de la formulación comercial de metsulfurón/clorsulfurón (1,9 / 4,8 g y 3,8/ 18,8 g) y la ausencia de fitotoxicidad, en tanto no hubo efectos perjudiciales en soja.

2.4. Interacción por aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS

La dinámica de degradación que presentan los herbicidas metsulfurón (Paul *et al.*, 2009), clorimurón, imazetapir (Mills y Witt, 1989; Goetz *et al.*, 1990), diclosulam (Zabick *et al.*, 2001) y clorsulfurón, sumado a las aplicaciones en secuencia, pueden causar un incremento potencial de los residuos de herbicidas y de la fitotoxicidad sobre cultivos sensibles (Szmigielski *et al.*, 2011).

El efecto de dos o más herbicidas puede ser *aditivo* si las respuestas observadas en el cultivo sensible son similares a la suma de daños individuales cada herbicida. Asimismo, el efecto puede ser *sinérgico* si el daño observado es mayor que los daños conjuntos esperados por cada herbicida individual. Existe una interacción *antagónica* si el daño total observado es menor que la esperada a aquella obtenida por el daño individual de cada herbicida (Colby, 1967). Debido a que la mayoría de los herbicidas ALS tienen propiedades residuales, existe el potencial de generar interacciones entre ingredientes activos cuando son aplicados en forma secuencial (Szmigielski *et al.*, 2011).

Existen estudios que dan cuenta de estos efectos interactivos (Johnson *et al.*, 2005; Panaggio, 2018). Distintos antecedentes han determinado la existencia de interacciones entre herbicidas y/o entre herbicidas e insecticidas (Zhang *et al.*, 1995; Kapusta y Krausz, 1992; Diehl *et al.*, 1995) con efectos fitotóxicos sobre los cultivos. Así, Askew *et al.* (1999) determinaron diferencias en la fitotoxicidad en soja en función de la combinación de herbicidas aplicados en pre-siembra y post-emergencia. Otros estudios demostraron una mayor fitotoxicidad sobre soja por aplicaciones en secuencia en preemergencia y post-emergencia (Shaw *et al.*, 1999), o por consociaciones de herbicidas inhibidores de la ALS (Simpson y Stoller, 1996) respecto de aplicaciones de cada herbicida por separado. Vidrine *et al.* (2002) demostraron la existencia de daños por aplicaciones en post-emergencia de herbicidas inhibidores de la ALS, con lo cual la utilización de herbicidas de igual mecanismo de acción durante el período de barbecho podría incrementar los daños sobre el cultivo debido a que comparten las rutas metabólicas de detoxificación. Sin embargo, en numerosos casos, los efectos fitotóxicos por estos

herbicidas no se traducen en mermas del rendimiento (Krausz *et al.*, 1992; Krausz *et al.*, 1994; Corrigan y Harvey, 2000). A su vez, existen antecedentes de efectos fitotóxicos interactivos en otras especies. Así, Moyer y Hamman (2001), informaron que residuos de sulfosulfurón combinado con imazetapir o metsulfurón o triasulfurón mostraron efectos aditivos en remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.). Johnson *et al.* (2005) encontraron que la aplicación de un herbicida inhibidor de la ALS puede predisponer al cultivo sucesor en la rotación a niveles más altos de fitotoxicidad por la aplicación post-emergente de otro herbicida inhibidor de la ALS.

Las interacciones de imazametabenz, flucarbazone, sulfosulfurón y florasulam en combinación con imazamox/imazetapir en suelos del oeste de Canadá fueron investigados en bioexperimentos (Geisel, 2007) y en condiciones de campo (Geisel *et al.*, 2008). En los bioexperimentos, los suelos se trataron con herbicidas individuales y en combinación, midiéndose el efecto sobre la inhibición de longitud de la raíz principal de mostaza (*Brassica nigra* L.). En dichos estudios se determinó la presencia de interacciones aditivas en la longitud de la raíz. En los experimentos en campo los herbicidas se aplicaron secuencialmente en el transcurso de dos años, registrándose el efecto sobre la longitud de la raíz principal de mostaza en el tercer año (Geisel *et al.*, 2008). Estos autores determinaron interacciones aditivas en la variable analizada (Geisel *et al.*, 2008).

2.5. Persistencia y efecto sobre cultivos sensibles que continúan en la rotación

Distintos estudios han detectado persistencia en el suelo de herbicidas pertenecientes a los inhibidores de la ALS después de un año de la aplicación (Moyer *et al.*, 1990; Monks y Banks 1991; Moyer y Esau, 1996; O'Sullivan *et al.*, 1998; Renner *et al.*, 1998; Ball *et al.*, 2003).

De acuerdo con el cultivo sucesor, la superposición de herbicidas residuales inhibidores de la ALS puede causar daño a las plantas y afectar negativamente los cultivos que siguen en la rotación (Ball *et al.*, 2003). En este sentido, Moyer y Esau (1996), en un estudio en Alberta (Canadá), observaron que imazetapir provoca disminución del rendimiento en colza hasta dos años después de aplicado. En Ontario (Canadá), en un estudio de cinco años se evaluó el efecto de los residuos generados por la aplicación en soja de imazetapir sobre los cultivos de la rotación (O'Sullivan *et al.*, 1998). En dicho trabajo, el rendimiento de colza fue reducido por efecto del herbicida en dos de los tres años en que se cultivó después de un año de aplicado el herbicida. El grado de reducción

del rendimiento de colza estuvo influenciado por el pH y por el contenido de humedad del suelo, en tanto no hubo disminución de rendimiento luego de dos años de aplicado el herbicida (O'Sullivan *et al.*, 1998).

2.6. Factores que afectan la residualidad de herbicidas en el suelo

El grado por el cual un herbicida puede persistir y causar daño en los cultivos sensibles que continúan en la rotación es influenciado por propiedades del suelo, factores climáticos y propiedades del herbicida (Beckie y McKercher, 1989; Walker, 1991; Newson y Shaw, 1992; Streibig *et al.*, 1995; Moyer y Hamman, 2001; Shaner y Hornford, 2005; Bedmar y Gianelli, 2014).

2.6.1. Propiedades edáficas.

Existen varios estudios que muestran la influencia de las propiedades del suelo en la persistencia de herbicidas residuales inhibidores de la ALS (Joshi *et al.*, 1985; Smith y Hsiao, 1985; Beckie y McKercher, 1989; Goetz *et al.*, 1989; Brown, 1990; Cobucci *et al.*, 1998; Castro *et al.*, 2002; Ball *et al.*, 2003). La posibilidad de generar perjuicios en los cultivos sensibles que continúan en la rotación disminuye con el aumento del contenido de material orgánica (Smith y Hsiao, 1985; Goetz *et al.*, 1989; Mangels, 1991; Castro *et al.*, 2002). Por otro lado, los suelos de textura fina a media poseen mayor potencial para retener herbicidas que los suelos de textura gruesa a media y por lo tanto mayor es la probabilidad de que se produzcan problemas de fitotoxicidad (Anderson, 1985; Anderson y Barret, 1985; Bedmar y Gianelli, 2014). La respuesta al pH de los herbicidas inhibidores de la ALS difiere según la familia química empleada (Anderson y Barret, 1985; Goetz *et al.*, 1989; Sarmah y Sabadie, 2002). En este sentido, la persistencia de herbicidas sulfonilureas se incrementa con el aumento del pH de suelo (Walker y Brown 1983; Joshi *et al.*, 1985; Smith y Hsiao, 1985; Beckie y McKercher, 1989; Goetz *et al.*, 1989; Brown, 1990; Ravelli *et al.*, 1997; James *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2002; Vischetti *et al.*, 2002; Bedmar y Giannelli, 2014). La degradación química y microbiana de los herbicidas de la familia de las sulfonilureas es por lo general más lenta por encima de pH 6-7 (Bedmar y Gianelli, 2014). Aquellos factores que incrementan la actividad microbiana tales como altas temperaturas y adecuada humedad del suelo, incrementan las tasas de disipación de los herbicidas en el suelo (Beyer *et al.*, 1988; Beckie y McKercher, 1989; Cantwell *et al.*, 1989; Goetz *et al.*, 1990; Lehmann *et al.*, 1993; Loux y Reese, 1993; Flint y Witt, 1997; Vencill, 2002) y disminuyen los riesgos por fitotoxicidad.

2.6.2. Condiciones climáticas.

Respecto a los factores climáticos, las precipitaciones son un factor importante que influye en la actividad de los herbicidas inhibidores de la enzima ALS en el suelo (Anderson, 1981, 1985; Shipitalo *et al.*, 1990; Oppong y Sagar, 1992; Sigua *et al.*, 1993; Isensee y Sadeghi, 1994; Shin *et al.*, 1998; James *et al.*, 2004). En este sentido, Shin *et al.* (1998), determinaron una disminución en los residuos fitotóxicos de sulfonilureas en los sitios experimentales que recibieron elevadas precipitaciones durante el experimento.

2.6.3. Propiedades del herbicida.

Las principales propiedades del herbicida que influyen sobre su persistencia son la solubilidad en agua, la adsorción al suelo, la presión de vapor y la susceptibilidad de la molécula a la alteración o degradación química o microbiana (Bedmar y Gianelli, 2014). Los activos herbicidas residuales inhibidores de la ALS aquí utilizados tienen una elevada solubilidad, bajo Koc y vida media moderada a alta, con un alto potencial de lixiviación (Lewis *et al.*, 2016). Otra propiedad del herbicida a considerar es la capacidad de ionizarse (ionizabilidad) dado que influye en la capacidad de adsorción y disponibilidad de los herbicidas en función del pH del suelo (Bedmar y Gianelli, 2014). En este sentido, los herbicidas inhibidores de la ALS son considerados ácidos débiles por lo que a pH de 7 o mayores adquieren carga negativa estando más disponibles en la solución del suelo, lo que incrementa la residualidad (Renner *et al.*, 1988; Bedmar y Gianelli, 2014).

2.7. Análisis de herbicidas en el suelo mediante bioexperimentos

La determinación del nivel de residuos, la velocidad de degradación y la lixiviación de los herbicidas en el suelo es tan importante para la actividad agrícola como para la protección del medio ambiente (Rahman *et al.*, 1991, 1993; Sekutowski, 2011). Existen métodos, como la cromatografía de gases (CG) o cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC: high performance liquid chromatography) que hacen que sea posible determinar el contenido total de ingredientes activos en el suelo en el momento de la aplicación o varias semanas después de la aplicación de herbicidas (Ahmad y Crawford, 1990; Sekutowski, 2011).

Los métodos químicos son específicos, sensibles y cuantifican la cantidad total de residuos de herbicidas en el suelo (Klaffenbach y Holland, 1993; Galletti *et al.*, 1995; Smith, 1995; Stout *et al.*, 1997; Szmigielski *et al.*, 1998). Sin embargo, pueden ser

costosos dado que requieren disolventes de extracción y equipos sofisticados (Sekutowski, 2011).

Una alternativa a estos métodos son los bioexperimentos, donde se utiliza una planta como biodetector (Watson y Checkel, 2005). Han sido desarrollados para detectar bajas concentraciones de los herbicidas residuales en el suelo (en el rango de una parte por mil millones: ppb) y tienden a ser más sensibles y menos costosos que el análisis químico (Groves y Foster, 1985; Beckie y Mc Kercher, 1989; Szmigielski *et al.*, 1998; Hernández-Sevillano *et al.*, 2001; Riddle, 2012; Riddle *et al.*, 2013). Según Stork y Hannah (1996), el bioexperimento resulta una alternativa sencilla y relativamente rápida para registrar la presencia de un herbicida o sus metabolitos en el suelo. Además, dado que los bioexperimentos no son específicos, es posible medir el efecto conjunto de los herbicidas residuales presentes en el suelo (Johnson *et al.*, 2005). Los bioexperimentos han sido utilizados para detectar diferentes herbicidas residuales, especialmente del grupo inhibidores de la ALS (Sunderland *et al.*, 1991; Stork y Hannah, 1996; Hernández-Sevillano *et al.*, 2001; Eliason *et al.*, 2004; Geisel *et al.*, 2008).

El efecto fitotóxico de los ingredientes activos de herbicidas se puede observar sobre la base de la reducción del peso fresco y seco de las raíces o parte aérea (tallos o hojas) de las plantas a evaluar (Günther *et al.*, 1993; Junnila *et al.*, 1994; Vicari *et al.*, 1994; Sarmah *et al.*, 1999; Demczuk *et al.*, 2004; Sekutowski y Sadowski, 2005; 2006; 2009). Otros parámetros evaluados con frecuencia han sido la longitud de raíces, altura, estimación visual del daño, la actividad fotosintética, consumo de agua o clorosis (Horowitz, 1976). Distintos estudios han determinado que la longitud de raíces es una de las variables más sensibles a la presencia de residuos fitotóxicos (Landi y Cambridge, 1989; Hernández Sevillano *et al.*, 1999).

Varias especies vegetales se han utilizado en los bioexperimentos para la determinación de herbicidas inhibidores de la ALS en el suelo, basados principalmente en mediciones radicales. Algunos de los cultivos que se han utilizado son maíz para detectar efectos fitotóxicos de clorsulfurón (Hsiao y Smith, 1983; Groves y Foster, 1985; Morishita *et al.*, 1985), girasol para el caso de las sulfonilureas (Gunter *et al.*, 1993; Kotoula-Syka *et al.*, 1993a; Hernández Sevillano *et al.*, 2001; Vigna y López, 2005), lenteja para metsulfurón (Szmigielski *et al.*, 1998) y colza para imazetapir (Szmigielski y Schoenau, 1999).

A pesar del uso frecuente de este tipo de estudios para detectar diferentes residuos de herbicidas en el suelo (especialmente herbicidas inhibidores de la ALS) (Geisel *et al.*,

2008), existen casos en los cuales los resultados no se relacionan con las respuestas de los cultivos en el campo (Haggod *et al.*, 1980; Weidenhamer *et al.*, 1989; Cervellini y Fantini, 2015). De este modo, resulta necesario validar la información obtenida en condiciones controladas en experimentos en campo que permitan establecer de manera fehaciente la residualidad a partir de la acumulación secuencial de herbicidas inhibidores de la ALS.

De esta manera se podrá determinar la relevancia regional de la residualidad de herbicidas por su uso secuenciado, determinando el potencial efecto sobre los cultivos de la Región.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Residualidad por aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja y colza

3.1.1. Estudio en campo

Se realizó un experimento en un lote destinado al cultivo de soja, en un establecimiento agrícola ubicado en el partido de San Nicolás, provincia de Buenos Aires (33°33'S; 60°16'O). El suelo sobre el cual se realizó el experimento fue un argiudol vértico, serie Ramallo con una pendiente menor a 1 %, de textura franco limosa (22,7 % de arcilla, 64,8 % de limo y 12,5 % de arena) con un contenido medio de materia orgánica (MO) de 2,93 %, pH 6,2, una capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 21,1 (m.e./100 g). El sistema de labranza fue en siembra directa en un lote cuyo antecesor fue soja. La cobertura de residuos vegetales fue de 30 % la cual se determinó a través del software CobCal (versión 1.0) (Ferrari *et al.*, 2011).

Se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar en parcelas divididas con nueve tratamientos (variantes de herbicidas) y tres repeticiones con parcelas de 625 m². La parcela principal correspondió al factor herbicida. En la subparcela se consideraron las fechas correspondientes a los muestreos, medidas en días desde la aplicación (DDA).

La primera aplicación de herbicidas se realizó el 10 de agosto de 2016 de acuerdo con un esquema de uso de herbicidas en la Región en un barbecho químico largo (BQL). Sesenta días después de la primera aplicación, se procedió a una segunda aplicación (10 de octubre de 2016), previo a la siembra del cultivo de soja de primera (barbecho químico corto (BQC)) (Tabla 2). La aplicación de ingredientes activos herbicidas en posicionamiento para lo que no tienen registro de uso (CASAFE, 2019) tales como clorimurón e imazetapir en pre-siembra del cultivo de soja se debe a su uso frecuente en dicho posicionamiento en los sistemas productivos regionales actuales (Principiano y Acciaresi, 2018).

Tabla 2. Tratamientos de herbicidas residuales y fechas de aplicación en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo Serie Ramallo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Conc.: concentración del activo en porcentaje. Dosis p.f.: dosis de producto formulado. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016.

Fecha de aplicación	Barbecho químico largo			Fecha de aplicación	Barbecho químico corto		
	Herbicida	Conc. (%)	Dosis p.f. (cc o g.ha ⁻¹)		Herbicida	Conc. (%)	Dosis p.f. (cc o g.ha ⁻¹)
1	Control sin herbicidas residuales						
2	10-8	Met	60	10	10-10	-	-
3	10-8	Met	60	10	10-10	Imaz	1000
4	10-8	Met	60	10	10-10	Diclo	30
5	10-8	Met	60	10	10-10	Clori	80
6	10-8	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-10	-	-
7	10-8	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-10	Imaz	1000
8	10-8	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-10	Diclo	30
9	10-8	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-10	Clori	80

Diez días después de la segunda aplicación (BQC), se sembró una variedad de soja de grupo de maduración cinco corto (V_C) (NA 5258), a 52 cm de distanciamiento entre hileras y a una densidad planificada de 25 plantas m⁻². En post-emergencia del cultivo de soja se realizó una aplicación con cletodim (24 %, 192 g.i.a. ha⁻¹) en seis nudos V₆ del cultivo de soja para control de gramíneas.

Durante el ciclo del cultivo de soja se realizaron las siguientes determinaciones:

Densidad de plantas (plantas.m⁻²)

A los diez días de la emergencia del cultivo se determinó la densidad de plantas a través del recuento del número de plantas en cinco segmentos de 3 m de longitud por cada tratamiento y se las comparó con aquella obtenida en el tratamiento control.

Altura (cm)

En los estados cotiledonar (V_c), inicio de formación de vainas (R₃) y semillas completamente desarrolladas (R₆) (Fehr y Caviness, 1977) del cultivo, se midió la altura hasta el brote terminal (cm) (Bleiholder, 1996) tomando cinco plantas al azar de cada parcela.

Número de nódulos efectivos y peso seco (g)

En inicio de llenado de granos (R₅) se cuantificó el número de nódulos efectivos en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS) y el peso seco (PS) (g) de los nódulos sobre cinco plantas de cada unidad experimental. Asimismo, se determinó la nodulación específica como la relación entre el peso seco de los nódulos (g) y el peso de las raíces (g).

Fitotoxicidad

Para la medición de fitotoxicidad se utilizó la escala de evaluación de fitotoxicidad (European Weed Research Council) (Burril *et al.*, 1977), donde el valor 1 indica ausencia de daño por herbicida y 9 indica un daño completo de la planta por efecto del herbicida (Tabla 3).

Tabla 3. Escala de evaluación de fitotoxicidad desarrollada por European Weed Research Council (Burril *et al.*, 1977) utilizada.

Índice	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Fitotoxicidad	Ausencia	Síntomas muy leves	Leve	Moderado	Dudoso	Efecto leve	Perjuicio fuerte	Perjuicio muy fuerte	Perjuicio total

Tasa de crecimiento del cultivo (TCC, $g \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$)

La tasa de crecimiento del cultivo (TCC, $g \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$) fue caracterizada durante el período reproductivo de plenitud de floración y semillas completamente desarrolladas (R₂-R₆) y se determinó como el cociente entre la diferencia en la producción de biomasa aérea en ambos estadios fenológicos y el intervalo en días entre muestreos (Board, 2000).

Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi, $MJ \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$)

La RFAi (%) se determinó en sexto nudo (V₆), plenitud en la floración (R₂) y R₅ (Fehr y Caviness, 1977) en el cultivo de soja al mediodía (entre las 11:00 a.m y las 13:30 p.m), en días despejados. Para ello se utilizó un medidor cuántico lineal (1 m) (AccuPar, PAR-80, Decagon Devices Inc., Pullman, EE. UU.). Se midió la radiación por encima del canopeo del cultivo (I₀) y a ras del suelo (I'). Se realizaron tres mediciones por unidad experimental, en cada etapa fenológica de manera transversal a la hilera del cultivo. Para cada medición la proporción de radiación interceptada por el cultivo se calculó como: $1 - (I' / I_0)$. La fracción interceptada en los días restantes se estimó interpolando linealmente a través del tiempo calendario entre mediciones sucesivas. La RFAi por el cultivo ($MJ \cdot m^{-2} \cdot día^{-1}$) se calculó como el producto entre la radiación interceptada por el cultivo y la radiación fotosintéticamente activa incidente (RFAi) de cada día para el período analizado de acuerdo con la fórmula:

$$(RFAi = 0,48 \times \text{Radiación total}) \text{ (Abbate } et al., 1995; \text{ Andrade, 1995).}$$

La radiación total es la cantidad total de megajoules que llegan a la superficie de la tierra (Andrade, 1995). La RFAi acumulada se calculó por sumatoria de la RFAi diaria.

Eficiencia de uso de la Radiación (g.MJ⁻¹)

La eficiencia de uso de la radiación (EUR) interceptada (g.MJ⁻¹) para cada tratamiento se calculó como el cociente entre la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y la RFAi media durante un mismo período. A su vez, se realizaron tres muestreos de biomasa para caracterizar la evolución de la materia seca aérea en los estadíos V₆, R₂ y R₅ (Fehr y Caviness, 1977). Las muestras fueron tomadas de las hileras centrales de cada unidad experimental. Se realizaron cortes a ras del suelo (0,5 m²). Posteriormente las muestras fueron secadas en estufa a 60°C para alcanzar su peso seco constante (48 horas) y pesadas en una balanza analítica.

Producción en grano (g.m⁻²), número granos (NG.m⁻²) y peso de mil granos (g)

La cosecha del experimento se realizó de forma manual, realizándose la trilla de cada una de las muestras con una trilladora estática. Luego se determinó la materia seca (g m⁻²) en una balanza electrónica con una precisión de 0,01 g. La producción en grano de soja se expresó en rendimiento al 13,5 % de humedad según lo establecido por las normas de comercialización.

Para determinar el peso de granos, se tomó una submuestra de cada parcela, se determinó la humedad y posteriormente se contabilizaron 500 granos por muestra. El número de granos (NG m⁻²) se determinó realizando el cociente entre la producción en grano (g m⁻²) y el peso de mil granos (PMG) (g) (Board, 2000).

Luego de la cosecha de soja, el experimento se mantuvo libre de malezas mediante el uso de herbicidas sin acción residual hasta la siembra de una variedad primaveral de colza sensible a herbicidas ALS la cual se sembró el 5 de mayo de 2017 a un distanciamiento de 21 cm y con una densidad de 70 plantas m⁻². Se midieron las mismas variables que en soja (densidad de plantas, altura, fitotoxicidad, tasa de crecimiento del cultivo, radiación fotosintéticamente activa, eficiencia de uso de la radiación, producción en grano, número y peso de granos). Para el cultivo de colza, la medición de altura de planta, materia seca aérea y RFAi fueron medidas en el estado de seis hojas verdaderas desarrolladas (B6), floración (F1) y silicuas de más de 4 cm de largo (G4) (CETIOM, 2019). La TCC se determinó para el periodo B6-F1 de la misma manera que lo realizado en soja. La producción en grano se expresó en rendimiento al 8,5 % de humedad según lo establecido por las normas de comercialización.

Los cultivos fueron relevados periódicamente a fin de mantenerlos libres de insectos y enfermedades.

Datos meteorológicos

Los datos meteorológicos (temperaturas mínimas, medias y máximas, radiación solar, evaporación y precipitaciones) durante el periodo que duró el experimento fueron obtenidos de los registros de la Estación Meteorológica de la EEA INTA Pergamino. Se calculó el balance hídrico para el periodo considerado como la sumatoria de las diferencias entre las precipitaciones mensual y la evaporación.

