

Effetti su alcuni microrganismi ed attività biologiche del suolo provocati dagli erbicidi sulfonilureici usati in post-emergenza nella coltivazione del mais

C. Piovanelli, N. Miclaus, M.T. Ceccherini

Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo, Firenze

Nel presente lavoro sono state valutate le influenze sulla microflora del terreno di tre erbicidi sulfonilureici (Thifensulfuron-methyl, Rimsulfuron e Primisulfuron) utilizzati in post-emergenza nella coltivazione del mais. Gli erbicidi non manifestano azioni rilevanti sulla microflora totale del terreno. La respirazione viene stimolata e l'emissione di CO₂, determinata dall'aggiunta di sulfoniluree (1mg/ml di p.a.), è 2-3 volte maggiore del controllo. Il confronto dell'attività respiratoria tra Thifensulfuron-methyl e diverse sostanze nutritive dimostra che il diserbante causa aumenti di emissione di CO₂ inferiore a quelli di glucosio e urea ma superiori al celluloso. L'incremento dell'attività respiratoria si esaurisce in 8-12 giorni il che indica una rapida degradazione della sulfonilurea, ad opera della microflora. Gli effetti dei pesticidi sui microrganismi analizzati indicano che: Primisulfuron (1 mg/ml) inibisce parzialmente la crescita di *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Azotobacter chroococcum*. Rimsulfuron e Thifensulfuron-methyl (100 µg/ml) non inibiscono il ceppo parentale Azwt di *Azotobacter chroococcum*, mentre viene inibito il ceppo mutante Azcap1. Le sulfoniluree inibiscono solo parzialmente la crescita delle alghe *Scenedesmus acutus* e *Anabaena azollae* ma non quella del cianobatterio *Spirulina platensis*. La maggior sensibilità del mutante Azcap 1 di *A. chroococcum* rispetto al parentale, deve indurre a tener conto, nella introduzione di nuovi pesticidi, di eventuali alterazioni negli equilibri dell'ecosistema raggiunte con le precedenti pratiche colturali.

Effects on some microorganisms and biological activities of the soil caused by sulfonilurea herbicides used in post-emergence in maize crops. The effects of sulfonilurea herbicides, Thifensulfuron-methyl, Rimsulfuron and Primisulfuron, used in post-emergence maize crops, have been evaluated on some microorganisms and biological activities of the soil. The herbicides did not have any significant effect on total microflora. Basal respiration was stimulated by the tested herbicides, and CO₂ emission, determined by adding sulfonilureas (1 mg ml⁻¹), was 2-3 times greater than the control. Comparison of respiratory activity between Thifensulfuron-methyl and other nutrients showed that the herbicide caused increases in CO₂ emissions lower than those due to glucose and urea, but greater than cellulose. The increased respiratory activity ceased in 8-12 days, indicating that the microflora quickly degraded the sulfonilurea. The effects of pesticides on the tested microorganisms showed that Primisulfuron (1 mg ml⁻¹) partially inhibited the growth of *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. and *Azotobacter chroococcum*. Rimsulfuron and Thifensulfuron-methyl, at 1 mg ml⁻¹, inhibited the parent strain of *A. chroococcum* Azwt, while the mutant strain Azcap1 was inhibited even at concentrations of 100 µg ml⁻¹. Sulfonilureas partially inhibited the growth of the algae *Scenedesmus acutus* and *Anabaena azollae*, but did not affect the development of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. The greater sensitivity of *A. chroococcum* mutant Azcap1 should lead to the evaluation of the consequences that new pesticides might cause to the balances achieved with previous management.

Introduzione

Il diserbo nella coltivazione del mais si è affermato con l' introduzione dell' Atrazina e quando questo prodotto ha iniziato a mostrare i suoi limiti, legati soprattutto all'instaurarsi di una flora di sostituzione e all' inquinamento ambientale, è stato sostituito o integrato con altri prodotti sempre da distribuire in pre-emergenza; solo in casi di infestazioni eccezionali e nei terreni umiferi si è ricorso ad interventi in post-emergenza, soprattutto con fenossiderivati (2,4-D e MCPA) (Rapparini, 1993). La pratica del diserbo in post-emergenza ha subito un incremento con l'impiego dei benzo-derivati (Dicamba e Bromoxinil) che hanno consentito di combattere con maggiore efficacia alcune infestanti dicotiledoni annuali; ma solo l' introduzione dei sulfonilureici ha aperto ampie prospettive per un impiego ridotto dei diserbanti in pre-emergenza ed un controllo mirato delle infestanti con trattamenti di post-emergenza, non influenzati dalle condizioni climatiche e dalla natura del terreno (Bin, 1993).

