

***QUÍMICA Y TOXICOLOGÍA
AMBIENTAL
EN AMÉRICA LATINA***

Editor: Jorge Herckovits



Society of Environmental Toxicology and Chemistry

ISBN 978-987-25370-0-5

200 pp.

2009

IMPACTO DEL USO DE AGROQUÍMICOS EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ORGANISMOS DEL SUELO

Rosana Giménez², Rubén Massaro³, Juan Carlos Papa³, Julio Fuchs^{1,4}, Lucas Piola¹, Norma Casabé^{1,4}, María Luisa Oneto¹, Silvana Basack¹, Laura Pamparato¹, Eva Kesten¹.

¹Toxicología y Química Legal - Depto. de Química Biológica - FCEN- UBA. ²Zoología Agrícola- FAUBA. ³INTA-EEA Oliveros. ⁴CONICET. e-mail: ekesten@qb.fcen.uba.ar

ABSTRACT

Organic matter decomposition was assessed by litterbag and bait-lamina techniques in soya fields sprayed at the recommended rates with commercial formulations of chlorpyrifos or glyphosate. Litterbags showed no effect of meshes and no significant weight loss differences between treatments and controls. Bait-laminas were left 50 days in the field. A laboratory bait-lamina test was also performed, exposing *Eisenia fetida andrei* earthworms to the field soil samples during 3 days. In both bait-lamina tests, the feeding activity diminished in treated soils ($p < 0,05$) being more sensitive than litterbag test for detecting a biological effect of both pesticides on agricultural soils.

INTRODUCCIÓN

La descomposición de la materia orgánica (DMO) en el suelo es una importante función biológica, estrechamente relacionada con la actividad alimentaria de los organismos del suelo (Reinecke et al 2002, Knacker, 2003). La alteración de este proceso por el uso de plaguicidas puede modificar los ciclos de nutrientes y, a largo plazo, la fertilidad del suelo. Dado que los componentes del suelo influyen en la biodisponibilidad de los xenobióticos, es aconsejable ensayar los efectos de estos compuestos en condiciones locales (Kördel y Römbke 2001). El objetivo de este trabajo fue determinar si el uso del insecticida organofosforado clorpirifos (CPF) y el herbicida glifosato (GLI) en un cultivo de soja resistente a glifosato en siembra directa, afecta la DMO, cuando estos plaguicidas son aplicados en condiciones de uso corriente. Se compararon dos técnicas que difieren en la materia orgánica y en el modo de exposición de la misma: la de bolsas con hojarasca y la de láminas-cebo (Ingelsfield, 1989, Knacker, 2003, Von Törne, 1990). La técnica de las bolsas de hojarasca provee una medida de la contribución de un amplio rango de organismos del suelo a la DMO. Mediante la técnica de las láminas-cebo se obtiene una medida de la actividad alimentaria de la macrofauna, permitiendo además efectuar estudios de la distribución en profundidad de dicha actividad (Knacker 2003). Esta última técnica se usó también para estudios de laboratorio, según lo recomendado por Helling (1997), empleando lombrices *Eisenia fetida andrei* como organismos de prueba, las cuales se expusieron a los suelos recolectados en el campo luego de los tratamientos. Algunas de estas técnicas podrían ser de utilidad en la evaluación de del riesgo ecotoxicológico de suelos tratados con CPF y/o GLI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Terreno: Suelo arcillo limoso (Argiudol Maciel típico, INTA 1985) ubicado cerca de la estación experimental de INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) en Oliveros, Pcia. de Santa Fé (32°48'S, 62° W), en el cual se realizó el cultivo de soja resistente a glifosato (RR-Roundup Ready®), en siembra directa. Este suelo presentó una estructura compactada y la pérdida de la capa superficial debido al material de origen y a demasiados años de agricultura continua. Sus características fisicoquímicas fueron: pH 5.64-5.79, conductividad eléctrica 53,7-69,7 μ s, C orgánica 1,56-1,60%, N orgánica 0,134-0,136%, C/N 11,6-11,9, Ca 1,250-1,317 ppm, K 292-317 ppm, Mg 183-184 ppm, y P 14,7-26,3 ppm, según los análisis realizados en el Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS), Buenos Aires, Argentina.