3.1.2. Estudio mediante bioexperimentos

Con el fin de corroborar los datos obtenidos en campo, se realizaron bioexperimentos con soja y colza. Para ello se tomaron muestras de cada una de las unidades experimentales de campo que tenían los tratamientos previamente descritos. Los muestreos fueron realizados a los 0, 20, 40, 65, y 90 días desde la siembra (DDS) del cultivo de soja y colza en campo.

La recolección de suelo se realizó mediante un calador de suelo hasta 20 cm de profundidad realizando diez muestras al azar por parcela, en el momento que correspondió (de acuerdo con los DDS planificados). Las muestras fueron colocadas en freezer (-18 °C) hasta su procesamiento. El suelo se tamizó, homogeneizó y se colocó en contenedores plásticos de 0,2 litros de capacidad. En cada contenedor se colocaron tres semillas de soja y cinco de colza, cuando correspondió. Las variedades utilizadas fueron las mismas que las utilizadas en el experimento de campo.

En el estado de una hoja trifoliada desplegada (en el control) para soja y dos hojas en colza se tomaron determinaciones de la longitud de raíz principal (LRP) (cm), materia seca aérea (MSA) (g) y materia seca radical (MSR) (g).

Los bioexperimentos fueron conducidos en cámara de crecimiento bajo condiciones controladas: 12 horas de luz y una alternancia de temperatura nocturna de 18 °C y diurna de 25 °C. La humedad se mantuvo cercana a capacidad de campo.

3.2. Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS mediante la realización de bioensayos

3.2.1. Bioexperimentos en girasol

El suelo sobre el cual se realizó el experimento es un argiudol vértico, serie Ramallo, de textura franco limosa (arcilla 28,9 %, limo 66,4 %, arena 4,3 %) con un contenido medio de MO de 2,7 %, 6,0 de pH, CIC 20,1 (m.e./100 gr) y con una pendiente menor a 1%, ubicado en el partido de San Nicolás (33° 33'S; 60° 19'O). El sistema de labranza fue en siembra directa en un lote cuyo antecesor fue soja. La cobertura de residuos vegetales fue de 58 % la cual se determinó a través del software CobCal (versión 1.0) (Ferrari *et al.*, 2011).

El diseño del experimento fue en bloques completos al azar con ocho tratamientos (variantes de herbicidas) y tres repeticiones con parcelas de 70 m² en un lote cuyo antecesor fue soja.

Con el fin de simular los esquemas de control químico de malezas frecuentes en la región, se procedió a la aplicación de herbicidas en dos momentos del periodo de barbecho. La primera aplicación de herbicidas se realizó el 27 de agosto en 2017 y el 4 de agosto en 2018. Veinte días después de la primera aplicación, se procedió a una segunda aplicación, el 16 de septiembre de 2017 y el 24 de agosto de 2018 (Tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos de herbicidas residuales aplicados en un suelo serie Ramallo Met: metsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Conc.: concentración del activo en porcentaje. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017, 2018.

	27/8 (2017) 4/8 (2018)			16/9 (2017) 24/8 (2018)		
	Herbicida	Conc. (%)	Dosis (cc o g.ha ⁻¹)	Herbicida	Conc. (%)	Dosis (cc o g.ha ⁻¹)
1			Control sin herbicidas residuales			
2	Met	60	10	-	-	-
3	Met	60	10	Imaz	10	1000
4	Met	60	10	Diclo	84	30
5	Met	60	10	Clori	25	80
6	-	-	-	Imaz	10	1000
7	-	-	-	Diclo	84	30
8	-	-	-	Clori	25	80

Para la realización de los bioexperimentos se tomaron muestras de cada una de las parcelas de campo que tenían los tratamientos previamente descritos. Los muestreos fueron realizados a los 10, 40, 80 y 120 días desde la aplicación (DDA) de los herbicidas en la segunda aplicación.

La recolección del suelo se realizó mediante un calador de suelo hasta 20 cm de profundidad realizando diez muestras al azar por unidad experimental. Las muestras fueron colocadas en freezer (-18 °C) hasta su procesamiento. El suelo se tamizó, homogeneizó y se colocó en contenedores plásticos de 0,2 l de capacidad. En cada contenedor se colocaron dos semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) que luego se ralearon a una planta por contenedor. En el estado de dos hojas desplegadas (en el control) se tomaron determinaciones de la LRP (cm), MSA (g) y MSR (g) como fue detallado anteriormente.

Los bioexperimentos fueron conducidos en cámara de crecimiento bajo condiciones controladas: 12 horas de luz y una alternancia de temperatura nocturna de 18 °C y diurna de 25 °C. La humedad se mantuvo cercana a capacidad de campo.

Determinación de la interacción generada

A los efectos de determinar si los residuos de herbicidas interactúan entre sí cuando son aplicados en forma secuencial en el campo, se tuvo en cuenta el crecimiento relativo causado por la combinación de dos herbicidas residuales secuenciales ALS de acuerdo con la metodología propuesta por Colby (1967) (ecuación 1).

$$E(\%) = \frac{X \cdot Y}{100} \quad (1)$$

Donde:

E: crecimiento predicho (porcentaje respecto del control sin herbicidas) causado por dos herbicidas combinados;

X: crecimiento relativo (porcentaje respecto del control sin herbicidas), causado por el herbicida A;

Y: crecimiento relativo (porcentaje respecto del control sin herbicidas), causado por el herbicida B.

Se calcularon interacciones de tipo aditivas, sinérgicas o antagónicas de dos herbicidas entre los valores de LRP (cm), MSA (g) y MSR (g) de girasol y soja observados en los bioexperimentos y los valores predichos (calculados) con la metodología propuesta por Colby (1967). Cuando el porcentaje observado de LRP (cm), MSA (g) y MSR (g) respecto al control sin herbicida resulta menor que el predicho, la

interacción se considera sinérgica. Si el porcentaje observado de LRP (cm), MSA (g) y MSR (g) es equivalente al predicho por Colby (1967), la interacción es considerada aditiva. Finalmente, si el porcentaje de LRP (cm), MSA (g) y MSR (g) observado es mayor al predicho por Colby, la interacción es considerada antagónica.

3.3. Determinación de la persistencia edáfica de herbicidas residuales ALS

3.3.2. Bioexperimentos en soja

Se llevaron adelante bioexperimentos en soja con el objetivo de evaluar la residualidad de herbicidas ALS sobre un suelo sin remover bajo un diseño en bloques completos al azar con cinco tratamientos y tres repeticiones con unidades experimentales de 100 m².

El suelo sobre el cual se realizó el experimento es un argiudol vértico, serie Ramallo, de textura franco limosa con 28,9 % de arcilla, 66,4 % de limo, 4,3 % de arena con un contenido medio de materia orgánica de 2,70 %, de pH 6,0, CIC 20,1 (m.e./100 gr) y con una pendiente menor a 1%. El sistema de labranza fue en siembra directa en un lote cuyo antecesor fue soja. La cobertura de residuos vegetales fue de 65 % la cual se determinó a través del software CobCal (versión 1.0) (Ferrari *et al.*, 2011).

Las aplicaciones de metsulfurón (60 %) (10 g p.f. ha⁻¹) y la formulación comercial de (clorsulfurón (62,5 %) más metsulfurón (12,5 %)) (15 g p.f. ha⁻¹) se realizó el 27 de agosto de 2017 y el 4 de agosto de 2018. Si bien la dosis de uso de metsulfurón en la etapa de barbecho es de 5 a 7 g p.f. ha⁻¹ (CASAFE, 2019), la dosis frecuente de uso en los sistemas productivos regionales actuales es 10 g p.f. ha⁻¹ (Principiano y Acciaresi, 2018).

Los muestreos fueron realizados a los 30, 60, 90, 120 y 150 días de cada una de las unidades experimentales de campo que tuvieron los tratamientos previamente descritos.

La recolección del suelo se realizó mediante un calador de suelo hasta 20 cm de profundidad realizando ocho a diez muestras al azar por parcela, en el momento que corresponda (de acuerdo con los DDA planificados). Las muestras se colocaron en freezer (-18 °C) hasta su procesamiento. El suelo se tamizó y homogeneizó y se colocó en contenedores plásticos de 0,2 l de capacidad. En cada contenedor se colocaron dos semillas que luego se ralearon a una planta por contenedor. En el estado de dos hojas

desplegadas (en el control) se tomaron determinaciones de (LRP) (cm), (MSA) (g) y (MSR) (g).

Los bioexperimentos fueron conducidos en cámara de crecimiento bajo condiciones controladas: 12 horas de luz y una alternancia de temperatura nocturna de 18 °C y diurna de 25 °C. La humedad se mantuvo cercana a capacidad de campo.

3.4. Análisis estadístico

3.4.1. Estudio en campo

Los datos de densidad de plantas, altura, TCC, RFAi, EUR, producción en grano, número y peso de granos fueron analizados a través de un análisis de la varianza (ANOVA) usando una prueba de *Tukey* para la comparación de medias de los tratamientos con un nivel de significancia de 0,05 (programa *Infostat*.) (Di Rienzo *et al.*, 2018).

3.4.2. Estudio mediante bioexperimentos

Para las variables evaluadas (LRP, MSA y MSR), los datos respecto del control se analizaron a través de un análisis de la varianza (ANOVA), mediante el programa *Infostat* (Di Rienzo *et al.*, 2018). Se analizó la interacción entre los tratamientos y los DDA. Las medias de los tratamientos fueron separadas usando una prueba de *Tukey* con un nivel de significancia de 0,05. En los casos en que no existió interacción entre los tratamientos y los DDA, se analizaron los efectos principales de los tratamientos y de los DDA. En las situaciones donde existió efecto de alguno de ellos se efectuó una comparación entre medias en base a una prueba de *Tukey* con un nivel de significancia de 0,05.

En los experimentos realizados para evaluar la persistencia de herbicidas residuales inhibidores de la ALS, el efecto del momento de muestreo sobre las variables analizadas se realizó mediante un modelo de regresión no lineal de acuerdo con la expresión:

$$Y = a * (1 - e^{-b*X}) \quad (2)$$

Donde:

a = máximo valor estimado

b = pendiente de la curva

x = momento de muestreo (días)

e = constante

Se evaluaron distintos modelos (logístico, hiperbólico). La elección del modelo para explicar los datos se basó en la significancia estadística y en el coeficiente de determinación (Adati *et al.*, 2006).

3.4.3. Estudio mediante bioexperimentos

Para las variables climáticas (precipitaciones, temperaturas), los datos respecto de la media histórica (1967-2017) se analizaron a través de un análisis de la varianza (ANOVA), usando una prueba de *DMS* (*diferencia mínima significativa*) con un nivel de significancia de 0,05 mediante el programa *Infostat* (Di Rienzo *et al.*, 2018).

4. RESULTADOS

4.1. Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja y colza

4.1.1. Características climáticas durante el periodo que duró el experimento en campo

Durante el periodo del experimento en campo (agosto 2016-octubre 2017), se registraron precipitaciones superiores a la media histórica en los meses de diciembre (2016) enero, marzo y mayo (2017) ($p < 0,05$), siendo no significativas las diferencias en el resto de los meses ($p > 0,05$) (Figura 2). Durante el periodo agosto 2016-octubre 2017 la lluvia acumulada (1659 mm) fue significativamente superior ($p < 0,05$) a la media histórica (1967-2017) para el periodo considerado (1188 mm) (Figura 3). Las precipitaciones ocurridas durante el periodo de barbecho (agosto-septiembre-octubre de 2016) previo a la siembra del cultivo de soja en campo no difirieron significativamente de la media histórica ($p > 0,05$). En este sentido, desde la aplicación de los herbicidas en el BQL (metsulfurón y metsulfurón/clorsulfurón) y BQC (imazetapir, clorimurón y diclosulam) hasta la siembra del cultivo de soja en campo ocurrieron 210 y 20 mm, respectivamente. Durante el ciclo del cultivo de soja, desde noviembre de 2016 hasta marzo de 2017, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) respecto al registro histórico. La precipitación ocurrida durante el ciclo del cultivo de soja (820 mm) no difirió estadísticamente de la media histórica para el período considerado (Figura 2).

Por otro lado, las precipitaciones acumuladas desde la aplicación de los herbicidas en el BQL (metsulfurón y metsulfurón/clorsulfurón) y BQC (imazetapir, clorimurón y diclosulam) del cultivo de soja y la siembra del cultivo de colza en campo fueron 1017 y 907 mm, respectivamente, siendo estos valores estadísticamente superiores a la media histórica ($p < 0,05$) (Figura 3). Durante el ciclo del cultivo de colza desde mayo de 2017 hasta los primeros días del mes de noviembre de 2017, la precipitación ocurrida (532 mm) no fue estadísticamente diferente a la media histórica para el periodo de interés ($p > 0,05$) (Figura 2).

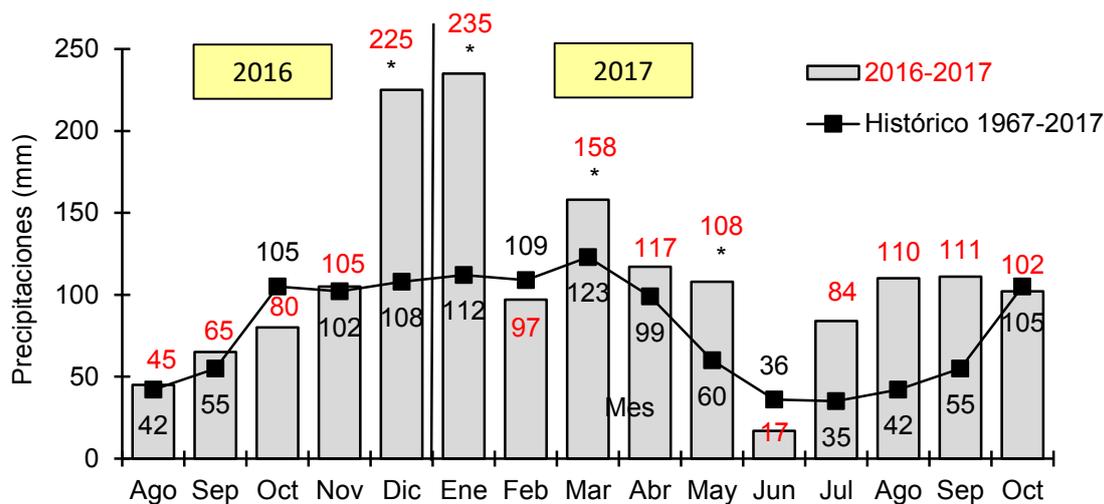


Figura 2. Precipitación mensual (mm) para el periodo agosto 2016-octubre 2017. El asterístico (*) indica diferencias significativas respecto a la media histórica (1967-2017) ($p < 0,05$). Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

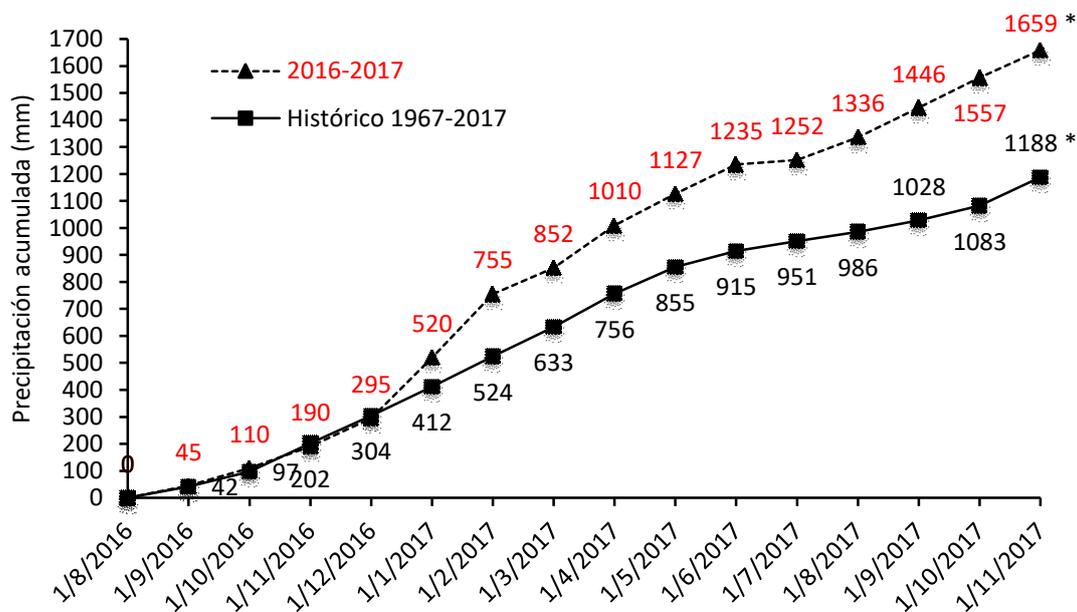


Figura 3. Precipitación acumulada (mm) para el periodo agosto 2016-octubre 2017. El asterístico (*) indica diferencias significativas respecto a la media histórica (1967-2017) ($p < 0,05$). Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

Durante el periodo que duró el experimento en campo el balance hídrico fue siempre mayor a cero. Únicamente en el mes de noviembre de 2016 se registró un valor cercano a cero (Figura 4).

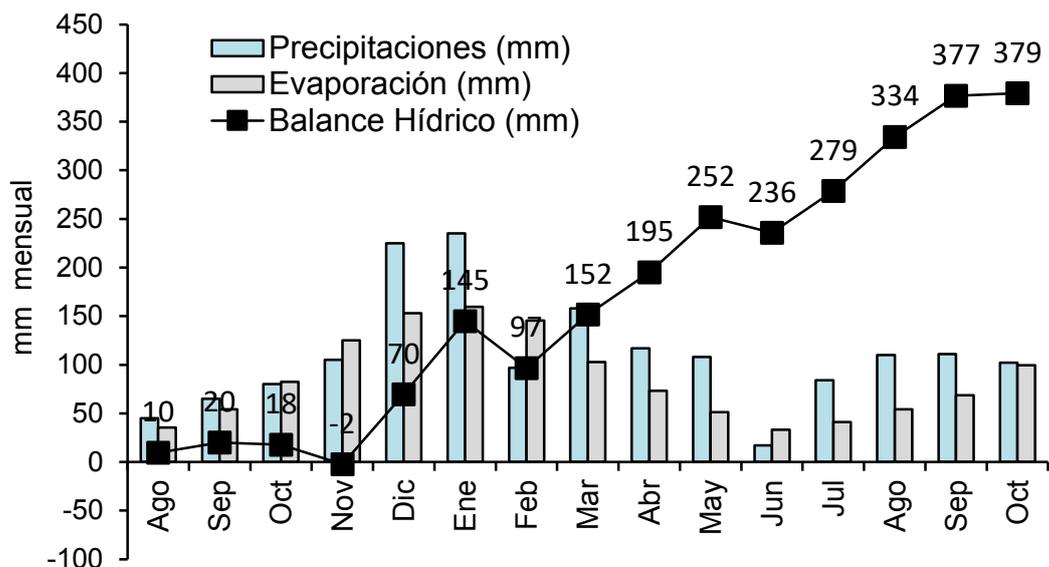


Figura 4. Precipitación (mm), evaporación (mm) y balance hídrico mensual acumulado (mm) durante el periodo que duró el experimento en campo. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Las temperaturas mínimas, medias y máximas mensuales fueron similares a la media histórica para el periodo que duró el experimento en campo ($p > 0,05$) (Figura 5).

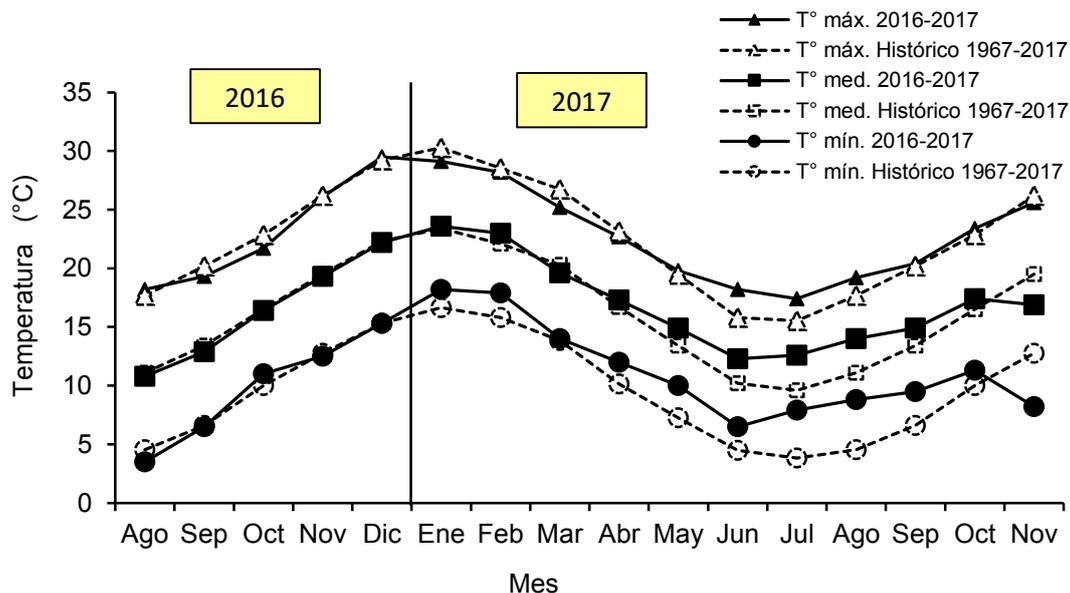


Figura 5. Temperatura mínima ($T^{\circ} \text{mín}$, °C), media ($T^{\circ} \text{med}$, °C) y máxima ($T^{\circ} \text{máx}$, °C) mensual para el periodo agosto 2016-noviembre 2017. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

4.1.2. Estudio en campo

4.1.2.1. Soja

Densidad de plantas (plantas.m⁻²)

No se observaron efectos fitotóxicos ($p>0,05$) de la aplicación en secuencia de herbicidas residuales inhibidores de la ALS utilizados en el período de barbecho previo a la siembra del cultivo de soja en el número de plantas emergidas por unidad de superficie (plantas m⁻²) (Tabla 5).

Fitotoxicidad

Respecto a los síntomas de fitotoxicidad visibles, pudo detectarse una leve clorosis en el estado fenológico V₁ (primer nudo) (Fehr y Caviness, 1977) que desapareció con el avance del ciclo del cultivo en los tratamientos que incluyeron metsulfurón/clorsulfurón, no detectándose efecto en las demás secuencias. No se comprobó un aumento de fitotoxicidad sobre el cultivo con mayor número de aplicaciones de herbicidas residuales ALS. Asimismo, en las secuencias que manifestaron fitotoxicidad en V₁ por la aplicación en pre-siembra de metsulfurón/clorsulfurón, independientemente si eran precedidos por imazetapir, clorimurón o diclosulam, se observó una disminución notoria de la fitotoxicidad con el transcurso de los días desde la aplicación. Es decir, independientemente de la secuencia herbicida aplicada durante el barbecho, se comprobó únicamente el efecto de fitotoxicidad de metsulfurón/clorsulfurón sobre el cultivo de soja (Tabla 7). La fitotoxicidad en V₁, no se correlacionó significativamente con disminuciones de la MSA de soja (Tabla 6) a los 40 DDE ($p>0,05$), ni tampoco a los 70 ($p>0,05$) y 120 DDE ($p>0,05$).

Altura (cm)

Por otro lado, las secuencias de herbicidas no afectaron la altura del cultivo en los estados fenológicos V_C, R₃ y R₆ ($p>0,05$) (Tabla 5).

Número de nódulos efectivos y peso seco (g)

El número de nódulos en la raíz principal, el número de nódulos en las raíces secundarias, el peso seco de los nódulos y la nodulación específica no fueron afectados por la aplicación en secuencia de herbicidas residuales ALS en la etapa de barbecho químico ($p>0,05$) (Tabla 6).