I sulfonilureici vengono assorbiti dalle piante per via foliare e radicale (Brown, 1990); traslocati ai tessuti meristematici agiscono inibendo l'enzima acetolattato-sintetasi (ALS), che catalizza la biosintesi degli aminoacidi Valina, Isoleucina e Leucina, con arresto della formazione di nuove cellule (Ray, 1984; Moberg, 1990; Schloss, 1990). Nelle piante sensibili l'inibizione dell'enzima è molto rapida, da una a poche ore (Devine et al., 1993), ma poiché i processi metabolici e la distensione cellulare non vengono intaccati i sintomi si manifestano solo dopo alcuni giorni, dapprima con arresto della crescita, poi con clo-

rosi e arrossamenti, quindi necrosi e morte della pianta che può avvenire anche dopo più di un mese dal trattamento (Bassi, 1987). La resistenza è legata alla capacità di degradare rapidamente l'erbicida in derivati non tossici, mentre le specie sensibili metabolizzano il prodotto molto lentamente (Scalla, 1991).

La degradazione delle sulfoniluree nel terreno è di origine chimica e/o microbica (Stevens e Duxbury, 1992); nei suoli sterilizzati il Thifensulfuron-methyl viene degradato con minore rapidità, indicando il coinvolgimento di un processo microbiologico (Cambon e Bastide, 1992), mentre Rimsulfuron sembra essere degradato quasi esclusivamente per idrolisi chimica (Bassi, 1993). La degradazione delle sulfoniluree è influenzata da temperatura, tipo di suolo e umidità (Maurer et al., 1987): quella di Amidosulfuron varia da 14 ± 2 giorni (30°C , terreno franco argilloso, umidità 85% di c.c.) a 246 ± 21 giorni (20°C , terreno argilloso, umidità 50% di c.c.) (Smith e Aubin, 1992). Nell'ambito degli erbicidi sulfonilureici esistono sostanze con caratteristiche residuali molto diverse e tempi di dimezzamento nel terreno che, a parità di condizioni, possono differire da alcune ore a alcuni mesi. Infatti l'emivita di Primisulfuron, in condizioni di laboratorio, (21°C , umidità 50% c.c.) è di circa 30 giorni (Airoldi et al., 1992); quella di Triasulfuron è di 12/28 giorni (Blacklow e Pheloung, 1992); Chlorsulfuron è molto persistente e anche in condizioni favorevoli (terreni sub-acidi e climi umidi) non viene degradato totalmente nell'arco di un anno mentre il Bensulfuron-methyl nelle risaie è quasi totalmente degradato dopo 50 giorni dalla

distribuzione (Bassi, 1987).

I microorganismi spesso assumono una importanza determinante nella decontaminazione dei diserbanti distribuiti sul terreno. Molte popolazioni microbiche sono in grado di trasformare da forma organica a forma inorganica (mineralizzazione), numerosi pesticidi e composti xenobiotici, che così perdono il loro potere tossico. Nonostante esistano lacune sulle conoscenze delle interazioni fra microorganismi e pesticidi dovute alla multiforme variabilità delle condizioni ambientali che determinano differenze nelle popolazioni microbiche e risposte diversificate ai vari trattamenti, si può affermare che normalmente l'effetto dei diserbanti sui microorganismi del suolo è di breve durata e spesso inferiore alla variazione spaziale e temporale della biomassa microbica (Wardle e Rahman, 1992).

Scopo del presente lavoro è quello di valutare l'effetto di alcune sulfoniluree recentemente entrate nella pratica agricola, su alcune attività biologiche e alcuni ceppi di microorganismi del suolo.

Materiali e metodi

Suolo. I campioni di suolo sono stati prelevati nel Centro Sperimentale di Fagna (Scarperia - Firenze) dell'Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo da parcelle su cui non è stato somministrato alcun diserbante da circa dieci anni. Il suolo, di natura alluvionale, franco-sabbiosa, con pH sub-alcalino e medio contenuto in elementi nutritivi è classificato come Eutric Cambisol (Fao).

Diserbanti utilizzati. Tutti i diserbanti utilizzati e sottoelencati

ti sono di origine commerciale; in parentesi viene indicato il contenuto di principio attivo:

- Thifensulfuron-metyl (75%): Harmony;
- Rimsulfuron (25%): Titus;
- Primisulfuron (75%): Tell;

Per le prove descritte in questo lavoro i diserbanti sono stati disciolti o sospesi in acqua sterile.

Prove di respirometria e conteggio dei microrganismi.

