

**PERSISTENCIA Y ADSORCIÓN DE IMAZAPIR
EN TRES SUELOS DE ARGENTINA**

Valeria Rosana Gianelli

**Trabajo de tesis para ser presentado como requisito
parcial para optar al Título de MAGISTER EN PRODUCCIÓN VEGETAL**

Área Producción Vegetal

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
AGRARIAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

30 de noviembre de 2012

Balcarce, Argentina

**PERSISTENCIA Y ADSORCIÓN DE IMAZAPIR
EN TRES SUELOS DE ARGENTINA**

Valeria Rosana Gianelli

Francisco Bedmar, Ing. Agr. MS, Dr.

Director de Tesis

José Luis Costa Ing. Agr. MS, PhD.

Co- Director de Tesis

**PERSISTENCIA Y ADSORCIÓN DE IMAZAPIR
EN TRES SUELOS DE ARGENTINA**

Valeria Rosana Gianelli

Aprobada por:

Echeverría, Hernán E. (Ing. Agr., M.Sc.)

Maitre, María Inés (Lic. en Edafología, Dra.)

Miglioranza, Karina S.B. (Lic. Cs. Biol., Dra.)

DEDICATORIA

A Carmen y Alberto, mis padres

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos particularmente, a mi director de tesis Francisco Bedmar, por sus valiosos aportes conceptuales, económicos y logísticos, su apoyo, confianza, amistad y motivación, quien con gran dedicación me guió e incentivó en cada una de las etapas de este trabajo.

A mi compañero y amigo Manuel Zelaya, por sus aportes metodológicos fundamentales, dedicación y apoyo moral, quien me incentivó para profundizar en nuevos campos del conocimiento científico y que permitieron alcanzar los resultados obtenidos.

A Carolina Porfiri, Jorgelina Montoya, Marino Puricelli, Sebastián Barbaro, y a todos mis compañeros, amigos y mis padres, que de alguna u otra manera estuvieron presentes y colaboraron en el desarrollo de este trabajo, a través de aportes conceptuales, logísticos y apoyo moral.

Al Comité evaluador, Ing. Agr. Hernán Echeverría, Dra. Karina Miglioranza y Dra. María Inés Maitre, por sus aportes efectuados y dedicación a la evaluación de este trabajo.

Al Instituto de Tecnología Agropecuaria (EEA Balcarce) por permitirme realizar este trabajo en el marco de diversos proyectos de investigación.

ÍNDICE

Introducción	1
1. Comportamiento de los plaguicidas en el ambiente.....	2
1.1. Procesos de transporte.....	2
1.1.1. Lixiviación.....	2
1.1.2. Volatilización.....	3
1.1.3. Escurrimiento superficial.....	3
1.1.4. Absorción por los cultivos.....	4
1.2. Procesos de retención.....	4
1.3. Procesos de degradación.....	6
1.3.1. Degradación Abiótica.....	6
1.3.2. Biodegradación.....	7
2. Estimación de la lixiviación potencial de los plaguicidas.....	11
3. Imazapir.....	13
3.1. Propiedades, mecanismo de acción, usos.....	13
3.2. Toxicología.....	17
3.3. Comportamiento en el ambiente.....	17
3.4. Determinación de residuos de imazapir.....	21
Hipótesis	23
Objetivo general	23
Objetivos particulares	23
Materiales y Métodos	24
1. Propiedades de los suelos.....	24
1.1. Análisis estadístico.....	25
2. Puesta a punto de la metodología para la determinación de residuos de imazapir en muestras suelos.....	25
2.1. Químicos, reactivos y equipos.....	25
2.2. Selección de la metodología.....	26
2.2.1. Fortificación de las muestras.....	26
2.2.2. Procedimiento de extracción.....	26
2.3. Efecto de la concentración del herbicida y de las propiedades del suelo en el porcentaje de recuperación de la metodología analítica seleccionada.....	27
2.4. Análisis estadístico.....	28
3. Estudios de persistencia.....	28
3.1. Análisis estadístico.....	29
4. Estudios de Adsorción.....	30
4.1. Análisis estadístico.....	31
5. Índices de contaminación potencial.....	31
Resultados y Discusión	35
1. Propiedades de los suelos.....	35
2. Puesta a punto de la metodología para la determinación de residuos de imazapir en muestras suelos.....	38
2.1. Selección de la metodología.....	38
2. Efecto de la concentración del herbicida y de las propiedades del suelo en el porcentaje de recuperación de la metodología analítica seleccionada.....	43

3. Estudios de persistencia.....	45
4. Estudios de adsorción.....	54
5. Índices de contaminación potencial.....	62
Consideraciones finales	68
Conclusiones	71
Bibliografía	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Título	Página
1	Nomenclatura, propiedades físicas y químicas de imazapir (Senseman, 2007).	15
2	Marcas comerciales registradas para imazapir en Argentina para el cultivo de girasol (Pórfido, 2007).	16
3	Marcas comerciales de imazapir y su composición, registradas para los cultivos Clearfield en Argentina.	16
4	Propiedades ambientales de imazapir.	18
5	Escalas de clasificación de los plaguicidas en base al Factor de retardo (RF), Factor de atenuación (AF) y el Factor de atenuación In-transformado (AFT).	33
6	Contenido de carbono orgánico (CO), distribución del tamaño de partículas (arena, limo y arcilla), pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido de Fe total, contenido de Al intercambiable y actividad microbiana (C-CO ₂) de los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	36
7	Recuperación obtenida con las diferentes soluciones extractantes evaluadas.	38
8	Efecto matriz (EM) basado en la relación entre las áreas de las curvas de calibración en diferentes matrices.	41
9	Condiciones de operación de los sistemas de Cromatografía líquida y Espectrometría de masas empleadas para la determinación y cuantificación de imazapir.	42
10	Análisis de la varianza para la comparación entre suelos y concentraciones del % de recuperación de la técnica.	44
11	Análisis de la interacción suelo x concentración para el porcentaje de recuperación.	44
12	Ajuste de los diferentes modelos para la selección de estructura de covarianza.	45
13	Análisis de la varianza (ANOVA Proc-mixed, SAS) para la comparación entre suelos y DDA de las concentraciones de imazapir.	46
14	Análisis de la interacción suelo x DDA para las concentraciones de imazapir.	46

15	Constantes de degradación de primer orden y vida media de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	48
16	Correlaciones entre las constantes de degradación de primer orden y la vida media de imazapir y propiedades seleccionadas de los suelos.	50
17	Parámetros de adsorción de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	57
18	Correlaciones entre los coeficientes de adsorción de imazapir (K_d) y propiedades seleccionadas de los suelos.	59
19	Vida media ($T_{1/2}$), coeficiente de partición en carbono orgánico (K_{oc}), índice GUS y riesgo de lixiviación de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	63
20	Clasificación de imazapir de acuerdo a su movilidad y riesgo de lixiviación en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul según el Factor de Retardo (RF) y Factor de atenuación (AFT). Cálculos realizados considerando los valores del coeficiente de partición en carbono orgánico (K_{oc}) y vida media, obtenidos experimentalmente para cada suelo.	64
21	Clasificación de imazapir de acuerdo a su movilidad en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul según el Factor de Retardo (RF) y Factor de atenuación (AFT). Cálculos realizados considerando los valores del coeficiente de partición en carbono orgánico (K_{oc}) y vida media obtenidos de la literatura internacional.	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Título	Página
1	Estructura molecular de imazapir bajo la forma de ácido ($C_3H_{15}N_3O_3$).	13
2	Estructura molecular de imazapir bajo las forma de sal ($C_{13}H_{15}N_3O_3H_9N$).	14
3	Evolución del área tratada con imazapir en Argentina, en el período 2003-2008.	15
4	Estructura molecular y equilibrio de disociación de la molécula de imazapir.	19
5.a.	Cromatograma correspondiente al estándar de imazapir ($27.6 \mu g l^{-1}$) en KCL (0.1M pH 7).	39
5.b.	Cromatograma de imazapir luego de la extracción con KCL (0.1M pH 7).	39
6.a.	Cromatograma correspondiente al estándar de imazapir ($27.6 \mu g l^{-1}$) en CH_3OH/H_2O (80:20).	40
6.b.	Cromatograma de imazapir luego de la extracción con CH_3OH/H_2O (80:20).	40
7	Curvas de calibración y ecuaciones obtenidas para determinar el efecto matriz.	41
8	Evolución de la degradación de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul. Las barras de error representan el error estándar del promedio.	47
9	Efecto del tiempo de agitación en la adsorción de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	55
10	Efecto de la relación suelo: solución a diferentes concentraciones de imazapir en el porcentaje de adsorción del herbicida, en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	56
11	Isotermas de adsorción de imazapir para los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.	57

RESUMEN

Imazapir es un herbicida utilizado a gran escala para el control de malezas en el cultivo de girasol Clearfield. Debido a que posee baja capacidad de adsorción, alta capacidad de desorción y prolongada persistencia en el suelo, presentaría alto riesgo de lixiviación y de contaminación del agua subterránea. En Argentina, es escasa la información generada al respecto, por lo cual resulta de gran importancia determinar el comportamiento ambiental de imazapir, en suelos con propiedades contrastantes. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) optimizar la técnica metodológica para la detección y cuantificación de residuos del herbicida imazapir en suelos; 2) determinar la persistencia y adsorción de imazapir en tres suelos de Argentina; 3) estimar el riesgo de lixiviación hacia el agua subterránea, empleando las propiedades ambientales obtenidas experimentalmente para cada suelo. Para los estudios se utilizaron muestras de suelo (0-15 cm) de las localidades de Tandil (Buenos Aires), Anguil (La Pampa) y Cerro Azul (Misiones). Las determinaciones del herbicida se llevaron a cabo mediante Cromatografía Líquida de Ultra Performance y Espectrometría de masas (UPLC- MS/MS). La máxima recuperación de imazapir se obtuvo mediante 3 ciclos de extracción consecutivos con el extractante KCL (0.1M pH 7). La recuperación del herbicida fue independiente de las características de los suelos analizados, presentándose solo leves diferencias entre los mismos. La persistencia siguió el orden Cerro Azul>Tandil>Anguil, determinándose valores de vida media ($T_{1/2}$) de 121, 75 y 37 días respectivamente. La tasa de degradación presentó un orden inverso (Anguil>Tandil>Cerro Azul), relacionándose en forma positiva con el pH de los suelos y el contenido de limo, e inversamente con el contenido de Fe y Al. La vida media de imazapir se correlacionó inversamente con el pH de los suelos, contenido de arena, limo y Fe y en forma positiva con el contenido de arcilla y la actividad microbiana. La adsorción de imazapir en los suelos estudiados fue descrita mediante la isoterma lineal. Los coeficientes de adsorción (K_d) determinados fueron 2.1, 0.84 y 0.57 ($l\ kg^{-1}$) para los suelos de Cerro Azul, Tandil y Anguil respectivamente. El pH, contenido de arcilla, de Fe y Al, fueron las variables que presentaron mayor influencia en la adsorción de imazapir en los diferentes suelos. La adsorción presentó un efecto limitante en la degradación, determinando la biodisponibilidad del herbicida en la solución del suelo. De acuerdo a los índices GUS y AFT, imazapir presentó alto riesgo de lixiviación

hacia el agua subterránea en los tres suelos, según el orden Tandil>Cerro Azul>Anguil. Estos resultados mostraron que, bajo determinadas condiciones, una débil adsorción y una elevada persistencia, podrían conducir a una alta movilidad de imazapir en el perfil del suelo, lo cual implicaría un alto riesgo de contaminación del agua subterránea por el plaguicida.

Palabras claves: comportamiento ambiental, vida media, coeficiente de adsorción, índices de lixiviación, agua subterránea.

ABSTRACT

PERSISTENCE AND ADSORPTION OF IMAZAPYR IN THREE ARGENTINE SOILS

Imazapyr is an herbicide widely used for weed control in imidazolinone-tolerant sunflower (Clearfield). Because of imazapyr possess low adsorption capacity, high desorption capacity and high persistence on soils, it is prone to leach to groundwater. In Argentina there is little information about it. For this reason, is very important to determine the environmental fate of imazapyr in argentine soils with contrasting properties. The objectives of this study were: 1) to improve the extraction of imazapyr from soil; 2) to determine the persistence and adsorption of imazapyr in three argentine soils; 3) to estimate the risk of leaching to groundwater, using environmental properties from the persistence and adsorption studies. Imazapyr was determined and quantified by Ultra Performance Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS). For the studies, soil samples (0-15 cm) from Tandil (Buenos Aires), Anguil (La Pampa) and Cerro Azul (Misiones) sites were used. Maximum imazapyr recovery was obtained through three extraction cycles with an extracting solution of KCL (0.1M pH 7). Herbicide recovery was independent of soils characteristics, showing some slight differences between them. The persistence in soils followed the order Cerro Azul>Tandil>Anguil, with half life values ($T_{1/2}$) of 121, 75 y 37 days respectively. The degradation rate (k) had a reverse order (Anguil>Tandil>Cerro Azul), and was positively correlated with the soil pH and content of silt, and negatively correlated with content of iron and aluminum . The imazapyr half life was negatively correlated with soil pH, sand, silt, iron and aluminum content, and it was positively correlated with clay content and microbial activity. The linear isotherms described satisfactorily the adsorption of imazapyr on soils. Adsorption coefficients (K_d) were 2.1, 0.84 y 0.57 ($l\ kg^{-1}$) for Cerro Azul, Tandil and Anguil soils respectively. Soil pH and contents of clay iron and aluminum were the main factors affecting the adsorption of imazapyr. The adsorption had a limiting effect on the degradation rate, determining the amounts of herbicide available in the aqueous phase. According to GUS and AFT indices, imazapyr has high risk of leaching to groundwater on all soils following the order Tandil>Cerro Azul> Anguil. The results showed that, under certain conditions, the weak

adsorption and high persistence may increase the movement of imazapyr on soil profile and the risk of groundwater pollution.

Keywords: environmental behavior, half life, adsorption coefficients, leaching indices, groundwater.

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas representan el gran sostén del crecimiento de los sistemas de producción agropecuarios, debido al rol fundamental que ejercen para el control de las plagas en los modelos actuales de producción. Sin embargo, en los últimos años el incremento en la producción y uso de agroquímicos, ha dado origen a una creciente preocupación sobre el efecto que dichos compuestos pueden ocasionar en el ambiente. El uso en algunos casos indiscriminado, que en el pasado se ha dado a estos compuestos, ha originado que en la actualidad se detecten residuos en el ambiente y se asocien con riesgo potencial para la salud humana.

Desde hace años, se han identificado residuos de plaguicidas en todos los compartimientos ambientales (aire, agua y suelo), en diversas regiones geográficas, incluyendo aquellas muy remotas al sitio original de su liberación, como océanos, desiertos y zonas polares. Igualmente, se ha demostrado su presencia en organismos de todos los niveles tróficos, desde el plancton hasta las ballenas y los animales del ártico (Stephenson; Solomon, 1993).

Los herbicidas son sustancias de origen orgánico, utilizados para el control de malezas en cultivos o barbechos. Luego de su aplicación, pueden permanecer en el ambiente por diferentes períodos de tiempo y convertirse en potenciales contaminantes del agua superficial y subterránea. En tal sentido, la protección y conservación de los recursos naturales, especialmente la calidad del agua subterránea, constituyen un pilar esencial de los sistemas de producción agrícola sustentables. Por lo tanto, cuando se aplica un herbicida, en primera instancia resulta fundamental determinar la vulnerabilidad del sitio, como así también considerar las características del herbicida que influyen su movilidad y persistencia y las interacciones con las propiedades de los suelos (Comfort *et al.*, 1994).

La efectividad de un herbicida y su destino ambiental, dependen de complejas interacciones entre las prácticas de manejo (dosis, tiempo y método de aplicación), propiedades fisicoquímicas de los herbicidas, características de los suelos, como así también de una variedad de procesos físicos, químicos y biológicos (Shaw; Chadwick, 1999). Asimismo, dichos procesos resultan influenciados por las condiciones ambientales, específicas del sitio de liberación del plaguicida (Kerle *et al.*, 1996).

En efecto, comprender el comportamiento de los herbicidas en el ambiente, especialmente en el suelo, permite predecir posibles impactos en el ecosistema, en

organismos no blanco, y evaluar el riesgo de contaminación de los recursos hídricos (Esser *et al.*, 1988). Esta información puede ser utilizada como herramienta predictiva en las determinaciones de destino ambiental de una sustancia y como guía para la toma de decisiones de manejo, y el desarrollo de buenas prácticas agrícolas de manejo de productos fitosanitarios.

En consecuencia, resulta necesario definir e identificar los principales mecanismos y procesos responsables del comportamiento de un herbicida en el ambiente, para obtener un efectivo control de las malezas en forma ambientalmente segura.

1. Comportamiento de los plaguicidas en el ambiente

Existen diversos procesos que determinan el destino de los plaguicidas en el ambiente. En general, entre los procesos más importantes se incluyen mecanismos de **transporte** (lixiviación, volatilización, escurrimiento superficial y absorción por las plantas), de **retención** (adsorción por los coloides del suelo) y de **degradación** (descomposición química, microbiana y fotodescomposición) (Hance; Holly, 1990). Dichos procesos son complejos y dinámicos y la importancia relativa de cada uno de ellos, resulta influenciada por un amplio rango de condiciones edáficas, climáticas, de los plaguicidas y del sistema de producción.

1.1. Procesos de transporte

1.1.1. Lixiviación

La lixiviación consiste en el movimiento de los plaguicidas a través del suelo hacia el agua subterránea. Dicho movimiento puede ocurrir a través de procesos de difusión y flujo masal. No obstante, la forma más rápida de lixiviación es el transporte por flujo preferencial, principalmente a través de los macroporos del suelo (Shaw; Chadwick, 1999).

La lixiviación de los compuestos químicos depende de diversos factores del suelo, incluyendo contenido de materia orgánica, textura, porosidad, densidad aparente, estructura; y de las propiedades químicas de las sustancias, tales como solubilidad, presión de vapor, y coeficiente de difusión (Tiryaki; Temur, 2010).

En general, el riesgo potencial de lixiviación de los plaguicidas hacia el agua subterránea es menor en los suelos con mayor contenido de materia orgánica y arcilla y moderada o baja permeabilidad (Cheng, 1990). Entre las características de los plaguicidas que incrementan el transporte por lixiviación se incluyen, reducida adsorción a las partículas del suelo, lenta tasa de degradación, y alta solubilidad en agua (Jarvis, 2001).

1.1.2. Volatilización

La volatilización es un proceso físico-químico por el cual un plaguicida es transferido a la atmósfera en estado gaseoso. Generalmente, la volatilidad es medida a partir de la presión de vapor (usualmente a 25°C), definida como la cantidad de presión ejercida por una sustancia a una temperatura determinada. La presión de vapor constituye una propiedad intrínseca fundamental, determinante de la disipación y movimiento en el ambiente. En consecuencia, a la misma temperatura, aquellos plaguicidas con elevados valores de presión de vapor, presentan alto potencial de volatilización (Glotfelty; Schomburg, 1989).

La magnitud de las pérdidas por volatilización es afectada por la naturaleza química del plaguicida, formulación, condiciones climáticas, del suelo y método de aplicación. Los plaguicidas con elevada presión de vapor, baja solubilidad, fotodegradables, y que presentan débil adsorción al suelo, presentan mayores pérdidas por volatilización. Asimismo, el contenido de materia orgánica, de arcilla, textura y humedad del suelo afectan, una vez dentro del mismo, la adsorción de los plaguicidas y en consecuencia su potencial para volatilizarse hacia la atmósfera (Shaw; Chadwick, 1999).

1.1.3. Esguerrimiento superficial

Los plaguicidas pueden ser transportados por esguerrimiento superficial a través de dos mecanismos, disueltos en el agua o adsorbidos a las partículas de suelo (Leonard, 1990).

Las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas, dosis de aplicación, pendiente del terreno, cobertura vegetal, factores del suelo y el contenido de humedad, influyen en el transporte de los contaminantes por esguerrimiento. Los plaguicidas con mayor solubilidad

en agua y menor adsorción a las partículas del suelo presentan mayores pérdidas por escurrimiento superficial (Shaw; Chadwick, 1999).

De igual manera, el movimiento de los plaguicidas es usualmente mayor cuando ocurren eventos de abundantes precipitaciones luego de la aplicación de los mismos. En tal sentido, ha sido ampliamente documentado que el principal movimiento del plaguicida fuera del área tratada ocurre en el primer evento de precipitación luego de la aplicación (Tiryaki; Temur, 2010).

1.1.4. Absorción por los cultivos

El ingreso de los plaguicidas en las plantas varía con la especie de cultivo y las propiedades fisicoquímicas del compuesto, como así también puede ser fuertemente influenciado por las condiciones ambientales y el empleo de coadyuvantes.

Luego de la aplicación de un plaguicida al suelo o al follaje, los compuestos pueden ser transportados dentro y entre las estructuras vegetales. Este proceso puede separarse en dos vías, a través de la absorción por las raíces de las plantas y mediante la adsorción y transporte hacia las estructuras superficiales de los vegetales (Wang; Liu, 2006).

El factor más importante que determina la absorción y movimiento de los plaguicidas dentro de la planta es su solubilidad en agua. Otros factores tales como contenido de humedad, pH, contenido de arcilla y actividad microbiana influyen en este proceso cuando la polaridad del compuesto es elevada, mientras que para compuestos no polares el contenido de materia orgánica constituye un factor de gran importancia en el mismo (Kerle *et al.*, 1996).

1.2. Procesos de retención

La **adsorción** es uno de los procesos más importantes que afecta el destino de los plaguicidas en el ambiente y su transporte hacia el agua subterránea, debido a que puede regular otros procesos tales como la degradación y lixiviación (Wauchope *et al.*, 2002). Este proceso determina la partición de los plaguicidas entre las fases sólida y líquida del suelo, controlando la disponibilidad de los herbicidas para las plantas, los microorganismos del suelo y su movimiento en el perfil (Gevao *et al.*, 2000). Asimismo, la

retención puede ser completamente reversible o irreversible, dependiendo de las diferentes combinaciones sustancia-suelo (Fomsgaard, 2004).

La adsorción de un herbicida en el suelo es usualmente caracterizada a través del coeficiente de distribución de adsorción (k_d), el cual es definido como la relación entre la cantidad de sustancia adsorbida y la cantidad en solución, para una situación de equilibrio. Dicho coeficiente ha sido ampliamente considerado como indicador de la capacidad de adsorción de un herbicida por un suelo determinado (Weber *et al.*, 2004).

En tal sentido, altos valores de k_d indican que los plaguicidas son fuertemente adsorbidos a los componentes del suelo, presentando en consecuencia poca movilidad, y resistencia a la degradación microbiana. Del mismo modo, elevados k_d indican que el plaguicida es probablemente bioconcentrado, hidrofóbico e insoluble en agua, existiendo sin embargo algunas excepciones (Wauchope *et al.*, 2002). En contraste, herbicidas con bajos valores de K_d son débilmente adsorbidos y poseen en consecuencia, mayor probabilidad de lixiviar hacia el agua subterránea (Tiryaki; Temur, 2010).

Existen varios mecanismos de adsorción de los plaguicidas, que pueden ocurrir en las superficies minerales de los suelos, involucrando procesos físicos y químicos. Entre los procesos físicos se incluyen fuerzas de Van der Waals e interacciones electrostáticas (intercambio de iones). Entre los procesos químicos se destacan mecanismos de intercambio de ligando, uniones covalentes y puentes de hidrógeno (Sparks, 2003). Si bien no todos los mecanismos ocurren simultáneamente, dos o más pueden presentarse a la vez, dependiendo de la naturaleza del grupo funcional del plaguicida y de las características del sistema (Gevao *et al.*, 2000).

De esta manera, los mecanismos de interacción iónica ocurren cuando el compuesto químico se encuentra en forma catiónica en el suelo o puede ser protonado, adsorbiéndose a los grupos oxidrilos, fenólicos o carboxílicos de la materia orgánica (Sparks, 2003). Las uniones mediante puentes de hidrógeno, pueden formarse entre grupos funcionales de los coloides del suelo que contienen oxígeno u oxidrilos y grupos similares en la molécula del plaguicida. Por su parte, las fuerzas de Van der Waals, representan atracciones dipolares que ocurren frecuentemente cuando los compuestos no iónicos o no polares entran en contacto con moléculas ácidas de la materia orgánica (Fomsgaard, 2004).

Experimentalmente, la adsorción es descrita mediante isotermas de adsorción. Dicha metodología consiste en una simple reacción de equilibrio entre la concentración de la

sustancia adsorbida a la matriz del suelo y la concentración en la fase acuosa, existiendo diversas expresiones empíricas para describir dicha relación (Barriuso *et al.*, 1994).

1.3. Procesos de degradación

Cuando un plaguicida es liberado en el medio ambiente interactúa con los componentes bióticos y abióticos de éste, sufriendo transformaciones en su estructura, capaces de modificar profundamente sus características físico-químicas y su acción biológica. La degradación del plaguicida dará lugar a nuevos compuestos que pueden resultar más o menos tóxicos, más persistentes y más móviles que la sustancia original. De esta manera, cuando el producto de degradación resulta menos tóxico que el compuesto original, se trata de una inactivación o detoxificación; si por el contrario, el producto de degradación resulta con mayor toxicidad, se trata de una activación (Boxall *et al.*, 2004).