Tabla 5. Plantas emergidas ($n^{\circ}.m^{-2}$) y altura hasta el brote terminal (cm) en el cultivo de soja en diferentes etapas fenológicas de soja para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo. V_C : estado cotiledonar; R_3 : inicio de formación de vainas; R_6 : semillas completamente desarrolladas. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		Plantas emergidas ($n^{\circ}.m^{-2}$)	Altura hasta el brote terminal (cm)		
BQL	BQC		V_C	R_3	R_6
Control sin herbicidas residuales		27,77	4,50	79,67	89,53
Met	-	27,61	4,20	80,47	89,93
Met	Imaz	27,05	4,13	82,07	90,27
Met	Diclo	26,02	4,40	81,47	91,67
Met	Clori	26,81	4,03	80,53	90,27
Met/Clors	-	25,94	4,00	80,00	87,67
Met/Clors	Imaz	24,99	4,10	81,13	92,33
Met/Clors	Diclo	24,75	4,40	80,73	90,27
Met/Clors	Clori	25,62	3,97	79,93	90,13
-	Imaz	26,97	4,47	80,13	90,00
-	Diclo	25,78	4,23	80,27	89,33
-	Clori	26,10	4,13	80,33	89,47
Valor p ($\leq 0,05$)		0,6300	0,2800	0,9953	0,8748
N		180	180	180	180
CV (%)		15,78	15,51	6,97	6,79

Tabla 6. Nódulos por planta en raíz principal (RP, $n^{\circ}.planta^{-1}$) y raíces secundarias (RS, $n^{\circ}.planta^{-1}$), peso seco (PS, g.planta $^{-1}$) total de nódulos por planta, peso seco (PS, g) de raíces, nodulación específica (g nódulos/ g raíz) para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		n° nódulos RP ($n^{\circ}.planta^{-1}$)	n° nódulos RS ($n^{\circ}.planta^{-1}$)	PS nódulos por planta (g.planta $^{-1}$)	PS X raíz (g)	Nodulación específica (g nódulos/g de raíz)
BQL	BQC					
Control sin herbicidas residuales		8,40	58,67	0,86	2,63	0,329
Met	-	10,40	51,93	0,85	2,91	0,298
Met	Imaz	13,47	55,07	0,82	2,89	0,287
Met	Diclo	8,67	61,87	0,82	3,15	0,278
Met	Clori	9,13	52,27	0,80	2,70	0,302
Met/Clors	-	14,47	51,73	0,82	2,83	0,294
Met/Clors	Imaz	15,80	60,73	0,81	2,67	0,309
Met/Clors	Diclo	9,53	55,07	0,82	3,05	0,285
Met/Clors	Clori	8,77	48,13	0,84	2,90	0,295
-	Imaz	11,63	49,60	0,79	3,13	0,272
-	Diclo	10,10	50,40	0,90	2,88	0,303
-	Clori	8,37	51,27	0,87	3,01	0,297
Valor p ($< 0,05$)		0,0914	0,9850	0,4658	0,4057	0,4244
N		180	180	180	180	180
CV (%)		14,59	16,07	12,15	22,38	19,22

Materia seca aérea (MSA, g.m⁻²)

La materia seca aérea (MSA) (g m⁻²) para todas las secuencias herbicidas fue similar al registrado en el tratamiento control sin herbicidas residuales (p>0,05) (Figura 6). No se evidenciaron efectos negativos de residualidad y/o acumulación de residuos herbicidas ALS sobre la producción de MSA a los 40 DDE (V₆) (p>0,05), como así tampoco hasta los 70 DDE (R₂) (p>0,05) y los 120 DDE (R₅) (p>0,05), respectivamente.

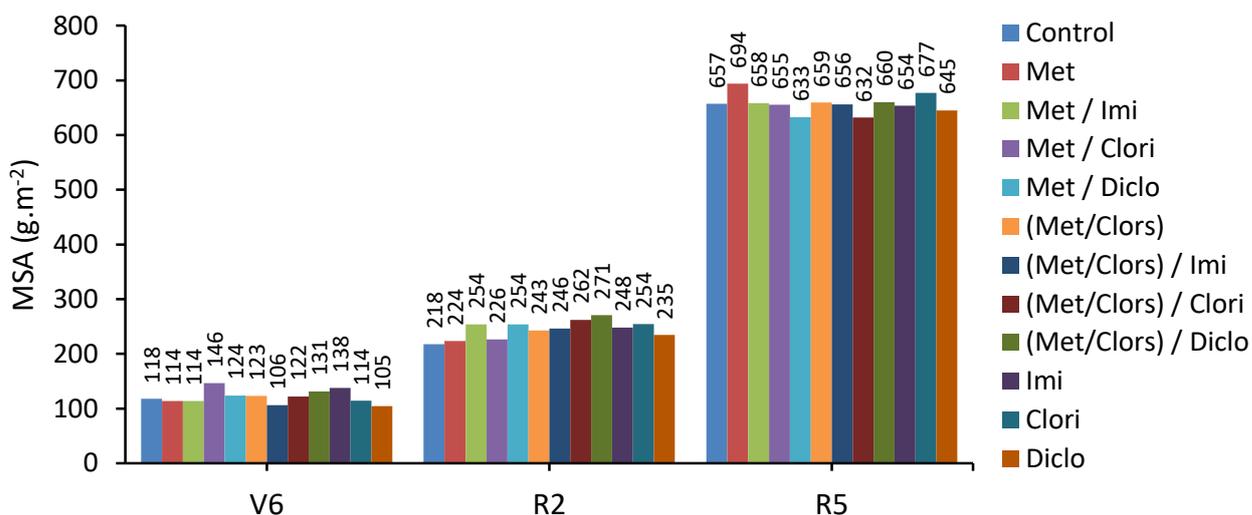


Figura 6. Materia seca aérea (MSA, g.m⁻²) del cultivo de soja bajo doce tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo Ssrie Ramallo. V₆: seis nudos; R₂: plenitud de la floración; R₅: inicio de llenado de granos. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Control sin herbicidas residuales. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tabla 7. Fitotoxicidad visual (%) y materia seca aérea (MSA, g.m⁻²) del cultivo de soja en distintos estados fenológicos para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo. V₁: primer nudo; V₆: sexto nudo; R₂: plenitud en la floración; R₅: inicio de llenado de granos. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		Fitotoxicidad en V ₁	MSA (g.m ⁻²)		
BQL	BQC		V ₆	R ₂	R ₅
Control sin herbicidas residuales		1,0	118,0	218,0	657,1
Met	-	1,0	114,0	223,6	694,0
Met	Imaz	1,0	114,1	254,1	658,4
Met	Diclo	1,0	146,4	226,4	655,4
Met	Clori	1,0	124,0	254,0	633,0
Met/Clors	-	2,5	123,1	243,1	659,4
Met/Clors	Imaz	2,4	106,4	246,4	656,0
Met/Clors	Diclo	2,8	122,3	262,3	632,0
Met/Clors	Clori	3,0	131,1	271,1	660,1
-	Imaz	1,0	138,0	248,0	654,0
-	Diclo	1,0	114,4	254,4	676,8
-	Clori	1,0	104,7	234,7	645,1
Valor p (<0,05)		-	0,9225	0,2225	0,2023
N		-	36	36	36
CV (%)		-	18,07	16,11	10,20

Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi, %)

No se encontraron efectos negativos ($p>0,05$) de las secuencias herbicidas sobre la RFAi a los 30, 70 y 120 DDE. Los valores más altos de RFAi se alcanzaron a los 120 DDE (R₅).

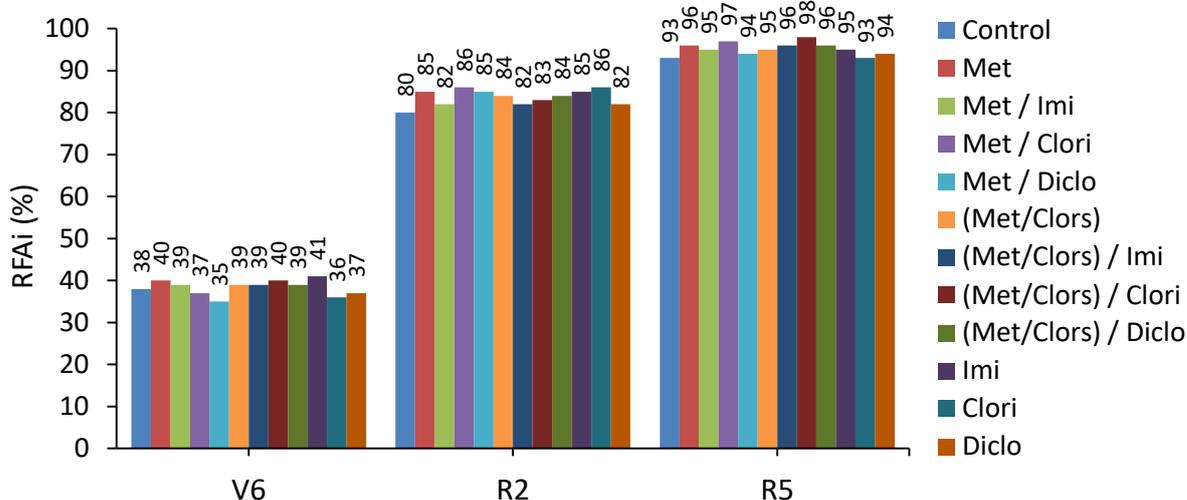


Figura 7. Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi, %) del cultivo de soja en función del estado fenológico para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo serie Ramallo. V₆: seis nudos; R₂: plenitud de la floración; R₅: inicio de llenado de granos. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tasa de crecimiento del cultivo (TCC, $g.m^{-2}.día^{-1}$) y eficiencia en el uso de la radiación (EUR, $g.MJ^{-1}$)

La TCC y la EUR no fueron afectadas por ninguna secuencia de herbicidas inhibidores de la ALS ($p>0,05$), durante el período R₂-R₆ (Tabla 8).

Producción en grano ($g.m^{-2}$), número de granos ($NG.m^{-2}$) y peso de granos (g)

La producción en grano se asocia con variaciones en el número de granos por metro cuadrado, componente que se define durante la fase de floración y fructificación del cultivo (Egli, 1998). El segundo componente del rendimiento del cultivo, el peso de granos, tiene menor variabilidad (Sadras, 2007) y es altamente sensible a la disponibilidad de fotoasimilados en pos-floración (Borras *et al.*, 2004). En este sentido, no se registraron diferencias en el número de granos ($n^{\circ} m^{-2}$), peso de mil granos (g) y producción en grano ($g m^{-2}$) ($p>0,05$) (Tabla 9).

Tabla 8. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC, g.m⁻².día⁻¹), radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi, MJ), eficiencia de uso de la radiación (EUR, g.MJ⁻¹) durante el periodo de plena floración (R₂) y máximo tamaño de granos (R₆) para cada uno de los tratamientos herbicidas y el control sin herbicidas residuales en el cultivo de soja en un suelo serie Ramallo. BQL: barbecho químico largo; BQC: barbecho químico corto. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		TCC	RFAi	EUR
BQL	BQC	(g.m ⁻² .día ⁻¹)	(MJ)	(g.MJ ⁻¹)
Control sin herbicidas residuales		7,79	413,53	1,06
Met	-	7,23	411,43	1,12
Met	Imaz	8,10	412,58	1,09
Met	Diclo	7,37	408,73	0,99
Met	Clori	7,63	412,30	0,92
Met/Clors	-	6,33	410,98	0,77
Met/Clors	Imaz	6,20	416,30	0,88
Met/Clors	Diclo	6,50	415,43	0,87
Met/Clors	Clori	7,80	414,20	0,94
-	Imaz	8,07	412,62	0,98
-	Diclo	8,47	408,45	1,03
-	Clori	8,23	408,38	1,00
Valor p (<=0,05)		0,3511	0,0379	0,1789
N		36	36	36
CV (%)		16,01	12,98	14,45

Tabla 9. Componentes de rendimiento: número de granos (n^o.m⁻²), peso de mil granos (g) y producción en grano (g.m⁻²) para cada uno de los tratamientos herbicidas y el control sin herbicidas residuales en el cultivo de soja en un suelo serie Ramallo. BQL: barbecho químico largo; BQC: barbecho químico corto. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

BQL	BQC	Número de granos (n ^o .m ⁻²)	Peso de mil granos (g)	Producción en grano (g.m ⁻²)
Control sin herbicidas residuales		2142,67	129,72	277,83
Met	-	2216,67	132,06	293,39
Met	Imaz	2384,00	136,29	325,02
Met	Diclo	2460,00	131,59	324,27
Met	Clori	2116,00	138,13	292,05
Met/Clors	-	2326,67	134,88	313,49
Met/Clors	Imaz	2285,33	132,07	301,89
Met/Clors	Diclo	2573,33	131,35	327,27
Met/Clors	Clori	2188,67	134,02	293,18
-	Imaz	2007,33	135,47	271,95
-	Diclo	2057,33	139,81	287,47
-	Clori	2628,00	134,22	349,27
Valor p (<=0,05)		0,1903	0,3778	0,1854
N		36	36	36
CV (%)		12,26	3,60	11,08

4.1.2.2. Colza

Densidad de plantas (plantas.m⁻²) y altura (cm)

No se determinaron efectos fitotóxicos en el cultivo de colza sembrada en campo por la aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS en el periodo de barbecho químico previo a la siembra del cultivo de soja. Así, el número de plantas por unidad de superficie y la altura hasta el brote terminal (cm) en los estados B₆, F₁ y G₄, no fueron reducidos ($p>0,05$) (Tabla 10).

Materia seca aérea (MSA, g.m⁻²)

La acumulación de MSA para todas las secuencias herbicidas fueron similares al registrado en el control sin aplicación de herbicidas residuales (Figura 8). No se evidenciaron efectos negativos de residualidad y/o acumulación de residuos herbicidas ALS sobre la producción de biomasa a los 50 DDE (B₆) ($p>0,05$), como así tampoco hasta los 85 DDE (F₁) ($p>0,05$) y los 150 DDE (G₄) ($p>0,05$).

Tabla 10. Plantas emergidas (n^o.m⁻²) y altura hasta el brote terminal (cm) en el cultivo de colza para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) del cultivo de soja en un suelo Serie Ramallo. B₆: seis hojas verdaderas desarrolladas; F₁: floración; G₄: silicuas de mas de cuatro centímetros de largo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tratamiento		Plantas emergidas (n ^o .m ⁻²)	Altura hasta el brote terminal (cm)		
BQL	BQC		B ₆	F ₁	G ₄
Control sin herbicidas residuales		74,33	14,77	84,27	110,00
Met	-	75,47	15,37	84,20	109,13
Met	Imaz	70,13	14,90	85,53	111,60
Met	Diclo	74,93	15,33	85,00	110,07
Met	Clori	66,93	15,37	86,33	112,40
Met/Clors	-	71,47	15,13	85,13	109,40
Met/Clors	Imaz	69,33	15,03	86,53	111,80
Met/Clors	Diclo	67,07	15,00	85,20	109,87
Met/Clors	Clori	66,93	14,23	85,27	110,47
-	Imaz	69,07	14,80	84,07	109,00
-	Diclo	70,00	14,30	84,40	109,27
-	Clori	73,53	14,50	84,67	109,20
eValor p ($\leq 0,05$)		0,6160	0,9613	0,9999	0,9981
N		180	180	180	180
CV (%)		14,29	16,50	11,65	9,35

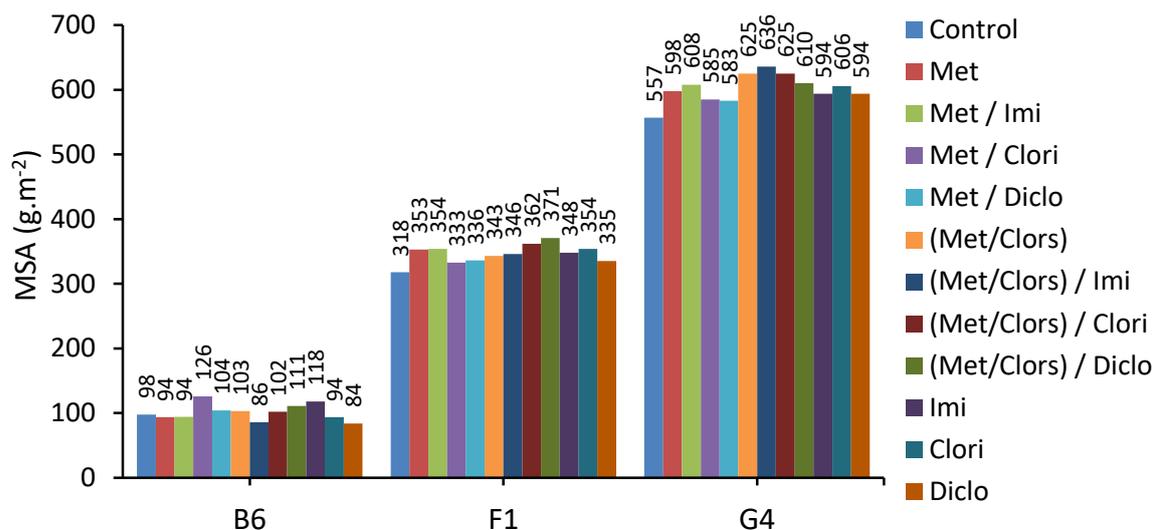


Figura 8. Materia seca aérea (MSA, g.m⁻²) del cultivo de colza bajo doce tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo serie Ramallo. B₆: seis hojas verdaderas desarrolladas; F₁: floración; G₄: silicuas de más de cuatro centímetros de largo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tabla 11. Fitotoxicidad visual (%) y materia seca aérea (MSA, g.m⁻²) del cultivo de colza en distintos estados fenológicos para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en soja en un suelo serie Ramallo. B₆: seis hojas verdaderas desarrolladas; F₁: floración; G₄: silicuas de más de cuatro centímetros de largo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tratamiento		Fitotoxicidad (%) en V ₁	MSA (g.m ⁻²)		
BQL	BQC		B ₆	F ₁	G ₄
Control sin herbicidas residuales		1,0	98,0	318,0	598,0
Met	-	1,0	94,0	353,0	598,0
Met	Imaz	1,0	94,1	354,0	608,0
Met	Diclo	1,0	126,0	333,0	585,0
Met	Clori	1,0	104,0	336,0	583,0
Met/Clors	-	1,0	103,0	343,0	625,0
Met/Clors	Imaz	1,0	86,0	346,0	636,0
Met/Clors	Diclo	1,0	102,4	362,1	625,3
Met/Clors	Clori	1,0	110,9	370,7	609,8
-	Imaz	1,0	118,4	348,2	594,3
-	Diclo	1,0	94,1	354,1	606,2
-	Clori	1,0	84,5	335,1	594,2
Valor p (<=0,05)		-	0,7215	0,5105	0,1512
N		-	36	36	36
CV (%)		-	17,12	15,24	11,45

Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi, %)

No se encontraron efectos negativos de las secuencias herbicidas sobre la RFAi a los 50, 85 y 150 DDE ($p > 0,05$). Los valores más altos de RFAi se alcanzaron durante el período de floración y G₁ (caída de pétalos, silicuas de 2 cm de largo).

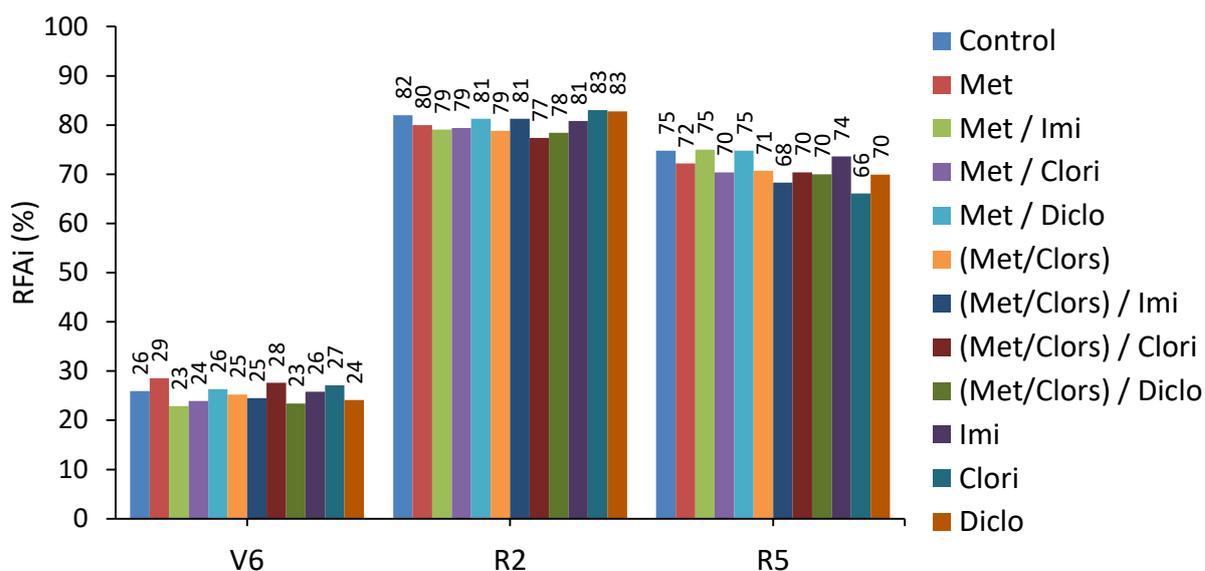


Figura 9. Radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi, %) del cultivo de colza en función del estado fenológico bajo once tratamientos de herbicidas en tres estadios fenológicos en un suelo Serie Ramallo. B₆: seis hojas verdaderas desarrolladas; F₁: floración; G₄: silicua de más de cuatro centímetros de largo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tasa de crecimiento (TCC, g.m⁻².día⁻¹) y eficiencia en el uso de la radiación (EUR, g.MJ⁻¹)

En colza, el período crítico de definición del rendimiento se ubica en un período de aproximadamente cuatro semanas centrado en la floración (Gómez y Miralles, 2006). La TCC y EUR en dicho período se relaciona con el rendimiento final. La TCC y la EUR no fueron afectadas ($p > 0,05$) por ninguna secuencia de herbicidas inhibidores de la ALS, durante el período F₁-G₄ (Tabla 12).

Tabla 12. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC, g.m⁻².día⁻¹), radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi, MJ), eficiencia de uso de la radiación (EUR, g.MJ⁻¹) en colza durante el periodo de floración (F_i) y silicuas de más de cuatro centímetros de largo (G₄) para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tratamiento		TCC	RFAi	EUR
BQL	BQC	(g.m ⁻² .día ⁻¹)	(MJ)	(g.MJ ⁻¹)
Control sin herbicidas residuales		5,2	372,80	0,57
Met	-	5,4	369,12	0,60
Met	Imaz	5,3	344,93	0,63
Met	Diclo	5,4	381,68	0,58
Met	Clori	4,9	334,65	0,64
Met/Clors	-	4,7	337,27	0,61
Met/Clors	Imaz	4,6	335,23	0,60
Met/Clors	Diclo	5,3	323,41	0,67
Met/Clors	Clori	4,8	338,80	0,60
-	Imaz	5,4	375,26	0,55
-	Diclo	4,9	377,20	0,53
-	Clori	5,6	381,24	0,57
Valor p (<=0,05)		0,2421	0,1211	0,1659
N		36	36	36
CV (%)		15,25	17,16	12,09

Producción en grano (kg.ha⁻¹), número de grano (NG.m⁻²), y peso de granos (g)

No se registraron diferencias en el número de granos por metro cuadrado (NG.m⁻²), peso de mil granos (P1000) y producción en grano (p>0,05) (Tabla 13).