Per le prove in cui si vuole determinare l' influenza dell' aggiunta di diserbante sull' emissione di CO₂ si utilizzano suoli prelevati da non più di 48 ore, conservati a temperatura ambiente e vagliati a 2 mm. Per le prove di respirometria indotta, in cui si valuta l' incremento di CO₂ determinato dall' aggiunta di varie sostanze nutritive, si utilizzano terreni conservati a 4°C per almeno un mese e preincubati a temperatura ambiente per 7 giorni, in modo da attivare la flora microbica. In entrambi i casi sono utilizzati 100 grammi di suolo, portati all' umidità equivalente con acqua sterile, posti in vasi provvisti di chiusura ermetica e incubati a 27°C. La

CO₂ emessa viene fissata con Calce sodata contenuta in cristallizzatori all' interno dei vasi sigilati e determinata mediante pesata secondo il metodo proposto da Edwards, (1982). I diserbanti sono stati aggiunti in ragione dell' 1‰ in peso di principio attivo (p.a.).

La conta totale è stata effettuata su mezzo di Thornton

agarizzato, con il metodo delle diluizioni successive.

Isolamento di batteri dal suolo e preparazione degli inoculi. L' isolamento dei batteri si è ottenuto sospendendo 10 g del campione di suolo in 90 ml di H₂O distillata sterile, ed inoculando la sospensione di terreno su mezzi nutritivi specifici mediante la tecnica delle diluizioni progressive. I ceppi di batteri diazotrofici sono stati isolati su Burk's medium a 30 °C (Newton e al., 1953); quelli di *Pseudomonas* sono stati isolati su King B medium a 25°C (King e al., 1954); per i coliformi sono stati eseguiti test presuntivi in MacConkey Broth

viene diluito fino ad una densità ottica, misurata a 650 nm, di circa 0,05. Gli erbicidi, sono aggiunti ad una concentrazione da 1µg a 1mg/ml. La crescita dei microrganismi è determinata spettrofotometricamente.

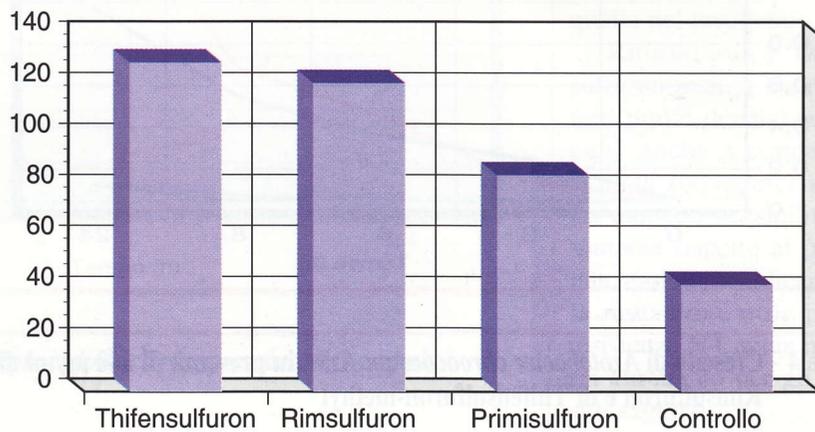
Ceppi microbici utilizzati.

Azotobacter chroococcum: Azwt (ceppo parentale), Azcap1 mutante spontaneo resistente al Captan e Carboxin) isolato dal suolo (Miclaus e al. 1991);

Agrobacterium radiobacter; *Enterobacter* sp.; *Pseudomonas* sp.(ceppi definiti in questo lavoro).

Spirulina platensis; *Scenedesmus acutus*; *Anabaena azollae* forniti dal Centro Microrganismi Autotrofi, Firenze.

Figura 1 - Produzione di CO₂ conseguente l'aggiunta al terreno dell'1‰ in peso di diserbante: media di 9 giorni di incubazione (mg CO₂/kg terreno secco/24h)



e test di conferma su EMB agar, con incubazione a 37°C per 24 ore (Case e Johnson, 1984). Quindi i ceppi sono stati ulteriormente discriminati mediante sistema API 20 (Biomerieux).

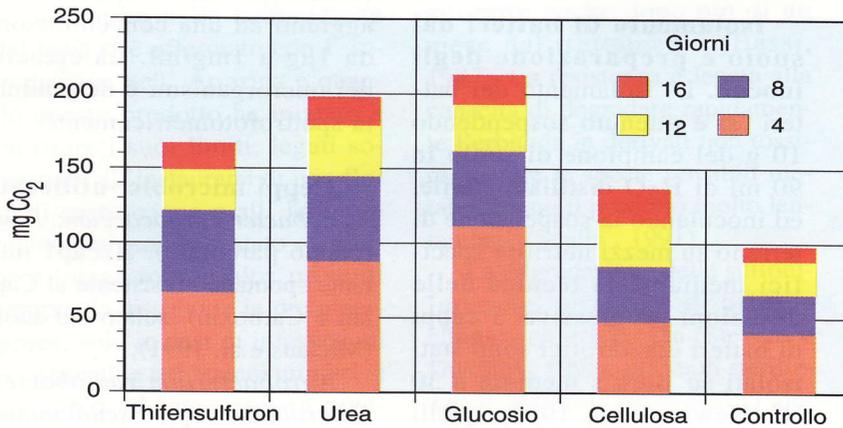
I microrganismi da saggiare sono fatti crescere in 20 ml di terreno liquido selettivo, a 30°C ed in agitazione orbitale di 150 rpm. Dopo 18-20 ore l' inoculo

Risultati e discussione

Respirometria. La misura dell' attività respiratoria in presenza di sulfoniluree ha evidenziato che Thifensulfuron e Rimsulfuron incrementano l' emissione di CO₂, rispetto al controllo, di circa tre volte; Primisulfuron di circa due volte (fig. 1).