Las reacciones de degradación son muy variadas (oxidación, reducción, hidrólisis, sustitución, eliminación de grupos funcionales, fotólisis) pudiendo estar mediadas tanto por agentes orgánicos, principalmente microorganismos del suelo (hongos y bacterias), como inorgánicos. Asimismo, los procesos de transformación se hallan influenciados por distintos factores como la temperatura, la luz solar, pH, composición del agua, suelo, entre otros (Walker, 2003).

1.3.1. Degradación Abiótica

La degradación abiótica incluye a los procesos de degradación en los cuales no intervienen organismos vivos. Estas reacciones pueden ocurrir en la superficie del suelo, en los horizontes subsuperficiales y especialmente en la solución del suelo. Entre las reacciones químicas más importantes involucradas en la degradación abiótica de algunos plaguicidas se incluyen la hidrólisis, fotodegradación y reacciones de óxido-reducción (Wolfe *et al.*, 1990).

La **hidrólisis** es una de las reacciones más importantes en la degradación de muchos plaguicidas. Esta reacción consiste en la unión de una molécula de agua al compuesto químico (Comfort *et al.*, 1994). El pH de la solución es un factor de gran importancia que determina la tasa de hidrólisis de los compuestos químicos. Diversos plaguicidas pueden

presentar hidrólisis ácida, alcalina o neutra, dependiendo del pH del ambiente (Wolfe *et al.*, 1990). Otros factores que afectan la tasa de hidrólisis de los compuestos químicos, incluyen a la temperatura, el pH, composición del suelo y las propiedades fisicoquímicas del compuesto (Shaw; Chadwick, 1999).

Por su parte, la **fotodegradación o fotólisis** es un proceso fotoquímico en el cual la luz ultravioleta o visible causa la transformación de los compuestos. La tasa de fotodegradación y los productos de degradación originados varían ampliamente, dependiendo de los compuestos químicos parentales.

Este proceso puede ocurrir en aguas superficiales, en la superficie del suelo o en la atmósfera, directa o indirectamente. La fotólisis directa requiere la absorción de luz solar por el plaguicida, el cual es transformado en diversos productos de degradación. A su vez, la fotodegradación indirecta comienza con la absorción de luz por una sustancia distinta del plaguicida. Luego, dicha absorción, origina una serie de reacciones, que resulta finalmente en la transformación del compuesto (Wolfe *et al.*, 1990).

Entre los factores que condicionan la fotodegradación se incluyen características del suelo, tales como pH, contenido de materia orgánica, de arcilla, humedad, y susceptibilidad de la molécula a la fotodegradación. Asimismo, las reacciones fotoquímicas resultan de gran importancia para plaguicidas aplicados a la superficie del suelo sin incorporar (Armostrong; Konrad, 1974).

Diversos plaguicidas pueden sufrir también variadas reacciones de **oxido-reducción**. Entre ellas se incluyen oxidación directa por ozono, autooxidación mediada por metales y peróxidos, reacciones de reducción tales como dehalogenación, nitroreducción, etc. (Wolfe *et al.*, 1990).

1.3.2. Biodegradación

La degradación de los plaguicidas a través de procesos metabólicos es considerada el principal mecanismo de transformación biológica. Los microorganismos del suelo intervienen en la mayoría de los procesos de degradación de los plaguicidas, mediante los cuales, los compuestos químicos pueden ser degradados parcial o totalmente, originando como productos finales CO₂, H₂O, NH₄, NO₃, etc., dependiendo de cada plaguicida en particular (Shaw; Chadwick, 1999).

La degradación de los plaguicidas puede ocurrir mediante diversos tipos de reacciones:

- biodegradación o metabólicas: los microorganismos utilizan a las sustancias como fuente de energía para su crecimiento,
- co-metabólicas: en este caso, los compuestos son degradados por reacciones metabólicas pero no son empleados como fuente de energía para los microorganismos,
- polimerización: las moléculas de los plaguicidas son conjugadas con otros plaguicidas o sustancias naturales,
- acumulación: en las cuales los plaguicidas son incorporados a los microorganismos,
- efectos secundarios de la actividad biológica: el plaguicida es transformado, como consecuencia de cambios provocados por los microorganismos en el ambiente (pH, condiciones redox) (Bollag; Liu, 1990).

Entre las principales reacciones bioquímicas involucradas en el metabolismo microbiano para la degradación, se incluyen reacciones de hidrólisis, oxidación, reducción, dealkylación, dehalogenación y síntesis. Los productos intermedios formados por los procesos de degradación, pueden tener diferentes propiedades físicas y químicas al compuesto parental y en consecuencia un comportamiento diferente en el ambiente (Comfort *et al.*, 1994).

Existen numerosos factores que influyen en la degradación de los compuestos químicos en el suelo, tales como temperatura, humedad, textura del suelo, actividad microbiológica, contenido y composición de la materia orgánica, pH, entre otros (Fomsgaard, 2004).

La **adsorción** y **degradación** de los plaguicidas constituyen dos fenómenos interrelacionados que condicionan el comportamiento y el destino de los plaguicidas en el suelo. La degradación determina la persistencia de los plaguicidas en el suelo, mientras que la adsorción determina la disponibilidad del plaguicida en la solución del suelo para la degradación (Comfort *et al.*, 1994).

La persistencia o residualidad de un herbicida en el suelo puede definirse como el período o longitud de tiempo durante el cuál permanece en forma activa en el mismo. La persistencia es extremadamente importante debido a que determina el período de tiempo en que pueden esperarse efectos fitotóxicos y la longitud de tiempo que un herbicida se encuentra en el ambiente, también es importante debido a que los efectos fitotóxicos residuales pueden provocar daños a los cultivos subsecuentes en la rotación (Ashton; Mónaco, 1991).

La persistencia de un plaguicida generalmente se expresa a través de la vida media ($T_{1/2}$), la cual representa el tiempo requerido para que el 50% del plaguicida original aplicado se descomponga en otros productos (Comfort *et al.*, 1994).

Usualmente, la tasa de degradación para la mayoría de los plaguicidas es descrita mediante una cinética de primer orden. La ecuación empírica más comúnmente empleada asume que la tasa de degradación es proporcional a la concentración del plaguicida (Alexander; Scow, 1989). Sin embargo, existen ocasiones en las que las ecuaciones de primer orden no son adecuadas para describir la degradación. En tales situaciones, la persistencia no es satisfactoriamente descrita a través de un único valor de vida media, pudiendo presentar diferentes tasas de degradación y por ende diferentes tiempos de disipación (Ma *et al.*, 2004).

Cualquier factor que afecte la desaparición o descomposición de un herbicida afecta su persistencia. La mayoría de los factores se incluyen dentro de tres categorías que interactúan fuertemente entre sí: factores del suelo, condiciones climáticas y propiedades del herbicida. Entre los factores del suelo se destacan la composición del mismo (textura) y contenido de materia orgánica, que regulan los procesos de adsorción, volatilización y lixiviación y en consecuencia pueden afectar los períodos de persistencia de un herbicida en el suelo. Generalmente, los suelos con mayor contenido de arcilla y materia orgánica poseen mayor potencial para retener a los herbicidas a las partículas del mismo, incrementándose la adsorción por los coloides del suelo y disminuyendo la lixiviación (Ashton; Mónaco, 1991; Hager *et al.*, 2000).

Varios nutrientes y cationes en el suelo afectan la actividad y degradación de los herbicidas. Algunos herbicidas están más disponibles en presencia de ciertos cationes, mientras que otros pueden estar más retenidos y en consecuencia no disponibles. No obstante, diversos cationes también pueden actuar catalíticamente acelerando la degradación de los compuestos químicos, por lo cual su efecto sobre la degradación, depende de la interacción entre las características químicas de los plaguicidas y la composición del suelo (Hager *et al.* 2000).

Algunos herbicidas son particularmente afectados por el pH del suelo. En suelos con pH elevado, menores concentraciones de los herbicidas se ligan o adsorben a las partículas del mismo, debido a que son repelidos por las cargas negativas de los suelos, estando por lo tanto más disponibles para la absorción por las plantas. Asimismo, la

degradación química y microbiana de los herbicidas son más lentas a pH de suelo elevados (Helling, 2005).

Los principales microorganismos del suelo, bacterias, hongos, y protozoos, son responsables de la descomposición de algunos herbicidas, debido a que los utilizan como fuente de energía. Los microorganismos requieren ciertas condiciones ambientales para alcanzar un óptimo crecimiento, tales como humedad, temperatura, pH, oxígeno y nutrientes (Ashton; Mónaco, 1991). Usualmente los suelos cálidos, bien aireados, fértiles, con pH neutro, son los más favorables para el crecimiento microbiano y por lo tanto para la degradación de los herbicidas (Bedmar, 2004).

Las variables climáticas involucradas en la degradación de los herbicidas son la temperatura, la humedad y la luz solar. La degradación por lo general se incrementa cuando aumentan la temperatura y la humedad, debido a que tanto las tasas de degradación química como microbiana se incrementan con mayores niveles de ambas variables (Hager *et al.*, 2000). La luz solar algunas veces es un factor de cierta importancia en la degradación de los herbicidas. La absorción de energía lumínica aumenta el nivel de energía de la molécula, resultando en alteraciones estructurales de la misma, sin embargo para la mayoría de los herbicidas más persistentes en el suelo, son escasas las pérdidas debidas a fotodescomposición (Kerle *et al.*, 1996).

Las principales propiedades del herbicida, que influyen sobre su persistencia son la solubilidad en agua, la adsorción al suelo, la presión de vapor, las propiedades químicas y la susceptibilidad de la molécula a la alteración o degradación química o microbiana (Hager *et al.*, 2000).

La solubilidad en agua indica su potencial para lixiviar. En general los herbicidas que son menos solubles y son fuertemente atraídos por las partículas del suelo, poseen menor probabilidad de lixiviar, especialmente en años secos (Jarvis, 2001).

La presión de vapor de un herbicida determina su volatilidad. Los herbicidas que tienen elevada presión de vapor, generalmente tienen mayor probabilidad de volatilizarse (Ashton; Mónaco, 1991).

La naturaleza química determina su interacción con los coloides del suelo. Los herbicidas fuertemente básicos (catiónicos) son rápidamente inactivados por las partículas del suelo ya que son fuertemente adsorbidos. Muchos herbicidas que son bases débiles se adsorben a la materia orgánica y a la fracción arcillosa del suelo, sin embargo la adsorción es dependiente del pH. Los herbicidas ácidos (aniónicos) no son adsorbidos,

debido a que son repelidos por las cargas negativas de las partículas del suelo, sin embargo, pequeñas cantidades pueden adsorberse a la materia orgánica y a los coloides positivamente cargados como los óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio. Los herbicidas neutros se adsorben muy poco, aunque si la solubilidad en agua es baja, pueden hacerlo a través de fuerzas físicas (Alexander; Scow, 1989).

La estructura química del herbicida determinará como se degradará en el suelo. Algunos herbicidas son rápidamente descompuestos por los microorganismos, mientras que otros son resistentes a la descomposición. Varios herbicidas son degradados a través de reacciones químicas, que involucran hidrólisis, oxidación y reducción. La descomposición química depende no sólo de la estructura química, sino también de factores edáficos y climáticos (Hager *et al.*, 2000).

Por lo expuesto, la retención y degradación de los plaguicidas constituyen dos procesos determinantes del destino de un plaguicida en el ambiente y deben ser integrados para poder mejorar las observaciones globales sobre el estado de contaminación del agua subterránea (Walker, 2003).

2. Estimación de la lixiviación potencial de los plaguicidas

El riesgo potencial de contaminación del agua subterránea por un herbicida, depende principalmente de su movilidad. En efecto, el potencial de lixiviación de un compuesto químico puede ser determinado directamente o puede estimarse indirectamente mediante modelos, índices o indicadores (Oliveira *et al.*, 2001).

Los programas de monitoreo constituyen una herramienta fundamental para detectar la presencia de plaguicidas en el agua subterránea. Sin embargo, debido al elevado costo y tiempo necesario para llevar a cabo dichas técnicas se han desarrollado en los últimos años diversas metodologías basadas en índices e indicadores, las cuales estiman el potencial de lixiviación de los plaguicidas y el riesgo de impacto en el agua subterránea.

Los índices más utilizados son, entre otros, DRASTIC (Aller *et al.*, 1985); LEACH (Laskowski *et al.*, 1982) y GUS. El índice GUS, (Groundwater Ubiquity Score; Gustafson, 1991) es una herramienta ampliamente empleada para clasificar a los plaguicidas en función de su riesgo de lixiviación hacia el agua subterránea. Este índice relaciona la

persistencia (vida media) y adsorción (K_{oc}) de los compuestos químicos en el suelo (Kerle *et al.*, 1996).

Rao *et al.* (1985), a diferencia de estos procedimientos que sólo incluyen parámetros hidrológicos o exclusivamente propiedades químicas de los plaguicidas, desarrollaron un modelo para determinar la contaminación potencial del agua subterránea basado en el riesgo de lixiviación de los plaguicidas a través del perfil del suelo. Este método ha sido frecuentemente utilizado por diversos autores (Giambelluca *et al.*, 1996; Costa Paraíba; Spadotto, 2002; Sanderson; Lowe, 2002; Bernard *et al.*, 2005; Kookana *et al.*, 2005) e incluye propiedades del suelo (densidad aparente, contenido de carbono orgánico, contenido de humedad a capacidad de campo, profundidad del perfil), características hidrológicas y climáticas (recarga neta de agua subterránea) y algunas propiedades de los plaguicidas en estudio (vida media del plaguicida y coeficiente de partición en carbono orgánico). El modelo establece la determinación de dos índices: Factor de Atenuación (AF) y Factor de Retardo (RF). EL AF estima la fracción de plaguicida aplicado a la superficie que se lixivia a través del perfil del suelo, en base a la profundidad del horizonte de suelo considerado, el contenido de agua a capacidad de campo, la recarga neta de agua subterránea, la vida media de los plaguicidas en el suelo y el Factor de Retardo (RF). El RF determina la movilidad de los plaguicidas y es definido en base a la densidad aparente del suelo, el contenido de carbono orgánico edáfico, el coeficiente de partición en carbono orgánico y el contenido de humedad en el suelo a capacidad de campo.

Dicha información constituye una herramienta que puede ayudar en la toma de decisiones y/o de control para la selección de plaguicidas, estrategias de manejo de plagas asociadas a los cultivos y/o sistemas de producción que minimicen el riesgo de impacto ambiental.

Diversos autores (Díaz-Díaz, 1998; Natale *et al.*, 2002; Spadotto, 2002; Bernard *et al.*, 2005; Kookana, 2005) han calculado los índices AF y RF, sin embargo, salvo algunas excepciones (Díaz-Díaz, 1998; Bernard *et al.*, 2005), la mayoría de los trabajos utiliza información de adsorción y degradación de plaguicidas obtenida de bases de datos internacionales. Tal situación, puede conducir a la obtención de resultados erróneos debido a que pueden encontrarse grandes diferencias respecto de aquella información adaptada de estudios con diferentes suelos, condiciones ambientales, uso de plaguicidas y sistemas de producción. Por todo lo expresado, y a fin de mejorar la confiabilidad de los

resultados, resulta de gran trascendencia obtener información bajo las condiciones ambientales locales de uso de los plaguicidas.

3. Imazapir

3.1. Propiedades, mecanismo de acción, usos

Imazapir es un herbicida de amplio espectro de control, perteneciente a la familia química de las Imidazolinonas. Su mecanismo de acción consiste en inhibir la enzima acetolactato sintetasa. Esta enzima cataliza el primer paso en la biosíntesis de tres aminoácidos alifáticos esenciales de cadena ramificada: valina, leucina e isoleucina y, al inhibirse la síntesis de aminoácidos, también lo hace la síntesis de ADN, la síntesis proteica y el crecimiento de las células, por lo tanto las plantas susceptibles detienen su crecimiento y mueren.

Imazapir es un herbicida descubierto por científicos de la compañía American Cyanamid en la década del 80'. Los primeros ensayos en 1981, indicaron que este herbicida presentaba potencial para el control total de la vegetación, subsecuentes investigaciones demostraron tolerancia en diversas especies de coníferas, lo que llevó a su desarrollo como herbicida forestal y en 1984 comenzaron a desarrollarse las sales comerciales de imazapir (Senseman, 2007).

Las formulaciones comerciales contienen imazapir bajo la forma de ácido [2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-ácido nicotínico] o de sal isopropilamina 2-Propanamina, 2-(4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methylethyl)-5oxo-1H-imidazol-2-yl]-3-pyridinecarboxylato (Figuras 1 y 2).

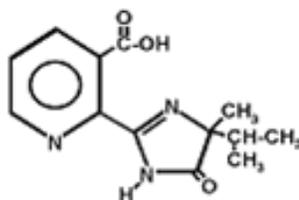


Figura 1. Estructura molecular de imazapir bajo la forma de ácido ($C_3H_{15}N_3O_3$).

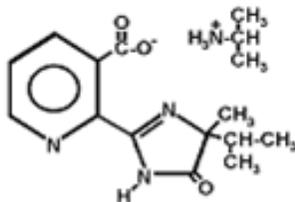


Figura 2. Estructura molecular de imazapir bajo las forma de sal ($C_{13}H_{15}N_3O_3H_9N$).

Actualmente, en Argentina, este herbicida es utilizado a gran escala para el control de malezas en el cultivo de girasol Clearfield (CL) tolerante a Imidazolinonas. Los sistemas de producción Clearfield combinan cultivos tolerantes a Imidazolinonas con herbicidas Imidazolinonas. Esta tecnología permite el control de un amplio espectro de malezas, que incluyen gramíneas anuales y perennes, malezas dicotiledóneas y leñosas, incluyendo especies que no pueden ser controladas por otros herbicidas en los cultivos de maíz, girasol, trigo y arroz (Casafe, 2009). Esta herramienta introdujo la resistencia genética de los híbridos de los cultivos a los herbicidas Imidazolinonas, mediante un proceso de selección genética natural no transgénica. En consecuencia, además de los beneficios sobre el control de malezas, presenta ventajas en el proceso de comercialización, ya que no posee restricciones regulatorias, como en el caso de los cultivos transgénicos (Tan *et al.*, 2005).

Debido a las ventajas de este sistema sobre otros programas de manejo de malezas y su fácil acceso para los productores, el sistema de producción Clearfield ha sido ampliamente adoptado en diferentes regiones del mundo. En Argentina, en el año 2003, BASF lanzó la tecnología Clearfield para el cultivo de girasol y hoy en día es el país líder a nivel mundial en girasol sembrado bajo esta modalidad. En la Figura 3 se presenta la evolución del área sembrada con girasol Clearfield en Argentina, desde su lanzamiento hasta el año 2008. En la actualidad se considera que aproximadamente, el 35-40% del área sembrada en nuestro país corresponde a girasol CL (BASF, 2011).

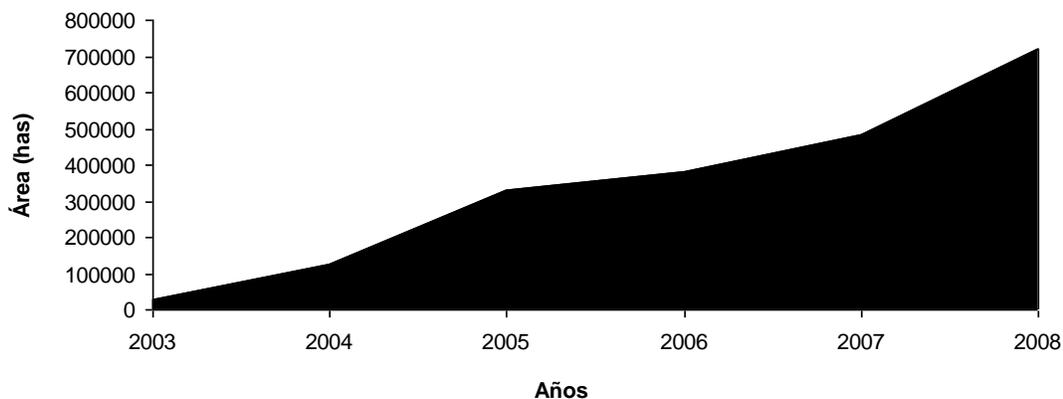


Figura 3. Evolución del área tratada con imazapir en Argentina, en el período 2003-2008.

En la Tabla 1 se presentan las propiedades físicas y químicas de imazapir, mientras que las marcas comerciales registradas en Argentina para el cultivo de girasol por la empresa BASF, se describen en la Tabla 2.

Tabla 1. Nomenclatura, propiedades físicas y químicas de imazapir (Senseman, 2007).

Nomenclatura química	Sal isopropilaminica del ácido 2-(4-isopropil-4-metil-5-oxo-2 imidazolin-2-il) nicotínico.
Fórmula molecular	Ácido: $C_{13}H_{15}N_3O_3$ Sal: $C_{16}H_{24}N_4O_3$
Peso molecular	Ácido: 261,28 g Sal: 320,39 g
Densidad	0.34 g ml ⁻¹
Punto de fusión	169-173°C

Tabla 2. Marcas comerciales registradas para imazapir en Argentina para el cultivo de girasol (Pórfido, 2007).

Marca	Formulación	Concentración
Arsenal	SL	25%
Arsenal Forestal	SL	48%
Arsenal Forestal DF	WG	80%
Clearsol	SL	30,4%
Clearsol DF	WG	80%
Clearsol Plus	WG	15%

SL: concentrado soluble; WG: gránulos dispersables

Este herbicida puede aplicarse en pre o en post emergencia temprana de las malezas, siendo más efectivo cuando se aplica en post emergencia. Imazapir puede aplicarse en áreas no cultivadas, alambrados, caña de azúcar, palma, caucho, pino, (Senseman, 2007) y en los sistemas de producción Clearfield (Tabla 3) (BASF, 2011).

Tabla 3. Marcas comerciales de imazapir y su composición, registradas para los cultivos Clearfield en Argentina.

Cultivo	Marca comercial	Composición
Girasol CL	Clearsol DF	Imazapir 80%
	Clearsol Plus	Imazamox 33% + imazapir 15%
Maíz CL	OnDuty	Imazapic 52.5% + Imazapir 17.5%
	Lightning, Interfield	Imazetapir 52.5% + Imazapir 17.5%
Arroz CL	Kifix 70DG	Imazapir 52.5% + Imazapic 17.5%

En lo que respecta a su comportamiento en las plantas, imazapir, es absorbido por hojas y raíces y es rápidamente traslocado por xilema y floema, acumulándose en los tejidos meristemáticos de las malezas (Anderson, 1996). Aunque el crecimiento de las

malezas es inhibido en pocas horas después de la aplicación, los signos letales son evidentes a partir de 1-2 días, hasta algunas semanas después del tratamiento, dependiendo de las condiciones ambientales (Pórfido, 2007).

3.2. Toxicología

Imazapir es de baja toxicidad aguda oral (categoría IV) y dermal (categoría III) para aves, mamíferos y peces (US. EPA, 2006). La DL_{50} oral para ratas es mayor a 5000 mg kg^{-1} y la DL_{50} dermal para conejos es mayor a 2000 mg kg^{-1} (Senseman, 2007).

Estudios realizados de toxicidad subcrónica, indican que la toxicidad sistémica dermal en conejos es de $400 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Asimismo, no se observaron efectos en ratas, luego de la administración por 13 semanas de 10.000 ppm con la dieta ($571 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

Según informes establecidos por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) ha sido clasificado como clase E, evidencia de no carcinogénesis. No presenta efectos mutagénicos, y no se ha determinado que posea potencialidad para causar efectos sobre la reproducción, sobre la fertilidad, ni oncogénicos (Cox, 1996).

3.3. Comportamiento en el ambiente

Según los antecedentes (Mangels, 1991; Cox, 1996; Tu *et al.*, 2004,) imazapir es un compuesto soluble en agua, no-volátil, persistente y móvil. Con niveles de pH ambientales superiores al valor de su pKa, la molécula se encuentra principalmente en estado aniónico (61% ionizado a pH 4, 94% ionizado a pH 5 y más de 99% a pH superiores a 6), presentando en consecuencia, similar comportamiento bajo las formas de ácido y sal (U.S. EPA, 2006). En la Tabla 4 se presentan las propiedades ambientales de imazapir.

Tabla 4. Propiedades ambientales de imazapir.

pKa (constante de disociación)	1.9, 3.6, 11
Presión de vapor	3×10^{-7} mPa a 25°C
Constante de Henry	1.43×10^{-10} a 20°C
Estabilidad	Mas de 12 meses a 37°C
Solubilidad en agua	9700 mg l ⁻¹ a 20°C
	Acetona:3.39 Etanol:4.22
Solubilidad en solventes orgánicos (a 25°C)	Metanol10.5 DMSO:47.1
	Tolueno:0.18
K _f (constante de adsorción de Freundlich)	1.23
K _{oc} (coeficiente de partición en carbono orgánico)	100
K _{ow} (coeficiente de partición en octanol-agua)	1.3
Vida media en el suelo	90 días
GUS (índice de potencial de lixiviación)	1.98

En general, la **adsorción** de imazapir a las partículas del suelo es débil (Senseman, 2007), sin embargo puede variar dependiendo de las características edafológicas, incrementándose cuando el contenido de arcilla y materia orgánica aumentan, con condiciones de baja humedad en el suelo y valores de pH menores a 5 (Wehtje *et al.*, 1987), siendo éste un proceso reversible.