Tabla 13. Componentes de rendimiento: número de granos (n°.m⁻²), peso de mil granos (g) y producción en grano (g.m⁻²) en colza para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

BQL	BQC	Número de granos (n°.m ⁻²)	Peso de mil granos (g)	Producción en grano (g.m ⁻²)
Control sin herbicidas residuales		51326	3,2	164,24
Met	-	55024	3,0	165,07
Met	Imaz	49014	3,3	156,84
Met	Diclo	50358	3,1	156,11
Met	Clori	54214	2,9	157,22
Met/Clors	-	52789	3,4	179,48
Met/Clors	Imaz	49589	3,5	173,56
Met/Clors	Diclo	51247	3,1	158,87
Met/Clors	Clori	53698	2,8	150,41
-	Imaz	50254	2,9	145,81
-	Diclo	53645	3,3	177,03
-	Clori	52645	3,2	168,46
Valor p (<=0,05)		0,2560	0,1254	0,1554
N		36	36	36
CV (%)		17,12	14,54	16,84

4.1.3. Estudio mediante bioexperimentos

4.1.3.1. Soja

No se encontró interacción significativa entre los herbicidas y la fecha de muestreo para la LRP ($p>0,05$). Asimismo, no se observó efecto de los herbicidas (o combinación de herbicidas) ($p>0,05$), en tanto se observó un efecto de la fecha de muestreo ($p<0,05$). Al respecto, las secuencias que incluyeron metsulfurón/clorsulfurón tuvieron una reducción significativa en la LRP hasta la segunda fecha de muestreo (20 DDS). La mayor reducción en la LRP (13 %) se observó con metsulfurón/clorsulfurón en el BQL y la aplicación consecutiva de clorimurón en el BQC (Figura 10). No obstante, la aplicación sucesiva de imazetapir, clorimurón y diclosulam no se diferenciaron en forma significativa respecto de metsulfurón/clorsulfurón ($p>0,05$) (Figura 10).

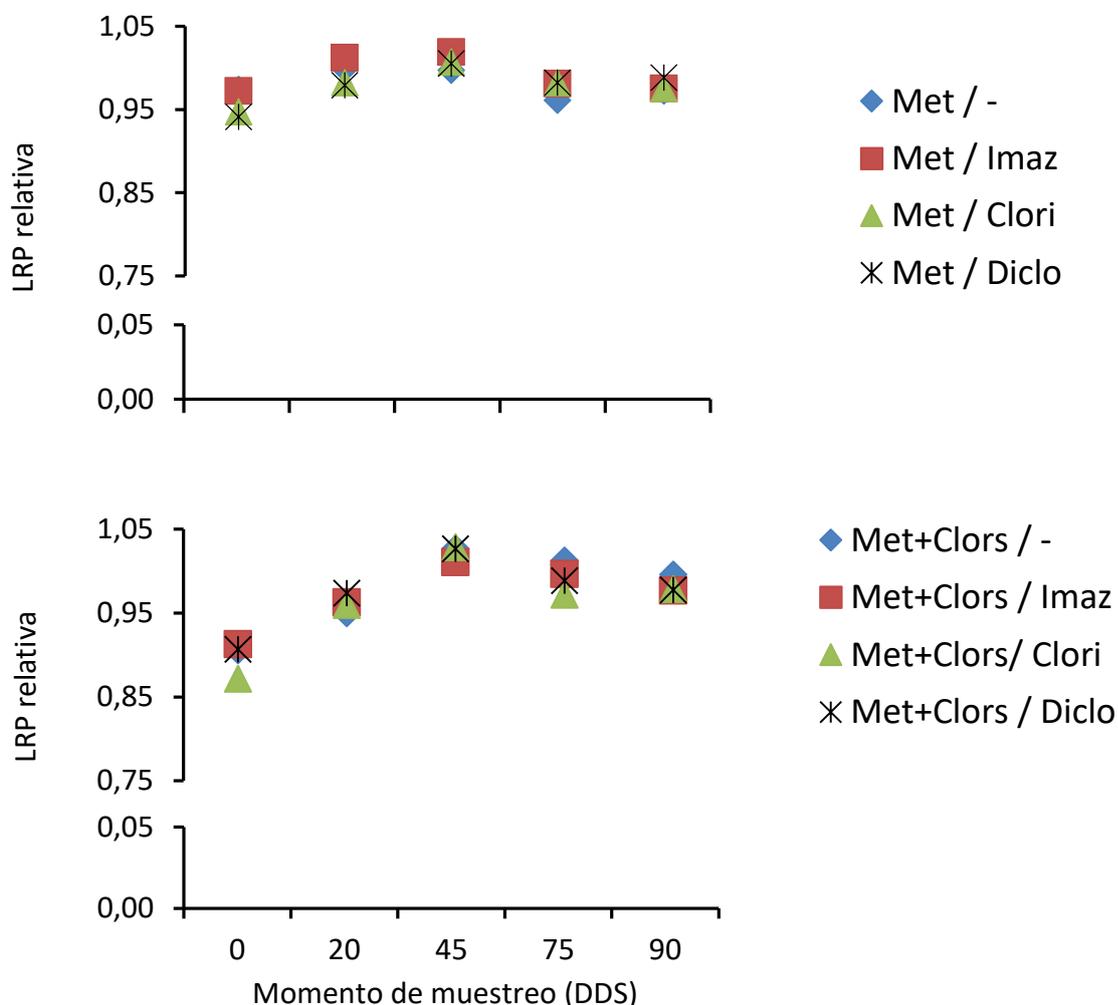


Figura 10. Longitud de la raíz principal (LRP, cm) relativa respecto al control para cada momento de muestreo y para cada uno de los tratamientos aplicados en barbecho químico largo y barbecho químico corto en un suelo serie Ramallo. DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo; Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. Partido de San Nicolás. 2016-2017.

Para la variable MSA, no se encontró interacción significativa entre los herbicidas residuales y la fecha de muestreo ($p>0,05$). Tampoco se observó efecto de los herbicidas ($p>0,05$), en tanto hubo un efecto significativo de la fecha de muestreo ($p<0,05$). Se observó una reducción significativa ($p<0,05$) en la MSA para la primera fecha de muestreo (0 DDS) con metsulfurón/clorsulfurón y la aplicación consecutiva de diclosulam (13 %), mientras que en el resto de los tratamientos la disminución no fue significativa ($p>0,05$) (Tabla 14).

Respecto a la MSR, no se determinó interacción significativa entre los herbicidas y la fecha de muestreo ($p>0,05$). No se determinó efecto de los herbicidas ($p>0,05$), más se registró un efecto significativo de la fecha de muestreo ($p<0,05$). Así, se observó que los tratamientos que incluyeron metsulfurón/clorsulfurón y la aplicación consecutiva de clorimurón o diclosulam generaron una disminución significativa respectivamente respecto al control para la primera fecha de muestreo (0 DDS) (Tabla 15).

Tabla 14. Materia seca aérea (MSA, g) de soja para cada tratamiento aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo y para cada fecha de muestreo. DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo; Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		DDS					Valor p (<0,05)	N	C.V. (%)
BQL	BQC	0	20	45	75	90			
Control		0,19 a A	0,18 a A	0,22 a A	0,21 a A	0,22 a A	0,2120	143	15,21
Met.	-	0,20 a A	0,22 a A	0,22 a A	0,23 a A	0,23 a A	0,1414	144	13,58
Met.	Imz.	0,19 a A	0,21 a A	0,19 a A	0,19 a A	0,22 a A	0,3801	135	12,76
Met.	Clor.	0,18 a A	0,21 a A	0,22 a A	0,22 a A	0,21 a A	0,1896	140	12,96
Met.	Dicl.	0,20 a A	0,20 a A	0,21 a A	0,21 a A	0,22 a A	0,6540	140	12,69
(met+clors)	-	0,18 a A	0,20 a A	0,19 a A	0,19 a A	0,19 a A	0,0944	141	13,25
(met+clors)	Imz.	0,18 a A	0,22 a A	0,19 a A	0,18 a A	0,18 a A	0,0665	142	11,82
(met+clors)	Clor.	0,19 a A	0,19 a A	0,21 a A	0,21 a A	0,20 a A	0,3339	142	12,63
(met+clors)	Dicl.	0,16 b B	0,18 a A	0,19 a A	0,20 a A	0,21 a A	0,0413	142	19,12
-	Imz.	0,21 a A	0,19 a A	0,23 a A	0,18 a A	0,22 a A	0,7521	136	13,19
-	Clor.	0,17 a A	0,22 a A	0,18 a A	0,20 a A	0,23 a A	0,1312	125	12,23
-	Dicl.	0,19 a A	0,23 a A	0,19 a A	0,19 a A	0,22 a A	0,7107	144	13,48
Valor p (<=0,05)		0,3022	0,9759	0,7797	0,7897	0,4012			
N		299	330	295	309	309			
C.V. (%)		17,03	17,83	11,97	13,01	13,68			

*Dentro de cada fecha de muestreo, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p>0,05$). Dentro de cada tratamiento (herbicida o combinación de herbicidas), letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p>0,05$).

Tabla 15. Materia seca radical (MSR, g) de soja para cada tratamiento aplicados en barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC) en un suelo serie Ramallo y para cada fecha de muestreo. DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo. Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Dielo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2016-2017.

Tratamiento		DDS					Valor p ($\leq 0,05$)	N	C.V. (%)
BQL	BQC	0	20	45	75	90			
Control		0,11 a A	0,10 a A	0,12 a A	0,11 a A	0,09 a A	0,2526	140	17,25
Met.	-	0,10 a A	0,09 a A	0,11 a A	0,13 a A	0,09 a A	0,1516	142	16,02
Met.	Imz.	0,10 a A	0,11 a A	0,09 a A	0,12 a A	0,10 a A	0,2625	141	13,15
Met.	Clor.	0,10 a A	0,13 a A	0,12 a A	0,11 a A	0,10 a A	0,2122	140	14,86
Met.	Dicl.	0,11 a A	0,12 a A	0,11 a A	0,10 a A	0,12 a A	0,2520	141	13,79
(met+clors)	-	0,12 a A	0,10 a A	0,13 a A	0,12 a A	0,11 a A	0,2021	142	14,35
(met+clors)	Imz.	0,11 a A	0,11 a A	0,12 a A	0,13 a A	0,11 a A	0,0758	143	12,62
(met+clors)	Clor.	0,07 b B	0,11 a A	0,11 a A	0,09 a A	0,09 a A	0,0312	141	16,45
(met+clors)	Dicl.	0,08 b B	0,12 a A	0,10 a A	0,10 a A	0,09 a A	0,0021	143	14,78
-	Imz.	0,09 a A	0,11 a A	0,13 a A	0,12 a A	0,10 a A	0,6450	138	14,25
-	Clor.	0,11 a A	0,09 a A	0,12 a A	0,13 a A	0,13 a A	0,1516	137	13,24
-	Dicl.	0,12 a A	0,12 a A	0,11 a A	0,12 a A	0,12 a A	0,1213	140	14,50
Valor p ($\leq 0,05$)		0,3022	0,2223	0,1550	0,1542	0,1415			
N		299	301	305	300	301			
C.V. (%)		17,03	19,53	13,21	16,25	16,30			

*Dentro de cada fecha de muestreo, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$). Dentro de cada tratamiento (herbicida o combinación de herbicidas), letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$).

4.1.3.2. Colza

No se encontró interacción significativa entre los herbicidas y la fecha de muestreo para las variables LRP (Tabla 16), MSA y MSR. No se observó efecto de herbicidas ($p > 0,05$), ni de la fecha de muestreo ($p > 0,05$) para las variables analizadas (LRP, MSA y MSR).

Tabla 16. Longitud de raíz principal (LRP, cm) de colza para cada tratamiento aplicado en un suelo serie Ramallo y para cada fecha de muestreo en un barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC). DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo; Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Diclo: diclosulam; Clori: clorimurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Tratamiento		DDS					Valor p ($\leq 0,05$)	N	C.V. (%)
BQL	BQC	0	20	45	75	90			
Control		12,5 a A	13,4 a A	9,9 a A	12,9 a A	12,7 a A	0,1556	75	16,08
Met.	-	11,8 a A	12,3 a A	10,1 a A	13,2 a A	12,1 a A	0,1224	73	13,58
Met.	Imz.	12,3 a A	13,1 a A	12,1 a A	12,1 a A	13,1 a A	0,1661	72	12,76
Met.	Clor.	12,4 a A	12,5 a A	13,0 a A	10,8 a A	11,9 a A	0,2125	75	12,96
Met.	Dicl.	11,9 a A	11,1 a A	9,8 a A	11,2 a A	10,8 a A	0,3224	75	12,69
(met+clors)	-	12,0 a A	13,2 a A	10,0 a A	10,7 a A	13,6 a A	0,2624	71	13,25
(met+clors)	Imz.	13,4 a A	10,1 a A	11,2 a A	10,6 a A	11,8 a A	0,2526	75	11,82
(met+clors)	Clor.	12,5 a A	12,0 a A	13,4 a A	13,6 a A	12,1 a A	0,3221	75	12,63
(met+clors)	Dicl.	13,1 a A	12,9 a A	13,5 a A	13,4 a A	10,6 a A	0,2526	75	19,12
-	Imz.	12,2 a A	12,1 a A	12,8 a A	12,9 a A	9,7 a A	0,5251	74	13,19
-	Clor.	13,3 a A	13,5 a A	10,3 a A	10,4 a A	12,1 a A	0,1214	75	12,23
-	Dicl.	13,5 a A	13,4 a A	13,2 a A	11,6 a A	11,1 a A	0,1516	75	13,48
Valor p ($\leq 0,05$)		0,2012	0,2563	0,1554	0,2429	0,5013			
N		170	175	172	176	177			
C.V. (%)		18,41	18,45	12,88	17,14	18,68			

*Dentro de cada fecha de muestreo, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Dentro de cada tratamiento (herbicida o combinación de herbicidas), letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$).

4.2. Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS

4.2.1. Variables climáticas medidas para el periodo 2017-18

Durante el periodo en que duró este experimento (agosto 2017-diciembre 2017 y agosto 2018-diciembre 2018), las precipitaciones no difirieron estadísticamente de la media histórica para los periodos considerados ($p>0,05$) (Figura 11). El periodo agosto 2017-diciembre 2017 y agosto 2018-diciembre 2018 mostró una cantidad de lluvia acumulada similar estadísticamente a la media histórica para el periodo considerado ($p>0,05$) (Figura 12).

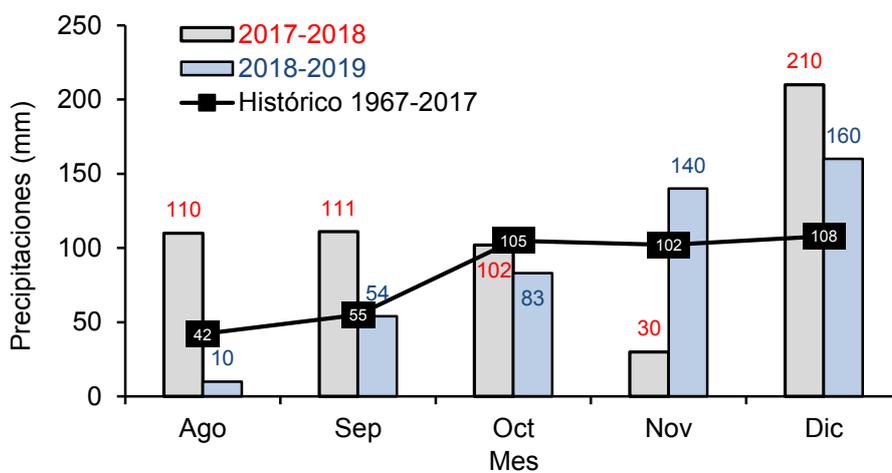


Figura 11. Precipitación mensual (mm) para el periodo agosto-diciembre 2017 y agosto-diciembre 2018. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

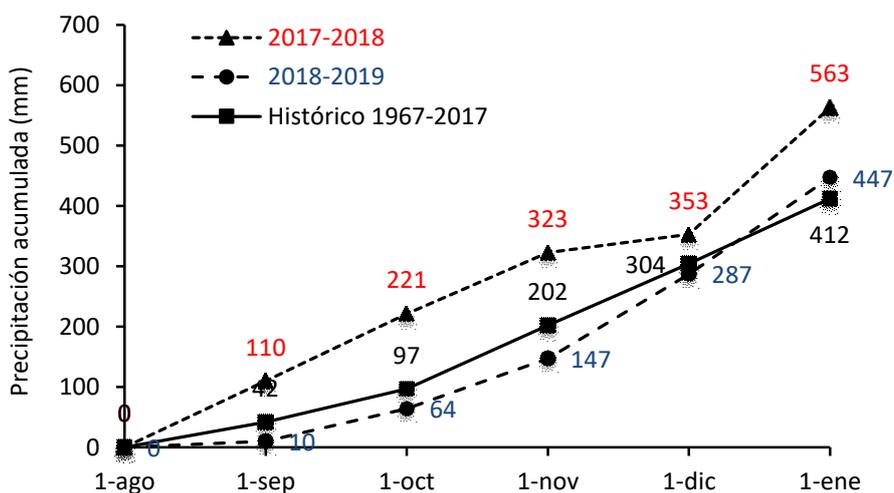


Figura 12. Precipitación acumulada (mm) para el periodo agosto-diciembre 2017 y agosto-diciembre 2018. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

Para el periodo de estudio el balance hídrico (sumatoria de las diferencias entre las precipitaciones mensual y la evaporación) fue siempre mayor a cero en 2017. Lo

mismo ocurrió en el año 2018 con excepción de noviembre donde se registró un valor negativo (Figura 13).

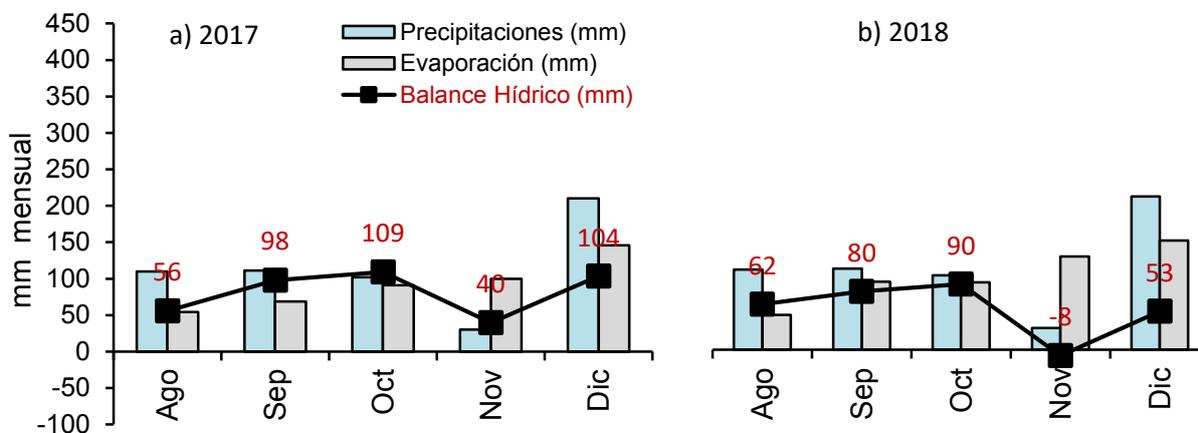


Figura 13. Precipitación (mm), evaporación (mm) y balance hídrico mensual acumulado (mm) durante el periodo agosto-diciembre en a) 2017 y b) 2018. Partido de San Nicolás, provincia de Buenos Aires.

Las temperaturas mínimas, medias y máximas mensuales fueron similares a la media histórica para los periodos agosto 2017-diciembre 2017 y agosto 2018-diciembre 2018 ($p > 0,05$) (Figura 14).

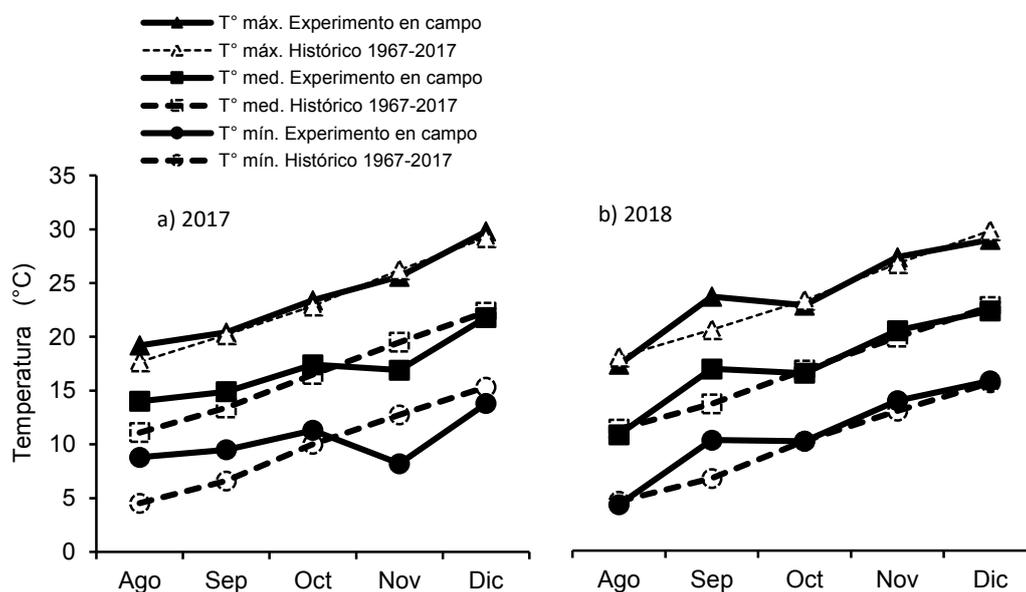


Figura 14. Temperatura mínima (°C), media (°C) y máxima mensual (°C) para el periodo agosto-diciembre en a) 2017 y b) 2018. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017 y 2018.

4.2.2. Bioexperimentos en girasol

Los resultados obtenidos en girasol indican que no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ninguno de los valores observados (LRP, MSA y MSR) y los predichos

(calculados). Esto indica que hubo interacciones aditivas para las tres variables analizadas (LRP) (Figura 15), (MSA y MSR) (Tablas 17 y 18). Así, cada residuo de herbicida contribuyó a la reducción de las variables analizadas, independientemente de la presencia del otro residuo de herbicida.