Ciò fa supporre che i primi due

Figura 2 - Confronto fra l'emissione di CO₂ causata dall'aggiunta al terreno dell'1% in peso di sulfonilurea o di diversi substrati (mg CO₂/kg terreno secco/24h)



diserbanti vengano rapidamente demoliti e che Primisulfuron sia relativamente più stabile.

Nella respirometria indotta è stato messo a confronto Thifensulfuron-methyl con diverse sostanze nutritive. Dai risultati si rileva che il diserbante esplica un incremento dell'attività della microflora inferiore a quella dovuta all'utilizzazione delle sostanze più semplici (urea e glucosio), ma nettamente superiore a quella di sostanze più complesse come la cellulosa (fig. 2); l'incremento di emissione di CO₂ si riscontra solo nei primi 8 giorni, a riprova della rapidità con cui è degradata la sulfonilurea, anche a elevate concentrazioni (se comparate alle quantità usate in pieno campo).

Le conte totali su piastra dei microrganismi non mostrano modificazioni sensibili in seguito all'aggiunta dei vari erbicidi, a conferma della loro scarsa tossicità ed in accordo con i risultati ottenuti in precedenti prove parcellari (Piovanelli, 1990; Piovanelli, 1991).

Figura 3 - Crescita di *Azotobacter chroococcum* in presenza di 1 mg/ml di sulfoniluree

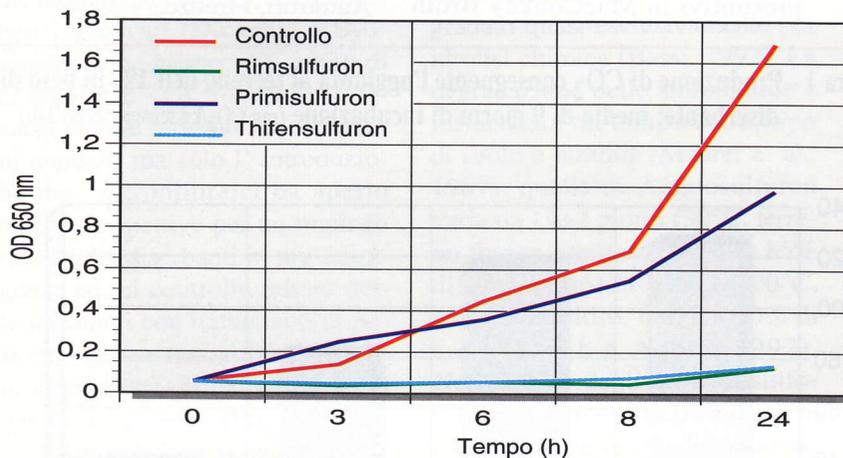
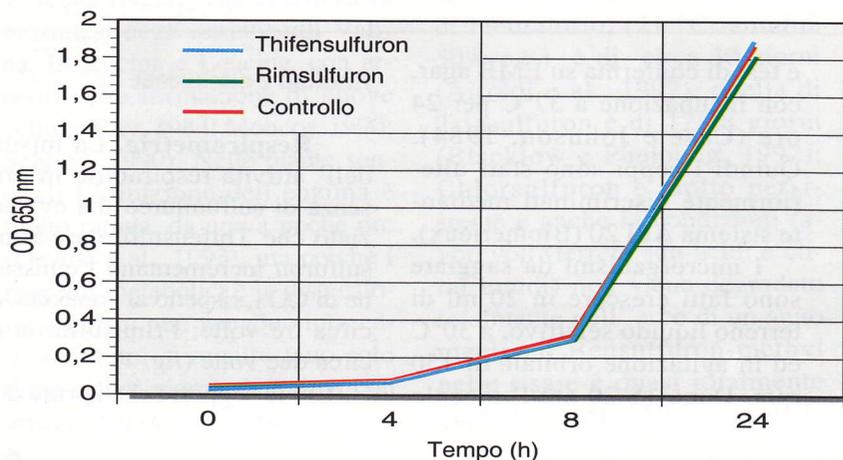


Figura 4 - Crescita di *Azotobacter chroococcum* Azwt in presenza di 100 µg/ml di Rimsulfuron e di Thifensulfuron-methyl