Tratamientos y muestreo: El diseño experimental consistió en 3 bloques, cada uno de los cuales contenía 3 parcelas de 13m x 5m. En ellas, los plaguicidas se aplicaron mediante pulverizadora manual, y tanto éstos como los controles (rociados con agua), se asignaron al azar siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado, con tres replicados. La distancia entre los bloques fue de más de 500 m. Se utilizaron formulados comerciales de clorpirifos (CPF; Atanor 48, CE) y glifosato (GLI; Round Up, FG). CPF (620 g i.a./ha) se aplicó una sola vez a 30 días de la siembra (t_0), y GLI (1440 g i.a./ha) dos veces, 24 h después de la siembra y a t_0 . El estudio fue realizado en verano (diciembre de 2004 a marzo de 2005). Se tomaron muestras de la capa de 0-10 cm a distintos tiempos, para la cuantificación de plaguicidas. Las determinaciones de CPF fueron realizadas por el Servicio Nacional de Agricultura y de Sanidad Alimentaria (SENASA), Buenos Aires, Argentina y las de GLI, por el Instituto de la Tecnología para la Industria Química (INTEC), Santa Fe, Argentina. Para el bioensayo de láminas-cebo de laboratorio se tomaron muestras de los suelos entre las filas de soja (capa 0-10 cm) 24 horas después de t_0 , denominándose este tiempo t_1 . Estos suelos se tamizaron por malla de 2 mm; se determinaron porcentaje de humedad y capacidad de retención acuosa.

Técnica de las bolsas con hojarasca: Se realizó una adaptación de la técnica de Ingelsfield (1989). Se usaron bolsas de polietileno de 15 cm x 25 cm y de 100 μ m de espesor, rellenas con 30,000 \pm 0,001 g de heno de alfalfa secado en estufa. A la mitad de las bolsas se les practicaron orificios de 0,2 mm (M_1), y al resto orificios de 3,6 mm (M_2). M_1 permite el paso de micro y mesofauna, mientras que en M_2 puede ingresar además, la macrofauna. Las bolsas precintadas se enterraron a 10 cm de profundidad antes de realizar los tratamientos. Se desenterraron a los 10 (t_2), 50 (t_3) o 90 (t_4) días posteriores a t_0 . Su contenido fue secado a 50° C durante 48 horas y pesado. Se calculó el % de pérdida de peso al tiempo de muestreo respecto del peso inicial.

Técnica de las láminas-cebo: Se realizó de acuerdo con von Törne (1990). Se emplearon láminas de PVC (12 cm de largo, 1 cm de ancho y 1 mm de espesor) con 16 orificios de 1 mm de diámetro. Cada orificio se rellenó con una mezcla húmeda de celulosa, salvado de trigo y carbón activado vegetal (6,9:3:0,1) utilizada como cebo. Las mismas se dejaron secar unos días antes de ser utilizadas.

- **Ensayo a campo:** Las láminas se clavaron cuidadosamente en forma vertical en los entresurcos antes de los tratamientos con plaguicidas, formando grupos de 16 láminas (4 x 4) separadas a 10 cm entre ellas (von Törne 1990). Luego de 50 días se retiraron las láminas del suelo.

- **Ensayo en laboratorio:** Se utilizó una adaptación de la técnica de Helling et al. (1998). Ejemplares adultos de *Eisenia fetida andrei*, con clitelo desarrollado, de 3-6 meses de edad y pesos comprendidos entre 300-600 mg, se dejaron depurar en papel de filtro húmedo durante un mínimo de 3 h. Para cada tratamiento se ensayaron 4 potes (350 g) conteniendo 4 láminas cebo y 6 lombrices cada uno. Al iniciarse los ensayos, la humedad se ajustó al 60 % de la capacidad de retención acuosa. Luego de 3 días se retiraron las láminas del suelo.

- **Evaluación del consumo de cebo:** En ambos ensayos, se registró el número y distribución de orificios vacíos por lámina. El grado de consumo del cebo se estimó como el porcentaje promedio de agujeros vacíos en las láminas para cada uno de los tratamientos.

Análisis estadístico de los resultados: En todos los casos los datos fueron analizados utilizando ANOVA de una vía y test de Tukey-Kramer, o métodos no paramétricos según corresponda.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CPF no fue detectado ni en los suelos controles ni en los tratados con GLI. A t_1 , los suelos rociados con CPF presentaron una concentración media de $0,04 \pm 0,01$ ppm, mientras que no fue detectado en los suelos a ningún otro tiempo posterior de muestreo (límite de detección: 0,01 ppm). GLI estuvo debajo del límite de detección (0,05 ppm) en todas las muestras. Dos características especiales de las parcelas tratadas con GLI indicaron la eficacia de la aplicación del herbicida: la ausencia de malezas en los entresurcos de la soja y el rendimiento significativamente mayor de la soja al finalizar el ciclo.