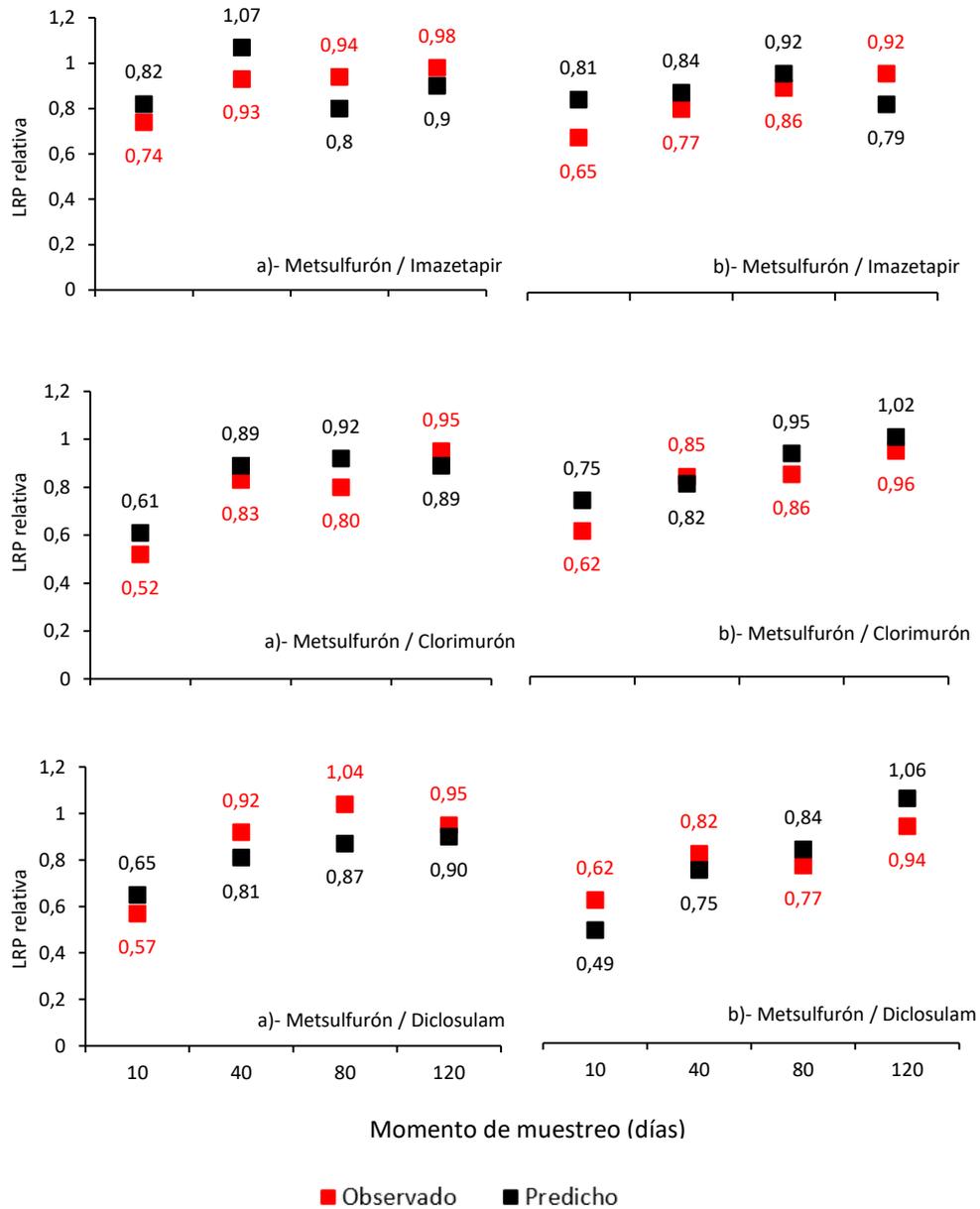


Figura 15. Proporción respecto al control sin herbicidas residuales de longitud de raíz principal en girasol relativa observada y predicha (calculada) en a) 2017 y b) 2018 para cada combinación de herbicidas residuales ALS a los 10, 40, 80 y 120 después de la aplicación (DDA) aplicados en un suelo serie Ramallo. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

Tabla 17. Materia seca aérea (MSA, g) en girasol observada y predicha (calculada) para cada combinación de herbicidas residuales ALS aplicados en un suelo serie Ramallo. Met.: metsulfurón; Imz.: imazetapir; Clor.: clorimurón; Dicl.: diclosulam. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017 y 2018.

	Año	Momento		Observado	Predicha	n	C.V. (%)	Valor p ($\leq 0,05$)
		Fecha de muestreo	de muestreo (días)					
Met / Imaz	2017	6/9	10	0,074	0,085	29	21,14	0,8010
		6/10	40	0,072	0,066	32	31,25	0,4209
		15/11	80	0,061	0,496	26	28,17	0,0898
		26/12	120	0,078	0,072	31	18,56	0,3596
	2018	3/9	10	0,064	0,075	30	15,46	0,2025
		3/10	40	0,075	0,081	29	17,59	0,3135
		13/11	80	0,070	0,079	28	18,20	0,2122
		23/12	120	0,081	0,074	25	14,13	0,1516
Met / Clori	2017	6/9	10	0,068	0,081	25	14,66	0,1148
		6/10	40	0,066	0,070	31	28,01	0,9697
		15/11	80	0,076	0,057	28	20,36	>0,0009
		26/12	120	0,075	0,084	29	20,35	0,2126
	2018	3/9	10	0,072	0,075	30	15,45	0,1512
		3/10	40	0,065	0,079	28	16,51	0,1620
		13/11	80	0,076	0,081	27	18,12	0,1212
		23/12	120	0,082	0,070	29	14,20	0,2021
Met / Diclo	2017	6/9	10	0,082	0,076	28	22,46	0,7443
		6/10	40	0,071	0,060	32	26,47	0,2125
		15/11	80	0,072	0,054	25	27,70	>0,0093
		26/12	120	0,076	0,086	32	21,25	0,2524
	2018	3/9	10	0,068	0,075	30	12,11	0,1516
		3/10	40	0,066	0,075	28	17,15	0,1232
		13/11	80	0,078	0,079	29	18,15	0,2125
		23/12	120	0,075	0,081	31	15,16	0,3123

Tabla 18. Materia seca radical (MSR, g) en girasol observada y predicha(calculada) para cada combinación de herbicidas residuales ALS aplicados en un suelo serie Ramallo. Met.: metsulfurón; Imz.: imazetapir; Clor.: clorimurón; Dicl.: diclosulam. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017 y 2018.

	Año	Fecha de muestreo	Momento de muestreo (días)	Observado	Predicha	n	C.V. (%)	Valor p (<=0,05)
Met / Imaz	2017	6/9	10	0,062	0,058	24	20,38	0,2866
		6/10	40	0,084	0,090	27	26,58	0,7559
		15/11	80	0,096	0,082	28	20,59	0,3678
		26/12	120	0,097	0,091	32	20,54	0,2532
	2018	3/9	10	0,052	0,060	23	15,41	0,3132
		3/10	40	0,075	0,086	30	12,52	0,2526
		13/11	80	0,092	0,084	29	20,12	0,1552
		23/12	120	0,089	0,095	28	19,51	0,1415
Met / Clori	2017	6/9	10	0,058	0,045	31	22,07	0,3261
		6/10	40	0,097	0,087	33	26,70	0,5204
		15/11	80	0,099	0,096	29	29,41	0,8516
		26/12	120	0,093	0,095	28	18,95	0,2864
	2018	3/9	10	0,075	0,068	25	17,15	0,4261
		3/10	40	0,081	0,079	31	21,20	0,3225
		13/11	80	0,085	0,092	28	15,50	0,1514
		23/12	120	0,089	0,095	27	16,25	0,1213
Met / Diclo	2017		10	0,058	0,048	29	20,66	0,4630
		6/10	40	0,080	0,085	33	18,98	0,3069
		15/11	80	0,097	0,091	27	24,13	0,1497
		26/12	120	0,092	0,082	31	19,54	0,3132
	2018	3/9	10	0,051	0,068	28	20,12	0,2021
		3/10	40	0,075	0,070	30	15,14	0,2550
		13/11	80	0,080	0,089	30	22,14	0,0874
		23/12	120	0,079	0,085	31	16,18	0,3130

4.3. Persistencia fitotóxica de herbicidas residuales ALS sobre el cultivo de soja

4.3.2. Bioexperimentos en soja

El análisis para la LRP, indicó interacción significativa entre los tratamientos y los DDA ($p < 0,05$). Así, se observó la mayor reducción en la LRP para metsulfurón/clorsulfurón y la fecha de muestreo a los 30 DDA tanto en 2017 como en 2018 (Tablas 18 y 19). Respecto al efecto de la fecha de muestreo, se observó que metsulfurón alcanzó valores similares al control sin herbicidas residuales ($p > 0,05$) a los 60 DDA. En el caso de metsulfurón/clorsulfurón, se observaron valores similares al control ($p > 0,05$) a los 120 DDA (Tablas 19 y 20).

Para la MSA, también se observó una interacción significativa entre los herbicidas y los DDA ($p < 0,05$). Así, se registró la mayor reducción en la MSA para el tratamiento que incluía metsulfurón/clorsulfurón y la fecha de muestreo a los 30 DDA en ambos años de estudio (Figuras 16 y 17). Respecto al efecto de la fecha de muestreo, se observó que metsulfurón alcanzó valores similares al control sin herbicidas residuales ($p > 0,05$) entre los 60 y 90 DDA en 2017 y 2018. En el caso de metsulfurón/clorsulfurón, se observaron valores similares al control sin herbicidas residuales ($p > 0,05$) a los 120 DDA (Figuras 16 y 17).

La MSR no registró interacción entre los herbicidas y los DDA ($p > 0,05$). Tampoco se detectaron efectos de los herbicidas, mientras que sí se obtuvieron diferencias significativas entre los DDA ($p < 0,05$). Así, metsulfurón alcanzó valores de MSR similares al control a los 60 días en 2017 y a los 30 días en 2018 (Figura 16). En el caso de metsulfurón/clorsulfurón alcanzó valores similares al control sin herbicidas residuales a los 90 días en 2017 y a los 60 días en 2018 (Figura 17).

Tabla 19. Longitud de raíz principal (LRP, cm) de soja para cada herbicida y para cada fecha de muestreo en 2017 aplicados en un suelo serie Ramallo en un barbecho químico largo (BQL) y barbecho químico corto (BQC). DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo; Met: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón/clorsulfurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

Tratamiento	DDS					Valor p ($\leq 0,05$)	N	C.V. (%)
	30	60	90	120	150			
Control	12,8 a A	12,5 a A	13,2 a A	12,7 a A	11,5 a A	0,1452	74	14,3
Met.	9,3 b B	10,8 ab AB	10,9 a A	12,6 a A	11,9 a A	<0,0001	75	16,2
(Met/Clors)	6,7 c B	9,2 b B	9,8 b AB	11,6 a A	11,7 a A	<0,0001	71	18,3
Valor p ($\leq 0,05$)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0801	0,2021			
N	45	44	45	42	45			
C.V. (%)	18,7	21,2	14,5	12,1	16,2			

*Dentro de cada fecha de muestreo, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$). Dentro de cada tratamiento (herbicida o combinación de herbicidas), letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$).

Tabla 20. Longitud de raíz principal (cm) de soja para cada tratamiento y para cada fecha de muestreo en 2018 aplicados en un suelo serie Ramallo. BQL: barbecho químico largo; BQC: barbecho químico corto; DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo; Met.: metsulfurón; Met/Clors: metsulfurón más clorsulfurón. n: número de repeticiones que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

Tratamiento	DDS					Valor p ($\leq 0,05$)	N	C.V. (%)
	30	60	90	120	150			
Control	9,5 a A	9,7 a A	9,8 a A	9,7 a A	10,1 a A	0,2101	75	11,5
Met.	8,5 b B	9,2 ab AB	9,5 ab A	10,2 a A	9,6 a A	<0,0001	75	19,2
(Met/Clors)	5,4 c B	7,5 b B	8,0 b AB	8,5 a A	8,6 a A	<0,0001	71	17,6
Valor p ($\leq 0,05$)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1512	0,1114			
N	45	42	45	45	45			
C.V. (%)	12,4	11,2	21,5	19,1	12,8			

*Dentro de cada fecha de muestreo, letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$). Dentro de cada tratamiento (herbicida o combinación de herbicidas), letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($p > 0,05$).

La aplicación de metsulfurón ($10 \text{ g.p.f. ha}^{-1}$) generó una reducción en la LRP, MSA y MSR en soja. El modelo fue probado para cada herbicida utilizando los valores de LRP, MSA y MSR (Adati *et al.*, 2006). Las pruebas de F de falta de ajuste realizadas para cada curva frente al ANOVA correspondiente no fueron significativas ($p < 0,05$), por lo que el modelo describió adecuadamente el comportamiento de la LRP, MSA y MSR de las plantas de soja.

Los resultados obtenidos mediante bioexperimentos en soja en condiciones controladas mostraron que el tiempo necesario para no detectar síntomas de fitotoxicidad en soja mediante bioexperimentos por la aplicación de metsulfurón ($10 \text{ g.p.f. ha}^{-1}$) en pre-siembra del cultivo fue de 60 a 65 días y 30 a 60 mm de precipitaciones acumuladas.

Por su parte, el tiempo requerido entre la aplicación de (metsulfurón/clorsulfurón) (15 g.p.f.ha⁻¹) y la siembra del cultivo de soja para no observar síntomas de fitotoxicidad fue de 120 días y entre 133 y 230 mm (Tabla 21).

Tabla 21. Parámetros a y b del modelo propuesto de efectos del momento de muestreo sobre las variables longitud de raíz principal (LRP, cm), materia seca aérea (MSA, g) y materia seca radical (MSR, g). R²: coeficiente de correlación. Met.: metsulfurón y (Met/Clors): metsulfurón/clorsulfurón. Partido de San Nicolás, Buenos Aires. 2017 y 2018.

Variable	Año	Herbicida	A	b	R ²
LRP	2017	Met	12,6	0,03	0,83
		(Met/Clors)	11,7	0,06	0,81
	2018	Met	10,2	0,03	0,89
		(Met/Clors)	8,6	0,06	0,95
MSA	2017	Met	0,109	0,05	0,52
		(Met/Clors)	0,114	0,06	0,51
	2018	Met	0,095	0,05	0,58
		(Met/Clors)	0,086	0,06	0,92
MSR	2017	Met	0,102	0,05	0,67
		(Met/Clors)	0,090	0,07	0,74
	2018	Met	0,092	0,03	0,64
		(Met/Clors)	0,091	0,03	0,74

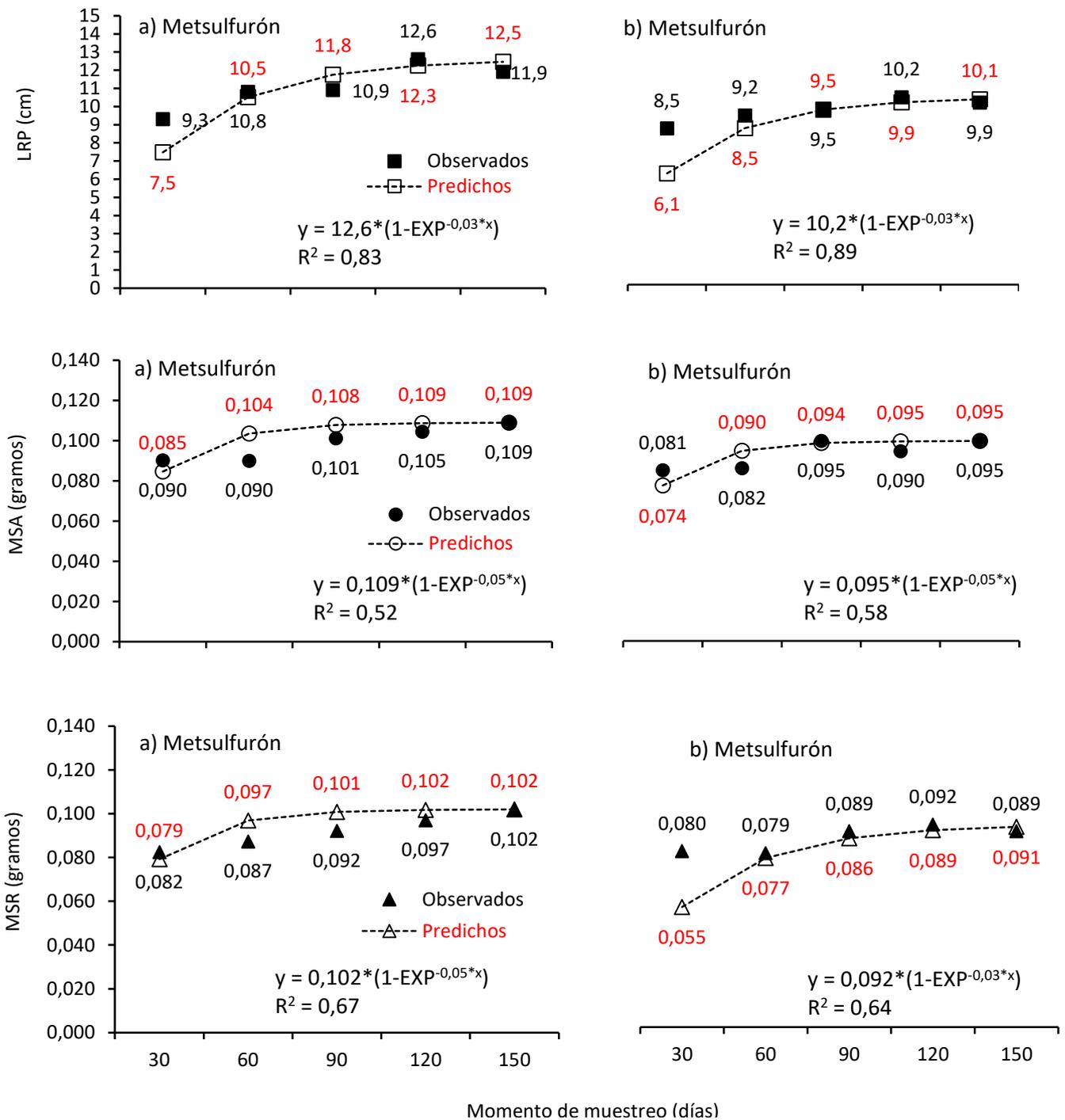


Figura 16. Valores observados (símbolos llenos) y predichos (símbolos vacíos) de acuerdo con el modelo de regresión no lineal de longitud de raíz principal (LRP, cm), materia seca aérea (MSA, g) y materia seca radical (MSR, g) en soja para metsulfurón en a): 2017 y b): 2018, aplicados en un suelo serie Ramallo. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

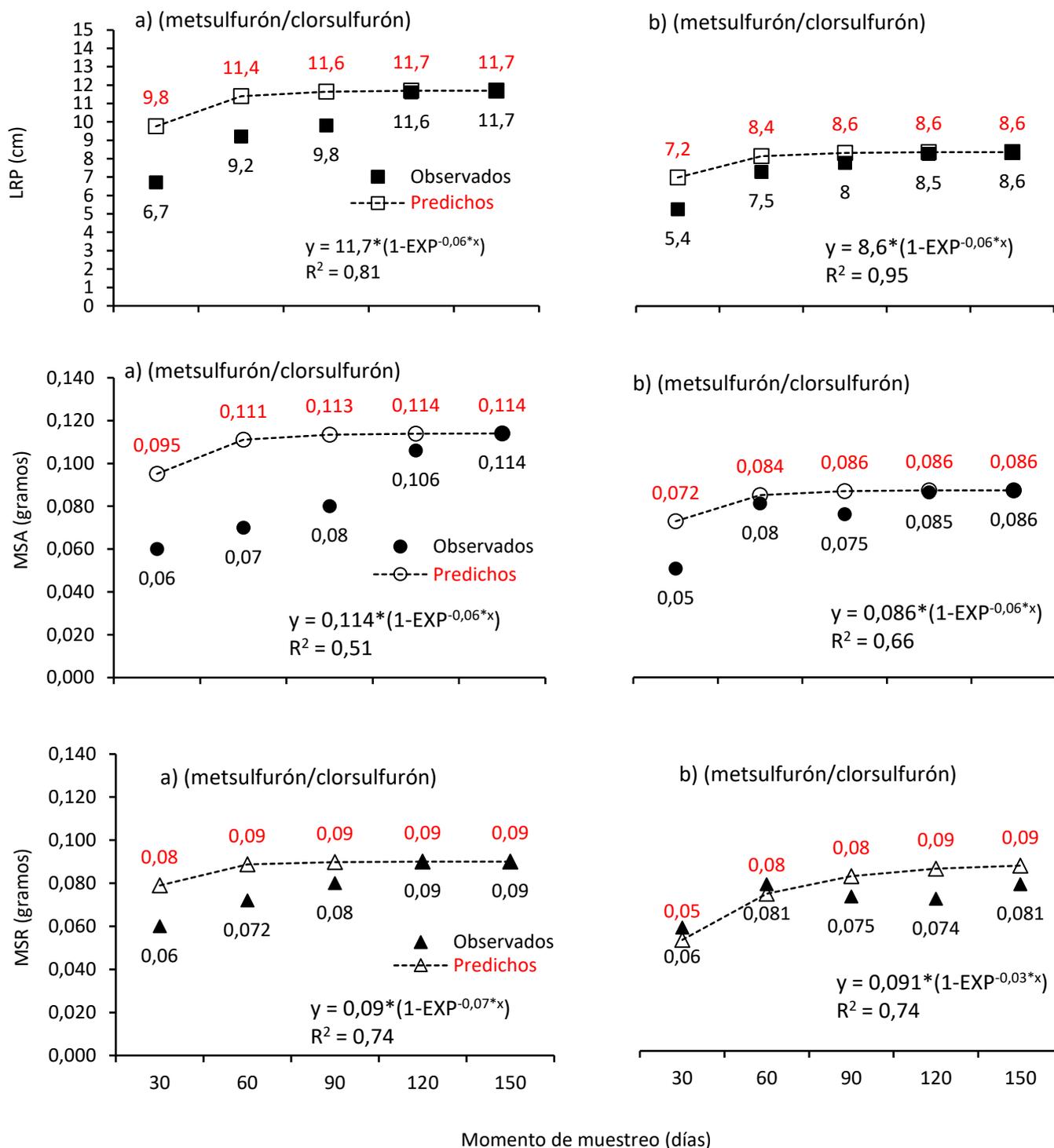


Figura 17. Valores observados (símbolos llenos) y predichos (símbolos vacíos) de acuerdo con el modelo de regresión no lineal de longitud de raíz principal (LRP, cm), materia seca aérea (MSA, g) y materia seca radical (MSR, g) en soja para metsulfurón/clorsulfurón en a): 2017 y b): 2018, aplicados en un suelo serie Ramallo. Partido de San Nicolás, Buenos Aires.

5. Discusión

5.1. Residualidad por aplicación secuencial de herbicidas ALS

5.1.1. Estudio en campo

De acuerdo con los resultados obtenidos en condiciones de campo no fue posible detectar efectos de residualidad en los cultivos evaluados, a diferencia de lo registrado por otros investigadores (Brown, 1990; Moyer *et al.*, 1990; Moyer y Esau, 1996; O'sullivan *et al.*, 1998; Renner *et al.*, 1998; Ball *et al.*, 2003; Alister y Kogan, 2005; Panaggio, 2018). La aplicación en secuencia (Szmiegielski *et al.*, 2011) de herbicidas residuales inhibidores de la ALS previo a la siembra de cultivos sensibles como colza, no generó efectos perjudiciales en las variables analizadas. Los suelos de textura fina a media como el del presente estudio, poseen mayor potencial para retener herbicidas y por lo tanto menor es la probabilidad de que se produzcan problemas de fitotoxicidad (Anderson, 1985; Anderson y Barret, 1985; Bedmar y Gianelli, 2014). A su vez, las condiciones climáticas luego de la aplicación (precipitaciones acumuladas superiores al promedio histórico) pudieron haber contribuido a la rápida disipación de los herbicidas en el suelo disminuyendo los riesgos de generar fitotoxicidad en condiciones de campo en los cultivos de soja y colza.

5.1.1.1. Soja

Densidad de plantas y altura

El número de plantas emergidas no fue reducido por la aplicación en secuencia de hasta dos herbicidas residuales ALS en pre-siembra del cultivo de soja, al igual que los resultados encontrados por Prostko *et al.* (1996) quienes trabajaron con clorimurón y linurón. Asimismo, la ausencia de efecto de los herbicidas sobre la densidad de plantas coincide con aquellos obtenidos por Krausz *et al.* (1992), quienes trabajando con herbicidas inhibidores de la ALS (clorimurón e imazetapir) tampoco determinaron efectos negativos sobre la emergencia del cultivo de soja para dosis similares a las aquí utilizadas.

