

Resumen Expandido: trabajo presentado en el 3º Congreso de Soja del Mercosur MERCOSOJA 2006.

IMPACTO DE AGROQUÍMICOS SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL SUELO

R.A. Giménez*, J. Fuchs^{†§}, L. Piola[†], N. Casabé^{†§}, R. Massaro[‡], J.C. Papa[‡], M. Oneto[†], S. Basack[†], M. Pamparato[†], E. Kesten[†].

*Cát. De Zoología Agrícola, Fac. de Agronomía, UBA. San Martín 4453, CP 1417, Buenos Aires, Argentina. E-mail: rgimenez@agro.uba.ar. [†] Toxicología y Qca. Legal, Depto. de Qca. Biológica, FCEN, UBA, Ciudad Universitaria, Pab.II, (1428) Bs. As. [§] CONICET. [‡] EEA INTA Oliveros, Sta. Fe.

Palabras clave: glifosato, clorpirifos, siembra directa, descomposición, lombrices, macrofauna.

Introducción

Actividades agrícolas como diferentes métodos de labranza, fertilización y aplicación de plaguicidas, han influenciado dramáticamente el ecosistema suelo (Paoletti 1999). Hay una necesidad urgente de métodos biológicamente relevantes para ensayar la calidad del sistema suelo. En particular, se necesitan alertas tempranas, que den una respuesta capaz de predecir efectos adversos antes de que ocurran (Ruf et al 2003). La actividad biológica del suelo es un proceso funcional de importancia para los ecosistemas terrestres y su perturbación puede modificar la transformación de nutrientes, y, a largo plazo, la fertilidad del suelo. Las lombrices, por su rol principal en la incorporación y descomposición de materia orgánica, y en el desarrollo y mantenimiento de la estructura del suelo, son consideradas indicadores valiosos tanto de la contaminación como de la salud del suelo (Bierkens et al 1998, Edwards et al 1996, Langdon et al 2003). Entre ellas, *Eisenia fetida andrei* es el organismo estándar usado en ecotoxicología terrestre por la Unión Europea y por la US-EPA (Agencia de Protección Ambiental de EEUU) (OECD 1984, ISO 1993, 1999).

En el presente trabajo se evaluó el efecto de clorpirifos y glifosato en la actividad biológica del suelo, luego del tratamiento con formulados comerciales en cultivo de soja resistente a glifosato, en siembra directa, mediante diversos ensayos de laboratorio y de campo:

- 1) Evaluación de la descomposición de la materia orgánica vegetal (DMO) mediante el método de las bolsas de hojarasca (en campo). La DMO puede considerarse como la velocidad de cambio con el tiempo de cualquier recurso orgánico no viviente. Es un proceso complejo y en el mismo no sólo intervienen macroorganismos, sino la mayoría de los organismos del suelo.
- 2) Evaluación de la actividad alimentaria de la macrofauna (AAM) usando láminas-cebo (en campo y en laboratorio). La AAM es un parámetro integrador de la "actividad alimentaria" de invertebrados y microorganismos del suelo, aunque estos últimos contribuyen en muy pequeña proporción.
- 3) Evaluación de la respuesta de evasión: estos ensayos se basan en el hecho de que las lombrices poseen quimiorreceptores altamente sensibles a los estímulos químicos ambientales, y pueden emigrar de hábitats adversos, con la consecuente pérdida de sus funciones benéficas.

Se evaluó además la población de malezas y macrofauna edáfica, rendimientos, y se realizó el análisis físico químico de suelos.

El conjunto de investigaciones a desarrollar permitirá ganar conocimiento acerca de métodos biológicamente relevantes para evaluar el impacto de plaguicidas en las prácticas agrícolas, de modo de contribuir a la utilización sustentable de suelos, sin comprometer su rendimiento y fertilidad.

