

Residualidad de la aplicación secuencial de herbicidas ALS en el periodo de barbecho sobre el cultivo de soja

Principiano M.A.; Acciaresi, H.A
 CIC-UNNOBA. m.principiano@hotmail.com
²INTA Pergamino-Malezas. Ruta 32 km 4,5 (2700),
 Pergamino. acciaresi.horacio@inta.gob.ar



RESUMEN

La aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS en el suelo por su uso continuado y repetido puede incrementar la fitotoxicidad en los cultivos de la rotación. En este contexto, resulta importante determinar cómo la aplicación secuencial de herbicidas residuales del grupo de los inhibidores de la ALS incide en el comportamiento de los cultivos en la rotación agrícola de la región, de cara a racionalizar su uso y su posible impacto ambiental. El trabajo consistió en un estudio en campo y otro en condiciones controladas mediante la realización de bioensayos. Como resultado de bioensayos, se detectó un efecto fitotóxico de los herbicidas inhibidores de la ALS en la longitud de la raíz principal de soja, mientras que en condiciones de campo no se evidenció efecto fitotóxico de herbicidas residuales ALS.

Palabras claves: *herbicidas; aplicación secuencial; residualidad.*

SUMMARY

The stacking of residual ALS herbicides in the soil by their continued and repeated use can increase the phytotoxicity problems in the crops included in the rotation. In this context, it is important to determine how the sequential application of residual herbicides of the group of ALS inhibitors affects the behavior of the agricultural sequence in the region, in order to rationalize their use and their environmental impact. The work consisted in a study under field conditions and another in controlled conditions by conducting bioassays. A phytotoxic effect of the ALS inhibiting herbicides on the length of the main root of soybean was detected by experiments under controlled conditions (bioassays), whereas under field conditions no phytotoxic effect of residual ALS herbicides was evident.

Keywords: *herbicidas; stacking; residuality*

Introducción

Los herbicidas inhibidores de la síntesis de aminoácidos (inhibidores de la enzima acetolactato sintetasa) (ALS) son ampliamente utilizados en los sistemas productivos de la región noroeste de la provincia de Buenos Aires ya que poseen prolongada persistencia en el suelo y un amplio espectro de control de malezas gramíneas y latifoliadas. La existencia de cultivos tolerantes a herbicidas ALS, las bajas dosis de aplicación y la baja toxicidad de estos herbicidas en mamíferos contribuyeron a intensificar su uso (Brown, 1990).

Un aspecto que cobra cada vez más importancia es la acumulación o apilamiento ("stacking") de herbicidas en el suelo por el uso continuado y repetido de los mismos (Moyer y Hamman, 2001; Robinson, 2008). Así, pueden verse incrementados los problemas de persistencia que podrían resultar en fitotoxicidad aditiva o sinérgica sobre los cultivos de la rotación (Johnson *et al.*, 2005). En este sentido, Askew *et al.* (1999) determinaron diferencias en la fitotoxicidad de 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 pre-emergencia y post-emergencia (Shaw *et al.*, 1999) o por mezclas de herbicidas inhibidores de la ALS (Simpson y Stoller, 1996) respecto de aplicaciones simples de cada herbicida. Sin embargo, en numerosos casos, los efectos fitotóxicos causados por estos herbicidas no se traducen en mermas del rendimiento (Krausz *et al.*, 1992; Corrigan y Harvey, 2000).

Estas interacciones pueden ponerse de manifiesto mediante estudios en condiciones controladas con especies sensibles (bioensayos) o experimentos en campo con cultivos sensibles. Los bioensayos son una interesante alternativa debido a que se pueden detectar

bajas concentraciones del herbicida residual y sus resultados se encuentran disponibles en un período corto de tiempo, respecto a los experimentos en campo (Riddle *et al.*, 2013). Este tipo de estudios han sido utilizados para detectar diferentes residuos de herbicidas en el suelo, especialmente del grupo de los ALS (Geisel *et al.*, 2008). Sin embargo, existen casos en los cuales los resultados no se relacionan con las respuestas de los cultivos en el campo (Cervellini y Fantini, 2015). De este modo, resulta necesario generar información para cada región productiva a los efectos de cuantificar fehacientemente la residualidad a partir de la acumulación secuencial de herbicidas ALS.