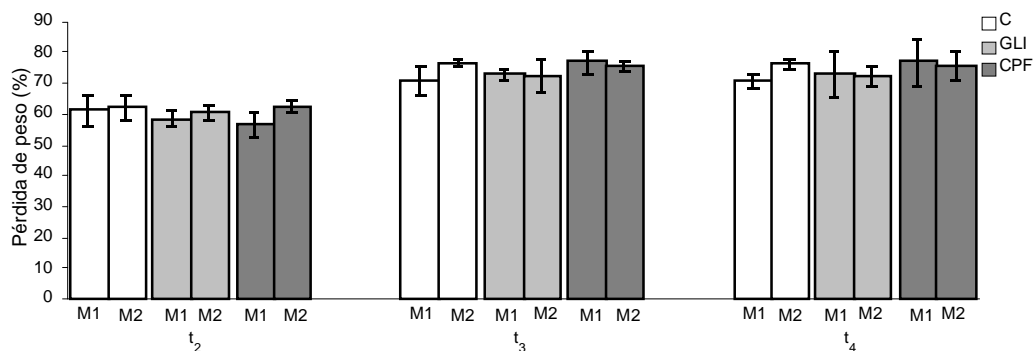


Figura 1. Ensayo de campo de bolsas con hojarasca. Porcentaje de pérdida de peso en bolsas con malla fina (M1) y gruesa (M2). Media \pm SD (2 réplicas/tratamiento/bloque). (ANOVA y post test de Tukey, $p > 0.05$).

La Figura 1 muestra el porcentaje de pérdida de peso en las bolsas con hojarasca a t_2 , t_3 y t_4 . Si bien se observa un ligero aumento de la DMO con el tiempo de permanencia de las bolsas en los suelos, en ningún caso hubo diferencias significativas entre tratamientos y controles. Tampoco se observó efecto de mallas, sugiriendo que la contribución de la macrofauna del suelo a la DMO fue escasa.

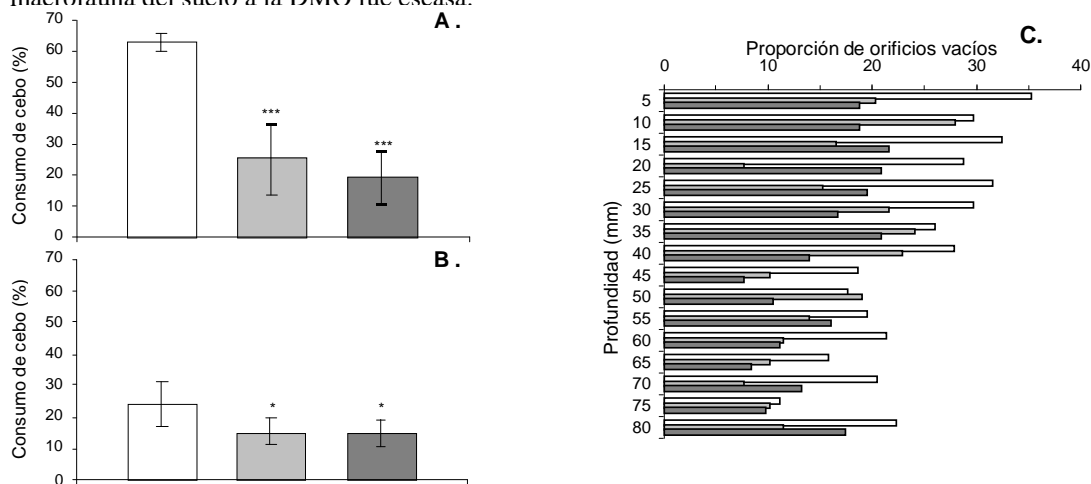


Figura 2. Ensayo de láminas-cebo. **A.** En campo. Media \pm SD (3 replicados/tratamiento/bloque). (ANOVA y post test de Tukey, * $p < 0.05$). **B.** En laboratorio. Media \pm SD (4 replicados/tratamiento/bloque). (Kruskal-Wallis y post-test de Dunn. *** $p < 0.001$). **C.** Distribución de orificios vacíos con la profundidad ($n=144$). en el ensayo de campo.