Los resultados de altura en soja aquí obtenidos coinciden con aquellos encontrados por Prostko *et al.* (1996) quienes han informado disminuciones en la altura del cultivo de soja en evaluaciones cercanas a la aplicación (5 semanas después de la aplicación) y la posterior recuperación (19 semanas después de la aplicación) por

aplicaciones de mezclas de herbicidas residuales ALS en presembrado del cultivo de soja. De forma similar, Krausz y Young (2001) concluyeron que la altura del cultivo no fue influenciada por los síntomas fitotóxicos ocurridos en etapas tempranas. La disminución en altura del cultivo de soja por efectos fitotóxicos de herbicidas inhibidores de la ALS puede ser esperable cuando el cultivar manifiesta sensibilidad a los herbicidas y si bien el cultivar de soja utilizado en el presente estudio no era tolerante a herbicidas ALS, las condiciones edafoclimáticas (suelo de textura fina a media y precipitaciones acumuladas superiores a la media histórica) pudieron haber contribuido a la disipación de los herbicidas (Al-Khatib y Peterson, 1999; Helling, 2005). Un aumento en la intensidad de uso o en la dosis de herbicidas residuales inhibidores de la ALS podría haber generado una disminución en la altura del cultivo de soja tal como lo informan los trabajos realizados por Krausz *et al.* (1992) quienes determinaron reducciones en la altura cuando trabajaron con herbicidas como clorimurón e imazetapir en pre-sembrado del cultivo de soja, pero en dosis dobles o triples que a las aquí utilizadas. Para dosis similares, los resultados coinciden con los aquí informados. Así, el riesgo de generar un perjuicio sobre la densidad de plantas y la altura del cultivo de soja por la aplicación en secuencia de herbicidas residuales inhibidores de la ALS (hasta dos activos) en los sistemas productivos de la región es bajo.

Fijación biológica de nitrógeno

Los resultados encontrados sobre la FBN no coinciden con aquellos obtenidos por De Felipe *et al.*, 1987, Fernández-Pascual *et al.*, 1988, Pozuelo *et al.*, 1989 y Fernández-Pascual *et al.*, 1992 quienes determinaron que herbicidas con acción residual pueden afectar dicho proceso a través de una reducción en el número de nódulos por planta. Así, las aplicaciones en secuencia de herbicidas inhibidores de la ALS no generaron un efecto negativo en las variables relacionadas al proceso de FBN (número de nódulos, peso de nódulos, nodulación específica). Las condiciones de precipitaciones acumuladas ocurridas después de la aplicación de los herbicidas sumado a las características del suelo donde se desarrolló el experimento (elevado contenido de arcilla, pH menor a 7) pudieron contribuir en favorecer la disipación de los herbicidas y así menor cantidad de activo quedó disponible para afectar el proceso de nodulación.

Fitotoxicidad

Los valores de fitotoxicidad aquí obtenidos fueron inferiores que los determinados por Simpson y Stoller (1996) quienes trabajaron con aplicaciones secuenciales de herbicidas residuales ALS en post-emergencia de un cultivar de soja tolerante a herbicidas ALS. Posiblemente esa menor fitotoxicidad se deba a que el apilamiento realizado en el trabajo de Simpson y Stoller (1996) se efectuó en post-emergencia del cultivo, a diferencia del presente estudio, donde el apilamiento se realizó en pre-siembra del cultivo.

La ausencia de efectos fitotóxicos sobre el cultivo de soja permite aseverar que el herbicida metsulfurón, aplicado durante el barbecho, fue disipado en forma adecuada. Este herbicida puede causar daños fitotóxicos en el cultivo con aplicaciones cercanas a la siembra (30 a 40 días) (Avendaño *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2011), sin embargo, en esta experimentación el lapso entre la aplicación y la siembra fue mayor (70 días). Además, las abundantes precipitaciones acumuladas durante el barbecho previo a la siembra de soja permitieron un adecuado nivel de humedad del suelo favoreciendo su disipación. Metsulfuron es móvil en el suelo y se ha determinado que con lluvias de más de 100 mm después de la aplicación se puede lixiviar a más de 16 cm de profundidad (James *et al.*, 2004). En este caso, las precipitaciones acumuladas entre la aplicación y la siembra de soja fueron de 230 mm lo que posiblemente favoreció tal lixiviación, no produciéndose daños en el cultivo. Estudios previos también determinaron que después de 148 días desde la aplicación, se hallaron bajos niveles de residuos de metsulfurón a 30-40 cm de profundidad (Walker y Welch, 1989).

Por su parte Kapusta *et al.* (1986) y Corrigan y Harvey (2000) trabajando con imazetapir, determinaron una tendencia similar de dilución de los daños fitotóxicos sobre el cultivo, en la medida que trascurrieron los días después de la aplicación.

Por otro lado, el riesgo de generar un perjuicio al cultivo de soja por la aplicación de clorimurón en pre-siembra del cultivo en suelos de textura fina a media y pH menor 7 como el del presente estudio, es bajo. En este sentido distintos estudios han demostrado la tolerancia del cultivo de soja a la aplicación de clorimurón (Wilcut *et al.*, 1989; Moseley *et al.*, 1993). No obstante, su uso frecuente en la etapa de barbecho químico (para el cual no se encuentra registrado su uso) (Vigna *et al.*, 2014; Principiano y Acciaresi, 2018) (sumado a la aplicación secuencial de otros activos residuales ALS), podría generar un efecto fitotóxico sobre el cultivo de soja que continua en la rotación. El cultivo de soja tiene la habilidad de recuperarse de los daños causados por herbicidas ALS cuando estos suceden en estadios tempranos del crecimiento del cultivo tal como sugieren

Haggod *et al.* (1980) y Weidenhamer *et al.* (1989). La respuesta del cultivo por aplicaciones de clorimurón en pre-siembra es diferente a la determinada por Askew *et al.* (1999), quienes observaron daños fitotóxicos (10 a 14 %) en el cultivo en función del herbicida aplicado previamente (trifluralina, flumetsulam, metribuzín, imazaquín). Los síntomas de fitotoxicidad aquí encontrados por la aplicación secuencial de herbicidas inhibidores de la ALS desaparecieron con el avance del ciclo del cultivo no afectando la producción en grano.

La aplicación adicional de imazetapir, clorimurón y diclosulam sobre metsulfurón no causó efectos fitotóxicos demostrando una adecuada tolerancia del cultivo a la aplicación en secuencia de estos herbicidas. La tolerancia del cultivo de soja a estos activos herbicidas, ya demostrada previamente para aplicaciones simples (Cole *et al.*, 1989; Krausz *et al.*, 1992), también se manifestó con aplicaciones en secuencia. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Panaggio (2018) quien también registró condiciones propicias para la disipación de los herbicidas (elevadas precipitaciones acumuladas posterior a la aplicación).

Por otro lado, el apilamiento de los herbicidas imazetapir, clorimurón y diclosulam sobre metsulfurón/clorsulfurón manifestó síntomas de fitotoxicidad que desaparecieron con el avance del ciclo del cultivo. De esta forma, es posible concluir que si bien la aplicación en secuencia de herbicidas residuales inhibidores de la ALS en pre-siembra del cultivo de soja puede generar síntomas fitotóxicos sobre el cultivo, si las condiciones posteriores a la aplicación de los herbicidas son favorables para su disipación, el riesgo de generar un perjuicio sobre la producción en grano es baja.

Radiación fotosintéticamente activa interceptada, eficiencia en el uso de la radiación y tasa de crecimiento del cultivo.

Todas las secuencias herbicidas alcanzaron una intercepción de radiación cercana a 95% en el estado fenológico R₅. Johnson *et al.* (2002) y Edwards y Purcell (2005) observaron que, en ciertos casos, leves reducciones de la RFAi por efectos de fitotoxicidad de herbicidas residuales ALS no se relacionaron con disminuciones en la producción en grano. Por otro lado, valores de EUR similares a los determinados en este estudio han sido informados por Rochette *et al.* (1995), Sinclair y Muchow (1999), Molino (2011) y Giayetto *et al.* (2015). De forma similar a esta experiencia Adcock y Banks (1991) empleando herbicidas inhibidores de la ALS (clorimurón) no determinaron

efectos negativos sobre la TCC de soja. La ausencia de efectos negativos sobre la TCC presume un crecimiento normal del cultivo.

Producción en grano

Los resultados obtenidos coinciden con lo documentado por Krausz *et al.*, (1992), Kapusta *et al.* (1986) y Corrigan y Harvey (2000), quienes a pesar de haber detectado síntomas de fitotoxicidad visual por la utilización de herbicidas residuales ALS, no observaron luego disminuciones en la producción en grano. No siempre los efectos fitotóxicos por herbicidas sobre soja se relacionan con disminuciones en la producción (Haggod *et al.*, 1980; Shaw y Wixson, 1991; Prostko *et al.*, 1996; Johnson *et al.*, 2002). Los daños fitotóxicos aquí determinados no fueron lo suficientemente prolongados (Hart y Roskamp, 1998; Al-Khatib y Peterson, 1999) como para causar reducciones de la RFAi acumulada (Edwards y Purcell, 2005), o del crecimiento vegetativo (Young *et al.*, 2003) y en la producción en grano.

5.1.1.2. Colza

Densidad de plantas y altura

Los resultados obtenidos en colza no coinciden con los obtenidos por Moyer y Esau (1996), quienes registraron una reducción en la emergencia y en la altura de colza en los tratamientos que incluían imazetapir aplicado con un año de anticipación. A su vez, estos mismos autores observaron daños fitotóxicos en colza que causaron disminuciones de la biomasa del cultivo (entre 20 a 25 %), cuando evaluaron herbicidas ALS de la familia de las imidazolinonas (imazetapir en dosis similares a las aquí utilizadas (100 g.i.a.ha⁻¹)). Las precipitaciones acumuladas superiores a la media histórica ocurridas en el presente estudio pudieron haber favorecido la disipación de imazetapir tal como fue demostrado por Battaglin *et al.*, 2000 y Sondhia, 2013. Así, el riesgo de generar perjuicios en la región por imazetapir sobre el cultivo de colza que continúa en la rotación es bajo si las características del suelo (suelos textura fina a media) y las condiciones climáticas posteriores a la aplicación son favorables para la disipación de herbicidas (elevadas precipitaciones).

Producción en grano

Respecto a la producción en grano, los resultados obtenidos en el presente estudio no coinciden con lo observado por Ball *et al.*, (2003) y O'Sullivan *et al.* (1998), quienes determinaron que la producción en grano de colza fue reducida por efecto del herbicida imazetapir después de un año de aplicado el mismo. La posible diferencia radicaría en que estos autores evaluaron la fitotoxicidad en ambientes de bajas precipitaciones (menores a 600 mm) respecto de las registradas en el presente estudio. Ello es de suma relevancia dado la importancia de las precipitaciones en la disipación de herbicidas residuales inhibidores de la ALS en el suelo afectando la persistencia (Anderson 1985, Shipitalo *et al.*, 1990; Oppong y Sagar, 1992; Sigua *et al.*, 1993; Isensee y Sadeghi, 1994; Shin *et al.*, 1998; James *et al.*, 2004). Las elevadas precipitaciones acumuladas ocurridas en el presente estudio (mayor a 900 mm) (en la etapa de pre-siembra del cultivo de colza) podrían haber favorecido la disipación de herbicidas tal como lo demostraron Ball, (2003), Moyer y Esau (1996) y O'Sullivan *et al.*, (1998) debido al alto potencial de lixiviación de los ingredientes activos evaluados ($GUS > 2,8$) (Lewis *et al.*, 2016).

La aplicación de herbicidas sulfonilureas en el año anterior a la siembra no afectó la producción en grano de colza. En este sentido, Moyer *et al.* (1990) concluyeron que entre la aplicación de dosis altas de clorsulfurón (40 g.i.a.ha^{-1}) y la siembra de colza deben pasar tres años para no observar daños. No obstante, para dosis similares a las utilizadas en este experimento ($9,4 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$), no se observaron efectos fitotóxicos un año después de la aplicación. Se podría inferir que el clorsulfurón mostró una tasa general de degradación más rápida dado el pH menor a 7 en el presente estudio tal como fue documentado en otros trabajos (Walker y Brown, 1983; Joshi *et al.*, 1985; Thirunarayanan *et al.*, 1985; Ravelli *et al.*, 1997; James *et al.*, 1999). A su vez, los suelos de textura fina a media como el utilizado aquí, poseen mayor potencial para retener herbicidas y por lo tanto menor es la probabilidad de que se produzcan problemas de fitotoxicidad (Anderson, 1985; Anderson y Barret, 1985; Bedmar y Gianelli, 2014). Los elevados contenidos de arcilla (26 %) registrados por Moyer *et al.* (1990) son similares a los registrados en el presente estudio. A su vez, estos resultados coinciden también con lo documentado en otro trabajo por Moyer (1995) quien no detectó daños por la aplicación de herbicidas sulfonilureas (entre ellos metsulfurón y clorsulfurón) en colza aplicados en el año anterior. Por su parte Soltani *et al.*, (2004), trabajando con aplicaciones de herbicidas residuales ALS (entre ellos clorimurón) no detectaron una disminución en la producción en grano sobre cultivos sensibles que continuaron en la rotación el año

siguiente. La disipación y consecuentemente la persistencia de los herbicidas ALS dependen de la degradación relacionada con el suelo y de las características de sorción. Los elevados contenidos de arcilla (24 %) y el pH menor a 7 en el presente estudio (pH 5,8) podrían haber favorecido la adsorción de los herbicidas de la familia de las sulfonilureas a los coloides del suelo y por lo tanto una menor cantidad de ingrediente activo quedó disponible para ser absorbido por las plantas y así generar fitotoxicidad (Anderson, 1985; Anderson y Barret, 1985). A su vez, a pH de suelo menores a 7 (como los determinados en este experimento), ocurre una más rápida degradación debido al hidrólisis ácida (Sarmah y Sabadie, 2002).

Las temperaturas ambientes registradas en el presente estudio fueron similares al promedio histórico lo que no pudo haber favorecido una mayor actividad microbiana. Esto permite inferir que fueron las condiciones de precipitaciones y características del suelo (textura, pH) las que contribuyeron a la degradación de los herbicidas, disminuyendo la persistencia de los activos en el suelo (Beyer *et al.*, 1988; Goetz *et al.*, 1990, Mangels, 1991; Loux y Reese, 1993; Lehmann *et al.*, 1993; Flint y Witt, 1997; Cobucci *et al.*, 1998).

A su vez, la producción en grano del cultivo de colza no fue afectada por el apilamiento de herbicidas residuales inhibidores de la ALS. En este sentido, los resultados no son coincidentes con los obtenidos por Panaggio (2018) quien evaluó el apilamiento de herbicidas residuales inhibidores de la ALS (de 2 a 5 herbicidas) (metsulfurón, diclosulam, imazetapir, clorsulfurón), aplicados en pre-siembra y post-emergencia del cultivo de soja sobre cultivos invernales que continuaron en la rotación al año siguiente (trigo y cebada), encontrando principalmente efectos perjudiciales de apilamiento de herbicidas inhibidores de ALS sobre el cultivo de cebada y en menor medida en trigo. La diferencia con respecto a los resultados aquí encontrados podría deberse a la mayor cantidad de herbicidas apilados (cinco) por Panaggio (2018). Por su parte, Johnson *et al.* (2005) demostraron mayores pérdidas de rendimiento en colza por distintas combinaciones de imidazolinonas y sulfonilureas aplicados en secuencia, respecto de secuencias que utilizaron menos herbicidas residuales ALS o que no utilizaron herbicidas residuales. Así, es posible concluir que, con un apilamiento de hasta dos herbicidas residuales ALS, el riesgo de generar un efecto negativo sobre la producción en grano del cultivo de colza que continúa en la rotación es bajo en las condiciones experimentales evaluadas.

5.1.2. Estudio mediante bioexperimentos

Los bioexperimentos han sido utilizados para detectar diferentes herbicidas residuales, especialmente del grupo de los ALS (Sunderland *et al.*, 1991; Stork y Hannah, 1996; Hernández-Sevillano *et al.*, 2001; Eliason *et al.*, 2004; Geisel *et al.*, 2008). Así, bajas concentraciones de residuos de herbicidas pueden ser detectadas en cortos períodos (15 a 20 días) y en condiciones controladas de ambiente (Riddle, 2012). En este sentido, en el presente trabajo pudo observarse la utilidad de los bioexperimentos en la detección de concentraciones biológicamente activas de herbicidas residuales ALS, al igual que lo documentado por otros trabajos para la familia química de las imidazolinonas (Geisel *et al.*, 2008), sulfonilureas (Sunderland *et al.*, 1991; Stork y Hannah, 1996; Hernández-Sevillano *et al.*, 2001) y triazolpirimidinas (Stork y Hannah, 1996; Hernández-Sevillano *et al.*, 2001).

De las variables analizadas (LRP, MSA y MSR), la LRP fue en la cual se observó mayor reducción siendo así la más sensible, coincidiendo con lo documentado en otros estudios (Landi y Cambridge, 1989; Hernández-Sevillano *et al.*, 1999). Sin embargo, los resultados obtenidos mediante los bioexperimentos no coinciden con las respuestas del cultivo de soja en campo coincidiendo con lo establecido por Cervellini y Fantini (2015) quienes trabajando con herbicidas de la familia química de las imidazolinonas (imazapir e imazamox) no encontraron relación entre los resultados encontrados en los bioexperimentos y lo obtenido con girasol en condiciones de campo. Del mismo modo, Panaggio (2018) trabajando sobre el efecto del apilamiento de herbicidas residuales ALS (metsulfurón, clorimurón, imazetapir, clorsulfurón) sobre los cultivos de trigo y cebada determinó que no todas las variables cuantificadas tuvieron una asociación robusta con las variables medidas en condiciones de campo. Al respecto, las condiciones ambientales respecto de la situación en campo se modifican lo cual podría hacer que se sobreestimen los daños de los herbicidas presentes en el suelo. En este sentido, el mantenimiento de los suelos con humedad y una mayor temperatura en los bioexperimentos puede generar una mayor disponibilidad del herbicida debido a la desorción desde los sitios de unión al suelo (Riddle, 2012). Otra razón posible es que una vez tomada la muestra, en condiciones de campo, continua la degradación química y microbiana de los herbicidas. Asimismo, en condiciones de campo las raíces de los cultivos pueden escapar de la zona donde se concentran los herbicidas (Watson y Checkel, 2005) lo cual puede modificar la incidencia sobre los cultivos. De esta forma resulta difícil predecir pérdidas de rendimiento en cultivos a través de un bioexperimento. Así, si bien los bioexperimentos constituyen una

metodología experimental económica y relativamente sencilla para registrar la presencia de un herbicida o sus metabolitos en el suelo, dada la naturaleza experimental de los mismos, resulta imprescindible la evaluación en campo para determinar si es posible corroborar el mismo comportamiento residual.

Debe tenerse en cuenta que la recomendación de aplicación de metsulfurón/clorsulfurón en sojas no STS indica un periodo de 150 días y 250 mm entre la aplicación y la siembra, necesarios para que no se detecte fitotoxicidad (Vigna *et al.*, 2014). Los síntomas de fitotoxicidad registrados en los tratamientos con metsulfurón/clorsulfurón podrían ser debidos a que el tiempo transcurrido entre la aplicación de la mezcla de herbicidas y la siembra del cultivo de soja en el campo fue de 70 días con una precipitación acumulada de 210 mm.

5.2. Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS

Los resultados de interacción aquí obtenidos coinciden con el tipo de interacción observada en otros estudios (Zhang *et al.*, 1995; Moyer y Hamman, 2001; Eliason *et al.*, 2004; Johnson *et al.*, 2005; Geisel, 2007; Geisel *et al.*, 2008; Szmigielski *et al.*, 2008; Szmigielski *et al.*, 2011) para distintos herbicidas residuales ALS de las familias químicas de las imidazolinonas, sulfonilureas y sulfonil amino carbonil triazolinonas. No obstante, el tipo de interacción de generada no coincide con lo documentado por Simpson y Stoller (1996) quienes informaron que imazetapir combinado con thifensulfurón dio como resultado una fitotoxicidad sinérgica en soja tolerante a herbicidas de la familia química de las sulfonilureas.

La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS puede predisponer al cultivo sucesor en la rotación a niveles altos de fitotoxicidad. Posiblemente una de las causas es que dichos herbicidas comparten las rutas metabólicas de detoxificación y podrían competir por la acción de las enzimas detoxificantes. En este sentido, como la aplicación en secuencia de herbicidas ALS en años sucesivos o incluso dentro de un mismo año es una práctica frecuente en los sistemas agrícolas regionales se debe tener presente que la bioactividad de los residuos de herbicidas que persisten puede aumentar la bioactividad de un herbicida ALS aplicado. De este modo puede resultar en un mayor riesgo de lesiones en cultivos posteriores que son sensibles a ambos herbicidas.

5.3. Persistencia fitotóxica de herbicidas residuales ALS sobre el cultivo de soja

En lo que respecta a la persistencia fitotóxica de metsulfurón sobre el cultivo de soja, los resultados se encuentran dentro del rango determinado por métodos químicos de 23 a 79 días y muestreos a 20 cm de profundidad similares a los observados por (Walker *et al.*, 1989; James *et al.*, 1995). Se podría decir que se logró mayor biodisponibilidad y fitotoxicidad residual, así como persistencia de herbicidas, en el presente estudio debido al mayor pH (6) y menor contenido de materia orgánica (2,70 %) que en estudios realizados en otras condiciones ambientales (Bedmar *et al.*, 2005; Bedmar *et al.*, 2006; Salamanca, 2011). Asimismo, es sabido que las vías más importantes de degradación de las sulfonilureas en el suelo son la hidrólisis química y la degradación microbiana (Bedmar y Gianelli, 2014). Los factores que tienen mayor influencia en estos procesos incluyen el pH y la materia orgánica. Por esta razón, la tasa de degradación pudo haber sido más rápida en el suelo de Balcarce que en el presente estudio. Otro aspecto por considerar es que el elevado contenido de arcilla del suelo donde se realizó el presente estudio pudo aumentar la capacidad de retención de agua en el suelo y contribuir a mayores tasas de descomposición microbiana que aquellas observadas por Beckie y McKercher (1989), disminuyendo así la persistencia de los herbicidas ALS en el suelo.

Respecto al uso combinado de metsulfurón/clorsulfurón, los resultados no coinciden con lo observado por Bellingeri *et al.* (2009) quienes no determinaron daños fitotóxicos por la aplicación en presiembra de soja. Es importante destacar que estos autores realizaron sus experimentos en suelos con contenidos de materia orgánica (4,7 %) mayores a los del presente estudio. De este modo, el menor contenido de MO de los suelos de este trabajo pudo haber generado perjuicios en los cultivos sensibles que continúan en la rotación tal como han establecido Smith y Hsiao (1985), Goetz *et al.* (1989), Mangels, (1991) y Castro *et al.* (2002). Es importante destacar que los resultados aquí obtenidos coinciden con el perfil de disipación del herbicida que establece un periodo de 150 días y 250 mm entre la aplicación de metsulfurón/clorsulfurón y la siembra del cultivo de soja en campo (Vigna *et al.*, 2014) por lo que su aplicación cumpliendo dichos parámetros de restricción no generan fitotoxicidad sobre el cultivo de soja que continúa en la rotación.

Finalmente, un aspecto para considerar es que en el presente trabajo la profundidad de muestreo para la realización de los bioexperimentos fue de 20 cm, por lo que los resultados podrían diferir si se tuviera en cuenta un perfil menos profundo tal como los observados por Gianelli *et al.*, (2010), quienes trabajaron con profundidades de

muestreo de 12 cm para la determinación de la persistencia de herbicidas de la familia química de las imidazolinonas. De este modo, los resultados pueden diferir si se consideraran estratos de suelo más profundos, donde posiblemente quedarían una mayor cantidad de residuos de herbicidas.

Las aplicaciones secuenciales de herbicidas residuales inhibidores de la ALS pueden predisponer al siguiente cultivo a niveles altos de fitotoxicidad. No obstante, los resultados sugieren que dicho perjuicio está relacionado a las condiciones edafoclimáticas a las que estarán expuestos los activos herbicidas una vez aplicados. La técnica de bioexperimentos puede resultar útil para determinar un posible efecto perjudicial sobre el cultivo que se desea implantar. No obstante, la interpretación de los resultados de los bioexperimentos debe incluir otro tipo de información como características del suelo (textura, materia orgánica, pH) y datos climáticos (precipitaciones y temperaturas) para predecir un posible efecto sobre el cultivo en condiciones de campo.