A pesar del amplio uso de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS en los sistemas agrícolas del NO bonaerense (Vencill, 2002), la información acerca de la residualidad de los mismos debido a la aplicación secuencial es escasa. Por lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales inhibidores de la enzima ALS durante el período de barbecho químico sobre el cultivo de soja en lotes productivos del NO bonaerense.

Materiales y métodos

El estudio consistió en un experimento en un campo ubicado en el partido de San Nicolás (Bs. As., 33° 33'S; 60° 16'O) y otro en condiciones controladas mediante la realización de bioensayos en el laboratorio de malezas de la EEA Inta Pergamino (Pergamino, Bs. As). El suelo sobre el cual se realizó el experimento fue un argiudol vértico, serie Ramallo, de textura franco limosa (arcilla 22,7%, limo 64,8%, arena 12,5%) con un contenido medio de materia orgánica de 2,93%, 6,2 de pH, una CIC de 21,1 (m.e. 100 g⁻¹), con una pendiente menor a 1%. En un lote destinado al cultivo de soja, 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 tratamiento y en la sub-parcela se consideraron las fechas correspondientes a los muestreos (días desde aplicación, DDA).

La primera aplicación de herbicidas se realizó el día 10 de agosto de 2017 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 2017), previo a la siembra del cultivo de soja de primera (barbecho químico corto (BQC)). El detalle de los tratamientos aparece en la Cuadro 1.

Estudio en campo

Siete días después de la segunda aplicación (BQC), se sembró una variedad de soja de grupo de maduración V corto (NA 5258), a 52 cm de distanciamiento entre hileras y a una densidad planificada de 25 plantas.m⁻². A los diez días de la emergencia del cultivo se determinó la densidad de plantas y se las comparó con aquella obtenida en el tratamiento control. En los estados de desarrollo de primera hoja expandida (V1), inicio de formación de vainas (R₃) y semilla completamente desarrollada (R₆) (Fehr y Caviness, 1977) del cultivo, se midió la altura hasta el brote terminal (cm). 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) de los nódulos sobre cinco plantas de cada parcela (g). Asimismo, se pesaron las raíces de estas plantas y se determinó el peso seco de nódulo por unidad de peso de raíz (nodulación específica). Para la medición de fitotoxicidad se utilizó la escala de evaluación de fitotoxicidad europea - método EWRC -, donde el valor uno indica ausencia de daño por herbicida y nueve indica perjuicio total de la planta por efecto del herbicida. La radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada (RFA_{acum}) se determinó en el inicio de floración (R₁), al momento de vainas completamente desarrolladas (R₄) y con semillas completamente desarrolladas (R₆) (Fehr y Caviness, 1977) en el cultivo de soja al

mediodía, en días despejados. Para ello se utilizó un medidor cuántico lineal (1 m) (AccuPar, PAR-80, Decagon Devices Inc., Pullman, EEUU). La cosecha del experimento se realizó de forma manual y la trilla con una trilladora estática. Luego se midió la materia seca de cada una en una balanza electrónica con un error de 0,01 g. Se determinaron los componentes de rendimiento (número y peso de granos). Se obtuvieron los datos de precipitaciones en el lugar donde se instaló el experimento en campo durante el período que duró el mismo.

Estudio mediante bioensayos

Para la realización de los bioensayos se tomaron muestras de cada una de las parcelas de campo que tenían los tratamientos previamente descritos. Los muestreos fueron realizados a los 0, 20, 45, 75, y 90 días desde la siembra (DDS) del cultivo de soja en campo. La recolección del 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 a 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 l de capacidad. En cada contenedor se colocaron tres semillas de la misma variedad sembrada en campo que luego se ralearon a una planta por contenedor. En el estado de una hoja trifoliada desplegada (en el control) se tomaron determinaciones de la materia seca aérea (MSA) (g), longitud de raíz principal (LRP) (cm) y materia seca radical (MSR) (g). Los bioensayos fueron conducidos en cámara de crecimiento bajo condiciones controladas: 12

Cuadro 1. Tratamientos de herbicidas residuales en barbecho químico largo y barbecho químico corto aplicados 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. San Nicolás, Buenos Aires. 2017.