La molécula de imazapir presenta naturaleza anfotérica (presencia de grupos ácidos y básicos funcionales). Dicha característica permite al herbicida existir en forma aniónica, neutra o catiónica dependiendo del pH del ambiente (Figura 4). Posee tres constantes de

disociación (pK_a), 1.9, 3.6 y 11.4. Cuando el pH del suelo es mayor que su pK_a , el herbicida se encuentra presente en estado aniónico ($-\text{COO}^-$), lo que causa repulsión por los coloides del suelo, resultando en una débil adsorción. Cuando el pH del suelo es menor al pK_a se halla en forma no iónica ($-\text{COOH}$) pudiendo interactuar con las superficies hidrofóbicas de la materia orgánica y coloides cargados negativamente (Che *et al.*, 1992).

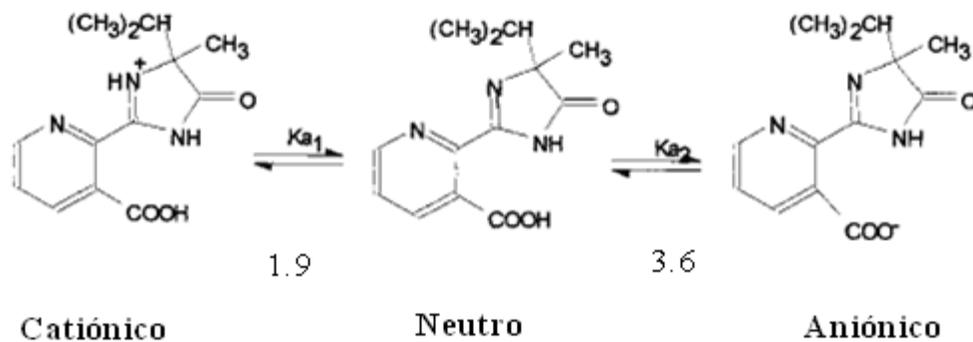


Figura 4. Estructura molecular y equilibrio de disociación de la molécula de imazapir.

Por consiguiente, la molécula tiende a ser débilmente adsorbido en la mayoría de los suelos, presentando bajos valores de K_d y alto grado de movilidad (Mangels, 1991; Shaner; Hornford, 2005).

La **degradación microbiana** constituye el principal mecanismo de disipación de imazapir (Flint; Witt, 1997). En tal sentido, Wang *et al.* (2005) estudiando la degradación de imazapir en cuatro suelos de China, demostraron que entre el 62 y 78% de la degradación correspondía a biodegradación y solo el 39% se asociaba a mecanismos químicos. Asimismo, la degradación se acelera bajo condiciones que favorecen la actividad de los microorganismos del suelo, tales como temperaturas elevadas, alto contenido de humedad en el suelo y pH neutro (Wehtje *et al.*, 1987). De Souza *et al.* (1999), determinaron que el contenido de humedad era el principal factor que afectaba la capacidad de los microorganismos para la degradación de imazapir. Por su parte, Wang *et al.* (2006) determinaron, bajo condiciones aeróbicas, variaciones en la degradación de imazapir en diferentes suelos dependiendo del pH.

Imazapir no es sometido a procesos de **hidrólisis** y no han sido reportados otros mecanismos de degradación, tales como fotólisis en el suelo, o degradación bajo condiciones anaeróbicas (US. EPA, 2006). La **volatilización** es insignificante, debido a su baja presión de vapor, sin embargo el potencial de volatilización aumenta, con el incremento de la temperatura y humedad del suelo (Tu *et al.*, 2004).

Imazapir puede ser rápidamente degradado por la luz solar en soluciones acuosas, sin embargo, la **fotólisis** en la superficie del suelo es limitada (Loux *et al.*, 1989). En tal sentido, Mallipudi *et al.* (1991) determinaron valores de vida media de imazapir, producto de la fotodegradación en soluciones acuosas, de 1.9 a 2.3 días en agua destilada, 2.7 en buffer pH 5 y 2.3 días en buffer pH 9. Por su parte, Carrier *et al.* (2006) y Quivet *et al.* (2006) demostraron que la presencia de iones metálicos (Ni^{2+} Cu^{2+}) produce un efecto perjudicial en la fotodegradación por acomplejamiento de la molécula, aumentando de esta manera la estabilidad del compuesto. De modo semejante, Santoro *et al.* (1999) demostraron que el uso de TiO_2 , sustancias húmicas y acetona incrementaba la tasa de fotodegradación de imazapir.

En consecuencia, el movimiento y persistencia de imazapir se encuentra fuertemente influenciado por diversas propiedades del suelo, entre ellas pH, contenido de arcilla y de materia orgánica (Mangels, 1991; Larina *et al.*, 2004). La adsorción se incrementa a medida que el pH decrece, y es mayor en suelos con alto contenido de materia orgánica y arcilla (Loux *et al.*, 1989). Dichos factores determinan la disponibilidad del herbicida en la solución suelo, regulando su tasa de degradación producto de la actividad microbiana (Alister; Kogan, 2005). Los rangos de vida media reportados en el suelo a nivel internacional, oscilan entre 25 y 142 días dependiendo del tipo de suelo y condiciones ambientales (Senseman, 2007), siendo más corta en suelos arenosos y con temperaturas elevadas (Ulbrich *et al.*, 2005). Al respecto, Mc Dowell *et al.* (1997), determinaron que la temperatura tiene un efecto significativo en la degradación de Imazapir. Wang *et al.* (2006), manifestaron que la tasa de degradación de imazapir decrece en condiciones de suelo de anaerobiosis.

Por lo expuesto, dada su baja capacidad de adsorción, alta capacidad de desorción, y elevada solubilidad en agua, imazapir presentaría alto riesgo de lixiviación. En tal sentido, Vizantinopoulos; Lolos (1994) encontraron que entre el 40 y 70% del herbicida aplicado lixiviaba a 45 cm de profundidad en el perfil, mientras que De Souza *et al.* (1999) comprobaron una elevada lixiviación, dependiendo de las propiedades de los suelos. En

otro estudio realizado por Rahman *et al.* (1993), los autores detectaron residuos a 1.5 y 3 metros de profundidad, dependiendo de la dosis de aplicación.

Sumado a su potencial de lixiviación, entre sus propiedades fisicoquímicas se destaca su elevada persistencia en el suelo, lo cual incrementa el riesgo potencial de contaminación. En tal sentido, diversos estudios han determinado la presencia de imazapir en agua superficial y subterránea. Michael; Neary (1993) y Bush *et al.* (1995), hallaron residuos de imazapir en agua subterránea en el suroeste de Estados Unidos. En la misma línea, Börjesson *et al.* (2004), encontraron residuos del herbicida en el agua subterránea, luego de 8 años de la aplicación, presentando niveles de contaminación entre 0.16 y 0.89 $\mu\text{g l}^{-1}$. Por su parte, Battaglin *et al.* (1998), en un estudio en ríos y arroyos de EEUU, detectaron concentraciones de imazapir superiores a los límites permitidos en más del 5% de las muestras analizadas. Mulder; Schmidt (2011), realizaron un estudio de monitoreo en el estado de Montana, con el fin de determinar el impacto potencial de los compuestos químicos en el agua superficial y subterránea. Dichos autores, determinaron la presencia de imazapir en el 42 y 75% de las muestras de agua superficial y subterránea respectivamente, a concentraciones inferiores al valor máximo permitido por la Unión Europea en el agua para consumo humano de 0.1 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Hamilton *et al.*, 2003).

3.4. Determinación de residuos de imazapir

Existen diversas metodologías para la determinación de residuos de imazapir en muestras de suelo, las cuales emplean cromatografía líquida o gaseosa con diferentes tipos de detectores (D' Ascenzo *et al.*, 1998; Lagana *et al.*, 2000; Ramezani *et al.*, 2009). No obstante, muchas de ellas son laboriosas, presentan baja sensibilidad, reproducibilidad y especificidad, pudiendo originar falsos positivos.

La Espectrometría de Masas (MS/MS), constituye actualmente una de las herramientas analíticas más sofisticadas para el análisis de plaguicidas en diferentes tipos de matrices. Debido a que presenta alta sensibilidad y selectividad, es posible cuantificar residuos de plaguicidas en matrices ambientales a niveles traza (Lao; Jay Gan, 2006).

Diversos estudios han demostrado que las determinaciones de residuos de Imidazolinonas mediante cromatografía líquida (LC)-MS/MS son adecuadas, dado que dichos compuestos son eficientemente ionizados bajo la forma de electroespray

(D'Ascenzo *et al.*, 1998; Koppen; Spliid, 1998; Lagana *et al.*, 2000; Ramezani *et al.*, 2009). Sin embargo resulta necesario optimizar las condiciones instrumentales de manera que confirmen en forma inequívoca al analito, sean reproducibles, sensibles y selectivas.

La evaluación del efecto matriz es de gran importancia cuando se desarrolla un método de cuantificación mediante LC-MS/MS. Los compuestos que coeluyen con el analito pueden afectar la ionización, causando incremento y/o supresión en la señal. De esta manera, el efecto matriz puede afectar la reproducibilidad y precisión del método (Taylor, 2005).

Dadas las características estructurales de la molécula y la influencia de las propiedades del suelo en su comportamiento, resulta de gran importancia optimizar la metodología de extracción en distintos suelos. Asimismo, debido a que la dosis actual de aplicación en Argentina es relativamente baja (20-80 g ingrediente activo ha⁻¹) (<http://www.agro.basf.com.ar/Soluciones.aspx>, 2011), y dada su prolongada persistencia en el suelo, la metodología debe permitir la determinación y cuantificación de sus residuos a muy bajas concentraciones, a fin de evaluar con precisión su comportamiento ambiental.

En Argentina, han sido realizados diversos estudios a campo y mediante bioensayos con el fin de determinar la persistencia de imazapir en el suelo y sus efectos fitotóxicos sobre cultivos de invierno y de verano (Istilart, 2002; Duffard, 2007; Porfiri; Montoya, 2008; Gianelli *et al.*, 2011). No obstante, es escasa la información relacionada con el comportamiento de esta molécula en el ambiente (Montoya *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011). Por todo lo expuesto, resulta de gran importancia generar información al respecto, en suelos del país con características edafológicas contrastantes.

Las **hipótesis** planteadas son las siguientes:

- i) Las propiedades de los suelos influyen en la eficiencia de extracción de la metodología empleada para la determinación de residuos de imazapir.
- ii) Los patrones de persistencia y adsorción de imazapir varían en función de las propiedades de los suelos.
- iii) La vida media de imazapir se encuentra inversamente relacionada con el contenido de carbono orgánico y el pH de los suelos.
- iv) El grado de adsorción de imazapir es mayor a medida que se incrementa el contenido de carbono orgánico y disminuye el pH de los suelos.
- v) El riesgo de lixiviación y de contaminación del agua subterránea se incrementa en los suelos en los cuales el herbicida presenta mayor persistencia y menor grado de adsorción.

Como **objetivo general** se plantea, estudiar la persistencia y adsorción de imazapir en tres suelos de Argentina y en base a las propiedades ambientales obtenidas, predecir el riesgo de lixiviación y contaminación del agua subterránea.

Los **objetivos particulares** son:

- i) Optimizar la metodología para la detección y cuantificación de residuos del herbicida imazapir en diferentes suelos.
- ii) Determinar la vida media de imazapir en los suelos de Cerro Azul, Anguil y Tandil, correspondientes a las provincias de Misiones, la Pampa y Buenos Aires, respectivamente.
- iii) Describir el proceso de adsorción de imazapir en los suelos de Cerro Azul, Anguil y Tandil, correspondientes a las provincias de Misiones, la Pampa y Buenos Aires, respectivamente.
- iv) Establecer el riesgo de lixiviación de imazapir hacia el agua subterránea, empleando las propiedades ambientales (vida media y K_d) obtenidas experimentalmente para cada situación en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Propiedades de los suelos

Para los estudios se utilizaron muestras de suelo de las localidades de Tandil, Anguil y Cerro Azul, correspondientes a las provincias argentinas de Buenos Aires, La Pampa y Misiones, respectivamente. Las localidades seleccionadas para la extracción de las muestras fueron determinadas en función de las propiedades fisicoquímicas de los suelos, tales como diferente contenido de carbono orgánico (CO), pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), entre otras. En cada sitio, la recolección de las muestras (0 a 15 cm de profundidad) se realizó con muestreador de suelo, obteniendo una muestra compuesta de aproximadamente 15 kg de suelo.

Las muestras fueron secadas a 30°C, molidas y tamizadas por 2 mm de malla. Posteriormente, se realizó su caracterización física y química según las siguientes metodologías:

- a) Textura: se realizó por el método sucesivo de la pipeta para determinar las fracciones de los tamaños de partículas por deposición gravimétrica (Gee; Bauder, 1986).
- b) Carbono orgánico (CO): se analizó mediante oxidación con ácido crómico (Walkley; Black, 1934).
- c) pH: se midió con electrodo en una relación suelo: agua de 1:2.5.
- d) Capacidad de intercambio catiónico (CIC): se determinó por la sustitución con acetato de amonio 1 M y pH = 7 (Chapman, 1965).
- g) La densidad aparente (ρ_b) y el contenido de humedad gravimétrica (θ^g) se estimaron a partir de muestras secadas a 105°C durante 24 horas.
- h) Retención de humedad: se estimó mediante ollas de presión, las cuales se utilizaron para medir la curva característica de humedad del suelo a tensiones de 33 y 1500 kPa (Klute; Dirksen, 1986).
- i) Actividad microbiana: La actividad microbiana se determinó a través de la producción de CO₂ por respirometría, en condiciones controladas de laboratorio, mediante la metodología descrita por Anderson (1982).
- j) La determinación de hierro total (Fe) se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, previa digestión ácida de las muestras (USEPA, 1986).

- i) La determinación de aluminio intercambiable (Al) se realizó por el método del Aluminón (A.P.H.A., 1965)

1.1. Análisis estadístico: Luego de la caracterización fisico-química, se realizó un análisis de la varianza para determinar las diferencias entre las principales propiedades de los suelos y comparaciones de promedios mediante el test de diferencias mínimas significativas (LSD) utilizando un nivel de significancia del 5%. (The SAS System versión 9.0, 2002).

2. Puesta a punto de la metodología para la determinación de residuos de imazapir en muestras suelos

2.1. Químicos, reactivos y equipos

Se utilizó un estándar de imazapir, 2-(4-Isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-ácido nicotínico (Chem service, número de catálogo PS-2016AJS), con 99% de pureza. El compuesto presenta las siguientes propiedades fisicoquímicas, peso molecular: 261.3, solubilidad en agua a 25°C: 11270 mg l⁻¹, presión de vapor a 60°C: <1.33×10⁻⁵ Pa, pKa: 1.9, 3.6 y 11.4, coeficiente de partición en octanol – agua a 22°C (Log Kow): 1.3.

Todas las soluciones y la fase móvil empleadas para este estudio fueron preparadas con agua ultra pura deionizada (Milli-Q water, Millipore). Los solventes (grado HPLC) incluyeron metanol (J.T Baker), ácido fórmico (Riedel-de Haën) y acetonitrilo (J.T Baker). Se empleó una solución stock de imazapir (1.2 ug ml⁻¹) preparada en agua ultra pura deionizada la cual fue almacenada a 4°C hasta su utilización.

Las determinaciones se llevaron a cabo mediante cromatografía líquida de ultra performance (UPLC Waters ®), acoplada a un espectrómetro de masas Quattro Premier XE. El sistema fue controlado mediante el software Micromass Masslynx V 4.1. Los datos fueron procesados mediante la opción TagertLynx utilizando una curva de calibración externa, lineal en el rango 0.03 - 500 ug l⁻¹ (R²>0.99) (Zelaya *et al.*, 2009).

2.2. Selección de la metodología

Los aspectos investigados incluyeron: selección de la solución y procedimiento de extracción óptimos de imazapir en muestras de suelo, determinación de los límites de detección y cuantificación, efecto matriz y parámetros asociados al sistema UPLC-MS/MS.

Para el estudio se utilizaron muestras de suelo de la localidad de Tres Arroyos, correspondiente a la provincia de Buenos Aires, Argentina (pH: 5.59, MO: 2.97%, Arena: 44.91%, Limo: 34.75%, Arcilla 20.34%, textura franco). Las muestras fueron extraídas a 0-15 cm de profundidad, secadas a 30°C, tamizadas a 2 mm de malla y colocadas en freezer hasta su procesamiento. La concentración aplicada de imazapir a las muestras de suelo fue de 110 ug kg⁻¹, equivalente a la dosis de campo recomendada para la zona de estudio (80 g i.a ha⁻¹).

De acuerdo a los antecedentes (D'Ascenzo *et al.*, 1998; Lagana *et al.*, 2000; Ramezani *et al.*, 2009), se seleccionaron 7 extractantes y se determinó el porcentaje de recuperación del herbicida con cada uno de ellos. Las soluciones evaluadas incluyeron: cloruro de potasio (KCL 0.1M pH 7), hidróxido de sodio (NaOH 0.5M), cloruro de potasio (KCl 0.1M pH 14), hidróxido de potasio (KOH 0.1M), metanol/agua (CH₃OH/H₂O 80:20 0.5M), hidróxido de sodio/metanol (NaOH/CH₃OH 80:20 0.5M) e hidróxido de sodio/acetonitrilo (NaOH/CH₃CN 80:20 0.5M).

2.2.1. Fortificación de las muestras

Cada muestra, correspondiente a 5 g de suelo seco, fue pesada y colocada en erlenmeyer de 100 ml. Posteriormente, a partir de la solución stock se aplicó el herbicida a fin de obtener una concentración de 110 ug kg⁻¹ en cada una de las muestras. El suelo fue homogeneizado mediante agitación en vortex por 30 minutos y llevado a estufa (30°C) durante 2 horas. Posteriormente, las muestras se colocaron en heladera a 4°C durante 48 horas antes de la extracción.

2.2.2. Procedimiento de extracción

Se utilizó una relación suelo-solución 1:4 (5 g suelo: 20 ml solución), realizándose 3 repeticiones para cada extractante. A cada muestra de suelo contaminada se adhirieron 20 ml de cada solución extractante. Posteriormente se agitaron en vortex durante 10 minutos, se sonicaron durante 15 minutos y luego se centrifugaron durante 15 minutos a

2500 rpm. El procedimiento de extracción fue repetido 3 veces para lograr mayor recuperación del herbicida. Finalmente se combinaron los extractos correspondientes a cada ciclo de extracción y se homogenizaron mediante agitación por vortex. De cada extracto final se tomó una alícuota, la cual fue filtrada a través de filtros jeringa de 0.2 μm y se colocó en viales de 1.5 ml para su posterior determinación por UPLC-MS/MS.

Como tratamiento control o blanco se utilizaron muestras de suelo sin contaminar, en las cuales se realizó el procedimiento de extracción descripto.

Los límites de detección y cuantificación fueron establecidos mediante la relación señal/ruido y el coeficiente de variación correspondiente a 10 inyecciones.

Para evaluar el efecto matriz se prepararon a partir de la solución stock estándar de imazapir ($1.2 \mu\text{g ml}^{-1}$), curvas de calibración (0.05, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 y $10 \mu\text{g l}^{-1}$) por triplicado, en agua ultra pura, en la solución extractante de KCL 0.1M pH 7 y en el extracto del suelo obtenido de la muestra control.

Para su determinación se compararon las áreas obtenidas de la curva preparada en agua ultra pura desionizada (A), con aquellas medidas con la solución de KCL (B) y las del extracto de suelo luego de la extracción (C). La relación $(B/A*100)$ y $(C/A*100)$ es definida como el efecto matriz absoluto (EM%). Un valor de 100% indica que no existe efecto matriz absoluto. Si el valor es mayor a 100% se presenta incremento en la señal, mientras que valores menores a 100% indican supresión de la señal (Matuszewski *et al.*, 2003).

2.3. Efecto de la concentración del herbicida y de las propiedades del suelo en el porcentaje de recuperación de la metodología analítica seleccionada

Con el fin de evaluar el efecto de la concentración aplicada y el tipo de suelo en el porcentaje de recuperación con KCl 0.1M pH 7, se emplearon los suelos seleccionados para el desarrollo de los experimentos de persistencia y adsorción, correspondientes a las localidades de Tandil, Anguil y Cerro Azul. Las concentraciones de imazapir evaluadas fueron: 5, 25, 50 y $100 \mu\text{g kg}^{-1}$. La técnica consistió en 3 extracciones consecutivas para cada suelo con una solución de KCl 0.1M pH 7, basándose en los mecanismos de agitación, sonicación y centrifugación anteriormente descriptos. El ensayo se estableció bajo un diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial. Los factores considerados

correspondieron al tipo de suelo (3) y a las concentraciones aplicadas del herbicida (4), utilizándose 3 repeticiones para cada combinación.

2.4. Análisis estadístico

La información obtenida de los experimentos descritos, se analizó mediante el programa SAS (The SAS System versión 9.0, 2002). A tal fin, se realizaron análisis de la varianza (ANOVA), y comparaciones de promedios mediante el test de diferencias mínimas significativas (LSD) utilizando un nivel de significancia del 5%.

3. Estudios de persistencia

En cada una de las muestras (1500 g de suelo seco) se realizó la aplicación de imazapir según la dosis de uso recomendada, equivalente a 80 g ha^{-1} del ingrediente activo. El herbicida se aplicó utilizando la formulación comercial Clearsol DF, BASF (WG 80%) mediante un pulverizador manual en 50 ml de caldo.

Posteriormente, se dispusieron en envases plásticos de 2 l de volumen con su tapa "ligeramente cerrada", según la metodología propuesta por Walker *et al.* (1989). Los suelos tratados, se ubicaron en un cuarto de crecimiento sin exposición de luz y con una temperatura promedio de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, realizándose muestreos a los 1, 3, 7, 10, 14, 23, 30, 60, 100, 130, 170 y 210 días desde la aplicación (DDA).

Semanalmente, se controló el contenido de humedad de los suelos, de manera que la misma se mantuviera a 60% de capacidad de campo. Las muestras (50 g) obtenidas por duplicado en cada fecha de muestreo, se dispusieron en freezer (-18°C) hasta su procesamiento para evitar la degradación del herbicida. Finalizados los muestreos, se descongelaron las muestras y se realizó la extracción y determinación del herbicida por UPLC-MS/MS.

3.1 Análisis estadístico

El ensayo se estableció bajo un diseño completamente aleatorizado, con 4 repeticiones para cada suelo. Las concentraciones medias de imazapir obtenidas para cada suelo y a través del tiempo, fueron comparadas mediante el test "t" ($p=0.05$) utilizando el procedimiento PROC MIXED del programa SAS (The SAS System versión 9.0, 2002). Se ajustaron diferentes modelos para seleccionar la estructura de covarianza apropiada y determinar la correlación entre las observaciones repetidas en el tiempo.

Los diferentes modelos evaluados fueron:

- * Autoregresivo de primer orden: asume un decaimiento exponencial de las correlaciones entre las medidas repetidas en el tiempo y homogeneidad en las varianzas;
- * Simple: considera que las observaciones en la misma unidad no están correlacionadas y homogeneidad en las varianzas;
- * Simetría compuesta: adjudica una correlación constante entre cualquier par de medidas repetidas dentro de la misma unidad;
- * Simetría compuesta heterogénea: considera que las varianzas son heterogéneas.

Para la comparación de los ajustes y para la selección del modelo más apropiado se utilizaron los siguientes indicadores:

- * Criterio de información de Akaike (AIC):

$$AIC = -2L + 2d \quad (1)$$

- * Criterio de Schwarz (BIC):

$$BIC = -2L + d \ln n \quad (2)$$

- * Criterio de Bozgodan:

$$AICC = -2 \log \text{verosimilitud} + q(\log N + 1) \quad (3)$$

donde L es el máximo valor de la función de verosimilitud (restringida), $d=q+p$ es la dimensión del modelo, q es el número de parámetros de covarianza estimados y p es el rango de la matriz de diseño. Bajo estas expresiones de AIC y BIC, el mejor modelo resulta ser aquel con menor valor para el indicador.

Los datos de concentración obtenidos para cada suelo se ajustaron empíricamente a una ecuación cinética de primer orden. Las concentraciones en el suelo de imazapir

fueron analizadas mediante regresión no lineal (PROC NLIN) respecto de los DDA, de acuerdo a la ecuación:

$$c(t) = ae^{-kt} \quad (4)$$

donde c es la concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$ de suelo) al momento t , a es la concentración inicial en $\mu\text{g kg}^{-1}$, k es la constante de degradación de primer orden, y t es el tiempo en días desde el tratamiento.