Los herbicidas residuales son un componente importante de los programas de manejo de malezas regionales. La forma en que estos herbicidas son posicionados en la rotación de cultivos de un sistema productivo es una parte crítica del proceso de planificación. Comprender los factores que influyen en la persistencia ayudará a realizar un manejo adecuado de los mismos dentro de los sistemas productivos, tratando de disminuir las externalidades de su empleo.

6. Conclusiones

Los resultados obtenidos en esta tesis brindan información acerca de la persistencia de herbicidas ALS en un suelo del NO de la provincia de Buenos Aires y cómo la aplicación en secuencia de herbicidas residuales del grupo de los ALS incide en el comportamiento de los cultivos en rotación agrícola en la región. Ello resulta de importancia a fin de racionalizar el uso regional de herbicidas residuales.

Con los resultados obtenidos de tres años de experimentación, es posible concluir que:

Hipótesis 1. La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS genera efectos fitotóxicos afectando el establecimiento, el crecimiento y la producción en grano sobre el cultivo de soja que continúa en la rotación.

En el contexto experimental empleado, no se acepta la primera hipótesis. Si bien el apilamiento de herbicidas residuales inhibidores de la ALS aplicados durante el periodo de barbecho químico previo a la siembra del cultivo de soja generó un efecto fitotóxico, el mismo desapareció con el avance del ciclo del cultivo. El establecimiento, el crecimiento y la producción en grano del cultivo de soja que siguió en la rotación no se vieron afectados. Las condiciones edafoclimáticas donde se estableció el experimento en campo (suelos de textura media, elevadas precipitaciones acumuladas) pudieron haber contribuido a la disipación de los herbicidas. El riesgo de generar un perjuicio sobre el cultivo de soja que continúa en la rotación por el apilamiento de hasta dos herbicidas residuales ALS es bajo.

Hipótesis 2. La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS durante el período de barbecho previo a la siembra del cultivo de soja afecta los cultivos sensibles sembrados un año después que suceden en la rotación.

De acuerdo a los resultados obtenidos, no se acepta la segunda hipótesis. La aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la ALS durante el período de barbecho químico previo a la siembra de soja no afectó el establecimiento, crecimiento y producción en grano del cultivo de colza sembrado un año después de la aplicación. Las propiedades edáficas del sitio experimental

y las elevadas precipitaciones acumuladas en pre-siembra del cultivo de colza pudieron contribuir a la ausencia de efectos sobre el cultivo sucesor.

Hipótesis 3. La aplicación secuencial de herbicidas ALS durante el período de barbecho genera distintos tipos de interacciones entre los residuos generados por los mismos.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten aceptar la tercera hipótesis. La interacción generada por la acumulación de ingredientes activos de herbicidas residuales inhibidores de la ALS en el suelo fue aditiva. Así, la bioactividad de los residuos de herbicidas que persisten puede aumentar la bioactividad de los herbicidas inhibidores de la ALS aplicados, resultando en un mayor riesgo de lesiones en cultivos posteriores que sean sensibles a ambos herbicidas.

Aportes realizados

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis se han realizado las siguientes publicaciones:

- **Principiano, M. y H. Acciaresi. 2018.** Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el periodo de barbecho sobre el cultivo de soja. *Revista de la Asociación Argentina de Ciencia de las Malezas*. Vol. 1:38-45.
- **Principiano, M. y H. Acciaresi. 2018.** Interacción de residuos edáficos de herbicidas residuales ALS mediante la realización de bioensayos. RTA: *Revista de Tecnología Agropecuaria*. Vol. 10(34):29-32.
- **Principiano, M. y H. Acciaresi. 2017.** Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja. 1: bioensayos. RTA: *Revista de Tecnología Agropecuaria*. Vol. 10(34):29-32.
- **Principiano, M. y H. Acciaresi. 2017.** Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el período de barbecho sobre el cultivo de soja. 2: estudio en campo. RTA: *Revista de Tecnología Agropecuaria*. Vol. 10(34):33-36.
- **Principiano, M. y H. Acciaresi. 2018.** Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el periodo de barbecho sobre el cultivo de soja. **II Congreso Argentino de Malezas.** “*Ciencia, producción y sociedad: hacia un manejo*

sustentable”. **5 y 6 de junio de 2018. City Center, Rosario, Santa Fé. Organiza: ASACIM. Coordina: Grupo SEMA.**

Premio al mejor trabajo de la categoría estudiante de posgrado en el II congreso argentino de malezas realizado el 5 y 6 de junio de 2018 en la ciudad de Rosario, Argentina.

Los resultados obtenidos en esta tesis se relacionan con el estudio de la persistencia de herbicidas residuales de la familia de la Acetolactato Sintasa (ALS) y su incidencia en la productividad de cultivos sensibles en la rotación en sistemas agrícolas del NO bonaerense. No obstante, debe tenerse presente que estos resultados abarcan situaciones experimentales en condiciones controladas y de campo particulares. Dentro de las posibles acciones futuras que deberían evaluarse pueden mencionarse:

- Las aplicaciones secuenciales en el tiempo dieron lugar a interacciones de los residuos existentes. En los actuales sistemas productivos la superposición de herbicidas con acción residual resulta una práctica cada vez más frecuente. Así, dicha situación se realiza con activos herbicidas residuales de igual o diferente mecanismo de acción. Resultaría interesante profundizar en la generación de conocimiento acerca de la interacción de ingredientes activos herbicidas con acción residual y mecanismos de acción diferentes. Asimismo, se plantea la necesidad de determinar el comportamiento de diferentes cultivos e incluso entre cultivares de una misma especie.
- En los sistemas productivos actuales existe un creciente interés en el uso de los cultivos de cobertura para favorecer el manejo otoñal temprano de malezas. Esto plantea la necesidad de entender como la aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS utilizados en pre-siembra del cultivo de soja impacta en el establecimiento y crecimiento de los cultivos de cobertura establecidos en el siguiente año.
- Se plantea también la necesidad de repetir este tipo de experimento para condiciones edafoclimáticas diferentes a fin de alcanzar una validación regional consistente.
- En el presente estudio, se integran y relacionan aspectos de residualidad de ingredientes activos de herbicidas con variables de ecofisiología de cultivos. En

futuras investigaciones se debería ampliar el abordaje de variables ecofisiológicas (eficiencia en el uso de la radiación, tasa de crecimiento) sobre los cultivos en estudios de residualidad de herbicidas.

7. Literatura citada

- Abbate, P. E., F. H. Andrade y J. P. Culot. 1995.** The effects of radiation and nitrogen on number of grain in wheat. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge.* 124 (3): 351-360.
- Adati, C., V. A. Oliveira y D. Karam. 2006.** Análise matemática e biológica dos modelos de estimativa de perdas de rendimento na cultura devido à interferencia de plantas daninhas. *Planta Daninha.* 24:1-12.
- Adcock, T.E. y P. A. Banks. 1991.** Effects of chlorimuron on soybean (*Glycine max*) and sicklepod (*Cassia obtusifolia*) as influenced by application timing. *Weed Science.* 39 (2):139-142.
- Ahmad I. y G. Crawford. 1990.** Trace residua analysis of the sulfonylurea herbicide chlorsulfuron in soil by gas chromatography-electron capture detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 38: 138-141.
- Alister, C. y M. Kogan. 2005.** Efficacy of imidazolinone herbicides to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotacional crops. *Crop Protection.* 24(4): 375-379.
- Al-khatib, K. y D. Peterson. 1999.** Soybean (*Glycine max*) response to simulated drift from selected sulfonylurea herbicides, dicamba, glyphosate and glufosinate. *Weed Technology.* 13(2): 264-270.
- Alonso-Prados, L. J., E. Hernandez-Sevillano, S. Llanos, M. Villarroya y J. M. Garcia-Baudin, 2002.** Effects of sulfosulfuron soil residues on barley (*Hordeum vulgare*), sunflower (*Helianthus annuus*) and common vetch (*Vicia sativa*). *Crop Protection.* 21: 1061-1066.
- Anderson, J. P. E. 1981.** Soil moisture and the rates of biodegradation of diallate and triallate. *Soil Biology and Biochemistry.* 13(2): 155-161.
- Anderson, R. L. 1985.** Environmental effects on metsulfuron and chlorsulfuron bioactivity in soil. *Journal of Environmental Quality.* 14:517-521.
- Anderson, R. L. y M. R. Barrett. 1985.** Residual phytotoxicity of chlorsulfuron in two soils. *Journal of Environmental Quality.* 14:111-114.
- Andrade, F. H. 1995.** Analysis for growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. *Field Crops Research.* 41(1): 1-12.
- Arregui, M. C. y E. Puricelli. 2008.** Mecanismos de acción de plaguicidas. ISBN: 978-987-05-4191-2. Acquantic, Rosario, Argentina. 208 p.
- Arregui, M. C. y E. Puricelli. 2016.** Mecanismos de acción de plaguicidas. ISBN: 978-987-702-017-5. Tercera edición corregida y ampliada. Ed. Rosario. 248 p.
- Askew, S.D., J. W. Wilcut y V. B. Langston. 1999.** Weed management in soybean (*Glycine max*) with preplant-incorporated herbicides and cloransulam-methyl. *Weed Technology.* 13 (2):276-282.
- Avendaño, M., J. M. Birolo y F. Bedmar. 2006.** Residualidad de herbicidas sulfonilureas aplicados en barbechos destinados a siembra de girasol, soja o maíz. Seminario de Actualización Técnica Manejo de Malezas, Ed. INIA, Uruguay, Serie de Actividades de Difusión 465: 15-16.
- Ayeni, A. O. 1990.** Herbicide Screening in Arable Crops (Soybean, Rice, Cowpea). *Weed Science Technical Report Ser. 1 (1983-1989).* Ibadan, Nigeria: University of Ibadan. 34 p.
- Ayeni, A. O. 1991.** Herbicide Screening in Arable Crops (Maize/Cassava, Maize, Soybean, Cowpea). *Weed Science Technical Report Ser. 2 (1990).* Ibadan, Nigeria: University of Ibadan. 39 p.

- Ayeni, A. O. 1992.** Herbicide Screening in Arable Crops (Maize, Rice, Soybean, Groundnut, Crop Mixtures). Weed Science Technical Report Ser. 3 (1991). Ibadan, Nigeria: University of Ibadan. 58 p.
- Ayeni, A. O. y P. O. Oyekan. 1992.** Weed control in soybeans in Nigeria. Trop Oilseeds J. 1:43-52.
- Ball, D. A., J. P. Yenish y T. Alby. 2003.** Effect of imazamox soil persistence on dryland rotational crops. Weed Technology 17(1):161-165.
- Barnes, C. J. y T. L. Lavy. 1991.** Injury and yield response of selected crops to imazaquin and norflurazon residues. Weed Technology. 5:598-606.
- Battaglin W.A., E. T. Furlong; M. R. Burkhardt y C. J. Peter. 2000.** Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States. Science of Total Environment 24:123-133.
- Baughman T. A., D. R. Shaw; Rhodes G. N. y T. C. Muller. 1996.** Effects of tillage on chlorimuron persistence. Weed Science. 44:162-165.
- Beckie, H. J. y R. B. McKercher. 1989.** Soil residual properties of DPX-A7881 under laboratory conditions. Weed Science. 37:412-418.
- Bedmar, F., M. Avendaño y G. Monterubbianesi. 2005.** Persistencia fitotóxica de metsulfurón aplicado a campo en pre-siembra de soja, girasol y maíz. Actas XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM), I congreso Iberoamericano de Ciencia de las Malezas, IV Congreso Nacional de Ciencia de Malezas. Cuba: pp 371.
- Bedmar, F., J. Perdigon y G. Monterubbianesi. 2006.** Residual phytotoxicity and persistence of chlorimuron and metsulfuron in soils of Argentina. Journal of Environmental Biology. 27(2):175-179.
- Bedmar, F. y V. Gianelli. 2014.** Comportamiento de los herbicidas en el suelo. En: Malezas e Invasoras de la Argentina. Tomo I: Ecología y Manejo. O. A. Fernández, E. S. Leguizamón y H. A. Acciaresi. Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Ediuns, 2014. Capítulo XIV. pp. 361-389.
- Bellingeri, M., F. Bedmar; G. Monterubbianesi y M. I. Leaden. 2009.** Persistencia fitotóxica de metsulfurón+clorsulfurón aplicados en barbecho en presiembra de soja, girasol y maíz. Trabajo completo en actas del congreso. 1:299-302.
- Beyer, E. M., M. J. Duffy, J. V. Hay y D. D. Schlueter. 1988.** Sulfonylureas. Pages 117-189 in P. C. Keamey and D. D. Kaufman, eds. Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action. Vol. 3. Marcel-Decker, New York.
- Board, J. 2000.** Light interception efficiency and light quality affect yield compensation of soybean at low plant populations. Crop Science. 40(5):1285-1294.
- Borras, L, G. A. Slafer y M. E. Otegui. 2004.** Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. Field Crops Research. 86 (2): 131-146.
- Blair, A. M. y T. D. Martin. 1988.** A review of the activity, fate and mode of action of sulfonylurea herbicides. Pesticide Science. 22(3): 195-219.
- Bleiholder, H., 1996.** Métodos de planeamiento y valoración de ensayos de campo con pesticidas. BASF, Linburgerhof. 397 p.
- Brown, H. M. 1990.** Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. Pesticide Science. 29:263-281.

- Burril L. C., L. Cardenas y E. Locatelli. 1977.** Manual de Campo para la Investigación en Control de Malezas. Internacional Plant Proteccion Center. Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.
- Cantwell, J. R., R. A. Liebl y F. W. Slife. 1989.** Biodegradation characteristics of imazaquin and imazethapyr: Weed Science. 37:815-819.
- CASAFE, 2019.** Guía de productos fitosanitarios. Decimoctava edición 2017/2019. Editada por: Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE).
- Castro, C., F. Bedmar, G. Monterrubianesi, A. Peretti y C. Barassi. 2002.** Determination of chlorimurón and metsulfurón residues in two soils of Argentina using a rapid seed-bioassay. Journal of Environmental Biology. 23(4):353-358.
- CETIOM, 2019.** Stades repères du colza. On line. Internet. Disponible en: (<http://https://www.terresinovia.fr/>).
- Cervellini, J. M. y F. G. Fantini. 2015.** Carryover de imidazolinonas aplicadas en el cultivo de girasol sobre cereales de invierno. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de La Pampa. 15 p.
- Cobucci, T., H. T. Prates, C. L. M. Falcao, y M. M. V. Rezende. 1998.** Effect of imazamox, fomesafen, and acifluorfen soil residue on rotational crops. Weed Science. 46:258–263.
- Colby, S. R. 1967.** Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. Weed Science. 15:20-22.
- Cole, D. J. 1994.** Detoxification and activation of agrochemicals in plants. Pest Management Science. 42(3): 209-222.
- Cole, T. A., G. Wehtje, J. W. Wilcut y T. Vint Hicks. 1989.** Behavior of imazethapyr in soybeans (*Glycine max*), peanuts (*Arachis hypogaea*), and selected weeds. Weed Science. 37(5):639-644.
- Cole, D., K. Pallet y M. Rodgers. 2000.** Discovering new modes of action for herbicides and the impact of genomics. Pesticide Outlook. 11(6): 223–229.
- Corrigan, K. A. y R. G. Harvey. 2000.** Glyphosate with and without residual herbicides in no-till glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). Weed Technology. 14(3):569-577.
- De Felipe, M. R.; M. Fernández-Pascual y J. M. Pozuelo. 1987.** Effects of the herbicides Lindex and Simazine on chloroplast and nodule development, nodule activity and grain yield in *Lupinus albus L.* Plant and Soil. 101:99-105.
- Demczuk A., E. Sacala y E. Grzyś. 2004.** Zmiany aktywności syntazy acetylomleczanowej (ALS) pod wpływem herbicydu Titus 25 DF u różnych odmian ogórka. Progress in Plant Protection. Roślin 44(2): 645-647.
- Diehl, K. E., E. W. Stoleer y M. Barrett. 1995.** In vivo and in vitro inhibition of nicosulfuron metabolism by terbufos metabolites in maize. Pesticide Biochemistry and Physiology. 51(2): 137-149.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada and C. W. Robledo. 2018.** *InfoStat. Statistical Software.* Grupo Infostat FCA UNC, Córdoba, Argentina.
- Edwards, J. T. y L. C. Purcell. 2005.** Light interception and yield response of ultra-short-season soybean to diphenylether herbicides in the Midsouthern United States. Weed Technology. 19(1):168-175.
- Egli, D. B. 1998.** Seed biology and the yield of grain crops. (CAB International: Oxford).

- Eliason, R., J. J. Schoenau, A. M. Szmigielski, y W. M. Lavery. 2004.** Phytotoxicity and persistence of flucarbazone-sodium in soil. *Weed Science*. 52:857-862.
- Fehr, W. R. y C. E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. Special report 80. Iowa State University, Ames, Iowa. 11 p.
- Ferrari, H., O. R. Pozzolo y H. J. Ferrari. 2011.** Desarrollo de un software para estimación de cobertura vegetal. Disponible en: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/variados/DesarrolloSoftEstimacionCoberturaVegetal.asp>
- Fernández-Pascual, M., M. R. De Felipe, M. T. Serra y J. M. Pozuelo. 1988.** Effects of ecanazine and linuron of chloroplast development, nodule activity and protein metabolism in *Lupinus albus* L. *Journal and Plant Physiology*. 133. 288-294.
- Fernández-Pascual, M., C. De Lorenzo, J. M. Pozuelo y M. R. de Felipe. 1992.** Alterations induced by four herbicides on lupin nodule cortex structure, protein metabolism and some senescence-related enzymes. *Journal of Plant Physiology*. 140:385-390.
- Flint, J. L., y W. W. Witt. 1997.** Microbial degradation of imazaquin and imazethapyr. *Weed Science*. 45:586-591.
- Frene, R. L. 2014.** El manejo de malezas de barbechos en sistemas sin labranzas. Criterios para el uso de herbicidas. En: *Malezas e Invasoras de la Argentina*. Tomo I: Ecología y Manejo. O. A. Fernández, E. S. Leguizamón y H. A. Acciaresi. Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Edición, 2014. Capítulo XXV. pp. 731-745.
- Galletti, G. C., A. Bonnetti y G. Dinelli. 1995.** High performance liquid chromatographic determination of sulfonylureas in soil and water. *Journal of Chromatography*. 692:27-37.
- Geisel, B. G. L. 2007.** The Phytotoxic Effect of ALS Inhibiting Herbicide Combinations in Prairie Soils. M.S. dissertation. Saskatoon, SK, Canada: University of Saskatchewan. 67 p.
- Geisel, B. G. L., J. J. Schoenau, F. A. Holm, y E. N. Johnson. 2008.** Interactions of ALS-inhibiting herbicide residues in three prairie soils. *Weed Science*. 56:624-627.
- Gianelli, V., F. Bedmar y M. G. Monterubbianesi. 2011.** Persistencia del herbicida imazapir en el suelo y efectos fitotóxicos sobre cultivos de invierno y de verna. *Revista de publicaciones agropecuarias*. INTA. Vol. 37. 18-25.
- Giayetto, O. G. A. Cerione, E. M. Fernandez, F. D. Morla; M. B. Rosso, M. G. Violante, M. I. T. Kearney y M. E. Pastore. 2015.** Comportamiento de genotipos de soja cultivados en secano y bajo riego en Río Cuarto. En actas del 7° congreso brasileiro de soja, Florianópolis, Santa Catalina, Brasil. 22 al 25 de junio. s.p.
- Goetz, A. J., R. H. Walker, G. Wehtje y B. F. Hajek. 1989.** Sorption and mobility of chlorimuron in Alabama soils. *Weed Science*. 37(3):428-433.
- Goetz, A. J., T. L. Lavy, y E. E. Gbur Jr. 1990.** Degradation and field persistence of imazethapyr. *Weed Science*. 38:421-428.
- Gómez, N. V. y D. J. Miralles. 2006.** Colza. En: *Cultivos industriales*. Editores: Elba de la Fuente y otros. 1° edición. Editorial Universidad de Buenos Aires. Capítulo 2.4. pp. 181-216.

- Günther, P., W. Pestemer, A., Rahman y H. Nordmeyer. 1993.** A bioassay technique to study the leaching behaviour of sulfonylurea herbicides in different soils. *Weed Research*. 33:177-185.
- Green, J. M., T. T. Obrigawitch, J. D. Long y J. M. Hutchison. 1988.** Metribuzin and chlorimuron mixtures for preemergence broadleaf weed control in soybeans, *Glycine max*. *Weed Technology*. 2:355-363.
- Greendland, R.G. 2003.** Injury to vegetable crops from herbicides applied in previous years. *Weed technology*. 17(1):73-78.
- Groves, K. E. M. y R. K. Foster. 1985.** A corn (*Zea mays*) bioassay technique for measuring chlorsulfuron levels in three Saskatchewan soils. *Weed Science*. 33:825-828.
- Haggod, Jr., E.S.; J. L. Williams, Jr. y T. T. Bauman. 1980.** Influence of herbicide injury on the yield potential of soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*. 28(1):40-45.
- Hall, L., H. Beckie, y T. M. Wolf. 1999.** How herbicides work: biology to application. Alberta Agriculture, Food and Rural Development, Edmonton. 133 pp.
- Hart, R. G., E. M. Lignowski, y F. R. Taylor. 1991.** Imazethapyr herbicide. En: *The Imidazolinone Herbicides*. D. L. Shaner and S. L. O'Connor, eds. Boca Raton, FL: CRC Press. pp: 247-256.
- Hart, S. E. y G. K. Roskamp. 1998.** Soybean (*Glycine max*) response to thifensulfuron and bentazon combinations. *Weed Technology*. 12(1):179-184.
- Helling, C. S. 2005.** The science of soil residual herbicides. En: Van Acker, R.C. (ed). *Soil residual herbicides: science and management*. Topics in Canadian weed science. V. 3. Quebec (CA): Canadian Weed Science Society. pp: 3-22.
- Hernández-Sevillano, E., M. Villarroya, M. C. Chueca, J. L. Alonso- Prados y J. M. García-Baudín. 1999.** A rapid, sensitive bioassay method for sulfonylurea herbicides. *Brighton Crop Protection Conference Weeds*. 2:711-716.
- Hernández-Sevillano, E., M. Villarroya, J. L. Alonso-Prados, J. M. García-Baudín. 2001.** Bioassay to detect sulfosulfuron and triasulfuron residues in soil. *Weed Technology*. 15:447-452.
- Hill, B. D., J. R. Moyer, D. J. Inaba y R. Doram. 1998.** Effect of moisture on quinclorac dissipation in Lethbridge soil. *Canadian Journal of Plant Science*. 78:697-702.
- Horowitz, M. 1976.** Application of bioassay techniques to herbicide investigations. *Weed Research*. 16:209-215.
- Hsiao, A. I. y A. E. Simth. 1983.** A root bioassay procedure for the determination of chlorsulfuron, diclofop acid and sethoxydim residues in soils. *Weed Research*. 23:231-236.
- Isensee, A. R. y A. M. Sadeghi. 1994.** Effects of tillage and rainfall on atrazine residue levels in soil. *Weed Science*. 42:462-467.
- Jabusch, T. W. y R. S. Tjeerdema. 2008.** Chemistry and fate of triazolopyrimidine-sulfonamide herbicides. *Environmental Contamination Toxicology*. 193: 31-52.
- James, T. K., P. Klaffenbach, P.T. Holland y A. Rahman. 1995.** Degradation of primisulfuron-methyl and metsulfuron-methyl in soil. *Weed Research*. 35(2):113-120.