Trat	Fecha de aplic.	Barbecho químico largo			Fecha de aplic.	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-ago	Met	60	10	10-oct	-	-	-
3	10-ago	Met	60	10	10-oct	Imaz	10	1000
4	10-ago	Met	60	10	10-oct	Diclo	84	30
5	10-ago	Met	60	10	10-oct	Clori	25	80
6	10-ago	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-oct	-	-	-
7	10-ago	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-oct	Imaz	10	1000
8	10-ago	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-oct	Diclo	84	30
9	10-ago	Met/Clors	12,5-62,5	15	10-oct	Clori	25	80

La técnica de bioensayo permitió detectar concentraciones biológicamente activas de herbicidas en el suelo.

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.

Análisis estadístico

Estudio a campo

Los datos fueron analizados a través de un análisis de la varianza (ANOVA) usando una prueba de Tukey para la comparación de medias de los tratamientos ($p < 0,05$), mediante el programa Infostat.

Estudio mediante bioensayos

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. Se analizó la interacción entre los tratamientos y los DDA y los efectos principales de los tratamientos y de 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.

Resultados y discusión.

Estudio en campo

No se observaron efectos fitotóxicos ($p > 0,05$) de la aplicación en secuencia de herbicidas 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.ha⁻¹) (Cuadro 2).

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 con metsulfurón/clorsulfurón, no detectándose efecto en los demás tratamientos.

En cuanto a la altura hasta el brote terminal, no se encontraron diferencias significativas respecto al control sin herbicidas residuales en los estados fenológicos VC, R₃ y R₆ ($p > 0,05$) (Cuadro 2).

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 fue afectada por la aplicación en secuencia de los herbicidas residuales ALS ($p > 0,05$) (Cuadro 2).

Tanto la radiación interceptada como la eficiencia en el uso de la misma no fueron afectadas por la aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS en el período de barbecho químico previo a la siembra del cultivo de soja en campo ($p > 0,05$) (Cuadro 2).

Asimismo, no se registraron diferencias en el número de granos por metro cuadrado (NG.m⁻²), peso de mil granos (P1000) y rendimiento en grano ($p > 0,05$) (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Krausz *et al.* (1992) y Corrigan y Harvey (2000), quienes a pesar de haber detectado síntomas de fitotoxicidad visual, no observaron luego disminuciones en el rendimiento.

En el presente trabajo la aplicación del

BQL sucedió 67 días antes de la siembra del cultivo de soja siendo la lluvia acumulada desde la aplicación del BQL de 210 mm. El BQC fue aplicado 7 días antes de la siembra del cultivo de soja y entre la aplicación del BQC y la siembra la precipitación acumulada fue de 20 mm.

La aplicación en secuencia de herbicidas residuales ALS no generó efectos fitotóxicos en soja para las variables analizadas en condiciones de campo. No obstante, el incremento en el número de activos herbicidas aplicados en secuencia en pre-siembra, pre-emergencia y post-emergencia o la combi-



Cuadro 2. Porcentaje relativo de plantas por unidad de superficie, altura hasta el brote terminal, nodulación, radiación interceptada, eficiencia del uso de la radiación, peso de mil granos, número de granos y rendimiento en campo para cada uno de los tratamientos de herbicidas residuales en barbecho químico largo y barbecho químico corto aplicados en un suelo Serie Ramallo del partido de San Nicolás. V₁: primer nudo; R₃: inicio de formación de vainas; R₆: semilla completamente desarrollada; R₁: inicio de floración; R₄: vainas completamente desarrolladas. n: número de elementos que conforman la muestra. CV: coeficiente de variación. Valor p: valor estadístico de prueba.

	Variable	n	C.V. (%)	p(<0,05)
% relativo de plantas por unidad de superficie				
	V ₁	135	15,9	0,2584
Altura hasta el brote terminal	R ₃	135	7,3	0,9756
	R ₆	135	7,1	0,7522
	Nódulos en raíz principal	135	12,5	0,0756
Nodulación	Nódulos en raíces secundarias	135	9,3	0,9805
	Peso de nódulos	135	13,1	0,8553
	Nodulación específica	135	18,6	0,3647
Radiación interceptada	R ₁	81	6,4	0,7837
	R ₄	81	2,2	0,8063
	R ₆	81	2,5	0,3285
Eficiencia en el uso de la radiación		27	17,6	0,7255
Peso de mil granos		27	3,4	0,4182
Número de granos		27	10,5	0,3534
Rendimiento		27	10,7	0,4223

El trabajo consistió en un estudio en campo y otro en condiciones controladas mediante la realización de bioensayos.

nación de más activos herbicidas ALS podría resultar en problemas de fitotoxicidad (Simpson y Stoller, 1996; Askew *et al.*, 1999; Shaw *et al.*, 1999).