El tiempo de vida media ($T_{1/2}$) se calculó para cada suelo, a partir de la ecuación:

$$T_{1/2} = Ln_2 / K \quad (5)$$

en donde $T_{1/2}$ es el tiempo de vida media en días y k es la constante de degradación. Los valores de k y $T_{1/2}$ obtenidos fueron testados al nivel del 5% para las diferencias entre suelos. Posteriormente, se realizaron análisis de correlación y regresión lineal múltiple stepwise ($p=0.05$) entre los valores obtenidos de k y $T_{1/2}$ y las propiedades de los suelos.

4. Estudios de Adsorción

Para determinar la adsorción de imazapir en los diferentes suelos, se realizaron isotermas, mediante el método de equilibrio por tanda (batch equilibrium method). A tal fin, se llevaron a cabo estudios preliminares para determinar la relación suelo:solución de CaCl_2 (0.01 M) y el tiempo de equilibrio a emplear (OECD, 2000).

Se evaluaron tres relaciones suelo: solución de CaCl_2 , (1:2, 1:5, y 1:10), con el objetivo de lograr porcentajes de adsorción cercanos al 50% (OECD, 2000). Las concentraciones de imazapir empleadas para realizar este ensayo fueron de 10 y 150 $\mu\text{g l}^{-1}$. Asimismo, se estableció el tiempo de equilibrio, para lo cual se evaluaron diferentes tiempos de agitación: 2, 4, 7, 17, 24 y 72 horas. En ambos casos se realizaron tres repeticiones para cada suelo.

Para la realización de las isotermas, se utilizó un estándar de imazapir similar al descrito en 2.1 (Químicos, reactivos y equipos). Las concentraciones de imazapir utilizadas para el desarrollo de las isotermas fueron: 0, 10, 30, 50, 100, 150, 200 y 250 $\mu\text{g l}^{-1}$. Dichas concentraciones se agregaron a las muestras de suelo (5 g) previamente

equilibradas en 25 ml de CaCl_2 (0.01 M), para favorecer la floculación de los coloides. La mezcla se agitó durante 24 horas, a 20°C y la suspensión de suelo se separó por centrifugación. El líquido sobrenadante fue filtrado a través de filtros jeringa de 0.2 μm y colocado en viales de 1.5 ml para su posterior análisis. Las determinaciones se llevaron a cabo mediante UPLC-MS/MS

Posteriormente, el proceso fue descrito utilizando la ecuación de adsorción lineal:

$$C_s = K_d C_w \quad (6)$$

donde C_s ($\mu\text{g kg}^{-1}$) corresponde a la cantidad de herbicida adsorbido en la fase sólida, C_w ($\mu\text{g l}^{-1}$) es la concentración de equilibrio en la solución del suelo y K_d (l kg^{-1}) es el coeficiente de adsorción.

La cantidad de sustancia adsorbida se calculó como la diferencia entre la cantidad inicialmente presente en solución y la concentración remanente al final del experimento.

4.1. Análisis estadístico

El ensayo se estableció bajo un diseño completamente aleatorizado, con 4 repeticiones para cada suelo. Los valores de K_d obtenidos, fueron comparados mediante el test "LSD" ($p = 0.05$) para testar las diferencias entre suelos. Asimismo, se realizaron análisis de correlación y regresión lineal múltiple stepwise ($p = 0.05$) entre los valores de K_d y las propiedades de los suelos (The SAS System versión 9.0, 2002).

5. Índices de contaminación potencial

Para estimar el potencial de lixiviación de imazapir y el riesgo de impacto en el agua subterránea, se utilizaron los índices G.U.S. (Groundwater Ubiquity Score; Gustafson, 1991) y un modelo propuesto por Rao *et al.* (1985), el cual establece la determinación de dos índices: Factor de Atenuación (AF) y Factor de Retardo (RF). El factor de atenuación, estima la fracción de plaguicida aplicado a la superficie que lixivia a través del perfil del suelo y se expresa a través de la siguiente ecuación:

$$AF = \exp [-(0,693*d* \theta_{FC}*RF)/(q*DT_{50})] \quad (7)$$

donde d (cm) es la profundidad del suelo considerado, θ_{FC} ($m^3 m^{-3}$) el contenido volumétrico de agua en el suelo a capacidad de campo, q ($cm \text{ día}^{-1}$) la recarga neta de agua subterránea, DT_{50} (días) la vida media de los plaguicidas en el suelo y RF el factor de retardo.

En el presente trabajo se utilizó el índice AFT que corresponde a la transformación logarítmica del factor AF para simplificar la interpretación de los resultados (Bernard *et al.*, 2005):

$$AFT = \ln (AF)/(-0.693) \quad (8)$$

El factor de retardo indica la capacidad de los plaguicidas para lixiviar a través del suelo, teniendo en cuenta la adsorción y distribución entre las fases sólidas y líquidas y se define como:

$$RF = 1 + (\rho_d * f_{oc} * K_{oc}) / (\theta_{FC}) \quad (9)$$

donde ρ_d ($Mg m^{-3}$) es la densidad aparente del suelo, f_{oc} es la fracción decimal del contenido de C orgánico (Díaz-Díaz *et al.*, 1998) y K_{oc} ($m^3 kg^{-1}$) el coeficiente de reparto en C orgánico-agua.

En el presente estudio tanto el AF como el RF fueron calculados para cada suelo considerando sus propiedades fisicoquímicas y una profundidad de 15 cm, a la cual fueron extraídas las muestras. Asimismo, para el cálculo de los índices se emplearon los parámetros ambientales del herbicida ($T_{1/2}$ y K_{oc}) resultantes de los estudios de persistencia y adsorción para cada sitio en evaluación. Adicionalmente, se calcularon los índices empleando valores de K_{oc} y $T_{1/2}$ obtenidos de la literatura internacional con el fin de realizar comparaciones y determinar posibles diferencias.

La recarga neta de agua subterránea se obtuvo a partir de la información calculada por Aparicio *et al.*, (2008), quienes estimaron la recarga de la serie de suelos Mar del Plata, por medio del modelo LEACHM, para una serie de 8 años, en un cultivo de maíz bajo riego suplementario. Dentro del período calculado, se seleccionaron los ciclos correspondientes a los valores de máxima (2.3 mm día^{-1}) y mínima (0.3 mm día^{-1}) recarga de agua, y el promedio de los 8 años (1.1 mm día^{-1}).

Asimismo, con el fin de corroborar estos valores, se realizó el cálculo de la recarga neta de agua, considerando el estudio realizado por Quiroz Londoño *et al.* (2012), quienes encontraron para el acuífero pampeano, valores de recarga entre 9 y 21% del total de la precipitación, con un valor medio de 14%. A tal fin, la recarga se determinó considerando el valor promedio correspondiente al 14 % de las precipitaciones anuales para la localidad de Balcarce (período 1970-2011) obteniéndose un valor de 1.3 mm d⁻¹, (ecuación 10), valor similar al reportado por Aparicio *et al.*, (2008) en su estudio.

$$R = \frac{\sum PP}{\sum DP} * 14\% \quad (10)$$

donde R corresponde a la recarga neta (mm d⁻¹), PP (mm) al total de precipitaciones anuales y DP al número total de días con precipitaciones.

Si bien dichas valores fueron obtenidos por los mencionados autores, a nivel regional, en el presente estudio se consideraron los valores mencionados en forma estimativa, con el fin de calcular los índices y realizar comparaciones entre suelos, considerando valores de recarga neta de agua homogéneos entre los mismos.

Una vez obtenidos los índices RF y AFT, el herbicida se clasificó en base a su movilidad y su potencial de lixiviación empleando la clasificación propuesta por Khan; Liang (1989), (Tabla 5).

Tabla 5. Escalas de clasificación de los plaguicidas en base al Factor de retardo (RF), Factor de atenuación (AF) y el Factor de atenuación In-transformado (AFT).

RF	Clasificación	AF	AFT	Clasificación
= 1	muy móvil	$\geq 2.5 \times 10^{-1}$ y ≤ 1	≤ 2	muy probable
> 1 y < 2	móvil	$\geq 1 \times 10^{-1}$ y $< 2.5 \times 10^{-1}$	≥ 2 y < 3	probable
≥ 2 y < 3	moderadamente móvil	$\geq 1 \times 10^{-2}$ y $< 1 \times 10^{-1}$	≥ 3.3 y < 7.2	moderadamente probable
≥ 3 y < 10	moderadamente inmóvil	$\geq 1 \times 10^{-4}$ y $< 1 \times 10^{-2}$	≥ 7.2 y < 13.3	improbable
≥ 10	muy inmóvil	$< 1 \times 10^{-4}$	> 13.3	muy improbable

Otro índice utilizado para estimar el riesgo de lixiviación de imazapir fue el índice **GUS**, (*Groundwater Ubiquity Score*; Gustafson 1991). Este índice es considerado como indicador de la movilidad intrínseca de los plaguicidas ya que consiste en una simple regresión empírica que incorpora solamente parámetros de adsorción y persistencia, para determinar el riesgo, y no incluye información de los suelos en estudio (Spadotto, 2002).

El índice GUS es estimado mediante la siguiente ecuación:

$$GUS = \log t_{1/2} (4 - \log k_{oc}) \quad (11)$$

Cuando el índice GUS es > 2.8 , los plaguicidas son clasificados como lixivadores, no lixivadores si el índice es < 1.8 y de transición cuando presenta valores entre 1.8 y 2.8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Propiedades de los suelos

En base a la clasificación taxonómica de suelos (USDA, 1999), los suelos de las localidades de Tandil y de Anguil pertenecen al orden Molisol, clasificándose en función de la distribución de partículas, de textura franco arcillo arenoso y franco, respectivamente. Por su parte, el suelo de Cerro Azul se incluyó en el orden Ultisol, presentando textura arcillosa.

En la Tabla 6 se presentan los resultados de las caracterizaciones físico-químicas de los suelos. En el análisis estadístico de las variables, se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tres suelos, para el contenido de CO, pH, CIC, contenido de arena, limo, arcilla, Fe y Al, como así también en la actividad microbiana. En tal sentido, se observó que el contenido de CO y la CIC de los suelos fueron superiores en Tandil seguido por los suelos de Cerro Azul y Anguil respectivamente ($p < 0.05$). Por otra parte el suelo de Anguil presentó mayores valores de pH respecto de Tandil y de Cerro Azul ($p < 0.05$). El contenido de Fe total y de Al intercambiable fue superior en el suelo de Cerro Azul ($p < 0.05$), mientras que en los suelos de Tandil y Anguil no se observaron diferencias significativas para estos elementos.

En general, el contenido de arena, limo y arcilla difirió entre suelos, obteniéndose los mayores valores de arena en el suelo de Tandil ($p < 0.05$), de limo en Anguil ($p < 0.05$) y de arcilla en Cerro Azul ($p < 0.05$).

Tabla 6. Contenido de carbono orgánico (CO), distribución del tamaño de partículas (arena, limo y arcilla), pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido de Fe total, contenido de Al intercambiable y actividad microbiana (C-CO₂) de los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul ¹.

Suelo	CO (g 100g ⁻¹)	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	pH	CIC (cmolc g ⁻¹)	C-CO ₂ (mg g ⁻¹)	Fe total (%)	Al intercambiable (meq 100g ⁻¹)
Tandil	3.4 a	46.5 a	26.1 b	27.4 b	5.4 b	25.2 a	0.08 b	0.81 b	0.11 b
Anguil	1.4 c	44.2 b	35.2 a	20.6 c	6.3 a	17.4 c	0.04 b	1.08 b	0.15 b
Cerro Azul	2.5 b	5.4 c	16.7 c	78.0 a	4.9 c	20.6 b	0.16 a	8.4 a	0.69 a

¹ Letras iguales dentro de cada columna indican diferencias no significativas ($p > 0.05$)

La producción de C-CO₂ fue afectada por el tipo de suelo. En tal sentido, la respiración fue significativamente superior ($p < 0.05$) en el suelo de Cerro Azul (Tabla 6), seguido por los suelos de Tandil y Anguil, los cuales no difirieron entre sí ($p > 0.05$).

La actividad microbiana (C-CO₂) se correlacionó en forma negativa y altamente significativa ($p < 0.01$) con el pH de los suelos ($r: -0.81$), el contenido de arena ($r: -0.81$) y limo ($r: -0.85$), y en forma altamente significativa ($p < 0.01$) y positiva, con el contenido de arcilla ($r: 0.86$), hierro ($r: 0.81$) y aluminio ($r: 0.70$).

Asimismo, resultados de estudios previos (Dupuis; Whalen, 2007; Rousk *et al.*, 2009), determinaron una correlación negativa entre el crecimiento microbiano y el pH de los suelos. Si bien en el presente trabajo no se determinó una correlación significativa entre la producción de C-CO₂ y el contenido de CO, se observó una relación directa entre ambas variables ($r: 0.37$). En coincidencia, Börjesson *et al.* (2004), en un estudio sobre el destino ambiental de imazapir, no encontraron una estrecha correlación entre la actividad microbiana y el contenido de carbono orgánico de los sitios en estudio, reportando bajos valores de producción de C-CO₂. Por su parte, Dupuis; Whalen (2007), determinaron una correlación negativa ($r: -0.32$) entre el contenido de CO de los suelos y la producción de C-CO₂.

En la misma línea, De Souza *et al.* (1999), determinaron la respiración microbiana en suelos de Brasil, con diferentes dosis de aplicación de imazapir. Dichos autores, observaron mayor producción de CO₂, y mayor actividad de los microorganismos en suelos de textura franco arenosa, que en suelos de textura arcillosa, resultados contrarios a los obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, el suelo arcilloso de Brasil, presentaba un pH sustancialmente mayor (6.7) que en nuestro caso.

Estos resultados sugerirían que existe una compleja interacción entre las distintas propiedades de los suelos (pH, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, contenido de humedad, temperatura) que podrían explicar la variabilidad en la producción de C-CO₂ hallada entre los mismos (Buchman, 2000; Andersson; Nilsson, 2001; Dupuis; Whalen, 2007).

Otro factor a considerar que podría haber influido en los mayores valores de respiración obtenidos en el suelo de Cerro Azul, es el manejo de los sistemas productivos, debido a que en estos suelos, la producción de cultivos perennes constituye su uso actual predominante (Gunther *et al.*, 2008). En tal sentido, las muestras de suelo utilizadas en este estudio provenían de un lote bajo producción de yerba mate con más de 20 años de cultivo. De la misma manera, Ramírez Pisco *et al.* (2007) cuantificaron la actividad microbiana en un suelo andisol bajo diferentes sistemas de manejo. Dichos autores determinaron mayor producción de C-CO₂ en un suelo prístino, presentando una producción promedio de 0.264 g CO₂ kg⁻¹, mientras que la menor producción (0.009 g CO₂ kg⁻¹) se determinó en un suelo con más de 20 años de labranza. Similares resultados fueron obtenidos por Hang *et al.* (2003) quienes comparando la actividad microbiana en suelos de la provincia de Córdoba bajo diferentes sistemas de producción, determinaron valores de C-CO₂ mucho más elevados en un suelo no cultivado.

Finalmente, cabe destacar que podría haber existido una posible supresión (total o parcial) de la actividad microbiana, debido a que inicialmente el suelo fue secado al aire (Shaner *et al.*, 2006). Por tal motivo, es probable que manteniendo las condiciones de humedad original del suelo, se hubiesen obtenido tasas de respiración superiores a las determinadas en este trabajo.

2. Puesta a punto de la metodología para la determinación de residuos de imazapir en muestras de suelo

2.1. Selección de la metodología

El porcentaje de recuperación de imazapir varió significativamente ($p < 0.05$) según el extractante empleado (Tabla 7). Se encontraron diferencias significativas entre las soluciones evaluadas, excepto para NaOH/CH₃OH (80:20) y NaOH/CH₃CN (80:20), las cuales no fueron eficientes para recuperar el herbicida.

Los valores de recuperación siguieron el orden: KCL (0.1M pH 7) > KCL (0.1M pH 14) > KOH > NaOH > CH₃OH/H₂O (80:20) > NaOH/CH₃OH (80:20) = NaOH/CH₃CN (80:20). En las Figuras 5 y 6 (a y b) se presentan a modo de ejemplo los cromatogramas correspondientes a la extracción de imazapir con la solución de KCL (0.1M pH 7) y CH₃OH/H₂O (80:20) y sus respectivos estándares.

Tabla 7. Recuperación obtenida con las soluciones extractantes evaluadas.

Solución extractante	Recuperación (%) ¹	CV (%)
KCL (0.1M pH 7)	95 ² (2.5) a	2.6
KCL (0.1M pH 14)	80 (1.5) b	1.9
KOH	65 (2.1) c	2.3
NaOH	50 (2.1) d	4.2
CH ₃ OH/H ₂ O (80:20)	30 (1.2) e	3.9
NaOH/CH ₃ OH (80:20)	0 f	-
NaOH/CH ₃ CN (80:20)	0 f	-

¹Letras iguales indican diferencias no significativas ($p > 0.05$).

²Los números entre paréntesis corresponden a los desvíos estándar de tres repeticiones.

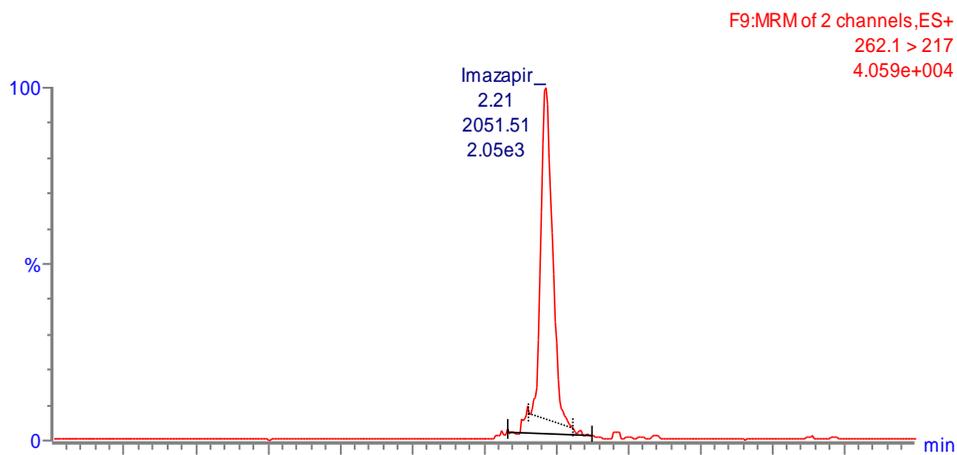


Figura 5.a. Cromatograma correspondiente al estándar de imazapir ($27.6 \mu\text{g l}^{-1}$) en KCL (0.1M pH 7).

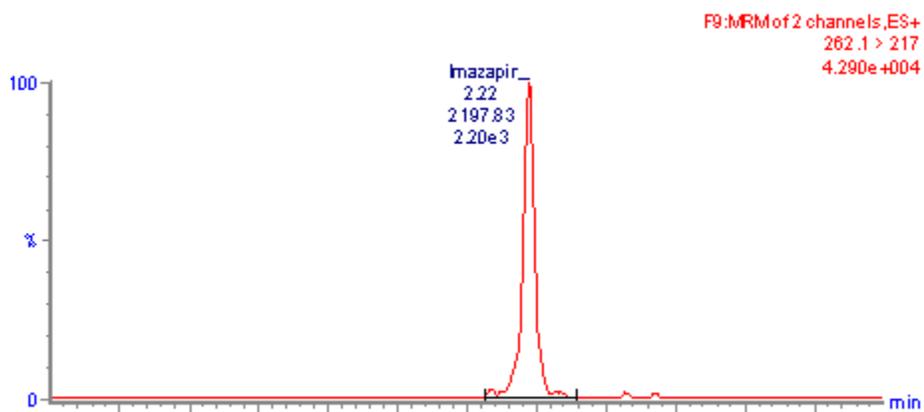


Figura 5.b. Cromatograma de imazapir luego de la extracción con KCL (0.1M pH 7).

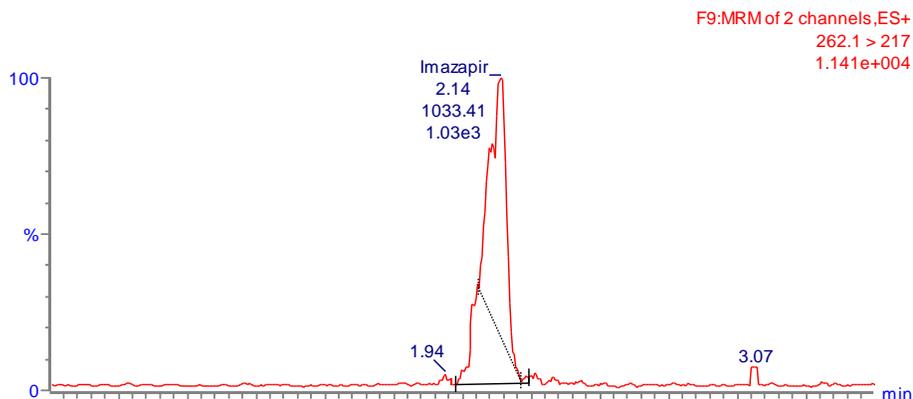


Figura 6.a. Cromatograma correspondiente al estándar de imazapir (27.6 ug l^{-1}) en $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (80:20).

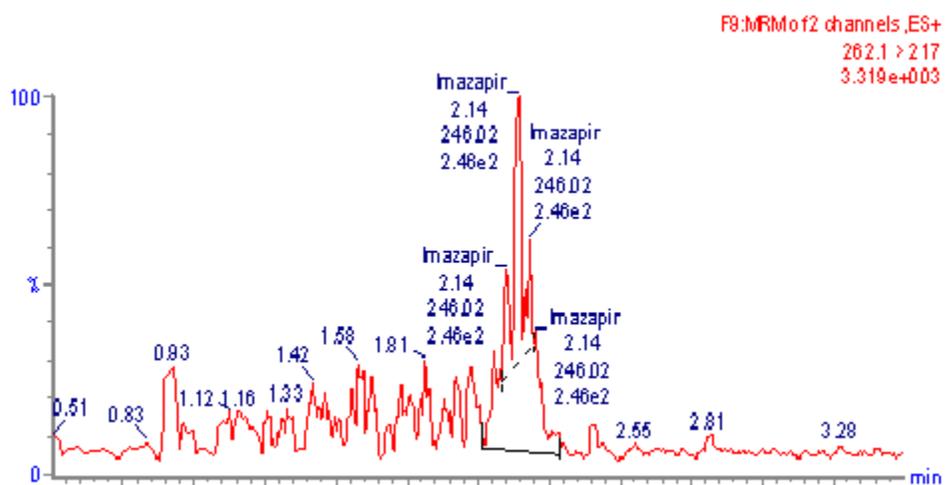


Figura 6.b. Cromatograma de imazapir luego de la extracción con $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (80:20).

Los límites de detección y cuantificación alcanzados fueron de 0.1 y 0.5 ug l^{-1} respectivamente, presentando el método buena repetibilidad ($\text{CV} < 6\%$). Por su parte, no se observó efecto matriz ya que las concentraciones de imazapir en cada una de las curvas preparadas con las distintas soluciones fueron equivalentes (Figura 7). En tal sentido, en la Tabla 8 se presentan las relaciones entre áreas obtenidas con las diferentes matrices. En la misma, se puede observar la ausencia de efecto matriz dado que los valores promedios de las relaciones halladas de las muestras por triplicado, oscilaron

entre 81 y 114%, valores muy próximos al 100% el cual representaría la inexistencia de efecto matriz absoluto.

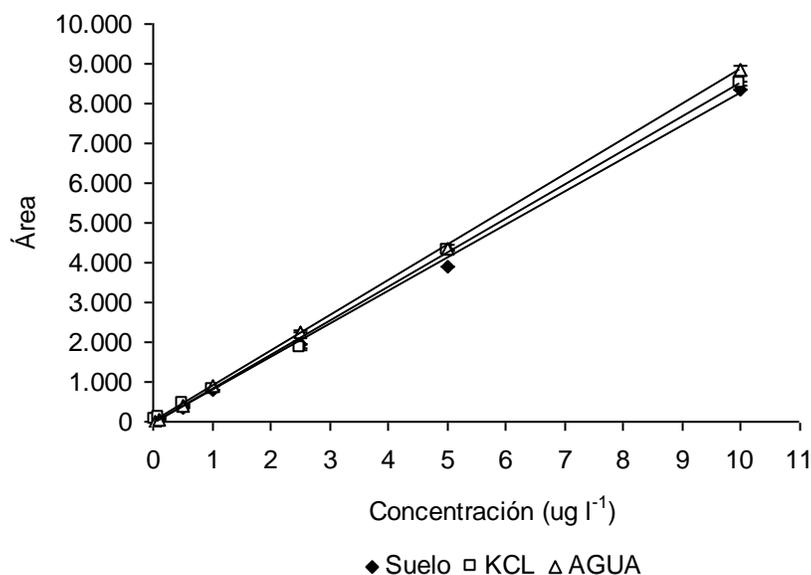


Figura 7. Curvas de calibración y ecuaciones obtenidas para determinar el efecto matriz: Agua ultra pura $y = 884,19x - 15,916$ $R^2: 0,9999$; extracto de suelo $y = 831,75x - 61,079$ $R^2: 0,9989$; KCL $y = 853,9x - 50,756$ $R^2: 0,9986$.

Tabla 8. Efecto matriz (EM) basado en la relación entre las áreas de las curvas de calibración en diferentes matrices.