Prove con batteri. Gli azotofissatori liberi risultano essere fra i gruppi fisiologici più sensibili agli effetti dei pesticidi (Martenson, 1990; Miclaus e al., 1992). I diserbanti alla concentrazione di 1 mg/ml hanno influenze diverse sulla crescita del ceppo parentale Azwt (fig. 3). Primisulfuron ha inizialmente

Figura 5 - Crescita di *Azotobacter chroococcum* Azcap 1 in presenza di 1 mg/ml di sulfoniluree

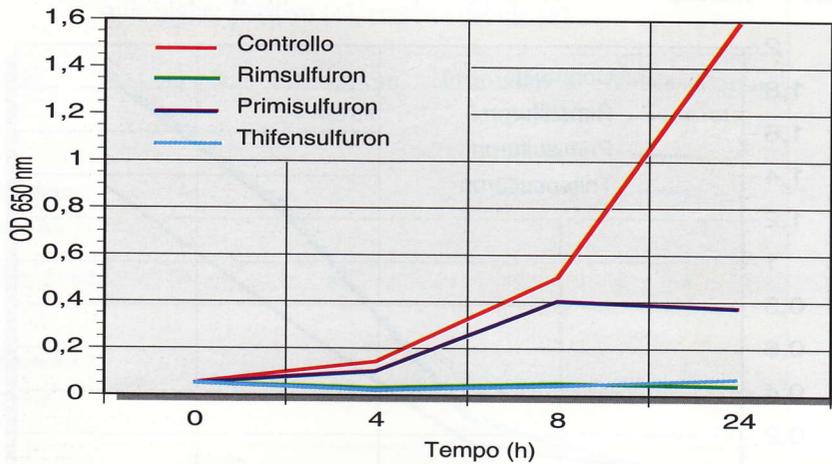


Figura 6 - Crescita di *Azotobacter chroococcum* Azcap 1 in presenza di 100 µg/ml di Rimsulfuron e Thifensulfuron-methyl

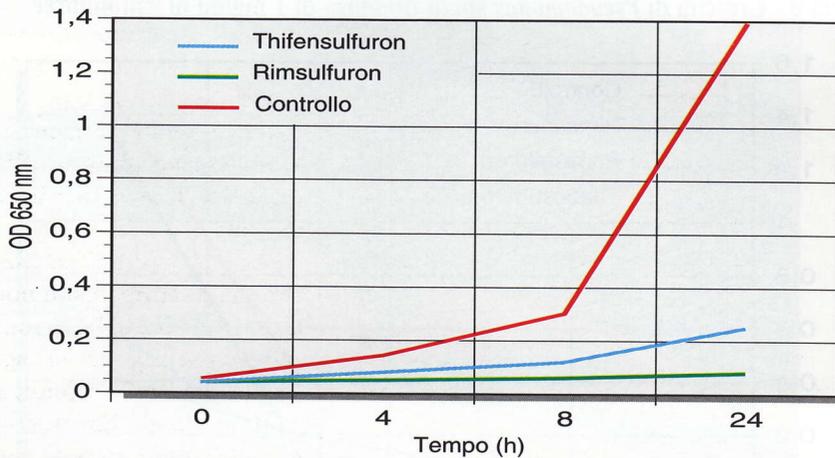
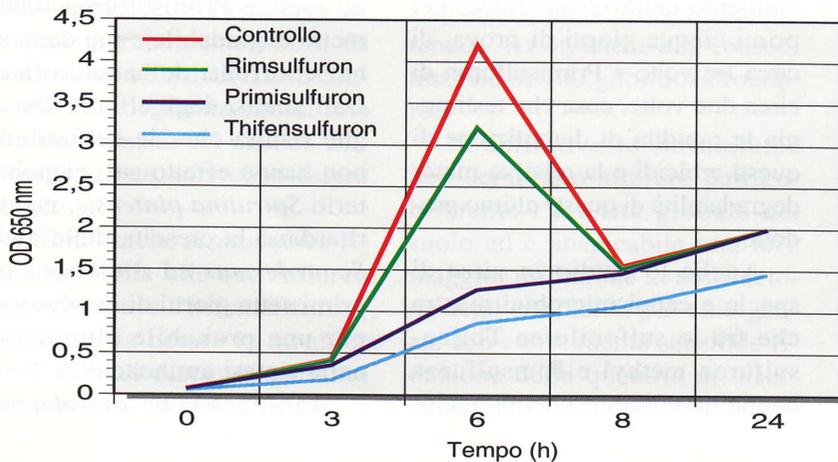


Figura 7 - Crescita di *Agrobacterium radiobacter* in presenza di 1 mg/ml di sulfoniluree



scarso effetto ma poi determina dei ritardi nella crescita cellulare di circa il 50% rispetto al testimone. Drastici sono gli effetti del Thifensulfuron-methyl e del Rimsulfuron, che inibiscono quasi completamente la crescita cellulare. Da notare però che alla concentrazione di 100 µg/ml questi ultimi due prodotti non inibiscono la crescita di Azwt (fig. 4), per cui la soglia di sensibilità si pone fra queste due concentrazioni.