Estudio mediante bioensayos

No se encontró interacción significativa entre los tratamientos y la fecha de muestreo para la LRP ($p > 0,05$). Asimismo, no se observó efecto de los tratamientos (herbicidas o combinación de herbicidas) ($p > 0,05$), en tanto se observó un efecto de la fecha de muestreo ($p < 0,05$). Al respecto, los tratamientos 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 en el tratamiento que incluyó metsulfurón/clorsulfurón en el BQL y la aplicación consecutiva de clorimurón en el BQC (Figura 1). No obstante, la aplicación sucesiva de imazetapir, clorimurón y diclosulam no se diferenciaron en forma significativa respecto al tratamiento de metsulfurón/clorsulfurón ($p > 0,05$).

Para la variable MSA, no se encontró interacción significativa entre los tratamientos con herbicidas residuales y la

fecha de muestreo ($p > 0,05$). Tampoco se observó efecto de los tratamientos ($p > 0,05$), 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 en todos los tratamientos para la primera fecha de muestreo (0 DDS) en el tratamiento que incluyó metsulfurón/clorsulfurón y la aplicación consecutiva de diclosulam (13%), mientras que en los demás tratamientos la disminución no fue significativa ($p > 0,05$).

Respecto a la MSR, no se determinó interacción significativa entre los tratamientos (herbicida o combinación de herbicidas) y la fecha de muestreo ($p > 0,05$). No se determinó efecto de los tratamientos 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 en la MSR de 6% y 5% respectivamente respecto al control para la primera fecha de muestreo (0 DDS).

La técnica de bioensayo permitió detectar concentraciones biológicamente

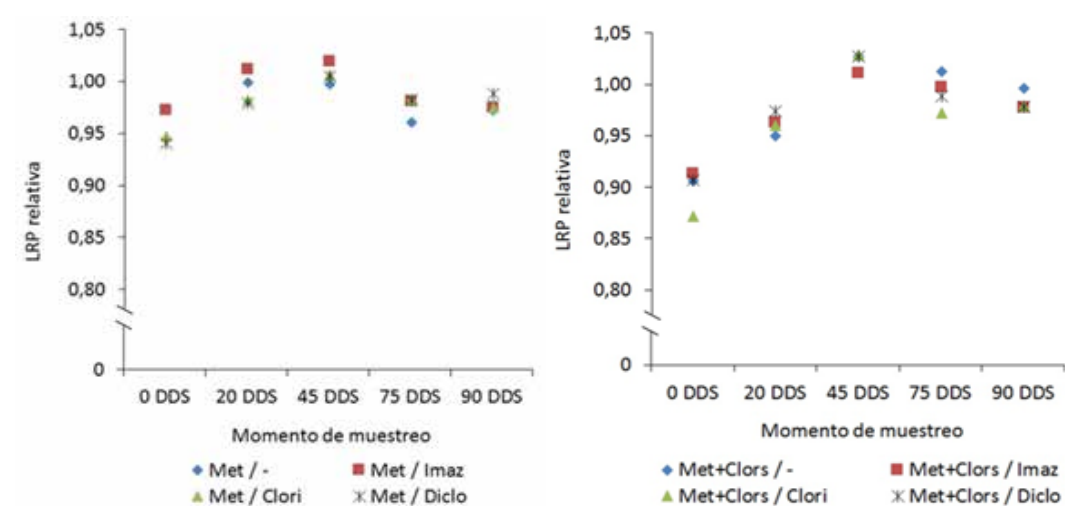


Figura 1. Longitud de la raíz principal (LRP) relativa para cada momento de muestreo. DDS: días desde la siembra del cultivo de soja en campo. Met: metsulfurón; Met+Clors: metsulfurón/clorsulfurón; Imaz: imazetapir; Clori: clorimurón; Diclo: diclosulam.

activas de herbicidas en el suelo (Geisel *et al.*, 2008; Riddle *et al.*, 2013). Sin embargo, los resultados obtenidos mediante los bioensayos no se relacionaron con las respuestas del cultivo de soja en el campo, coincidiendo con lo establecido por Cervellini y Fantini (2015).