Concentración ($\mu\text{g l}^{-1}$)	EM (%)	
	KCL	Extracto de suelo
0.05	114	91
0.1	108	87
0.5	108	84
1	99	103
2.5	81	106
5	99	91
10	96	98

En base a los resultados se puede establecer que las condiciones óptimas para obtener la máxima recuperación, identificación y confirmación del herbicida fueron: 3 ciclos de extracción consecutivos con el extractante KCL (0.1M pH 7). Asimismo, empleando KCL (0.1M pH 7) como solución extractante, el procedimiento evaluado permitió obtener un extracto final claro, sin necesidad de realizar procesos de limpieza, lo cual facilitó su inyección directa en el sistema cromatográfico, reduciendo sustancialmente el tiempo de procesado y análisis de las muestras.

Las especificaciones cromatográficas se establecieron en base a la metodología propuesta por Zelaya *et al.* (2009). En la Tabla 9 se presentan las condiciones de operación LC y MS.

Tabla 9. Condiciones de operación de los sistemas de cromatografía líquida y espectrometría de masas para la determinación y cuantificación de imazapir.

Cromatografía líquida	Espectrometría de masas
Sistema LC: ACQUITY UPLC SYSTEM (Waters®)	Sistema MS: Quattro Premier XE
Columna: ACQUITY UPLC® BEH C18 1.7 um 2.1 x 50 mm	Modo de ionización: Electrospray
Fase móvil A: Solución 0.01% ácido fórmico en agua	Polaridad: positiva
Fase móvil B: metanol	Voltaje de capilar: 3.5 Kv
Flujo: 0.350 ml min ⁻¹	Temperatura de la fuente: 100°C
Temperatura de la columna: 40.0°C	Temperatura de desolvatación: 350°C
Volumen de inyección: 10 ul	Flujo de gas del cono: 5 l h ⁻¹
Tiempo de análisis: 9 minutos	Flujo de gas de desolvatación: 700 l h ⁻¹
Tiempo de retención: 2.94 minutos.	MS/MS operación: MRM (monitoreo de reacciones múltiples)
	Transiciones analizadas: (262.10 > 148.90 y 262.10 > 217.00)

Los resultados del presente estudio son coincidentes con los reportados por D'Ascenzo *et al.* (1998). No obstante, Ramezani *et al.* (2009) evaluando diferentes extractantes, determinaron que la extracción de imazapir con KCL a pH 5.9 produjo menor recuperación que las restantes soluciones, como consecuencia del bajo pH de la solución de extracción. En nuestro estudio las mejores recuperaciones fueron obtenidas con KCL a pH neutro y alcalino debido a que en este rango de pH (superior al pKa de la molécula), el

herbicida se encuentra en forma aniónica siendo repelido por los coloides del suelo y aumentando su solubilidad a causa de la desprotonación del compuesto (Mangels, 1991; Lagana *et al.*, 2000).

Los restantes extractantes evaluados presentaron baja eficiencia de recuperación de imazapir en el suelo, probablemente como consecuencia de la menor solubilidad del compuesto en soluciones acuosas y en solventes orgánicos. Asimismo, las combinaciones de NaOH/CH₃OH (80:20) y NaOH/CH₃CN (80:20) no fueron efectivas para lograr una correcta separación del sobrenadante, debido a la obtención de un extracto pigmentado, lo cual evidenció la presencia de compuestos húmicos y partículas en suspensión, que provocaban interferencias en la determinaciones cromatográficas de la molécula.

2. Efecto de la concentración del herbicida y de las propiedades del suelo, en el porcentaje de recuperación de la metodología analítica seleccionada

Se detectó efecto de interacción ($p < 0.05$) para el % de recuperación, entre los suelos y las concentraciones evaluadas (Tabla 10). El porcentaje de recuperación en los suelos de Tandil y Anguil, aumentó con el incremento de la concentración del herbicida. Sin embargo, en el suelo de Cerro Azul, la recuperación mantuvo una tendencia similar a través de las concentraciones, no detectándose diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las mismas (Tabla 11).

Estos resultados concuerdan con los reportados por D'Ascenzo *et al.* (1998), quienes empleando una metodología de extracción equivalente, no encontraron variaciones en la recuperación de imazapir en el rango de concentraciones evaluadas (50-200 $\mu\text{g kg}^{-1}$), como así tampoco detectaron efecto del tipo de suelo. Del mismo modo, Ramezani *et al.* (2009), no observaron diferencias significativas entre los suelos analizados, obteniendo una recuperación del herbicida mayor al 70% en todos los casos estudiados. Esta tendencia podría atribuirse a que tanto los suelos evaluados por D'Ascenzo *et al.* (1998) y Ramezani *et al.* (2009), como los del presente estudio presentaban valores de pH de 5 a 7.6. En dicho rango de pH la molécula de imazapir se encuentra en estado aniónico, provocando la repulsión por los coloides del suelo cargados negativamente, originando en consecuencia elevada recuperación del herbicida.

Tabla 10. Análisis de la varianza para la comparación entre suelos y concentraciones del % de recuperación de la técnica.

Factores	P > F ^a
Suelo	0,0526
Concentración	<0,0001 **
Suelo x Concentración	0.0058 **
Coeficiente de variación (%)	11.4

^a nivel de significancia: * p<0.05; ** p<0.01

Tabla 11. Análisis de la interacción suelo x concentración para el porcentaje de recuperación.

Suelos	Concentración (ug kg ⁻¹) ¹			
	5	25	50	100
Tandil	62,0 A a	120,7 B a	99,7 B a	101,0 B b
Anguil	51,3 A b	100,7 B b	84,3 B b	124,0 C a
Cerro Azul	58.0 A b	94.3 A b	96.0 A a	91.3 B b

¹Letras mayúsculas corresponden a comparaciones dentro del mismo suelo; letras minúsculas corresponden a comparaciones dentro de la misma concentración.

Los resultados sugerirían que a pesar de la influencia de las propiedades del suelo (pH, contenido de arcilla y de materia orgánica) en la movilidad y adsorción del herbicida (Pusino *et al.*, 1997; Firmino *et al.*, 2008), el KCl sería efectivo para provocar la ionización de la molécula, originando repulsión de la misma de los coloides del suelo. Asociado a este proceso se obtendría un elevado porcentaje de recuperación del herbicida, independientemente de las propiedades de los suelos. No obstante, cuando se aplican concentraciones muy bajas (5 ug kg⁻¹), podrían acentuarse las diferencias entre suelos probablemente como consecuencia de la mayor cantidad de sitios de adsorción disponibles o posiblemente debido a ciertas limitaciones en la metodología de extracción.

3. Estudios de persistencia

El análisis de los resultados mostró que los tres criterios utilizados (indicadores Akaike (AIC), Schwarz (BIC) y Bozgodan (AICC)) coincidieron en seleccionar a la estructura autoregresiva de primer orden como la más apropiada, para ajustar covarianzas en los datos analizados y determinar la correlación entre las observaciones repetidas en el tiempo. De esta manera se asumió un decaimiento exponencial de las correlaciones en las medidas repetidas en el tiempo (Tabla 12).

Tabla 12. Ajuste de los diferentes modelos para la selección de estructura de covarianza.

Modelos	Criterios de selección		
	AIC	AICC	BIC
Autoregresivo de primer orden	593.3	593.4	594.3
Simple	614.8	614.9	615.3
Simetría compuesta	608.0	608.1	609.0
Simetría compuesta heterogénea	607.3	611.2	613.6

Posteriormente, las concentraciones medias de imazapir obtenidas para cada suelo y a través del tiempo (ajustadas a la estructura de correlación seleccionada), fueron comparados mediante el test LSD ($p=0.05$). En el análisis se detectó efecto de suelo, días desde la aplicación y de la interacción suelo x días desde la aplicación ($p<0.05$), observándose diferencias significativas entre los suelos y entre los días desde la aplicación (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Análisis de la varianza (ANOVA Proc-mixed, SAS) para la comparación entre suelos y DDA de las concentraciones de imazapir.

Efectos	P > F ^a
Suelo	<0,0001 **
DDA	<0,0001 **
Suelo x DDA	<0,0001 **

^a nivel de significancia: * p<0.05; ** p<0.01

Tabla 14. Análisis de la interacción suelo x días desde la aplicación para las concentraciones de imazapir.

Suelos	Días desde la aplicación ¹											
	1	3	7	10	14	23	30	60	100	130	170	210
Tandil	69.7 A a	62.0 A b	58.1 A c	56.4 A d	54.9 A e	48.2 A f	46.8 A g	38.1 A h	29.4 A i	17.2 A j	16.9 A k	13.1 A l
Anguil	52.2 B a	49.3 B ab	46.9 B b	40.4 B c	35.4 B d	31.9 B d	27.9 B e	14.6 B f	12.2 B f	6.3 B g	3.1 B f	2.1 B g
Cerro Azul	90.4 C a	84.2 C b	80.4 C c	80.2 C d	73.0 C e	70.0 C f	65.7 C g	60.9 C h	60.1 C i	42.4 C j	32.0 C k	19.7 C l

¹Letras minúsculas corresponden a comparaciones dentro del mismo suelo; Letras mayúsculas indican comparaciones dentro de la misma concentración.

La degradación de imazapir en los suelos se ajustó significativamente ($p < 0.001$) a una ecuación cinética de primer orden. Asimismo, los valores de los coeficientes de determinación (R^2) obtenidos en el ajuste de los datos (Tabla 15), indicaron que la degradación del herbicida fue satisfactoriamente descripta por este modelo.

Este patrón de degradación es esperado cuando las concentraciones de los compuestos químicos son bajas y la degradación ocurre principalmente a través de los microorganismos (Alexander; Scow, 1999; Fomsgaard, 2004). Dicho modelo ha sido

frecuentemente utilizado para describir la degradación de imazapir en diferentes suelos (Vizantinopoulus; Lolos, 1994; El Azzouzi *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2005; Raymundo-Raymundo *et al.*, 2011).

Considerando la evolución del porcentaje de imazapir recuperado en los tres suelos, se observó una cinética de degradación inicial rápida, seguida de una fase posterior que presentó una ligera menor degradación. A tal fin, los porcentajes de recuperación para cada suelo se calcularon considerando como 100 % al porcentaje recuperado en el tiempo cero (Figura 8).

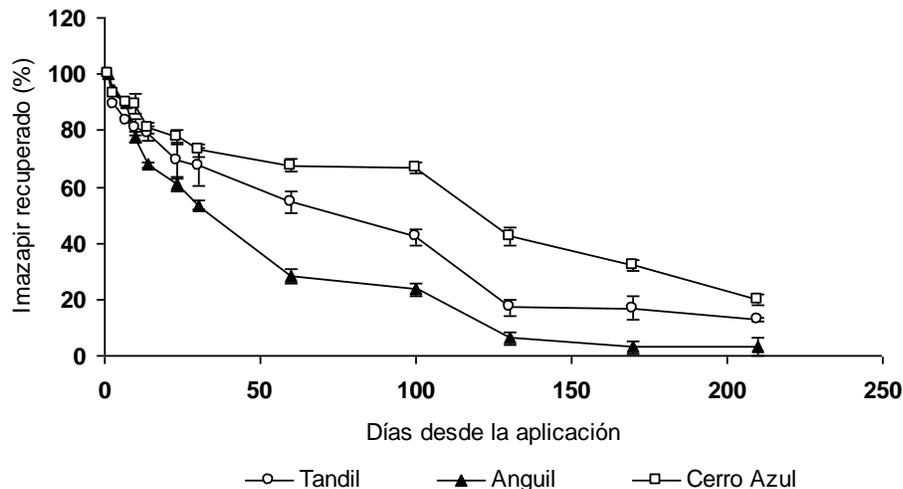


Figura 8. Evolución de la degradación de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul. Las barras de error representan el error estándar del promedio.

La rápida degradación en la primera fase ocurre cuando el herbicida se encuentra en la interfase suelo – agua y está rápidamente disponible para los microorganismos. En la segunda fase el herbicida se halla adsorbido a las partículas del suelo y la degradación está controlada por la constante de desorción-difusión dentro de la fase suelo-agua (Henriksen *et al.*, 2004). Las tendencias de degradación fueron, en líneas generales, similares en los tres suelos, sin embargo, el suelo de Cerro Azul presentó menor degradación (Figura 8).

La tasa de degradación (k) y la vida media de imazapir difirieron significativamente entre suelos (Tabla 15), siguiendo la degradación el orden Anguil > Tandil > Cerro Azul.

Tabla 15. Constantes de degradación de primer orden y vida media de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul ^{1,2}.

	Constante de degradación de primer orden (K)	Vida media (días)	R ²
Tandil	0.0093 (0.00625-0.00862) b	75 (70-80) b	0.96
Anguil	0.0188 (0.01651-0.00214) a	37 (31-41) c	0.96
Cerro Azul	0.0058 (0.00468-0.00586) c	121 (120-144) a	0.94

¹Letras iguales indican diferencias no significativas ($p > 0.05$). ²Los números entre paréntesis corresponden a los intervalos de confianza al 95%.

Los períodos de persistencia de imazapir determinados son coincidentes con estudios previos, en los cuales han sido reportados valores de vida media entre 25 y 155 días y baja tasa de degradación en diferentes tipos de suelos (El Azzouzzi *et al.*, 1998; US EPA, 2005; Senseman, 2007).

En el suelo de Tandil, la tasa de degradación de imazapir fue de 0.0093, correspondiendo a una vida media de 75 días. Este valor resultó levemente inferior a los establecidos por McDowell *et al.* (1997), quienes utilizando un suelo de características similares (franco limoso, 6.4 % de materia orgánica y pH 5.42), determinaron valores de vida media de 125 y 155 días a 15 y 30 °C respectivamente. De modo semejante, Börjesson *et al.* (2004) obtuvieron valores de vida media entre 67 y 144 días en suelos arenosos, de pH 6.2-6.7. No obstante, Ulbrich *et al.* (2005) reportaron valores inferiores (33 días), en un suelo franco arenoso de Brasil (4.7% de materia orgánica, pH 5.8, 28% de arcilla, 14% limo y 58% arena).

Por su parte, la vida media determinada en el presente estudio para el suelo de Cerro Azul, fue de 121 días. Este valor es sustancialmente superior al establecido por Ulbrich *et al.* (2005) quienes refirieron un valor de 40 días en un suelo arcilloso de Brasil con características similares. Asimismo, Ramezani *et al.* (2010) hallaron un periodo entre 39 y 49 días para un suelo de pH 5 y 3% de carbono orgánico, mientras que Ismail; Abmad (1994), obtuvieron valores de 7 y 5 días a 35°C, en suelos arcillosos y franco arcilloso respectivamente. Por el contrario, Raymundo – Raymundo *et al.* (2011) determinaron en suelos alofánicos de México, una baja tasa de degradación de imazapir y en consecuencia elevados valores de persistencia, estimando un tiempo de vida media

superior a 39 meses. Los autores atribuyeron tales resultados principalmente a que los suelos andisoles ofrecen condiciones poco favorables para el desarrollo de microorganismos, tales como bajo contenido de fósforo disponible y un alto contenido de aluminio extractable. Por su parte, El Azzouzi *et al.* (1998) al comparar un suelo laterítico y un suelo orgánico, reportaron mayor persistencia en éste último obteniendo valores de vida media de 25 a 58 y 55 a 58 días, respectivamente.

Finalmente, la vida media en el suelo de Anguil fue de 37 días, lo cual es coincidente con los valores reportados por Wang *et al.* (2005), quienes estudiando la degradación de imazapir en 4 suelos de China, obtuvieron un período de vida media entre 30 y 45 días.

La degradación de los plaguicidas en el suelo, se halla influenciada por diversos factores, entre los que se incluyen la actividad microbiana, contenido de carbono orgánico, nutrientes, pH, temperatura y contenido de humedad del suelo. Asimismo, la biodisponibilidad de los plaguicidas para la degradación depende de la capacidad de adsorción a las partículas del suelo (Ghafoor *et al.* 2011).

La vida media de imazapir se correlacionó en forma altamente significativa ($p < 0.01$) e inversamente, con el pH, contenido de arena y de limo de los suelos, y en forma altamente significativa ($p < 0.01$) y positiva, con el contenido de arcilla, de Fe y de Al (Tabla 16). Por su parte, la actividad microbiana se correlacionó significativamente y en forma positiva ($p < 0.05$) con la vida media del herbicida. Asimismo, el análisis de regresión múltiple (stepwise), indicó que la vida media se relacionó en forma positiva con el contenido de Al y en forma negativa con el pH y el contenido de limo de los suelos ($R^2 = 0.9896$; $T_{1/2} = 252.3 - 27.25 [\text{pH}] - 1.33 [\text{limo}] + 33.47 [\text{Al}]$).

En lo referente a la tasa de degradación, se correlacionó en forma altamente significativa ($p < 0.01$) y positiva con el pH de los suelos y el contenido de limo, e inversamente con el contenido de Fe y de Al (Tabla 16). Por su parte, las correlaciones con el contenido de arena fueron positivas pero significativas ($p < 0.05$), mientras que resultaron negativas y significativas con la actividad microbiana, el contenido de carbono orgánico y arcilla, y la capacidad de intercambio catiónico. De la misma manera al considerar el análisis de regresión múltiple, dicha variable se relacionó positivamente con el pH, y negativamente con la CIC y el contenido de Fe de los suelos ($R^2 = 0.9948$; $K = -0.00808 + 0.00575 [\text{pH}] - 0.000527 [\text{CIC}] - 0.0003804 [\text{Fe}]$).

Tabla 16. Correlaciones entre las constantes de degradación de primer orden y la vida media de imazapir y propiedades seleccionadas de los suelos.

Variable	Constante de degradación de primer orden (K)	Vida media (días)
pH	0.99** ¹	-0.96**
CO	-0.73*	0.48
CIC	-0.62*	0.35
Arena	0.66*	-0.86**
Limo	0.93**	-0.98**
Arcilla	-0.77*	0.93**
C-CO ₂	-0.79*	0.85*
Fe	-0.68**	0.87**
Al	-0.63**	0.83**

¹ nivel de significancia: * p<0.05; ** p<0.01

En el presente estudio la persistencia de imazapir en los suelos siguió el orden Cerro Azul>Tandil>Anguil (Tabla 15). De hecho, el mayor período de persistencia (121 días) fue determinado en el suelo de Cerro Azul el cual presenta valores de pH inferiores a los restantes suelos (4.9) y mayor contenido de arcilla y de Fe y Al. Por el contrario, los menores valores de vida media (37 días) fueron observados en el suelo de Anguil, seguido por el suelo de Tandil (75 días). El suelo de Anguil posee mayor pH (6.3) y menor contenido de arcilla respecto de los otros suelos, mientras que el suelo de Tandil registra valores intermedios de ambas variables (Tabla 6). Estos resultados son coincidentes con los reportados por Ulbrich *et al.* (2005), quienes determinaron que el tiempo de vida media de imazapir fue mayor en un suelo arcilloso y de menor pH, comparado con un suelo franco-arenoso. Del mismo modo, Ismail; Ahmad (1994) obtuvieron mayor degradación de imazapir y por lo tanto menor persistencia en un suelo franco arcilloso que en un suelo arcilloso. Por su parte, Wang *et al.* (2005) observaron mayor persistencia de imazapir en

suelos con valores de pH extremos (9.04 y 5.25), mientras que en suelos de pH cercanos a la neutralidad el período de persistencia disminuía. Dichos autores atribuyeron estos resultados a que en suelos neutros, los microorganismos poseen adecuadas condiciones para su crecimiento, acelerando el proceso de degradación de imazapir. En la misma línea, Ramezani *et al.* (2010), determinaron que el pH fue la variable del suelo que presentaba mayor influencia en la tasa de degradación de imazapir. Los autores observaron menor degradación y mayor persistencia en suelos con pH bajos, sin embargo, no encontraron correlación entre la tasa de degradación y la textura de los suelos.

En particular, el pH del suelo puede afectar la degradación de los compuestos directamente, si su estabilidad es pH dependiente. Asimismo, puede presentar una influencia indirecta mediante cambios en la actividad y biomasa microbiana o a través de la adsorción a las partículas del suelo (Kah; Brown, 2006).

El rol del pH y de los óxidos de hierro en el proceso de adsorción de las Imidazolinonas en el suelo ha sido estudiado por varios autores (Pusino *et al.*, 1997; Regitano *et al.*, 1997; Leone *et al.*, 2001). Estos trabajos confirmaron que la adsorción se incrementa a medida que el pH decrece y que los óxidos de hierro tienen una importante intervención en la adsorción de imazapir en el suelo. Aún así, las diferencias en las tasas de degradación determinadas en el presente estudio, podrían deberse a diferente actividad biológica de los tres suelos. En tal sentido, Wang *et al.* (2005) demostraron mayor degradación del herbicida con el incremento de la actividad biológica de los suelos, indicando que la tasa de degradación fue 2.6 a 4.4 veces más lenta en suelos estériles comparada con suelos en condiciones naturales. No obstante, en otros estudios no se ha establecido una clara correlación entre la actividad microbiana y la tasa de degradación de los plaguicidas (Scow, 1993; Veeh *et al.*, 1996). Börjesson *et al.* (2004) concluyeron que la variabilidad en las tasas de degradación de imazapir en los diferentes sitios, no podía ser atribuida a diferencias en la actividad microbiana de los mismos. En efecto, existe una compleja interacción entre los microorganismos, plaguicidas y los constituyentes del suelo, que puede alterar la capacidad de degradación de las moléculas (De Souza *et al.*, 1999). Así, la degradación microbiana es afectada por diversos factores incluyendo la temperatura del suelo, aireación, contenido de humedad, pH, contenido de materia orgánica, estado nutricional (Helling, 2005). En tal sentido, la degradación microbiana de los plaguicidas presenta una estrecha relación con la cantidad del

compuesto biodisponible en la solución del suelo (Kraemer *et al.*, 2009). Por lo tanto, otros factores podrían haber influenciado la persistencia de imazapir, tales como el contenido de materia orgánica, o arcilla los cuales pueden disminuir la disponibilidad del herbicida para la degradación. Consecuentemente, el contenido de carbono orgánico podría ejercer dos efectos opuestos en el suelo. Por un lado, elevados contenidos de carbono orgánico, pueden incrementar la actividad biológica y la tasa de degradación de los herbicidas, debido a que proveen condiciones favorables para el crecimiento microbiano (Thorstensen; Lode, 2001). No obstante, frecuentemente, la adsorción de los herbicidas en el suelo, se correlaciona en forma positiva con el contenido de carbono orgánico, reduciendo en consecuencia la biodisponibilidad de los compuestos para la degradación (Walker, 2003; Kah; Brown, 2006). En su trabajo, Walker (1994) presentó diversos casos en los que existen procesos de adsorción dominante, relacionados a elevados contenidos de carbono orgánico, los cuales fueron asociados con reducidas tasas de biodegradación de los plaguicidas.

Por otro lado, el pH de los suelos presenta efectos directos e indirectos en la degradación de los plaguicidas. Por un lado controla la actividad microbiana presentando una influencia positiva en la degradación. Sin embargo, en el caso de compuestos ionizables, como imazapir, incrementos en los valores de pH disminuyen la fuerza de adsorción y aumentan su disponibilidad para ser degradado en el suelo (Kah; Brown, 2006).

De modo semejante, el contenido de arcilla de los suelos, además de ser un factor clave en el proceso de adsorción de algunos herbicidas (Fomsgaard, 2004), puede presentar una estrecha relación con la actividad biológica de los suelos y en consecuencia con la degradación. Por ejemplo, De Souza *et al.* (1999), reportaron mayor degradación de imazapir en un suelo franco arenoso que en un suelo arcilloso, en concordancia con lo determinado en este trabajo. Los autores atribuyeron estos resultados a que el suelo mas arenoso, presentaba mayor porosidad, lo cual facilitarí la aireación y en consecuencia la actividad global de los microorganismos para la degradación de la molécula.

Según lo expuesto, en el suelo de Cerro Azul, se incrementaría la adsorción y disminuiría en consecuencia la disponibilidad de imazapir para la degradación microbiana (principal mecanismo de degradación). Por el contrario, el suelo de Anguil presentaría mayor degradación y menor persistencia debido a que presenta valores de pH más

elevados, menor contenido de arcilla y por lo tanto menor adsorción, mientras que el suelo de Tandil representaría una situación intermedia.

En síntesis, en el presente trabajo, la textura, el pH y la composición mineralógica de los suelos, serían los factores que explicarían en mayor medida, los períodos de persistencia determinados en cada uno de los suelos.

Otro aspecto a considerar que puede determinar también, en gran medida, la persistencia de los herbicidas en el suelo, es la formación de residuos estables (no lábiles) conocidos como residuos ligados (Gevao *et al.*, 2000). Así, la formación de residuos no extractables puede contribuir a la disipación aparente de los herbicidas en el suelo.

En el caso de los herbicidas Imidazolinonas, es escasa la información disponible respecto a la formación de residuos ligados. En tal sentido, Jarvis *et al.* (2006) determinaron que la formación de residuos ligados de imazapir retardaba los procesos de lixiviación y degradación del herbicida. Por su parte, Regitano *et al.* (2002), encontraron que los residuos no extractables representaban aproximadamente el 23 % de la concentración aplicada de imazaquín en un suelo arcilloso, mientras que en un suelo arcillo arenoso solamente el 9% permanecía bajo esta forma.