Gli effetti delle sulfoniluree su Azcap1, alla concentrazione di 1 mg/ml, sono simili a quelli che si riscontrano per Azwt (fig. 5), tranne Primisulfuron che ha effetti più drastici, riducendo la crescita di Azcap1 a circa un terzo di quella del testimone.

Rimsulfuron e Thifensulfuron-methyl hanno effetti molto drastici su Azcap1 anche a concentrazioni di 100 µg/ml (fig. 6). La maggior sensibilità del mutante rispetto al parentale, potrebbe indicare che la mutazione utile per la resistenza al Captan non lo sia altrettanto per gli erbicidi saggiati.

Agrobacterium radiobacter, al contrario di *A. chroococcum*, non subisce modificazioni nella crescita rispetto al testimone dopo l'aggiunta al mezzo di coltura di Rimsulfuron e Thifensulfuron-methyl durante le 24 ore di incubazione. Il Primisulfuron invece, ne inibisce la crescita del 30% (fig.7). Risultati analoghi

sono stati ottenuti da Babczinski e Zelinski (1991) per Clorosulfuron utilizzando il ceppo K 14 di *E.coli*.

Risultati simili a quelli ottenuti per *Agrobacterium radiobacter* si ottengono anche per il ceppo di *Enterobacter sp.*, ad opera di Primisulfuron (30% di inibizione); Rimsulfuron e Tifensulfuron-methyl non ne inibiscono la crescita (fig. 8).

Pseudomonas sp. risulta abbastanza sensibile al Tifensulfuron-methyl e Primisulfuron (riduzione della crescita di circa il 50%) (fig. 9).

Prove con alghe. Le sulfoniluree ad 1 mg/ml, nei 7 giorni di incubazione, limitano parzialmente la crescita di *Scenedesmus acutus* e *Anabaena azollae*, ma non di *Spirulina platensis* (tab. 1). Si può ipotizzare che le sulfoniluree, molto efficaci nell'inibire la sintesi di alcuni aminoacidi delle piante (Grossmann e al., 1992), non causino gravi danni a quella algale.

Conclusioni

I risultati ottenuti indicano che i vari erbicidi influenzano la microflora in maniera diversificata.

Le prove di respirazione e la conta totale non risultano influenzati negativamente dalla presenza dei pesticidi saggianti; ciò fa supporre che le attività globali del terreno non siano sostanzialmente intaccate. Thifensulfuron-methyl e Rimsulfuron determinano un in-

cremento della respirazione, nei primi cinque giorni di prova, di circa tre volte e Primisulfuron di circa due volte, cosa che testimonia la rapidità di demolizione di questi erbicidi e la relativa minor degradabilità di quest'ultimo prodotto.

Anche lo studio *in vitro* di specie e ceppi microbici mostra che tra le sulfoniluree Thifensulfuron-methyl e Rimsulfuron hanno un comportamento analo-

go mentre Primisulfuron risulta meno degradabile e più dannoso nei confronti della microflora. Dall'analisi degli effetti sulle alghe risulta che le sulfoniluree non hanno effetto sul cianobatterio *Spirulina platensis*, mentre ritardano la crescita delle alghe *Scenedesmus* ed *Anabaena* nei primi sette giorni di incubazione per una probabile alterazione nella sintesi aminoacidica.