- James, T. K., P. T. Holland, A. Rahman y Y. R. Lu. 1999.** Degradation of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and triasulfuron in a high-organic-matter volcanic soil. *Weed Research*. 39:137-147.
- James, T. K., A. Rahman, J. M. Mellsop y M. Trollove. 2004.** Effect of rainfall on the movement and persistence of Metsulfuron-methyl and clopyralid applied to pasture. *New Zealand Plant Protection*, 57: 271- 276.
- Jonhson, B.F., W. A. Bailey, H. P. Wilson, D. L. Holshouser, D. A. Herbert Jr. y T. E. Hines. 2002.** Herbicide effects on visible injury, leaf area, and yield of glyphosate-resistan soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*. 16(3):554-566.
- Johnson, E. N., J. R. Moyer, A. G. Thomas, J. Y. Leeson, F. A. Holm, K. L. Sapsford, J. J. Schoenau, A. M. Szmigielski, L. M. Hall, M. E. Kuchuran y R. G. Hornford. 2005.** Do repeated applications of residual herbicides result in herbicide stacking? En: *Soil Residual Herbicides: Science and Management. Topics in Canadian Weed Science*, ed. R.C. Van Acker. Sainte-Anne-de Bellevue, Québec: Canadian Weed Science Society – Société canadienne de malherbologie. 3:53-70.
- Joshi, M. M., H. M. Brown, y J. A. Romesser. 1985.** Degradation of chlorsulfuron by soil microorganisms. *Weed Science*. 33:888-893.
- Junnila, S., H. Heinonen-Tanksi, L. R. Erviö y P. Laitinen. 1994.** Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soil. *Weed Research*. 34(6):413-423.
- Kapusta, G., L. A. Jackson y D. S. Mason. 1986.** Yield response of weed-free soybeans (*Glycine max*) to injury from postemergence broadleaf herbicides. *Weed Science*. 34(2):304–307.
- Kapusta, G. y R. F. Krausz. 1992.** Interaction of terbufos and nicosulfuron on corn (*Zea mays*). *Weed Technology*. 6: 999-1003.
- Klaffenbach, P. y P. T. Holland. 1993.** Analysis of sulfonylurea herbicides by gas-liquid chromatography. Determination of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soil and water samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41:396-401.
- Kotoula-Syka, E., I. G. Eleftherohorinos, A. A. Gagianas y A. G. Sficas. 1993a.** Persistence of preemergence applications of chlorsulfuron, metsulfuron, triasulfuron, and tribenuron in three soils in Greece. *Weed Science*. 41(2): 246-250.
- Kotoula-Syka, E., I. G. Eleftherohorinos, A. A. Gagianas y A. G. Sficas. 1993b.** Phytotoxicity and persistence of chlorsulfuron, metsulfuron-methyl, triasulfuron, and tribenuron-methyl in three soils. *Weed Research*. 33(5): 355-367.
- Krausz, R. F., G. Kapusta y E. L. Knake. 1992.** Soybean (*Glicine max*) and rotation crop tolerance to chlorimuron, clomazone, imazaquin and imazethapyr. *Weed Technology*. 6(1): 77-80.
- Krausz, R. F., G. Kapusta y J. L. Matthews. 1994.** Soybean (*Glycine max*) and rotational crop response to PPI chlorimuron, clomazone, imazaquin and imazethapyr. *Weed technology*. 8 (2): 224-230.
- Krausz, R. F. y B. G. Young. 2001.** Response of double-crop glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*) to broadleaf herbicides. *Weed Technology*. 15(2): 300-305.
- Landi, P. A. y P. Cambridge. 1989.** Response of maize inbred lines and hybrids to chlorsulfuron. *Weed Research*. 29:265-271.

- Lehmann, R. G., D. D. Fontaine, y E. L. Olberding. 1993.** Soil Degradation of Flumetsulam at Different Temperatures in the Laboratory and Field. *Weed Research*. 33:187-195.
- Lewis, K. A., J. Tzilivakis, D. Warner y A. Green. 2016.** An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(4), 1050-1064. <http://dx.doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>.
- Loux, M. M., R. A. Liebl y F. W. Slife. 1989.** Adsorption of imazaquin and imazethapyr on soils, sediments, and selected adsorbents. *Weed Science*. 37:712-718.
- Loux, M. M. y K. D. Reese. 1993.** Effect of soil type and pH on persistence and carryover of imidazolinone herbicides. *Weed Technology*. 7:452-458.
- Mangels, G. 1991.** Behavior of the imidazolinone herbicides in soil, a review of the literature. En: D. L. Shaner and S. L. O'Connor, eds. *The Imidazolinone Herbicides*. Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 191-210.
- Maurice, D. C. 2005.** Managing soil residual herbicide use in western Canada. En Van Acker, R.C. 2005. *Soil Residual Herbicides: Science and Management*. Topics in Canadian Weed Science, Volume 3. Sainte-Anne-de Bellevue, Québec: Canadian Weed Science Society – Société canadienne de malherbologie. 125 p.
- Mills, J. A. y W. W. Witt. 1989.** Efficacy, phytotoxicity, and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in no-till double-crop soybeans (*Glycine max*). *Weed Science*. 37 (3): 353-359.
- Molino, J. 2011.** Estrés térmico por alta temperatura en soja (*Glycine max* (L.) Merr.): análisis de la dinámica de producción y fijación de vainas y su efecto sobre la determinación del rendimiento. Tesis de Magister Scientiae. Universidad de Buenos Aires. 66 p.
- Monks, C. D. y P. A. Banks. 1991.** Rotational crop response to chlorimuron, clomazone, and imazaquin applied the previous year. *Weed Science*. 39:629-633.
- Moseley, C., K. K. Hatzios y E. S. Haggod. 1993.** Uptake, translocation and metabolism of chlorimuron in soybean (*Glycine max*) and Morningglory (*Ipomoea spp.*). *Weed Technology*. 7(2):343-348.
- Morishita, D. W., D. C. Thill, D. G. Flom, T. C. Campbell y G. A. Lee. 1985.** Method for bioassaying chlorsulfuron in soil and water. *Weed Science*. 33:420-425.
- Moyer, J. R., R. Esau y G. C. Kozub. 1990.** Chlorsulfuron persistence and response of nine rotational crops in alkaline soils of southern Alberta. *Weed Technology*. 4:543-548.
- Moyer, J. R. 1995.** Sulfonylurea herbicides effects on following crops. *Weed Technology*. 9(2): 373-379.
- Moyer, J. R. y R. Esau. 1996.** Imidazolinone herbicide effects on following rotational crops in southern of Alberta. *Weed Technology*. 10:100-106.
- Moyer, J. R. y W. M. Hamman. 2001.** Factors affecting the toxicity of MON 37500 residues to following crops. *Weed Technology*. 15:42-47.
- Nash, R. G. 1981.** Phytotoxic interaction studies – techniques for evaluation and presentation of results. *Weed Science*. 29: 147-155.
- Nelson, K. A. y K. A. Renner. 1998.** Weed control in wide and narrow row soybean (*Glycine max*) with imazamox, imazethapyr, and CGA-277476 plus quizalofop. *Weed Technology*. 12 (1): 137-144.

- Newsom, L. J. y D. R. Shaw. 1992.** Soybean (*Glycine max*) response to chlorimuron and imazaquin as influenced by soil moisture. *Weed Technology*. 6 (2): 389-395.
- Norris, R. F. 1996.** Water use efficiency as a method for predicting water use. *Weed Technology* 10: 153-155.
- Onofri, A. 1996.** Biological activity, field persistence, and safe cropping intervals for imazethapyr and rimsulfuron on a silty-clay soil. *Weed Research*. 36: 73-83.
- Oppong F. K. y R. Sagar. 1992.** The activity and mobility of triasulfuron in soil as influence by organic matter, duration, amount and frequency of rain. *Weed Res.*, 32: 157-165.
- O'Sullivan, J., R. J. Thomas, y W. J. Bouw. 1998.** Effect of imazethapyr and imazamox soil residues on several vegetable crops grown in Ontario. *Can. J. Plant Science*. 78(4):647-651.
- Panaggio, N. 2018.** Efecto de aplicaciones secuenciales de herbicidas inhibidores de la acetolactato sintetasa sobre soja, trigo y cebada. Tesis de posgrado para obtener el título de MSc en producción vegetal presentada en la Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
- Paul, R., R. Sharma, G. Kulshrestha y S. Bala Singha. 2009.** Analysis of metsulfuron-methyl residues in wheat field soil: a comparison of HPLC and bioassay techniques. *Pest Management Science*. 65(9): 963–968.
- Pinto de Carvalho S. J., M. Nicolai, R. Rodrigues Ferreira, A. Vargas de Oliveira Figueira, A. y P. J. Christoffoleti. 2009.** Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. *Science Agriculture*. 66(1):136-142.
- Poienaru, D. y N. Sarpe. 2006.** The residual effect of imazethapyr applied in soybean to barley and winter wheat in Romania. *Communications in Agricultural and Applied Biological Science*. 71(3):839-35.
- Pozuelo, J. M., M. Fernández-Pascual, M. M. Lucas y M. R. De Felipe. 1989.** Effect of eight herbicides from five different chemical groups on nitrogen fixation and grain yield in *Lupinus albus L.* grown in semi-arid zones. *Weed Research*. 29: 419-425.
- Principiano, M. y H. Acciaresi. 2018.** Estado de situación del uso de herbicidas en cultivos extensivos agrícolas de la región noroeste de la provincia de Buenos Aires y el impacto ambiental asociado. On line. Internet. Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/estado-de-situacion-del-uso-de-herbicidas-en-cultivos-extensivos-agricolas-de-la-region-noroeste-de-la-provincia-de-buenos-aires-y-el-impacto-ambiental-asociado>
- Prostko, E. P.; B. A. Majek y J. Ingerson-Mahar. 1996.** The effect of chlorimuron/linuron combinations on soybean (*Glycine max*) growth and yield. *Weed Technology*. 10(3):519-521.
- Rabaey, T. L. y R. G. Harvey. 1997.** Sweet corn (*Zea mays*) hybrids respond differently to simulated imazethapyr carryover. *Weed Technology*. 11(1): 92-97.
- Rahman, A., T. K. Jame, P. Martin y D. Fullerton. 1991.** Persistence of metsulfurón in different soils. In: Proceeding of the forty forth New Zeland Weed and Pest Control Conference, Hamilton. 99-104.
- Rahman, A., T. K. James y P. Guinther. 1993.** Bioassays of soil applied herbicides. *Proc. Int. Symp. Indian Soc. Weed Science*. 1:95-106.

- Ravelli, A., O. Pantani, L. Calmai y P. Fusi. 1997.** Rates of chlorsulfuron degradation in three Brazilian oxisols. *Weed Research*. 37:51-59.
- Reddy K. N., L. G. Heatherly y A. Blaine. 1999.** Weed management. En: Soybean Production in the Midsouth. Heatherly L. G. and H. F. Hodges. Boca Raton, CRC Press. pp. 171-195.
- Renner, K. A., W. F. Meggitt, y D. Penner. 1988.** Effect of soil pH on imazaquin and imazethapyr adsorption to soil and phytotoxicity to corn (*Zea mays*). *Weed Science*. 36:78-83.
- Renner, K. A., O. Schabenberg y J. Kells. 1998.** Effect of tillage application method on corn (*Zea mays*) response to imidazolinone residues in soil. *Weed Technology*. 12:281-285.
- Riddle, R. N. 2012.** Field and greenhouse bioassays to determine rotational crop response to mesotrione residues. Thesis Master of Science in Crop Science. The University of Guelph. Guelph, Ontario, Canadá. 94p.
- Riddle, R. N., J. O'Sullivan, J.C. Swanton y R. C. Van Acker. 2013.** Field and greenhouse bioassays to determine mesotrione residues in soil. *Weed Technology*. 27(3):565-572.
- Robinson, D. E. 2008.** Atrazine accentuates carryover injury from mesotrione in vegetable crops. *Weed Technology*. 22(4):641-645.
- Rochette, P., R. L. Desjardins, E. Pattey y R. Lessard. 1995.** Crop net carbon dioxide exchange rate and radiation use efficiency in Soybean. *Agronomy Journal*. 87(1):22-28.
- Sadras, V. O. 2007.** Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. *Field Crops Research*. 100 (2): 125-138.
- Salamanca, N. 2011.** Efecto de la aplicación de herbicidas en barbechos de invierno sobre el rendimiento y variables reproductivas del cultivo de soja. Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP. 36 p.
- Sánchez, D., M. C. Arregui, R. R. Scotta y A. Lutz. 2011.** Fitotoxicidad por Metsulfuron metil y 2,4-D empleados en barbechos químico en soja. Actas 5° Congreso de la soja del Mercosur. Rosario, Argentina, 14 al 16 de septiembre de 2011. s.p.
- Sarmah A. K., R. S. Kookana y A. M. Alston. 1999.** Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soil under laboratory conditions. *Weed Research*. 39: 83-92.
- Sarmah, A.K. y J. Sabadie. 2002.** Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 6253–6265.
- Schoenau, J. J., A. M. Szmigielski, y R. C. Eliason. 2005.** The effect of landscape position on residual herbicide activity in prairie soils. En: *Soil Residual Herbicides: Science and Management. Topics in Canadian Weed Science*, ed. R.C. Van Acker. Sainte-Anne-de Bellevue, Québec: Canadian Weed Science Society-Société canadienne de malherbologie. 3:45-52.
- Sekutowski T. y J. Sadowski. 2005.** Wpływ technologii uprawy na dynamikę rozkładu pozostałości nikosulfuronu. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin*. 45(2): 1065-1068.
- Sekutowski T. y J. Sadowski. 2006.** Use of bioassays for assessment of residues level of herbicides active ingredients in soil. *Pesticides/Pestycydy* (1-2): 59-64.
- Sekutowski T. y J. Sadowski. 2009.** PHYTOTOKIT™ microbiotest used in detecting herbicide residue in soil. *Environment Protection Engineering*. 35(1): 105-110.

- Sekutowski, T. 2011.** Application of bioassays in studies on phytotoxic herbicide residues in the soil environment. Chapter 12. pp. 253-272. *Herbicides and environment*. A. Kortecamp. 2011.
- Senseman, S. A. 2007.** *Herbicide Handbook*, ninth ed. Weed Science Society of America, Lawrence, KS.
- Shaner, D. L., P. C. Anderson y M. A. Stidham. 1984.** Imidazolinones potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiology*. 76(2): 545-546.
- Shaner, D. L. 2014.** *Herbicide handbook*. 10th ed. Weed Science Society of America, Lawrence, KS, USA. 513 p.
- Shaner, D. L. y R. Hornford. 2005.** Soil interactions of imidazolinone herbicides used in Canada. *En soil Residual Herbicides: Science and Mnagement. Topics in Canadian Weed Science*. 3:23-30.
- Shaw, D. R., A. C. Bennett y D. L. Grant. 1999.** Weed control in soybean (*Glycine max*) with flumetsulam, cloransulam, and diclosulam. *Weed Technology*. 13 (4): 791-798.
- Shaw, D. R. y M. B. Wixson. 1991.** Combinations of imazaquin or imazethapyr with AC 263,222 for weed control in soybean (*Glycine max*). *Weed Science*. 39 (4): 644-649.
- Shinn, S. L, D. C. Thill, W. J. Price, y D. A. Ball. 1998.** Response of downy brome (*Bromus tectorum*) and rotational crops to MON 37500. *Weed Technology*. 12:690-698.
- Shipitalo, M. J., W. M. Edwards, W A. Dick y L. B. Owens. 1990.** Initial storm effects on macropore transport of surface-applied chemicals in no-till soil. *Soil Science Society of America Journal*. 54:1530-1536.
- Sigua, G. C., A. R. Isensee y A. M. Sadeghi. 1993.** Influence of rainfall intensity and crop residue on leaching of atrazine in intact no-till soil cores. *Soil Science*. 156:225-232.
- Sinclair, T. R. y R. C. Muchow. 1999.** Radiation use efficiency. *Advances in Agronomy*. 65:215-265.
- Simpson, D. M. y E. W. Stoller. 1996.** Thifensulfuron and imazethapyr interaction at the ALS enzyme in sulfonylurea-tolerant Soybean (*Glycine max*). *Weed Science*. 44 (4): 763-768.
- Smith, A. E. y A. I. Hsiao. 1985.** Transformation and persistence of chlorsulfuron in prairie field soils. *Weed Science*. 33(4):555-557.
- Smith, A. E. 1995.** A review of analytical methods for sulfonylurea herbicides in soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 59:97-106.
- Soltani, N., P. H. Sikkema, D. E. Robinson. 2004.** Vegetable crop responses to clorimuron ethyl. *Crop Protection*. 24:685-688.
- Sondhia, S. 2013.** Evaluation of imazethapyr leaching in soil under natural rainfall conditions. *Indian Journal of Weed Science*. 45(1): 58–61.
- Stout, S. J., A. R. DaCunha y M. M. Safarpour. 1997.** Simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at parts-per-billion level by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal Association Off Analytical Chemists*. 80:426-432.
- Stork, P. y M. C. Hannah. 1996.** A bioassay Method for formulation testing and residue studies of sulfonylurea and sulfoanylde herbicides. *Weed Research*. 36:271-281.
- Stougaard, R. N., P J. Shea y A. R. Martin. 1990.** Effect of soil type and pH on adsorption, mobility, and efficacy of imazaquin and imazethapyr. *Weed Science*. 38:67-73.

- Streibig, J. C., A. Walker, A. M. Blair, G. Anderson-Taylor, D. J. Eagle, H. Fiedlander, E. Hacker, W. Iwanzik, P. Kudsk, C. Labhart, B. M. Luscombe, G. Madfiglio, P. C. Nel, W. Pestemer, A. Bahman, G. Retzlaff, J. Rola, L. Stefanovic, H. J. M. Staathof y E. P. Thies. 1995.** Variability of bioassays with metsulfurón-methyl in soil. *Weed Research*. 35(4):215-224.
- Sunderland, S. L., P. Santelmann y T. A. Boughman. 1991.** A rapid, sensitive soil bioassay for sulfonylurea herbicides. *Weed science*. 39: 296-298.
- Szmigielski, A. M., J. J. Schoenau, y K. Greer. 1998.** Comparison of chemical extraction and bioassay for measurement of metsulfuron in soil. *Weed Science*. 46:487-493.
- Szmigielska, A. M. y J. J. Schoenau. 1999.** Analysis of imazethapyr in agricultural soils by ion exchange membranes and a canola bioassay. *Communications in soil science and plant analysis*. 30:1831- 1846.
- Szmigielski, A. M., J. J. Schoenau, A. Irvine y B. Schilling. 2008.** Evaluating a mustard rootlength bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 39:413-420.
- Szmigielski, A. M., J. J. Schoenau, G. L. Bryce, F. A. Holm y E. N. Johnson. 2011.** Application of laboratory bioassay for assessment of bioactivity of ALS-inhibiting herbicides in soil. En: *Herbicides and environment*. A. Kortecamp. Chapter 10. pp. 217-228.
- Tan, S., R. Evans y B. Singh. 2006.** Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*. 30(2): 195-204.
- Thirunarayanan, K., R. L. Zimdahl y S. E. Smika. 1985.** Chlorulfuron adsorption and degradation in soil. *Weed Science*. 33:558-563.
- Vencill, W. K. 2002.** *Herbicide Handbook*, 8th ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America. 493 pp.
- Vicari, A., P. Catizone y R. L. Zimdahl. 1994.** Persistence and mobility of chlorsulfuron and metsulfuron under different soil and climatic conditions. *Weed Research*. 34(3):149-155.
- Vidrine, P. R., Grinffin, J. L. y D. C. Blouin. 2002.** Evaluation of reduced rates of glyphosate and chlorimuron in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*. 16 (4):731-736.
- Vigna, M. y R. López. 2005.** Toxicidad de residuos herbicidas sobre el girasol. Comparación de resultados obtenidos en invernáculos y a campo. *Actas tercer Congreso Argentino de Girasol*. ASAGIR. Buenos Aires.
- Vigna, M., R. López y R. Gigón. 2006.** Evaluación de la persistencia de metsulfurón e iodosulfurón en suelos del SO de Buenos Aires. *Actas del XX Congreso Argentino de la Ciencia del suelo y I Reunión de Suelos de la Región Andina*. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo (AACS). Setiembre de 2006. Soporte de CD, C. 6. 228. 1-5.
- Vigna, M. R., J. C. Papa, J. C. Ponsa, F. Bedmar, G. Guevara, H. Rainero, I. Olea, R. Gigón, C. Istilart, R. López, G. G. Arguissain y G. Picapietra. 2014.** El control químico de malezas en cultivos extensivos. En Fernandez, O.A.; Leguizamón, E.S.; Acciaresi, H.A. (eds). *Malezas e Invasoras de la Argentina*. Tomo I: ecología y manejo. Ed Universidad Nacional del Sur. pp.574- 589
- Vischetti, C., C. Casucci, y P. Perucci. 2002.** Relationship between changes of soil microbial biomass content and imazamox and benfluralin degradation. *Biology and Fertility of Soils*. 35:13-17.

- Walker, A. y S. Welch. 1989.** The relative movement and persistence in soil of chlorsulfuron, metsulfuron methyl and triasulfuron. *Weed Research*. 29(3):380-383.
- Walker, A., E. G. Cotterill y S. J. Welch. 1989.** Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron methyl in soils from different depths. *Weed Research*. 29(4):281-287.
- Walker, A. 1991.** Influence of soil and weather factors on the persistence of soil-applied herbicides. *Applications in Plant Sciences*. 5:94-98.
- Walker, A y P. A. Brown. 1983.** Measurement and prediction of chlorsulfuron persistence in soil. *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*. 30:365-372.
- Watson, P. R. y S. Checkel. 2005.** Soil residual herbicide bioassays: Science and practice. The science of soil residual herbicide (71-79). En VAN ACKER, R.C. 2005. *Soil Residual Herbicides: Science and Management. Topics in Canadian Weed Science, Volume 3*. Sainte-Anne-de Bellevue, Québec: Canadian Weed Science Society – Société canadienne de malherbologie. 125 p.
- Weidenhamer, J. D; G. B. Triplett y F. E. Sobotka. 1989.** Dicamba injury to soybean. *Agronomy Journal*. 81(4): 637-643.
- Wiese, A. F., M. L. Wood y E. W. Chehault. 1988.** Persistence of sulfonylureas in Pullman clay loam. *Weed Technology*. 2:251-256.
- Wilcut, J. W., G. R. Wehtje, M. G. Patterson, T. A. Cole y T. Vint Hicks. 1989.** Absorption, translocation, and metabolism of foliar-applied chlorimuron in soybeans (*Glycine max*), peanuts (*Arachis hypogaea*), and selected weeds. *Weed Science*. 37(2): 175-180.
- Whitcomb, C.E. 1999.** An introduction to ALS-inhibiting herbicides. *Toxicology and Industrial Health*. 15 (1): 232-240.
- Young, B. G., J. M. Young; J. L. Matthews; M. D. Owen; I. A. Zelaya; R. G. Hartzler; L. M. Wax; K. W. Rorem y G. A. Bollero. 2003.** Soybean development and yield as affected by three postemergence herbicides. *Agronomy Journal*. 95(5):1152–1156.
- Zabick, J. M., I. J. Van Wesenbeeck, A. Peacock, L. M. Kennard y D. W. Roberts. 2001.** Terrestrial field dissipation of Diclosulam at four sites in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(7): 3284–3290.
- Zhang, J., A. S. Hamill y S. E. Weaver. 1995.** Antagonism and synergism between herbicides: trends from previous studies. *Weed technology*. 9 (1): 86-90.
- Zhou, Q., W. Liu., Y. Zhang y K. K. Liu. 2007.** Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry y Physiology*. p. 89.75.