En base a lo expuesto, sería pertinente realizar estudios empleando la marcación de los compuestos parentales, con el fin de cuantificar la formación de residuos ligados en el proceso de disipación, ya que dichos residuos pueden ser removilizados por las plantas, microorganismos, o por modificaciones fisicoquímicas en los suelos y estar disponibles para la degradación o lixiviación (Gevao *et al.*, 2000).

Por último, cabe destacar que en el proceso de degradación de los herbicidas se producen, a partir de la molécula parental, diversos metabolitos que pueden tener mayor o menor grado de adsorción, persistencia, movilidad y toxicidad que los compuestos originales (Boxall *et al.*, 2004). En tal sentido, Wang *et al.* (2006), identificaron bajo condiciones aeróbicas, la presencia de los siguientes metabolitos de imazapir producto de la biodegradación del compuesto parental: 2,3-piridindicarboxamida, ácido 2,3-piridindicarboxílico anhídrido, mientras que en condiciones anaeróbicas los productos de degradación detectados fueron 2,3-piridindicarboxílico anhídrido y ácido nicotínico 2-(4-hidroxi-5-oxo-2-imidazolin-2-yl).

Asimismo, el ácido 2,3-piridincarboxílico y 7-hidroxifuro [3,4-bipiridin-5(7H)-1], fueron identificados como principales productos de la fotodegradación de imazapir en soluciones acuosas (Mallipudi *et al.*, 1991).

Dadas las características estructurales de los metabolitos, los mismos presentarían menor polaridad, y menor estabilidad que el compuesto parental, por lo tanto serían menos persistentes y de menor toxicidad (EPA, 2005). No obstante, y debido a las complejas interacciones que existen entre los compuestos químicos y las propiedades de los suelos, resultaría necesario, en futuras investigaciones, generar información bajo condiciones locales, relacionada al comportamiento ambiental de los productos de degradación de imazapir. Dichos estudios constituirían una herramienta complementaria que permitiría determinar y predecir el riesgo asociado al uso de este herbicida y en consecuencia minimizar su impacto en el ambiente.

4. Estudios de adsorción

En primera instancia, se determinó el efecto del tiempo de agitación sobre el porcentaje de adsorción de imazapir en los diferentes suelos. Los resultados indicaron que el herbicida alcanzó el equilibrio a las 24 horas de agitación, presentando valores de adsorción superior al 60% en los 3 suelos (Figura 9). El tiempo de equilibrio establecido en este trabajo, fue coincidente con el tiempo de agitación empleado en diversos estudios previos de adsorción de imazapir en el suelo (Pusino *et al.*, 1997; Wang; Liu, 1999; Börjesson *et al.*, 2004).

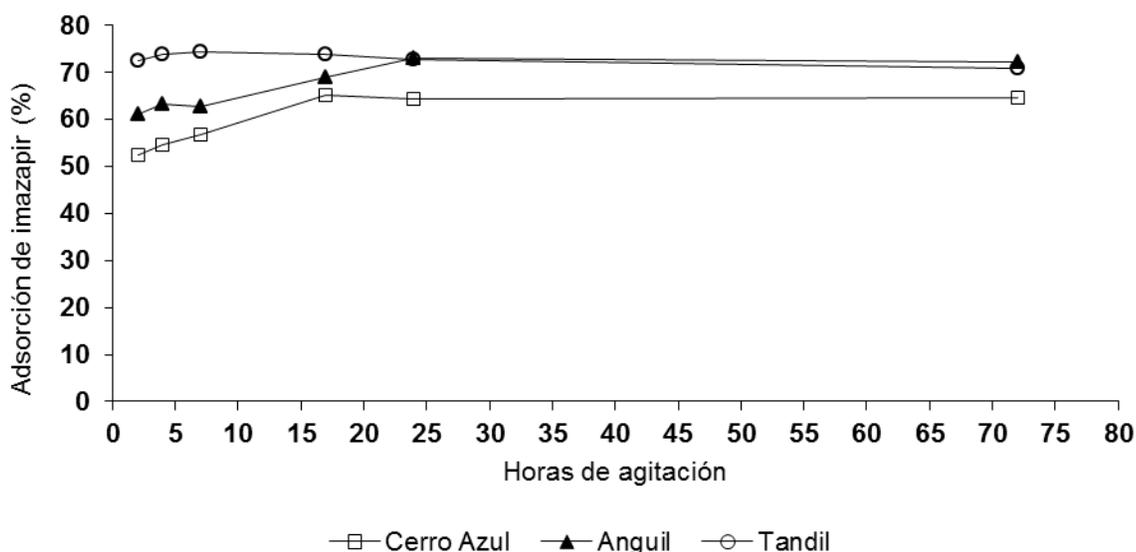


Figura 9. Efecto del tiempo de agitación en la adsorción de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.

Además del tiempo de agitación, diversos trabajos han determinado una dependencia significativa del porcentaje de adsorción de los compuestos químicos, con la relación suelo:solución, empleada en el desarrollo de las isothermas de adsorción (Limousin *et al.*, 2007). Generalmente, ha sido observado que amplias relaciones suelo:solución promueven una menor retención de los herbicidas en el suelo (De Oliveira *et al.*, 2006). A tal fin, en el presente trabajo se evaluaron tres relaciones suelo:solución de CaCl_2 (1:2, 1:5, y 1:10) empleando dos concentraciones del herbicida (10 y 150 ug l^{-1}). Los resultados mostraron mayores porcentajes de adsorción, al utilizar concentraciones bajas de imazapir. Cuando se utilizó una concentración de 150 ug l^{-1} el porcentaje de adsorción no superó el 50% en la mayoría de los suelos de las relaciones evaluadas (Figura 10), debido probablemente a la saturación de los sitios disponibles para la adsorción.

En base a los resultados obtenidos en este ensayo preliminar, y a pesar de la variabilidad encontrada en los datos, se decidió utilizar una relación suelo:solución de CaCl_2 de 1:5 (5 g de suelo: 25 ml de CaCl_2) para el desarrollo de los experimentos de adsorción, de manera similar a las cantidades empleadas por Pusino *et al.* (1997), Wang; Liu (1999) y Börjesson *et al.* (2004).

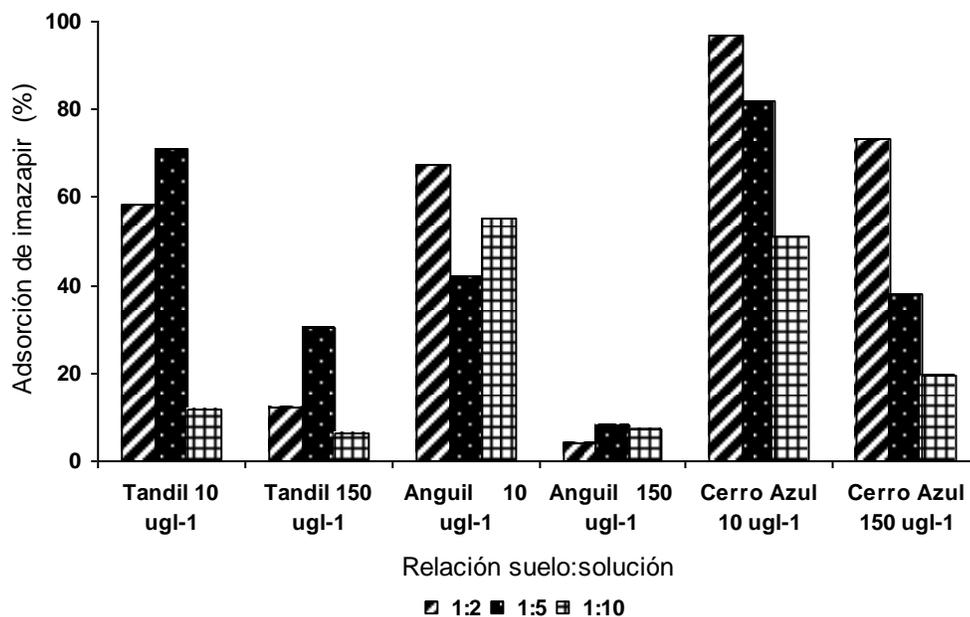


Figura 10. Efecto de la relación suelo: solución a diferentes concentraciones de imazapir en el porcentaje de adsorción del herbicida, en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.

El proceso de adsorción de imazapir en los suelos estudiados, fue descrito satisfactoriamente mediante la ecuación de adsorción lineal (Figura 11 y Tabla 17). Los coeficientes de adsorción (K_d) fueron 2.1, 0.8 y 0.6 ($l\ kg^{-1}$) para los suelos de Cerro Azul, Tandil y Anguil, respectivamente, detectándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los suelos (Tabla 17).

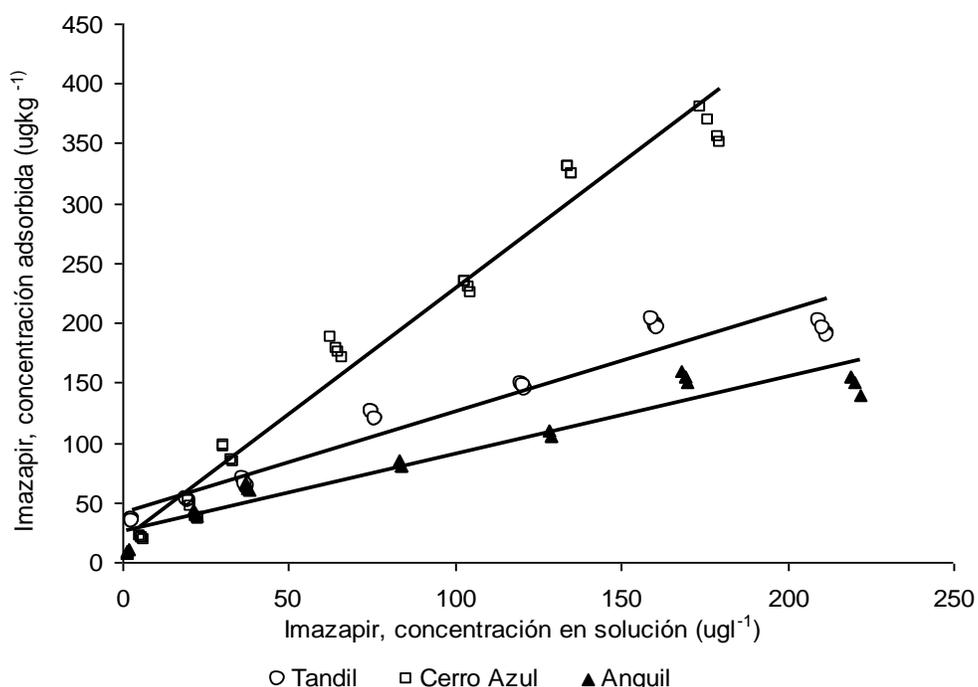


Figura 11. Isotermas de adsorción de imazapir para los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.

Tabla 17. Parámetros de adsorción de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul^{1;2}.

Suelo	K_d (l kg ⁻¹)	R^2
Cerro Azul	2.10 (1.92-2.28) a	0.9713
Tandil	0.84 (0.80-0.89) b	0.9381
Anguil	0.57 (0.53-0.61) c	0.9284

¹Letras iguales indican diferencias no significativas ($p > 0.05$).

²Los números entre paréntesis corresponden a los intervalos de confianza al 95%.

Según los resultados, y para el rango de concentraciones evaluadas (0, 10, 30, 50, 100, 150, 200 y 250 $\mu\text{g l}^{-1}$) equivalentes a un rango de 0.05 a 1.25 $\text{mg imazapir kg}^{-1}$ suelo, la adsorción de imazapir ocurrió de forma lineal en los 3 suelos en estudio. Giles *et al.* (1960) expresaron que la linealidad de la isoterma generalmente indica que el mecanismo

primario de adsorción es de partición constante entre el soluto y un componente del suelo, por el cual el número de sitios de adsorción permanece constante a través de un amplio rango de concentraciones, indicando una isoterma de adsorción de tipo C. Este tipo de isoterma, frecuentemente utilizado para caracterizar la adsorción de los compuestos a bajas concentraciones o en un estrecho rango de las mismas (Limousin *et al.*, 2007), tales como las empleadas en este experimento, indicaría que la relación entre la concentración de imazapir remanente en solución y adsorbida fue la misma a cualquier concentración.

En la misma línea, Raymundo - Raymundo *et al.* (2011) aplicaron el modelo lineal para caracterizar el proceso de adsorción de imazapir en dos estratos de un suelo alofánico de México. No obstante, otros autores (Pussino *et al.*, 1997; Wang; Liu, 1999 y Leone *et al.*, 2001) observaron un comportamiento no lineal en la adsorción de este herbicida, determinando en sus estudios la presencia de isotermas de tipo L según la clasificación de Giles *et al.* (1960). Dicha variabilidad podría atribuirse al diferente rango de concentraciones evaluadas respecto a las del presente trabajo, como así también a la variación en las propiedades de los suelos empleados en cada uno de los estudios.

Los valores de K_d hallados en el presente estudio para imazapir, oscilaron entre 0.57 y 2.10 l kg⁻¹. Los bajos valores obtenidos son similares a los reportados en la bibliografía (0.07-2.4), manifestando de esta manera, una débil adsorción de imazapir a los coloides del suelo (Senseman, 2007). Asimismo, Wehtje *et al.* (1987) registraron valores de K_d entre 0.07 y 0.19 en cinco suelos de Alabama (USA). Raymundo – Raymundo *et al.* (2011), determinaron valores de K_d de 2.43 cm³ g⁻¹ para el estrato superior y 2.37 cm³ g⁻¹ para el estrato inferior de un suelo alofánico, ligeramente ácido, con 11% de arcilla y 5.7% de MO. Por su parte, Börjesson *et al.* (2004), en su estudio informaron valores de K_d que oscilaron entre 2 y 15.5 cm³ g⁻¹.

Por otro lado, Pussino *et al.* (1997) ajustaron la ecuación de Freundlich a los datos obtenidos para 6 suelos, determinando valores de K_f que oscilaron entre 0.84 y 121 (umol kg⁻¹). Asimismo, Tjitrosemito *et al.* (1993) evaluando la adsorción de imazapir en tres suelos de Indonesia informó valores de K_f entre 15.9 y 98 (umol kg⁻¹).

Los resultados del presente experimento indicaron que los valores de K_d decrecieron en el orden Cerro Azul>Tandil>Anguil. El K_d se correlacionó en forma altamente significativa ($p<0.01$) e inversamente con el pH, contenido de arena y limo de los suelos y en forma positiva y altamente significativa con el contenido de arcilla, de Fe y de Al (Tabla 18).

Asimismo, el análisis de regresión múltiple (stepwise), indicó que el K_d se relacionó negativamente con el pH, y positivamente con el contenido de arcilla los suelos ($R^2 = 0.9908$; $K_d = 0.85127 - 0.12097 [\text{pH}] + 0.02358 [\text{arcilla}]$). En consecuencia, estas dos variables del suelo explicarían el 99% de la varianza total.

Tabla 18. Correlaciones entre los coeficientes de adsorción de imazapir (K_d) y propiedades seleccionadas de los suelos.

Variable	K_d
pH	-0.85 ^{**1}
CO	0.20
CIC	0.07
Arena	-0.97 ^{**}
Limo	-0.92 ^{**}
Arcilla	0.99 ^{**}
Fe	0.97 ^{**}
Al	0.80 ^{**}

¹nivel de significancia: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Los mayores valores de K_d de imazapir fueron obtenidos en el suelo de Cerro Azul (2.1) el cual presentaba mayor contenido de arcilla y Fe y menores valores de pH respecto de los restantes suelos. Estos resultados son coincidentes con diversos estudios previos, en los cuales se determinó menor adsorción del herbicida con incrementos en el pH de los suelos (Wehtje *et al.*, 1987; Pusino *et al.*, 1997). Del mismo modo, Leone *et al.* (2001) comprobaron una dependencia entre la adsorción de imazapir y el pH, observando

mayores valores de K_d a bajos pH, y cercanos a los valores del pK_a de la molécula, en coincidencia con Tjitrosemito *et al.* (1993).

Al igual que lo determinado por Wang; Liu (1999), en el presente estudio, el contenido de arcilla y el pH presentaron una alta correlación con la adsorción del herbicida en el suelo. No obstante, Firmino *et al.* (2008), no detectaron una estrecha correlación entre el pH y la adsorción de imazapir en diferentes suelos. La influencia del pH en la adsorción de compuestos iónicos, se debe principalmente a las diferentes proporciones en que se presenta un plaguicida bajo las formas iónicas o neutras en cada valor de pH, producto del efecto sobre la ionización de los diferentes grupos funcionales ionizables, como así también sobre la fuerza de adsorción (Kah; Brown, 2006).

Imazapir se presenta predominantemente en forma aniónica a valores de pH mayores a su pK_a . En este estado, generalmente muestra bajos valores de K_d debido a que son repelidos por las cargas netas negativas de la superficie del suelo. A medida que el pH del suelo decrece, se incrementa la proporción de las fracciones moleculares que pueden protonarse. Esta forma neutra, presenta mayor fuerza de adsorción (Mangels, 1991). Adicionalmente, pueden ocurrir cambios en las cargas superficiales iónicas de las partículas del suelo, amplificando el efecto sobre la adsorción de estos compuestos (Wauchope *et al.*, 2002).

De la misma forma, en suelos con abundante presencia de óxidos e hidróxidos de Fe y Al, las cargas pH dependientes de los adsorbentes pueden presentar un efecto suplementario en la adsorción de la molécula (Kah; Brown, 2006). A valores de pH inferiores al punto de carga cero (8.5) de los minerales, las superficies presentan carga neta positiva lo cual permite la atracción electrostática de los aniones (Pusino *et al.*, (1997). En tal sentido, Wehtje *et al.* (1987); Pusino *et al.* (1997) y Firmino *et al.* (2008), encontraron una correlación positiva entre la adsorción de imazapir y el contenido de Fe de los suelos. Asimismo, Leone *et al.* (2001) confirmaron que los óxidos de Fe tienen un importante rol en la adsorción de imazapir y demostraron la influencia del pH en el estado de agregación de dichos minerales.

Otro factor que puede explicar los resultados obtenidos en este estudio, es el contenido de arcilla de los suelos, factor de gran importancia, en la adsorción de los compuestos iónicos (Kah; Brown, 2006). En el presente trabajo, la adsorción de imazapir se asoció en forma directa con el contenido de arcilla de los suelos. Firmino *et al.* (2008) evaluaron la adsorción de imazapir en 3 suelos de Brasil, con texturas muy similares a las

del presente estudio. En concordancia con nuestros resultados, estos autores determinaron que la adsorción de imazapir se correlacionó en forma positiva con el contenido de arcilla de los suelos, presentando el siguiente orden: muy arcilloso > franco arcillo arenoso > franco arenoso. Por su parte, Vizantinopoulos; Lolos (1994) y De Souza *et al.* (2000), mostraron que la mayor adsorción de imazapir ocurre en suelos con contenidos altos de arcilla. No obstante, Wehtje *et al.* (1987), determinaron menor adsorción del herbicida en suelos arcillosos. Sin embargo, estos autores manifestaron que la adsorción de imazapir no fue afectada por el contenido relativo de arcilla, sino por el pH de los suelos y el desarrollo de cargas pH dependientes en las superficies coloidales de los suelos, que permitieron la adsorción del herbicida.

Por su parte, la materia orgánica generalmente provee la mayoría de los sitios de adsorción en el suelo para los compuestos no iónicos. Sin embargo este criterio no es totalmente adaptable para los plaguicidas iónicos, debido a que su adsorción se encuentra fuertemente regulada por el pH del suelo y por su interacción con otras fracciones tales como las arcillas y óxidos e hidróxidos de Fe y Al (Kah; Brown, 2006). Por tanto, si bien el K_{oc} (coeficiente de adsorción normalizado por el contenido de carbono orgánico de los suelos), es un parámetro menos variable y ha sido ampliamente utilizado para comparar la adsorción de los plaguicidas en el suelo, esta aproximación no es totalmente aplicable en el caso de los compuestos iónicos. En tales casos, claramente los valores de K_{oc} determinados a un único valor de pH, no pueden ser totalmente transferidos a otros suelos con diferentes valores de pH y en consecuencia los valores de K_d presentan baja correlación con el contenido de materia orgánica de los suelos (Wauchope *et al.*, 2002).

Por otra parte, han sido citados diversos mecanismos involucrados en la retención de los herbicidas Imidazolinonas en el suelo. Generalmente, estas sustancias en su forma molecular, son adsorbidas a las superficies de la materia orgánica y arcillas a través de mecanismos de enlaces físicos, mientras que las especies en estado aniónico resultan repelidas por esos constituyentes, pero probablemente pueden ser adsorbidas a las superficies cargadas positivamente de los óxidos e hidróxidos de Fe y Al, mediante intercambio aniónico. Por su parte, a muy bajos valores de pH pueden generarse especies de la molécula en estado catiónico, como así también en superficies ácidas y ser adsorbidas a través de mecanismos de intercambio catiónico (Regitano *et al.*, 1997; Weber *et al.*, 2004; Kah; Brown, 2006).

Por lo expuesto, en el suelo de Cerro Azul se presentaría mayor adsorción de imazapir, probablemente debido al mayor contenido de Fe y Al, menores valores de pH y mayor contenido de arcilla del mismo respecto de los restantes suelos, factores que determinan en gran medida la adsorción de imazapir en el suelo.

5. Índices de contaminación potencial

La mayoría de los estimadores utilizados para determinar el impacto de los plaguicidas en el agua subterránea, requieren información referente al comportamiento de los compuestos químicos en el suelo. En tal sentido, se utilizan frecuentemente los parámetros que describen la adsorción y persistencia de los plaguicidas en el suelo.

Como se expresó, se ha intentado desarrollar una constante de adsorción universal para predecir la adsorción de todos los contaminantes orgánicos en los suelos. En base a ello y debido a que el carbono orgánico es el componente más importante del suelo que determina la adsorción de los compuestos orgánicos neutros (Kah; Brown, 2006), se ha propuesto utilizar el K_{oc} para determinar la adsorción de la mayoría de los plaguicidas. Claramente, este parámetro resulta poco eficaz para comparar la adsorción de compuestos iónicos como es el caso de imazapir. No obstante, cabe destacar que a pesar de la ausencia de correlación entre los parámetros de adsorción (k_d) obtenidos experimentalmente y el contenido de carbono orgánico de los suelos, a fines prácticos, para el cálculo de los índices, fueron estimados los valores de K_{oc} de imazapir para cada uno de los suelos (Tabla 19). Dicha apreciación se utilizó con propósitos de comparar la capacidad de lixiviación del herbicida en los diferentes suelos, debido a que la mayoría de los índices empleados para determinar el riesgo, emplean al K_{oc} para describir la adsorción de los compuestos químicos.

Los índices GUS, RF y AFT, fueron calculados para los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul, considerando los valores del coeficiente de partición en adsorción normalizado por el contenido de carbono orgánico (K_{oc}) y la vida media de imazapir, obtenidos a partir de los experimentos de persistencia y adsorción para cada uno de los suelos. Asimismo, para el cálculo del índice AFT se consideró la profundidad a la cual fueron extraídas las muestras de suelo (15 cm).

En la Tabla 19 se presentan las propiedades ambientales ($T_{1/2}$ y K_{oc}), los valores calculados mediante el índice GUS para imazapir, y su clasificación correspondiente, en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul.

Tabla 19. Vida media ($T_{1/2}$), coeficiente de partición en carbono orgánico (K_{oc}), índice GUS y riesgo de lixiviación de imazapir en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul¹.

Suelo	$T_{1/2}$	K_{oc}	Índice GUS	Clasificación
Tandil	75	25	4.9 (0.04)	Lixiviador
Anguil	37	41	3.7 (0.11)	Lixiviador
Cerro Azul	121	85	4.3 (0.08)	Lixiviador

¹Los números entre paréntesis corresponden al desvío estándar de cuatro repeticiones.

De acuerdo al índice GUS, imazapir fue clasificado como lixiviable (>2.8) en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul. Si bien la categorización del herbicida fue la misma en los tres suelos estudiados, el herbicida presentaría mayor peligrosidad de contaminación según el orden Tandil > Cerro Azul > Anguil.

La degradación y adsorción de los herbicidas en el suelo controlan directamente el transporte de los compuestos hacia el agua subterránea. Es por ello, que la tendencia establecida mediante el índice GUS, es concordante con los resultados obtenidos en los experimentos previos. El suelo de Tandil presentó valores intermedios de persistencia y adsorción del herbicida, comparado con los restantes suelos, por lo cual incrementaría el riesgo de lixiviación de la molécula. Por su parte en el suelo de Cerro Azul, si bien se registró mayor adsorción, lo cual limitaría la movilidad del herbicida en el perfil, este proceso también limitó posiblemente la disponibilidad para la degradación, incrementando en consecuencia el período de persistencia de la molécula y el adicionalmente el riesgo de contaminación.