Agrobacterium radiobacter,

Figura 8 - Crescita di *Enterobacter sp.* in presenza di 1 mg/ml di sulfoniluree

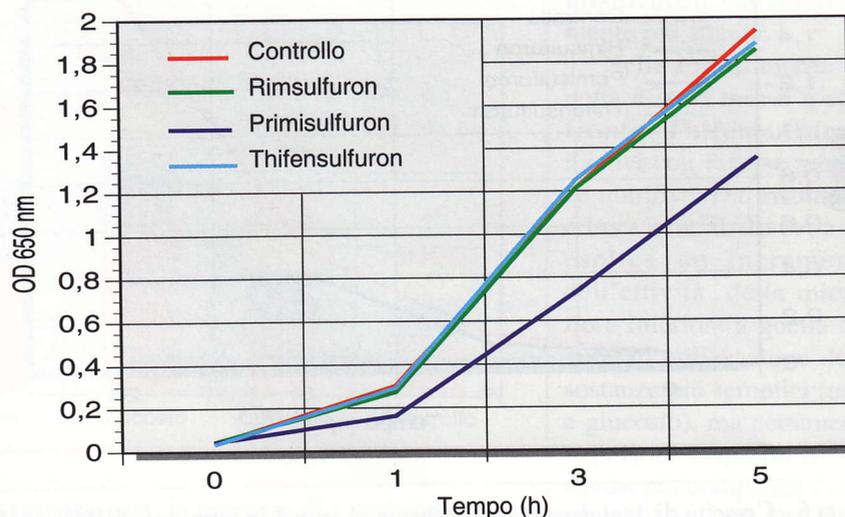


Figura 9 - Crescita di *Pseudomonas sp.* in presenza di 1 mg/ml di sulfoniluree

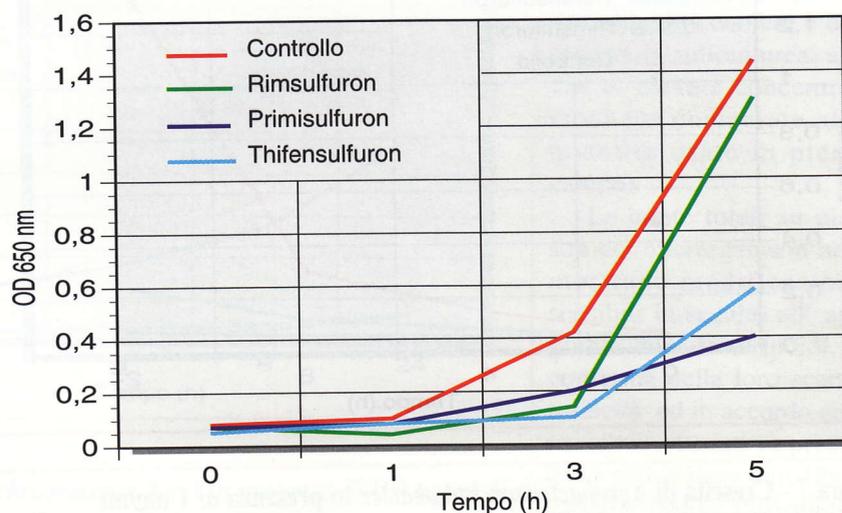


Tabella 1 - Effetto delle sulfoniluree, dopo sette giorni di incubazione, sulle alghe: positivo (+), crescita debole (±)

Alghe	Controllo	Rimsulfuron 1 mg/ml	Primsulfuron 1 mg/ml	Thifensulfuron 1 mg/ml
<i>Spirulina platensis</i>	+	+	+	+
<i>Scenedesmus acutus</i>	+	±	±	±
<i>Anabaena azollae</i>	+	±	±	±



Enterobacter sp. e *Pseudomonas* sp. sono parzialmente inibiti da Primsulfuron e quindi il loro contributo alla degradazione di tale erbicida, valutato col metodo della respirazione, dovrebbe essere limitato.

Infine anche *Azotobacter* risulta sensibile alle sulfoniluree Rimsulfuron e Thifensulfuron-methyl. È da notare la maggior sensibilità di Azcap1, mutante spontaneo resistente ai fungicidi

Captan e Carboxin, rispetto al parentale Azwt, anche alla concentrazione di 100 g/ml di sulfoniluree.

In definitiva le sulfoniluree non sembrano alterare particolarmente l'attività globale del suolo ed è auspicabile una loro maggior diffusione in sostituzione degli erbicidi di pre-emergenza, con conseguente sensibile riduzione della quantità di diserbanti immessi negli agro-ecosistemi ed una diminuzione di rischi ambientali e sanitari. La maggiore sensibilità dimostrata dal mutante Azcap1 rispetto al parentale Azwt, deve indurre a tener conto nella introduzione di nuovi pesticidi, di eventuali conseguenze sugli equilibri delle comunità del suolo stabiliti dalle precedenti pratiche colturali.

stemi ed una diminuzione di rischi ambientali e sanitari. La maggiore sensibilità dimostrata dal mutante Azcap1 rispetto al parentale Azwt, deve indurre a tener conto nella introduzione di nuovi pesticidi, di eventuali conseguenze sugli equilibri delle comunità del suolo stabiliti dalle precedenti pratiche colturali.

BIBLIOGRAFIA

AIROLDI, M., CASOLA, F., FILIPPI, G., RUBERTI, R., SAPORITI, G., 1992. CGA 136872: un nuovo erbicida di post-emergenza per il diserbo del mais. Atti Giornate Fitopatologiche, 1, 85-92.

BABCZINSKI, P., ZELINSKI, T., 1991. Mode of Action of Herbicidal ALS-Inhibitors on Acetolactate Synthase from Green Plant Cell Cultures, Yeast, and *Escherichia coli*. Pesticide Science, 31, 305-323.

BASSI A., 1987. Erbicidi sulfonilureici. Informatore Fitopatologico, 10, 19-30.

BASSI A., 1993. Rimsulfuron. Informatore Fitopatologico, 3, 37-48.