Los bioensayos constituyen una herramienta económica y relativamente sencilla para registrar la presencia de una herbicida o sus metabolitos en el suelo. No obstante, dada la naturaleza experimental de los mismos, resulta imprescindible la evaluación en campo para determinar si es posible corroborar el mismo comportamiento residual.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo brindan información acerca de

la residualidad de herbicidas ALS en el noroeste de la provincia de Buenos Aires, así como también el efecto de la aplicación secuencial de herbicidas residuales ALS sobre el cultivo de soja, siendo necesario realizar los estudios tanto en condiciones controladas como en campo.

La persistencia de herbicidas es una consideración importante en la producción de cultivos ya que los residuos pueden potencialmente dañar cultivos sensibles que continúan en la rotación lo cual puede resultar en pérdidas económicas sustanciales.

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 e impacto ambiental. «

Bibliografía

- ASKEW, S.D.; WILCUT, J.W. & LANGSTON, V.B. (1999). Weed management in soybean (Glycine max) with preplant-incorporated herbicides and cloransulam-methyl. *Weed Technology*. Volume 13 (2), 276-282.
- BROWN, H.M. (1990). Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pesticide Science*. Volume 29 (3), 263-281.
- CERVELLINI, J.M. & FANTINI, F.G. (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.
- CORRIGAN, K.A. & HARVEY, R.G. 2000. Glyphosate with and without residual herbicides in no-till glyphosate-resistant soybean (Glycine max). *Weed Technology*. Volume 14 (3), 569-577.
- FEHR, W.R. & CAVINESS, C.E. (1977). Stages of soybean development. Special report 80. Iowa State University, Ames, Iowa. 11p.
- GEISEL, B. G. L.; SCHOENAU, J.J.; HOLM F. A. & JOHNSON, E. N. (2008). Interactions of ALS-inhibiting herbicide residues in three prairie soils. *Weed Science*. Volume 56, 624-627.
- KRAUSZ, R.F.; KAPUSTA, G. & KNAKE, E.L. 1992. Soybean (Glycine max) and rotation crop tolerance to chlorimuron, clomazone, imazaquin and imazethapyr. *Weed Technology*. Volume 6(1), 77-80.
- JOHNSON, E.N.; MOYER, J.T.; THOMAS, A.G.; LEE-SON, J.Y.; HOLM, F.A.; SAPSFORD, K.L.; SCHOENAU, J.J.; SZMIGIELSKI, A.M.; HALL, L.M.; KUCHUAN, M.E. & HORN-FORD, R.G. (2005). Do repeated applications of residual herbicides result in herbicide stack-ing? In 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 malherbolgie. Volume 3, 53-70.
- MOYER, J.R. & HAMMAN, W.M. 2001. Factors affecting the toxicity of MON 37500 residues to following crops. *Weed Technology*. Volume 15(1), 42-47.
- RIDDLE, R. N.; O'SULLIVAN, J.; SWANTON C. J. & VAN ACKER, R. (2013). Field and Greenhouse Bioassays to Determine Mesotrione Residues in Soil. *Weed Technology*. Volume 27, 565-572.
- ROBINSON, D.E. 2008. Atrazine accentuates carryover injury from mesotrione in vegetable crops. *Weed Technology*. Volume 22(4), 641-645.
- SHAW, D.R.; BENNETT, A.C. & GRANT, D.L. 1999. Weed control in soybean (Glycine max) with flumetsulam, cloransulam, and diclosulam. *Weed Technology*. Volume 13 (4), 791-798.
- SIMPSON, D.M. & STOLLER, E.W. 1996. Thifensulfuron and imazethapyr interaction at the ALS enzyme in sulfonylurea-tolerant Soybean (Glycine max). *Weed Science*. Volume 44 (4), 763-768.
- VENCILL, W. K. 2002. *Herbicide Handbook*, 8th ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America. 493 pp.