Después de la exposición durante 50 días de las láminas-cebo en el campo, el consumo de cebo por la macrofauna del suelo resultó bajo; sin embargo, la actividad alimentaria se encontró reducida significativamente ($p < 0.05$) en suelos tratados comparado con los controles (Figura 2A). La Figura 2C muestra la distribución vertical de la actividad de perforación del cebo; en general se observa una disminución de la misma con la profundidad. La compactación del suelo puede haber influido en la estratificación de la actividad alimentaria observada (Taboada et al. 1998, Förster et al. 2004).

El consumo de cebo de las láminas por lombrices *Eisenia fetida andrei* expuestas durante 3 días en el laboratorio a los suelos recogidos a t_1 (Figura 2B) resultó más alto que en el campo, a pesar de que el tiempo fue mucho menor. Además el consumo en los suelos tratados con GLI y CPF se redujo significativamente ($p < 0.001$) respecto de los controles. Förster et al. (2004) encontraron correlación entre la velocidad de consumo de los cebos de las láminas y la densidad de lombrices en el suelo. Nuestros resultados estarían de acuerdo con la baja densidad de lombrices en el campo, revelada por exámenes ocasionales realizados durante el curso del experimento. Pocos trabajos aplicaron el método de las láminas-cebo en laboratorio (Helling et al. 1998, Van Gestel et al. 2001). Nuestros estudios demostraron un patrón similar de efecto de los tratamientos con GLI y CPF respecto del observado a campo (Figuras 2A y 2B). La evaluación de la actividad alimentaria bajo condiciones de laboratorio resultó simple y rápida (3 días) y podría constituir una herramienta práctica para complementar estudios del efecto de GLI Y CPF en suelos agrícolas.

CONCLUSIONES

Cada uno de los métodos empleados para evaluar la descomposición de la materia orgánica revela un patrón específico de respuesta debido a diferencias en la calidad y modo de exposición de la materia orgánica y, por lo tanto, pueden no correlacionarse entre ellos.

En las condiciones ensayadas, el método de láminas-cebo resultó más adecuado para la detección de un efecto biológico significativo. Podría ser útil para realizar estudios preliminares en suelos agrícolas de la Argentina tratados con los formulados comerciales de clorpirifos o glifosato

AGRADECIMIENTOS. Agradecemos a la Universidad de Buenos Aires por el subsidio X-208 (2004–2007) y al CONICET por el subsidio PIP 5010 (2005–2006) y al Dr. Jorge Kempny del SENASA por las determinaciones de clorpirifos.

REFERENCIAS

- Förster B, Van Gestel C, Koolhaas J, et al. 2004. *Ring-testing and field-validation of a terrestrial model ecosystem (TME) – An instrument for testing potentially harmful substances: Effects of carbendazim on organic matter breakdown and soil fauna feeding activity.* Ecotoxicology 13, 129–141.
- Helling B, Pfeiff G, Larink O 1998. *A comparison of feeding activity of collembolan and enchytraeid in laboratory studies using the baitlamina test.* Appl Soil Ecol 7, 207–212.
- Ingelsfield C .1989. *Pyrethroids and terrestrial non-target organisms.* Pest Sci 27, 387–428.
- Kördel W, Römbke J. 2001. *Requirements on physical, chemical and biological testing methods for estimating the quality of soils and soil substrates.* Extended summary of the GDCh monograph. J Soils Sediments 20, 98–104.
- Knacker T, Förster B, Römbke J et al. 2003. *Assessing the effects of plant protection products on organic matter breakdown in arable fields-litter decomposition test systems.* Soil Biol Biochem 35, 1269–1287
- Reinecke AJ, Helling B, Louw K et al. 2002. *The impact of different herbicides and cover crops on soil biological activity in vineyards in the Western Cape, South Africa.* Pedobiologia, 46,475-484
- Taboada M, Micucci F, Cosentino D, et al. 1998. *Comparison of compaction induced by conventional and zero tillage in two soils of the Rolling Pampa of Argentina.* Soil Till Res 49, 57–63
- Van Gestel C, Van der Waarde J, Dersken J . 2001. *The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil polluted soils.* Environ Toxicol Chem 20,1438–1449
- Von Törne E .1990. *Assessing feeding activities of soil-living animals: Bait-lamina tests.* Pedobiologia 34, 89–101.