BIN, O., 1993. Verso il post-emergenza per contenere costi e impatto ambientale. Informatore Agrario, 12, 77-90.

BLACKLOW, W.M., PHELOUNG, P.C., 1992. Sulfonilurea Herbicides Applied to Acidic Sandy Soils: Movement, Persistence and Activity within the growing Season. Australian Journal of Agricultural Research, 43, 5, 1157-1167.

BROWN, H.M., 1990. Mode of Action, Crop Selectivity, and Soil Relations of the Sulfonilurea Herbicides. Pesticide Science, 29, 263-281.

CAMBON, J.P., BASTIDE, J., 1992. Chemical or Microbial Degradation of Sulfonilureas in Soil: III Thifensulfuron-methyl. Weed



Research (Oxford), 32, 5, 357-362.

CASE, C.L., JOHNSON, T.R., 1984. *Laboratory Experiments in Microbiology*. In: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Menlo Park, California.

DEVINE M., DUKE S. O., FEDTKE C., 1993. *Physiology of herbicide action*. PTR Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

EDWARDS, N. T., 1982. *The use of soda-lime for measuring respiration rates in terrestrial systems*. *Pedobiologia*, 23, 321-330.

GROSSMANN, K., BERGHAUS, R., RETZLAFF, G., 1992. *Heterotrophic Plant Cell Suspension Cultures for Monitoring Biological Activity in Agrochemical Research*. Comparison with Screens Using Algae, Germinating Seeds and Whole Plants. *Pesticide Science*, 35, 283-289.

KING, E.O., WARD, M.K., RAINEY, D.E. (1954): *Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin*. *Journal of Laboratory Clinical Medicine* 44, 301.

MARTENSSON, A., 1990. *Persistent Effects on Biological Nitrogen-fixing Microorganisms by the Herbicide 2,4-D*. Proc. 8th Int. Congr. on Nitrogen Fixation, Knoxville Tennessee USA, 663.

MAURER, W., GERBER, H. R., RUFENER, J., 1987. *CGA 136872: a new post-emergence Herbicide for the selective control of Sorghum spp. and Elymus repens in maize*. Proc. British Crop Conference, Brighton, UK, 1, 41-48.

MICLAUS, N., GREGORI, E., CHINI-ZITTELLI, G., COIANIZ, P., SASSO, A., 1991. *Isolamento e Caratterizzazione di un Mutante di Azotobacter chroococcum Resistente al Captan*. *Annali ISSDS*, XX, 19-39.

MICLAUS, N., VANNINI, C., CELANO, G., PICCOLO A., SIMONCINI, S., 1992. *Evidence of reduced poly-hydroxybutyrate biosynthesis in free-living nitrogen-fixing bacteria, Az. chroococcum, following acquired resistance to the fungicide captan*. *The Science of the Total Environment*,

123/124, 361-375.

MOBERG, W.K., 1990. *Herbicides Inhibiting Branched-Chain Acid Biosynthesis*. *Pesticide Science*, 29, 241-246.

NEWTON, J. W., WILSON, P.W., BURRIS, R.H., (1953): *Direct demonstration of ammonia as an intermediate in nitrogen fixation by Azotobacter*. *Journal of Biological Biochemistry* 19, 445-451.

PIOVANELLI, C., 1990. *Risultati preliminari su una prova di diserbo del mais*. Atti II Conferenza Nazionale sul Mais, Grado (GO), 403-411.

PIOVANELLI C., 1991. *Problemi, attualità e prospettive del diserbo del mais*. *Agricoltura Ricerca*, 122, 3-18.

RAPPARINI, G., 1993. *Il diserbo preventivo del mais e del sorgo*. *L'Informatore Agrario*, 5, 73-83.

RAY T.B., 1984. *Site of action of Chlorosulfuron; A new herbicide for cereals*. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 17, 10-17.

SCALLA R., 1991. *Les herbicides, mode d' action et principes d' utilisation*. I.N.R.A. Paris.

SCHLOSS, J.V., 1990. *Acetolactate Synthase, Mechanism of action and its Herbicide Binding Site*. *Pesticide Science*, 29, 283-292.

SMITH, A., AUBIN, A.J., 1992. *Degradation of the Sulfonylurea herbicide [¹⁴C]amidosulfuron in Saskatchewan Soils under Laboratory Conditions*. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 40, 12, 2500-2504.

STEVENS, M., DUXBURY, T., 1992. *Aspergillus niger and Penicillium sp. are not Directly Involved in the Degradation of Chlorosulfuron*. *Pesticide Science*, 36, 287-291.

WARDLE, D.A., RAHMAN, A., 1992. *Side Effects of Herbicides on the Soil Microbial Biomass*. In Proc. of the 1th Int. Weed Control Congress. Melbourne Aus.; Weed Science Society of Victoria, 2, 561-564.