En la Tabla 20 se presentan los valores generados mediante los índices RF Y AFT para imazapir, en los tres suelos estudiados, considerando tres valores de recarga neta ($q = 0.3, 1.1$ y 2.3 mm d^{-1}) y los parámetros de persistencia y adsorción obtenidos experimentalmente.

Tabla 20. Clasificación de imazapir de acuerdo a su movilidad y riesgo de lixiviación en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul según el Factor de Retardo (RF) y Factor de atenuación (AFT). Cálculos realizados para tres recargas, considerando los valores del coeficiente de partición en carbono orgánico (Koc) y vida media, obtenidos experimentalmente para cada suelo.

Suelo	RF	AFT		
		Recarga (mmd ⁻¹)		
		0.3	1.1	2.3
Tandil	6.5 (0.12) ¹	8.3 (0.24)	2.4 (0.07)	1.1 (0.03)
Anguil	5.9 (0.28)	11.8 (0.94)	3.4 (0.27)	1.5 (0.12)
Cerro Azul	10.6 (0.29)	10.7 (1.09)	3.1 (0.31)	1.4 (0.14)

¹Los números entre paréntesis corresponden al desvío estándar de cuatro repeticiones.

En base al índice RF, el cual indica la movilidad relativa de los plaguicidas, imazapir categorizó como moderadamente inmóvil en los tres suelos. Para su determinación, el mencionado índice utiliza parámetros de adsorción por lo cual la movilidad en los suelos siguió el orden Anguil>Tandil>Cerro Azul, producto de los valores de K_d obtenidos experimentalmente en los estudios de adsorción.

En líneas generales, el potencial de lixiviación (AFT) de imazapir en los tres suelos, se incrementó con el aumento de la recarga neta de agua subterránea, siendo máximo a 2.3 mm día⁻¹. El riesgo asociado al herbicida fluctuó entre improbable y muy probable, para las recargas de 0.3 mm d⁻¹ y 2.3 mm d⁻¹, respectivamente, presentando escasas variaciones entre los suelos. En tal sentido, considerando la recarga de 0.3 mm d⁻¹, se determinó que la lixiviación imazapir sería improbable en los tres suelos estudiados.

No obstante, al seleccionar una recarga de 1.1 mm d⁻¹, valor promedio obtenido para un período de 8 años, se determinó que el riesgo de lixiviación del herbicida osciló entre, probable en el suelo de Tandil y moderadamente probable en los suelos de Anguil y Cerro Azul. Finalmente, el riesgo se incrementó a muy probable en los tres suelos, cuando la recarga fue máxima (2.3 mm d⁻¹).

La velocidad a la cual lixivian los plaguicidas a través de la zona no saturada o vadosa, y la proporción de plaguicida aplicado que alcanza el agua subterránea, está fuertemente relacionada al flujo promedio de agua (recarga), así como a su variabilidad temporal (Giambelluca *et al.*, 1996). Por tanto, los resultados del presente estudio, permitirían establecer que en años con abundantes precipitaciones o en situaciones de sobreriego se incrementaría el riesgo de lixiviación de imazapir y por ende la potencialidad de contaminación. Por el contrario, bajos volúmenes de drenaje aún con elevado contenido de plaguicidas en el suelo conllevarían a una reducción en las cantidades transportadas (Grignani; Laidlow, 2002).

En concordancia con el índice GUS y no obstante que la categorización del herbicida fue la misma en los tres suelos estudiados, excepto para la recarga de 1.1 mmd^{-1} , si se consideran los valores numéricos, el herbicida presentaría mayor peligrosidad de contaminación en los suelos de Tandil y Cerro Azul, dado que el riesgo de lixiviación se incrementa progresivamente a medida que disminuyen los valores del índice AFT.

Por otra parte, se utilizaron valores de K_{oc} y $T_{1/2}$ obtenidos de la literatura internacional, para calcular los factores de Retardo y Atenuación a fin de cotejarlos con los calculados a partir de parámetros propios, obtenidos de los experimentos de persistencia y adsorción de este trabajo. Según los resultados, se registraron algunas diferencias sustanciales. En tal sentido, las categorizaciones de riesgo del herbicida fueron levemente inferiores respecto de la anterior forma de cálculo (Tabla 21). A modo de ejemplo, la movilidad de imazapir determinada mediante el RF, disminuyó, categorizando en este caso como muy inmóvil en los tres suelos. Asimismo el riesgo de lixiviación del herbicida (AFT) resultó menor para las tres recargas de agua consideradas. De esta manera, el riesgo de lixiviación pasó a ser muy improbable, y probable para los valores de mínima (0.3 mm d^{-1}) y máxima recarga de agua (2.3 mm d^{-1}) respectivamente. Por su parte, para la recarga de 1.1 mm d^{-1} categorizó como moderadamente probable en los suelos de Tandil y Cerro Azul y probable en el suelo de Anguil.

Tabla 21. Clasificación de imazapir de acuerdo a su movilidad en los suelos de Tandil, Anguil y Cerro Azul según el Factor de Retardo (RF) y Factor de atenuación (AFT). Cálculos realizados para tres recargas, considerando los valores del coeficiente de partición en carbono orgánico (Koc) y vida media obtenidos de la literatura internacional.

SUELO	RF	AFT		
		Recarga (mmd ⁻¹)		
		0.3	1.1	2.3
Tandil	23.1 (0.96) ¹	24.5 (0.16)	7.1 (0.54)	3.2 (0.07)
Anguil	12.9 (1.01)	10.7 (0.16)	3.1 (0.55)	1.4 (0.07)
Cerro Azul	12.3 (0.24)	16.7 (0.10)	4.8 (0.35)	2.2 (0.05)

¹Los números entre paréntesis corresponden al desvío estándar de cuatro repeticiones.

En base a lo expuesto, resulta evidente que los resultados obtenidos en la estimación del riesgo de lixiviación de los plaguicidas, pueden diferir según su forma de cálculo. Generalmente, para el cálculo de los estimadores de riesgo, se utiliza información de adsorción y degradación de plaguicidas obtenida de bases de datos internacionales. En tal sentido, esta aplicación podría resultar imprecisa para realizar determinaciones de riesgo sitio-específicas debido a que las interacciones plaguicida-suelo para un sitio individual no resultan bien representadas por la población de suelos incluidos en los estudios a partir de los cuales se genera la información (Green *et al.*, 1990). Por ello, es necesario obtener información de estas propiedades bajo las condiciones ambientales locales, debido a la estrecha relación que existe entre estos parámetros y los componentes de los suelos, que pueden afectar heterogéneamente el comportamiento de los plaguicidas.

En el presente estudio, imazapir presentó aproximadamente el mismo riesgo de lixiviación tanto con el índice GUS como con el Factor de Atenuación, sin embargo, es evidente que el modelo que considera al Factor de Atenuación y de Retardo, provee

mayor información al incorporar propiedades de los suelos e hidrológicas, posibilitando de esta manera una mejor interpretación de los resultados.

Asimismo, los resultados obtenidos con los índices propuestos, fueron altamente coincidentes con la información generada experimentalmente en los estudios de persistencia y adsorción del herbicida.

Los mismos indicarían que bajo las condiciones del presente estudio, el herbicida imazapir presentaría alto riesgo de contaminación potencial del agua subterránea, siendo mayor el riesgo a medida que se incrementan los valores de recarga neta de agua subterránea. En concordancia, Vizantinopoulos; Lolos (1994) reportaron para imazapir valores del índice GUS de 7.23, mientras que Sorgan *et al.* (2010) y Pfeiffer (2010), informaron valores de 3.91, indicando en todos los casos un elevado potencial del herbicida para lixiviar y en consecuencia, un alto riesgo de contaminación del agua subterránea.

Asimismo, Montoya *et al.* (2010) emplearon el índice GUS para estimar la capacidad de lixiviación de imazapir en dos suelos de la provincia de La Pampa (Haplustoles Enticos), clasificando al herbicida como lixiviable. Por su parte, se han realizado diversos estudios previos, utilizando el Factor de Retardo y el Factor de Atenuación, en los cuales se determinó el riesgo de lixiviación de imazapir en suelos del sudeste de la provincia de Buenos Aires (Bedmar *et al.*, 2007; 2008; 2010; Gianelli *et al.*, 2008; 2010). En tal sentido Gianelli *et al.* (2008) evaluaron el riesgo de contaminación del agua subterránea con herbicidas aplicados en el cultivo de maíz, en la cuenca del Arroyo Pantanoso, Argentina, determinando que imazapir fue uno de los herbicidas con mayor riesgo de contaminación.

Sin embargo, Gianelli *et al.* (2010) determinaron el riesgo de lixiviación de imazapir en 18 series de suelo de la Cuenca del Arroyo Pantanoso, encontrando que el riesgo de lixiviación de imazapir resultó improbable. No obstante, en dicho trabajo para el cálculo de los índices se utilizó información proveniente de bases de datos internacionales, por lo cual podría haberse subestimado el riesgo de contaminación del herbicida.

Estas aproximaciones sugeridas mediante los estimadores de riesgo han sido confirmadas por estudios de monitoreo, en los cuales se ha detectado la presencia de imazapir en el agua subterránea en diversas regiones del mundo (Michael; Neary, 1993; Bush *et al.*, 1995; Börjesson *et al.*, 2004; Mulder; Schmidt, 2011). Por lo tanto, los índices empleados en este trabajo permitirían establecer tendencias generales de lixiviación potencial de imazapir. No obstante, para su construcción deberían tenerse en cuenta

ciertos aspectos que podrían mejorar la estimación de los cálculos tales como utilización de información de las propiedades ambientales de los plaguicidas obtenida en los suelos y ambientes bajo estudio en lugar de aquella proveniente de bases de datos internacionales.

CONSIDERACIONES FINALES

La degradación y adsorción de los herbicidas en el suelo son dos procesos que controlan directamente el transporte de los compuestos hacia el agua subterránea. En efecto, la adsorción de los herbicidas puede representar un efecto limitante en la tasa de degradación de los mismos, ya que determina la biodisponibilidad de los compuestos en la solución del suelo. En tal sentido, diversos estudios han demostrado una relación inversa entre la adsorción y la degradación de los compuestos químicos en el suelo. Corroborando esta tendencia, en el presente estudio se observó una estrecha relación negativa entre la degradación de imazapir y la adsorción del compuesto en los diferentes suelos. En consecuencia, la integración de los procesos de adsorción y degradación brinda una visión conjunta que permite entender y predecir la movilidad y destino de una sustancia en el ambiente.

Asimismo, la variabilidad entre las propiedades de los suelos permitió definir un escenario heterogéneo para determinar el comportamiento de imazapir bajo condiciones edafológicas contrastantes. Los resultados obtenidos, indicaron que existió una compleja interacción entre las características edafológicas y los patrones de persistencia y adsorción del herbicida. En tal sentido, la adsorción de imazapir determinada mediante el K_d , fue fuertemente dependiente del pH de los suelos demostrándose asimismo, que la adsorción no fue dependiente de la concentración del herbicida. Por su parte, la degradación de imazapir fue más lenta en los suelos que presentaban menores valores de pH, y mayor contenido de arcilla, de Fe y Al. Esto podría ser producto de un incremento en la adsorción a bajos valores de pH y menor biodisponibilidad del herbicida en la solución del suelo, incrementando la persistencia del herbicida. En efecto, el incremento en la adsorción a bajos niveles de pH, podría en parte describir la degradación más lenta en el suelo de Cerro Azul, determinante de los mayores períodos de persistencia obtenidos en dicho suelo.

Si bien la evaluación del comportamiento de imazapir en suelos con características contrastantes demostró que su persistencia y adsorción fueron suelo-dependiente, cabe destacar que este estudio fue realizado con tres suelos lo cual podría constituir una limitante. En tal sentido, sería aconsejable en futuras investigaciones, incorporar mayor cantidad de suelos al estudio de estos procesos, a fin de brindar información más robusta y representativa y por ende estimar más acertadamente la dependencia establecida con cada una de las variables a fin de comprender más claramente los mecanismos de retención y degradación del herbicida.

De todas maneras, los resultados presentados constituyen una contribución al entendimiento del comportamiento del herbicida en suelos contrastantes, infiriéndose una estrecha relación con las propiedades edáficas. Asimismo, en próximas investigaciones se podría integrar información obtenida en los diferentes horizontes del suelo con el objetivo de predecir el comportamiento de imazapir en el perfil, y de esta manera predecir el potencial impacto sobre el agua subterránea mas adecuadamente.

Por lo expuesto, el riesgo de contaminación del agua subterránea puede diferir significativamente entre zonas de producción en las cuales es aplicado dicho herbicida. De esta forma, y como fue establecido mediante los índices de estimación de riesgo, se podría inferir que, el riesgo de lixiviación de imazapir sería superior en los suelos de Cerro Azul y Tandil, como consecuencia de la mayor persistencia en estos suelos respecto del suelo de Anguil. Si bien el suelo de Cerro Azul presentó mayor adsorción, lo cual disminuiría su movilidad, también se vería limitada la disponibilidad del herbicida para la degradación microbiana, incrementándose en consecuencia el riesgo de lixiviación.

En síntesis, estos resultados muestran que, bajo determinadas condiciones, una débil adsorción y una elevada persistencia, podrían conducir a una alta movilidad de imazapir en el perfil del suelo, lo cual implicaría un alto riesgo de contaminación del agua subterránea por este plaguicida.

Para finalizar, cabe mencionar que se debería tener en cuenta en futuras investigaciones, que los resultados podrían diferir si provienen de ensayos a campo o si son obtenidos experimentalmente en condiciones controladas de laboratorio. Generalmente, los datos usados en las determinaciones de riesgo ambiental incluyen parámetros de persistencia y adsorción medidos en laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Sin embargo, la información proveniente de datos generados a campo para un gran número de condiciones agroclimáticas, podría proveer

información relevante para ser empleada en determinaciones de riesgo ambiental. De esta manera, se podría obtener una descripción más fehaciente del comportamiento de un compuesto en el ambiente, respecto de aquella generada bajo condiciones de laboratorio, debido a que podrían existir variaciones en algunos parámetros descriptivos de las interacciones entre los plaguicidas y el suelo.

En conclusión, comprender y predecir el destino de los herbicidas en el suelo resulta fundamental para promover el uso seguro de los productos fitosanitarios y mantener la sustentabilidad de los sistemas actuales de producción.

CONCLUSIONES

Puesta a punto de la técnica metodológica para la determinación de residuos de imazapir en muestras suelos

1. La recuperación del herbicida imazapir fue independiente de las características de los suelos analizados, presentándose solo leves diferencias entre los mismos.
2. El porcentaje de recuperación de imazapir tendió a incrementar con el aumento de la concentración inicial aplicada del herbicida.
3. La evaluación de la técnica en suelos heterogéneos demostró que la misma, resultaría factible para la detección de imazapir en suelos que presentan características contrastantes para un amplio rango de concentraciones.
4. El porcentaje de recuperación obtenido con la metodología evaluada varió en función de la solución empleada para la extracción del herbicida.
5. La máxima recuperación de herbicida se obtuvo mediante 3 ciclos de extracción consecutivos con el extractante KCL (0.1M pH 7).
6. El método seleccionado resultó simple, rápido, sensible, preciso, con buen ajuste lineal y con límites de detección y cuantificación adecuados para el análisis de residuos de imazapir en muestras de suelo.

Estudios de persistencia

1. La persistencia de imazapir varió en función de los suelos estudiados.
2. La vida media de imazapir se relacionó inversamente con el pH de los suelos, contenido de arena y limo y en forma positiva con el contenido de arcilla, Fe, Al y la actividad microbiana. El contenido de Carbono orgánico no se correlacionó con la vida de media, mientras que presentó una baja relación con la tasa de degradación de imazapir.
3. La vida media del herbicida siguió el orden Cerro Azul>Tandil>Anguil.

4. La adsorción del herbicida a las partículas del suelo, presentó un efecto limitante sobre la tasa de degradación, disminuyendo la biodisponibilidad del compuesto en la solución del suelo.

Estudios de adsorción

1. Los patrones de adsorción de imazapir variaron en función de las características de los suelos, siguiendo el orden Cerro Azul>Tandil>Anguil.
2. La adsorción de imazapir se relacionó en forma inversa con el pH y en forma positiva con el contenido de arcilla, de Fe y Al de los suelos.
3. El contenido de carbono orgánico no se relacionó con la adsorción de imazapir en el suelo.
4. Los bajos valores de K_d determinados para los tres suelos estudiados, indican una débil adsorción del herbicida en los mismos.

Índices de contaminación potencial

1. El riesgo potencial de contaminación del agua subterránea se incrementó en los suelos con mayor persistencia y adsorción del herbicida. El riesgo de lixiviación de imazapir en los diferentes suelos siguió el orden Tandil>Cerro Azul> Anguil.
2. De acuerdo al índice GUS imazapir presentó alto riesgo de lixiviación en los tres suelos, mientras que el índice AFT indicó que la peligrosidad de contaminación del agua subterránea varió en función de la recarga neta del agua subterránea.
3. Los parámetros de adsorción y persistencia de imazapir obtenidos experimentalmente, permitieron realizar cálculos más confiables del potencial de contaminación del agua subterránea que la utilización de bases de datos.
4. Bajo las condiciones del presente estudio, imazapir presentaría alto riesgo de contaminación potencial del agua subterránea, siendo mayor a medida que se incrementan los valores de recarga neta del agua subterránea.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, M.; SCOW, K. 1989. Kinetics of biodegradation in soil. In: Sawhney, B.L. and Brown, K. (eds). Reactions and movement of organic chemicals in soils. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. pp. 243-269.
- ALISTER, C.; KOGAN, M. 2005. Efficacy of imidazolinone herbicides to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. *Crop Prot.* 24(4):375-379.
- ALLER, L.T.; BENNETT, J.; LEHR, R.J.; PETTY, Y. G.; HACKETT. 1985. DRASTIC: A Standardized System for Evaluating Ground Water Pollution Potential Using Hydrogeologic Settings. U.S. Environmental Protection Agency Report EPA/600/2-87/035. 622 p.
- ANDERSON, J.P.E. 1982. Soil respiration. En: Page, A.L.; Miller, R.H.; Keeney, D.R. (eds.) *Methods of soil analysis, Part 2-Chemical and microbiological properties. Second Edition.* American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. Cap 41. pp.831-871.
- ANDERSON, W.P. 1996. *Weed science principles and applications.* 3° ed. West Publishing co. Minneapolis/ st. Paul New York. Los Angeles, San Francisco. s.p.
- ANDERSSON, S.; NILSSON, S.I. 2001. Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil-solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in a mor humus. *Soil Biol. Biochem.* 33:1181-1191.
- APARICIO, V.; COSTA, J.L.; ZAMORA, M. 2008. Nitrate leaching assessment in a long-term experiment under supplementary irrigation in humid Argentina. *Agric. Water Manag.* 95:1361-1372.
- A.P.H.A. 1965. *Standard methods for the examination of water and wastewater.* 12 ed. New York. 769 p.
- ARMSTRONG, D.E.; KONRAD, J.G. 1974. Nonbiological degradation of pesticides. In: Guenzi, W.D. (ed). *Pesticides in soil and water.* Soil Science Society of America, Inc, Wisconsin, USA. pp 123-131.
- ASHTON, F.M.; MONACO, T. 1991. *Weed science. Principles and Practices.* 3° ed. A Wiley-interscience publication. John Wiley & Sons, inc. New York. Chichester. Brisbane. Toronto. Singapore. 466 p.
- BARRIUSO, E.; BENOIT, P.; BERGHEAUD, V. 1994. Role of soil fractions in retention and stabilization of pesticides in soils. En: Copin, A.; Houins, G.; Pussemier, L.; Salembier, J.F. (eds.) *Environmental behaviour of pesticides and regulatory aspects, COST.* European Study Service, Rixensart, Belgique, pp.138–143.

- BASF, 2011. [en línea] <<http://www.agro.basf.com.ar/Soluciones.aspx>> www.ptrpest.com. [consulta: 17 marzo 2011].
- BASHAM, G.; LAVY, T.L.; OLIVIER, L.R. 1987. Imazaquin persistence and mobility in 3 Arkansas soils. *Weed Sci.* 35:576–582.
- BATTAGLIN, W.A.; FURLONG, E.T.; BURKHARDT, M.R.; PETER, J.C. 1998. Occurrence of Sulfonylurea, Sulfonamide, Imidazolinone, and other Herbicides in Midwestern Rivers, Reservoirs, and Ground Water. *Sci. Total Environ.* 248: 123-133.
- BEDMAR, F. 2004. Residualidad de herbicidas en el suelo. 21° Jornada de actualización profesional en cosecha gruesa. Argentina, Buenos Aires, Mar del Plata.
- BEDMAR, F.; GIANELLI, V.; COSTA, J.L.; ANGELINI, H. 2007. Determinación del riesgo de contaminación del agua subterránea con herbicidas en la cuenca del Arroyo Pantanoso, Argentina. 3° Reunión Binacional de Ecología. Sociedad de Ecología de Chile y la Asociación Argentina de Ecología. La Serena, Chile. 30 de septiembre - 4 de octubre de 2007.
- BEDMAR, F.; GIANELLI, V.; ANGELINI, H.; COSTA, J.L. 2008. Riesgo de contaminación del agua subterránea con plaguicidas en la cuenca del Arroyo Pantanoso, Argentina. 2° Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). 4° Reunión SETAC en Argentina. 26 al 28 de Noviembre de 2008, Mar del Plata, Argentina. Libro de resúmenes: pp 132.
- BEDMAR F., GIANELLI V.; ANGELINI H. 2010. Estimación del riesgo de contaminación del agua subterránea con plaguicidas en la cuenca del Arroyo el Cardalito, Pcia. de Buenos Aires. 3° Congreso Argentino de la sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). 12 al 14 de mayo de 2010 Santa Fe (Argentina). CD de resúmenes de congreso pp 94.
- BERNARD, H.; CHABALIER, P.F.; CHOPART, J.L.; LEGUBE, B.; VAUCLIN, M. 2005. Assessment of Herbicide Leaching Risk in Two Tropical Soils of Reunion Island (France). *J. Environ. Qual.* 34: 534–543.
- BOLLAG, J.M.; LIU, S.Y. 1990. Biological transformation processes of pesticides. In: Cheng, H.H. (ed.) *Pesticides in the soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*. SSSA, Inc. Madison, USA. pp.169-211.
- BÖRJESSON, E.; TORSTENSSON, L.; STENSTRÖM, J. 2004. The fate of imazapyr in a Swedish railway embankment. *Pest Manag. Sci.* 60(6): 544-549.
- BOXALL, A.B.A.; SINCLAIR, C.J.; FENNER, K.; KOLPIN, D.; MAUND, S.J. 2004. Peer reviewed: When synthetic chemicals degrade in the environment. *Environmental Sci. Technol.* 38(19):368A–375A.
- BUCHMANN, N. 2000. Biotic and abiotic factors controlling soil respiration rates in *Picea abies* stands. *Soil Biol. Biochem.* 32:1625-1635.

- BUSH, P.B.; BERISFORD, Y.C.; TAYLOR, J.W.; NEARY, D.G.; MILLER, K.V. 1995. Operational monitoring of forest site preparation herbicides in the coastal plain: Assessment of residues in perched water table. In Proceedings of the 48th Annual Meeting of the Southern Weed Science Society, January 16-18, 1995, Memphis Tennessee. pp. 115-120.
- CARRIER, M.; PEROL, N.; HERRMANN, J.M.; BORDES, C.; HORIKOSHI, S.; JEAN OLIVIER PAISSE, J.O.; BAUDOT, R.; GUILLARD, CH. 2006. Kinetics and reactional pathway of Imazapyr photocatalytic degradation Influence of pH and metallic ions. *Applied Catal. B: Environ.*65:11–20.
- CASAFE. 2009. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. 12º Ed. 1600 p.
- COMFORT, S.D.; SHEA, P.J.; ROETH, F.W. 1994. Understanding pesticides and water quality in Nebraska. Nebraska Co-operative Extension EC 94-135, USA. 16p.
- COSTA, J.L.; APARICIO, V.; ZELAYA, M.; GIANELLI, V.; BEDMAR, F. 2011. Transporte de imazapir, atrazina, S- metolaclo y acetoclor en el perfil de un suelo argiudol del sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Estudios en la Zona no Saturada del Suelo.* 10: 157-162. - Actas de las 10º Jornadas de Investigación de la Zona no Saturada del Suelo, Salamanca (España).
- COSTA PARAÍBA, L.; SPADOTTO, C.A. 2002. Soil temperature effecting calculating attenuation and retardation factors. *Chemosphere.*48:905–912.
- COX, C. 1996. Imazapyr. Herbicide factsheet. *J. Pestic. Reform.*6(3):16-20.
- CHAPMAN, H.D. 1965. Cation exchange capacity. En: BLACK C.A. (ed.) *Methods of soil analysis.* American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. Agronomy Series Number 9, pp.891-900.
- CHE, M.; LOUX, M.M.; TRAINA, S.J.; LOGAN, T.J. 1992. Effect of pH on sorption and desorption of imazaquin and imazethapyr on clays and humic acids. *J. Environ. Qual.* 21:698-703.
- CHENG, H.H. 1990. Pesticides in the soil environment-An Overview. In: Cheng, H.H. (ed.) *Pesticides in the soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling.* SSSA, Inc. Madison, USA. pp.1-5.
- D'ASCENZO, G.; GENTILI, A.; MARCHESE, S.; MARINO, A.; PERRET, D. 1998. Rapid and simple method for extraction and determination of imidazolinone herbicide in soil. *Analisis.*26:251-255.
- DE SOUZA, A.P.; FERREIRA, F.A.; DA SILVA, A.A.; CARDOSO, A.A.; RUIZH.A. 1999. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. *Planta Daninha.*1(3):387-398.

- DÍAZ-DÍAZ R.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, J.E.; LOAGUE, K. 1998. Leaching potentials of four pesticides used for bananas in the Canary Islands. *J. Environ. Qual.* 27: 562–572.
- DUFFARD, S. 2007. Residualidad de Imazapir sobre cultivos de invierno. Tesis de Graduación para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. UNMDP. Balcarce. Argentina. 66p.
- DUPUIS, E. M.; WHALEN, J.K. 2007. Soil properties related to the spatial pattern of microbial biomass and respiration in agroecosystems. *Canadian J. Soil Sci.* 479-484.
- DYSON, J.S.; BEULKE, S. BROWN, C.D.; LANE, M.C.G. 2002. Adsorption and degradation of the weak acid mesotrione in soil and environmental fate implications. *J. Environ. Qual.* 31:613–8.
- EL AZZOZI, M.; DACHOUR, A.; BOUHAOUSS, A.; FERHAT, M. 1998. Study on the behaviour of imazapir in two Moroccan soils. *Weed Res.* 38:217-220.
- ESSER, H.O.; HEMINGWAY, R. J.; KLEIN, W.; SHARP, D. B.; VONK, J. W.; HOLLAND, P. T. 1988. Recommended approach to the evaluation of the environmental behaviour of pesticides. *Pure & Appl. Chem.* 60(6):901-932.
- FIRMINO, L.E.; TUFFI SANTOS, L.D.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, L.R.; TIBURCIO R.A.S. 2008. Sorção do imazapir em solos com diferentes texturas. *Planta Daninha, Viçosa-MG.* 26:395-402.
- FLINT, J. L.; WITT, W. W. 1997. Microbial degradation of imazaquin and imazethapyr. *Weed Sci.* 45:586-591.
- FOMSGAARD, I.S. 2004. The influence of sorption on the degradation of pesticides and other chemicals in soil. Danish Institute of Agricultural Sciences. Environmental Project No. 902 2004, 78p.
- GEE, G.W.; BAUDER, J.W. 1986. Particle-size analysis. En: Klute, A. (ed.) *Methods of soil analysis, Part 1-Physical and mineralogical methods.* Agronomy Series Number 9, Part 1. Second Edition. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. pp.383-411.
- GEVAO, B.; SEMPLE, K.T.; JONES, K.C. 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *J. Environ Poll.* 108:3-14.
- GHAFOOR, A.; JARVIS, N.J.; THIERFELDER, T. STENSTRÖM, J. 2011. Measurements and modeling of pesticide persistence in soil at the catchment scale. *Sci. Total Environ.* 409:1900–1908.
- GIAMBELLUCA, T.W.; LOAGUE, K.; GREEN, R.E.; NULLET. M.A. 1996. Uncertainty in recharge estimation: impact on groundwater vulnerability assessments for the Pearl Harbor Basin, O'ahu, Hawaii (USA). *J. Contam. Hydrol.* 23:85–112.

- GIANELLI, V.; BEDMAR, F.; ANGELINI, H.; APARICIO, V.; COSTA, J.L. 2008. Riesgo de contaminación del agua subterránea con herbicidas aplicados en el cultivo de maíz en la Cuenca del Arroyo Pantanoso, Argentina. 2º Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). 6º Reunión SETAC en Argentina. 26 al 28 de Noviembre de 2008, Mar del Plata, Argentina Libro de resúmenes: pp 59.
- GIANELLI, V.; BEDMAR, F.; ANGELINI, H.; APARICIO, V.; COSTA, J.L. 2010. Determinación del riesgo de contaminación del agua subterránea con plaguicidas en la cuenca del Arroyo Pantanoso, Argentina. En Red Iberoamericana de Física y Química Ambiental. Salamanca. España. Fernández Turiel, J.L y González Hernández, I (eds.) "Contaminación, Descontaminación y Restauración Ambiental". pp 135-152 .
- GIANELLI, V.; BEDMAR, F.; MONTERUBBIANESI, M.G. 2011. Persistencia del herbicida Imazapir en el suelo y efectos fitotóxicos sobre cultivos de invierno y de verano. RIA. 37(1):18-25.
- GILES, C.H.; MacEWAN, T.H.; NAKHWA, S.N.; SMITH, O. 1960. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanism and in measurement of specific surface areas of solids. J. Chem. Soc. 3:3973-3993.
- GLOTFELTY, D.E.; SCHOMBURG, C.J. 1989. Volatilization of pesticides from soil. In: Sawhney, B.L. and Brown, K. (eds). Reactions and movement of organic chemicals in soils. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. pp. 181-207.
- GREEN, R.E.; KARICKHOFF, S.W. 1990. Sorption estimates for modelling. En: Cheng H.H. (ed.) Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling. Soil Science Society of America book series; no. 2, Madison, Wis., USA. pp.79-101.
- GRIGNANI, C.; LAIDLAW, A.S. 2002. Nitrogen economy in grasslands and annual forage crops: control of environmental impact. En: Durand, J.L.; Emile, J.C.; Huyghe, C.; Lemaire, G. (eds.) Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation on Multifunction Grasslands, Quality Forages, Animal Products and Landscapes British Grassland Society, vol. 7, Reading, UK, La Rochelle (F), pp.625-633.
- GUNTHER, D. F.; CORREA, M.; LYSIAK, E. 2008. Zonas AgroEconómicas Homogéneas. Misiones. Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción y recursos naturales. Número 5. INTA (eds.) 117 p.
- GUSTAFSON, D.I. 1991. Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. Environ. Sci. Technol. 8:339-357.

- HAGER, A.; SPRAGUE, C.; MC GLAMERY, M. 2000. Factors affecting herbicide persistente. Agricultural pest management handbook. Illinois. 323-326.
- HAMILTON, D.J.; AMBRUS, Á.; DIETERLE, R.M.; FELSOT, A.S.; HARRIS, C.A.; HOLLAND, P.T.; KATAYAMA, A.; KURIHARA N.; LINDERS J.; UNSWORTH, J.; WONG, S.S. 2003. Regulatory limits for pesticide residues in water (IUPAC technical report). Pure Appl. Chem. 75(8):1123–1155.
- HANCE, R.J.; HOLLY, K. 1990. Weed control handbook principles. 8^o ed. Blackwell scientific publications. Oxford London Edinburgh. Boston Melbourne. 582 p.
- HANG, S.; BARRIUSO, E.; HOUOT, S. 2003. Behaviour of ¹⁴C-Atrazine in Argentinean topsoils under different cropping managements. J. Environ. Qual. 32:2216–2222.
- HELLING, C.S. 2005. The science of soil residual herbicides. In: Van Acker, R.C.(ed.) Soil Residual herbicides: Science and management. Topics in Canadian Weed Science, Can. Weed Sci. Soc. 3: 3-22.
- HENRIKSEN, T.; SVENSMARK, B.; JUHLER, R. 2004. Degradation and sorption of metribuzin and primary metabolites in a sandy soil. J. Environ. Qual. 33:619-627.
- ISMAIL, B.S.; AHMAD, A.R. 1994. Attenuation of the herbicidal activities of glufosinate-ammonium and imazapyr in two soils. Agric. Ecosys. Environ. 47:279–285.
- ISTILART, 2002. Residualidad de imidazolinonas sobre cereales de invierno. INTA, Argentina. [en línea] <<http://www.inta.gov.ar>> [consulta: 06 agosto de 2011].
- JARVIS, N.J. 2001. Modelling pesticide environmental fate: process understanding and knowledge gaps. In: Walker, A. (ed). Pesticides behaviour in soils and water. British Crop Protection Council Symposium Proceedings N^o 78. UK, 13-15 november, 2001. pp.11-18.
- JARVIS, N.J.; ALMQVIST, S.; STENSTRO, J.; BORJESSON, E.; JONSSON, E.; TORSTENSSON, L. 2006. Modelling the leaching of imazapyr in a railway embankment. Pest Manag Sci 62:940–946.
- KAH, M.; BROWN, C.D. 2006. Adsorption of Ionisable Pesticides in Soils. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 188:149–217.
- KERLE, E. A.; JENKINS, J.J.; VOGUE, P.A. 1996. Understanding pesticide persistence and mobility for groundwater and surface water protection. Oregon State University Extension Service. EM 8561. [en línea] <http://wellwater.orst.edu/documents/Understanding_Pesticide_Persistence.pdf> [consulta: 14 noviembre 2011].
- KHAN, M.A.; LIANG, T. 1989. Mapping pesticide contamination potential. Environ. Manage. 13:233–242.

- KLUTE, A.; DIRKSEN, C. 1986. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. En: KLUTE, A. (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part. 1. Agronomy No. 9, ASA and SSSA, Madison, WI, USA.* pp. 687-734.
- KOOKANA, R.S.; CORRELL, R.I.; MILLER, R.B. 2005. Pesticide impact rating index: A pesticide risk indicator for water quality. *Water, Air, & Soil Poll.* 5:45–65.
- KOPPEN, B.; SPLIID, N.H. 1998. Determination of acidic herbicides using liquid chromatography with pneumatically assisted electrospray ionization mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A.* 803: 157-168.
- KRAEMER, A.F.; MARCHESAN, E.; AVILA, L.A.; MACHADO, S.L.O.; GROHS, M. 2009. Destino ambiental dos herbicidas do grupo das imidazolinonas – Revisão. *Planta daninha, viçosa-MG.* 27(3): 629-639.
- LAGANA, A.; FAGO, G.; MARINO, A.; PENAZZI, V.M. 2000. Liquid chromatography mass spectrometry tandem for multiresidue determination of selected post-emergence herbicides after soil column extraction. *Anal Chem.* 415:41–56.
- LAO W.; JAY GAN, J. 2006. High-performance liquid chromatographic separation of imidazolinone herbicide enantiomers and their methyl derivatives on polysaccharide-coated chiral stationary phases. *J. Chromatogr. A.* 1117:184–193.
- LARINA, G.E.; SPIRIDOV, Y.Y. 2004. The effect of physicochemical properties and the hidrothermal regime of soil on the detoxification of imidazolinone herbicide. Russia research Institute of phytopathology, Russian Academy of Agricultura Sciences. s.p.
- LASKOWSKI, D.A.; GORING, C.A.I.; MCCALL, P.J.; SWANN, R.L. 1982. Terrestrial environment. En: CONWAY, R.A. (ed.) *Environment Risk Analysis for Chemicals.* Van Nostrand Reinhold Company, NY USA. pp.198–240.
- LEONARD, R.A. 1990. Movement of pesticides into surface waters. In: Cheng, H.H. (ed.) *Pesticides in the soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling.* SSSA, Inc. Madison, USA. pp. 303-349.
- LEONE, P.; GENNARI, M.; NEGRE, M.; BOERO, V. 2001. Role of Ferrihydrite in Adsorption of Three Imidazolinone Herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 4: 1315-1320.
- LIMOUSIN, G.; GAUDET, J.P.; CHARLET, L.; SZENKNECT, S.; BARTHÈS, V.; KRIMISSA, M. 2007. Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement. *Appl Geochem.* 22:249–275.
- LOUX, M.M.; LIEBL, R.A.; SLIFE, F.W. 1989. Adsorption of imazapir and imazethapir on soils, sediments, and selected adsorbents. *Weed Sci.* 37:712-718.

- MA, Q.; RAHMAN, A.; HOLLAND, P.T.; JAMES, T.K.; MCNAUGHTON, D.E. 2004. Field dissipation of acetochlor in two New Zealand soils at two application rates. *J. Environ. Qual.* 33:930–938.
- MALLIPUDI, N. M.; STOUT, S. J.; DACUNHA, A. R.; LEE, A. 1991. Photolysis of imazapyr (AC 243997) herbicide in aqueous media. *J. Agric. Food Chem.* 39(2):412-417.
- MANGELS, G. 1991. Behaviour of the imidazolinone herbicides in soil-a review of the literature. In: Shaner, D.L. and O'Conner, S.L. eds. *The Imidazolinone Herbicides*. Boca Raton, FL:CRC press. pp. 191-209.
- MATUSZEWSKI, B. K.; CONSTANZER, M. L.; CHAVEZ-ENG, C. M. 2003. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* 75: 3019 –3030.
- MC DOWELL, R.W.; CONDRON, L.M.; MAIN, B.E.; DASTGHEIB, F. 1997. Dissipation of imazapir, flumetsulam and thifensulfuron in soil. *Weed Res.* 37:381-389.
- MICROMASS MASSLYNX V 4.1. software .Waters Corporation., Manchester, UK.
- MICHAEL, J.L.; NEARY, D.G. 1993. Herbicide dissipation studies in southern forest ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 12:405-410.
- MONTOYA, J.C.; PORFIRI, C.; ZELAYA, M. 2010. Estimación de la adsorción de imazapir y atrazina al suelo y cálculo del Índice GUS. 3º Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). Santa Fe– Argentina. 12-14 de Mayo de 2010.
- MULDER, R.; SCHMIDT, CH. 2011. Groundwater, Surface Water, and Sediment Monitoring for Pesticides and Nitrate in Billings, Montana. [en línea] <<http://agr.mt.gov/agr/Programs/Pesticides/Environmental/Groundwater/Reports/PDF/GWbillings11.pdf>> [consulta: 17 diciembre 2011].
- NATALE, O.E.; ALLEVATO, H.; MARZOCCA, M.C.; SYLVESTER, S. 2002. Evaluación de factores de riesgo debidos a plaguicidas en el medio ambiente rural. GTT5-programa de riesgos químicos-plan de gestion de sustancias químicas-Plan nacional de gestión de sustancias químicas. Ministerio de Salud y Acción social, Argentina. Proyecto INA 10.3, Informe 01. 68p.
- OECD. 2000. Test guideline programme, final report of the OECD. Guideline 106. Workshop on selection of soils/sediments, Belgirate, Italy.
- OLIVEIRA Jr., R.S.; KOSKINEN, W. C.; FERREIRA, F.A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Res.* 41:97-110.

- PFEIFFER, M. 2010. Groundwater Ubiquity Score (GUS). Pesticides training resources. [en línea] <www.ptrpest.com>. [consulta: 17 diciembre 2011].
- PÓRFIDO, O.D. 2007. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes. Tomo 1, 1068p.
- PORFIRI, C.; MONTOYA, J. 2008. Persistencia de Imazapir y su efecto sobre cereales de invierno. Congreso Nacional de Trigo. Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño. Invernal. Encuentro del Mercosur. Santa Rosa, La Pampa. Argentina. pp 43.
- PUSINO, A. 1997. Adsorption and desorption of imazapir by soil. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1012-1016.
- QUIROZ LONDOÑO, O.M.; MARTINEZ, D.E.; MASSONE, H.E. 2012. Evaluación comparativa de métodos de cálculo de recarga en ambientes de llanura. La llanura interserrana bonaerense (Argentina), como caso de estudio. *Dyna* 171: 239-247.
- QUIVET, E.; FAURE, R.; GEORGES, J.; PAISSÉ, J.O.; LANTÉRI, P. 2006. Influence of metal salts on the photodegradation of imazapyr, an imidazolinone pesticide. *Pest Manag. Sci.* 62(5):407–413.
- RAHMAN, A.; JAMES, T.K.; SANDERS, P. 1993. Leaching and movement of imazapyr in different soil types. *Proc. 46th N.Z. Plant Protection Conf.* pp. 115-119.
- RAMEZANI, M.; SIMPSON, N.; OLIVER, D.; KOOKANA, R.; GILL, G.; PRESTON, C. 2009. Improved extraction and clean-up of imidazolinone herbicides from soil solutions using different solid-phase sorbents. *J Chromatogr A.* 1216, 5092-5100.
- RAMEZANI, M.K.; OLIVER, D.P.; KOOKANA, R.S.; LAO, W.; GILL, G.; PRESTON, CH. 2010. Faster degradation of herbicidally-active enantiomer of imidazolinones in soils. *Chemosphere.* 79:1040–1045.
- RAMÍREZ PISCO, R.; TRUJILLO, P.; BETTY, R.; RIVERA, N. 2007. Identificación y cuantificación de la actividad microbiana y macro fauna de un andisol bajo diferentes sistemas de manejo en el municipio de Marinilla (Antioquía) [en línea] <<http://www.unalmed.edu.co>> [consulta: 17 marzo 2012].
- RAO, P.S.C.; HORNSBY, A.G.; JESSUP, R.E. 1985. Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater. *Soil Crop Sci. Soc. Fl.*, 44:1–8.
- RAYMUNDO-RAYMUNDO, E.; PRADO-PANO, B.L.; GAVRILOV, I.N.; MENDOZA-HERNÁNDEZ, J.H.R. 2011. Sorción, degradación y lixiviación de imazapyr en un suelo volcánico de México. *Tecnología y Ciencias del Agua.* 2(3):61-75.
- REGITANO, J.B.; BISCHOFF, M.; LEE, L.S.; REICHERT, J.M.; TURCO, R.F. 1997. Retention of imazaquin in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 16:397–404.

- REGITANO, J. B.; PRATA, F.; ROCHA, W. S. D.; TORNISIELO, V. L.; LAVORENTI, A. 2002. Imazaquin mobility in tropical soils in relation to soil moisture and rainfall timing. *Weed Res.* 42:271–279.
- ROUSK, J.; BROOKES, P.C.; BÅÅTH, E. 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(6):1589-1596.
- SANDERSON, I.D.; LOWE, M. 2002. Ground-Water sensitivity and vulnerability to pesticides, Cache Valley, Cache County, Utah. Utah Geological Survey, Washington D.C. 28 p.
- SANTORO, A.; MANSOUR, M.; TROPEA, M.; SCOPA, A.; BUFO, S. A. 1999. Residue Analysis of Imazapyr and Chlozolate in Water Using Sunlight. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 63:33-38.
- SAS INSTITUTE INC., 2002. SAS USER'S Guide statistic. Version 9. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SCOW, K.M. 1993. Effect of sorption-desorption and diffusion processes on the kinetics of biodegradation of organic chemicals in soil. In: Linn d.m.(ed). Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil. SSSA, INC. Madison, USA. pp. 73-123.
- SENSEMAN, S.A. (ED.) 2007. Herbicide Handbook. 9th ed. Weed Sci. soc. of Am., Lawrence, KS, USA. 458p.
- SHANER, D.L.; BRUNK, G.; BELLES, D.; WESTRA, P.; NISSEN, S. 2006. Soil dissipation and biological activity of metolachlor and s-metolachlor in five soils. *Pest Manag. Sci.* 62:617-623.
- SHANER, D.L.; HORNFORDE, R. 2005. Soil interactions of imidazolinone herbicides used in Canada. In R.C. Van Acker, (ed.) Soil Residual Herbicides and Management. Topics in Canadian Weed Science, Vol 3. Sainte-Anne-de-Bellevue, Quebec: Société Canadienne de Malherbiologie. *Can Weed Sci Soc* 3 : 23-30.
- SHAW, I.C.; CHADWICK, J. 1999. Principles of environmental toxicology. Taylor & Francis Inc, Philadelphia, USA. 216 p.
- SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; HORNSBY, A.G. 2002. Pesticide leaching potential assessment in multilayered soils. *Pestic. R. Ecotox. e Meio Amb.* 12: 1-12.
- SPARKS, D.L. 2003. Environmental soil chemistry. Academic press, Elsevier Science, USA.352p.
- STEPHENSON, G.A.; SOLOMON, K.R. 1993. Pesticides and the Environment. Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. [en línea] <<http://www.fao.org>> [consulta: 06 octubre de 2011].

- SURGAN, M.; CONDON, M.; COX, C.; 2010. Pesticide Risk Indicators: Unidentified Inert Ingredients Compromise Their Integrity and Utility. *Environ. Manag.* 45:834–841.
- TAN, S.; EVANS, R.R.; DAHMER, M.L.; SINGH, B.K.; SHANER, D.L. 2005. Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Manag. Sci.* 61:246–257.
- TAYLOR P. J. 2005. Matrix Effects: The Achilles Heel of Quantitative HighPerformance Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Clin. Biochem.* 38: 328 – 334.
- THORSTENSEN, C.W.; LODE, O. 2001. Laboratory degradation studies of Bentazone, Dichlorprop, MCPA, and Propiconazole in Norwegian soils. *J. Environ. Qual.* 30:947–53.
- TIRYAKI, O.; TEMUR, C. 2010. The Fate of Pesticide in the Environment. *J. Biol. Environ. Sci.* 4(10):29-38.
- TJITROSEMITO, S.; MATSUNAKA, S.; NAKATA, M. 1993. The adsorption of imazapyr by three soil types in Indonesia. *Biotropia* (6):66-70.
- TU, H. 2004. *Weed Control Methods Handbook*, the Nature Conservancy. [en línea] <<http://tncweeds.ucdavis.edu>> [consulta: 10 septiembre 2011].
- ULBRICH, A.V.; SOUZA, R.; SHANER, D.L. 2005. Persistence and carryover effect of imazapic and imazapir in Brazilian cropping systems. *Weed Technol.* 19(4): 986-991.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA NATURAL RESOURCES CONSERVATION SERVICE. 1999. *Soil Taxonomy. A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys.* Agriculture Handbook. Superintendent of Documents, U.S. Government Printing Office Washington, DC. Number 436. 871p.
- US.EPA. 1986. Method 3050 Acid digestion of sedi- ments, sludges and soils, SW-846. United States Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington DC. s.p.
- US.EPA. 2005. Imazapyr Risk Assessments, Notice of Availability, and Risk Reduction Options. EPA, USDA, Vol. 70, No. 244, pp. 75799-75801. [en línea] <<http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/2005/December/Day-21/p7633.htm>> [consulta: 12 abril 2011].
- US.EPA. 2006. Re-registration eligibility for imazapyr list C, case number 3078. US Environmental Protection Agency. P.100. [en línea] <http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/imazapyr_red.pdf> [consulta: 14 octubre 2011].

- VEEH, R.; INSKEEP, W.; CAMPER, A. 1996. Soil depth and temperature effects on microbial degradation of 2,4-D. *J. Environ. Qual.* 25:5-12.
- VIZANTINOPOULOS, S.; LOLOS, P. 1994. Persistence and leaching of the herbicide imazapyr in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52: 404-410.
- WALKLEY, A.; BLACK, A.I. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-37.
- WALKER, A.; COTTERILL, E.G.; WELCH, S.J. 1989. Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron methyl in soils from different depths. *Weed Research*, 29:281-287.
- WALKER, A., 1994. Herbicide behaviour in mediterranean climates. *Proceedings 5th EWRS Mediterranean Symposium*, 211-221.
- WALKER, A. 2003. Adsorption and degradation: from the laboratory to the real World. Pesticide in air, soil & water system. *Proceedings of the 12^o Symposium Pesticide Chemistry, Piacenza, Italy, 4-6 June, 2003.* pp.1-6.
- WANG, O.; LIU, W. 1999. Correlation of imazapyr adsorption and desorption with soil properties. *Soil Sci.* 164(6):411-416.
- WANG, X.; WANG, H.; FAN, D. 2005. Persistence and metabolism of imazapyr in four typical soils of Zhejiang Province (China). *Int. J. Environ. An. Chem.* 85(2):99-109.
- WANG, X.; WANG, H.; FAN, D. 2006. Degradation and metabolism of imazapyr in soils under aerobic and anaerobic conditions. *Int. J. Environ. An. Chem.* 86(8):541-551.
- WANG, C.J.; LIU, Z.Q. 2006. Foliar uptake of pesticides—Present status and future challenge. *Pestic. Biochem. Phys.* 87: 1–8.
- WAUCHOPE, R.D.; YEH, S.; LINDERS, J.; KLOSKOWSKI, R.; TANAKA, K.; RUBIN, B.; KATAYAMA, A.; KORDEL, W.; GERSTL, Z.; LANE, M.; UNSWORTH, J.B. 2002. Review Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest. Manag. Sci.* 58: 419-445.
- WEBER, J.B.; WILKERSON, G.G.; REINHARDT, C.F. 2004. Calculating pesticide sorption coefficients (K_d) using selected soil properties. *Chemosphere.* 55:157-166.
- WEHTJE, G.; DICKENS, R.; WILCUT, J.W.; HAJEK, B.F. 1987. Sorption and mobility of sulfometuron and imazapyr in five Alabama soils. *Weed Sci.* 35:858-864.
- WOLFE, N.L.; MINGELGRIN, U.; MILLER, G.C. 1990. Abiotic transformations in water, sediments, and soil. In: Cheng, H.H. (ed.) *Pesticides in the soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling.* SSSA, Inc. Madison, USA. pp.103-168.

ZELAYA, M.; KLOSTER, N.; GIANELLI, V. 2009. Direct injection for the analysis of atrazine and imazapyr using Ultra Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry. Actas 2° Workshop Latinoamericano de Residuos de Plaguicidas – LAPRW 2009. Santa Fe, Argentina. 8 al 11 de Junio de 2009. pp119.