Materiales y Métodos

Este trabajo se realizó en Oliveros (Santa Fe), en un cultivo de soja RG Don Mario 4800, bajo siembra directa, en rotación soja y trigo-soja durante los 4 años previos y que había sido destinado a agricultura durante los últimos 15 años. Este suelo limoso, que ha sufrido moderada pérdida de la capa superficial, presentó escasa cobertura de rastrojo al inicio del ensayo.

1. Estudios en condiciones de campo:

La selección de las parcelas a estudiar se realizó según la norma ISO 11268-3 (1999). Los suelos fueron tratados con formulados comerciales de glifosato (GLI), Round Up, FG, 1440 g i.a./ha, aplicados dos veces, a 24 h y 30 días de la siembra, y clorpirifos (CIP), Atanor 48 EC, 620 g i.a./ha aplicado a los 30 días de la siembra. Los testigos fueron pulverizados con agua. Se siguió un diseño en bloques completamente aleatorizado, con tres repeticiones.

a. *Efecto sobre descomposición de la materia orgánica (DMO)*: Se usó la técnica de las bolsas de hojarasca (Bocock et al 1957, Cortet et al. 2002). Al inicio del ensayo (en pretratamiento) se enterraron en el suelo bolsas de polietileno, con dos tamaños de malla (orificios de 0,20 mm y 3,6 mm), con heno de alfalfa. La malla pequeña es accesible a microorganismos y algunos invertebrados, excluyendo organismos de mayor tamaño como oligoquetos, mientras que los orificios más grandes permiten la entrada indiscriminada de micro, meso y macrofauna. La descomposición de materia orgánica se estimó por la variación de peso a distintos tiempos de muestreo (Stadler 1998). Luego se calculó el índice de macrofauna, para cuantificar la importancia relativa de este grupo en la DMO por efecto de los tratamientos.

b. *Efecto sobre la AAM*: Se emplean láminas de cloruro de polivinilo (PVC) con 16 orificios de 1 mm, que se llenan con una mezcla húmeda de celulosa, salvado de trigo y carbón activado vegetal (6.9:3:0.1) utilizada como cebo. Las láminas se enterraron superficialmente en forma vertical en los entresurcos formando grupos de 16 láminas (4 x 4) separadas a 10 cm entre ellas. Luego de 50 días se retiraron las láminas y se registra el número de orificios vacíos (Schaefer 2003).

c. *Abundancia relativa y diversidad de lombrices*: La extracción de lombrices se efectuó por los métodos de la formalina y manual.

Para los bioensayos de laboratorio y determinaciones físico-químicas, se tomaron muestras de los suelos (capa 0-10 cm) a distintos tiempos.

2. Estudios en condiciones de laboratorio.

Se utilizaron ejemplares adultos de *Eisenia fetida andrei* (cepa FCEN-UBA), con clitelo desarrollado, de 3-6 meses de edad y pesos comprendidos entre 400-600 mg. Los individuos se dejaron depurar en papel de filtro húmedo por 24 horas. Los suelos muestreados se tamizaron por malla de 2 mm; se determinaron porcentaje de humedad y capacidad de retención acuosa (WHC).

a. *Evaluación de la AAM por adaptación de Helling et al (1998)*. 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 WHC. Luego de 3 días se retiraron las láminas del suelo. Se registró el número y distribución de orificios vacíos por lámina. La AAM se evaluó como el porcentaje promedio de orificios total o parcialmente vacíos para cada uno de los tratamientos.

b. *Ensayos de evasión*: se usaron contenedores plásticos divididos en dos secciones iguales con una lámina removible, que se llenaron con aproximadamente 500 g de suelo. En una de las secciones se colocó suelo testigo, en la otra suelo tratado. Luego de remover el separador, se colocaron 10 lombrices en la línea central de la superficie de los suelos y se taparon las cámaras. Después de 72 horas, se insertó la lámina para separar los dos suelos, y se registró el número de lombrices en cada suelo testeado. Se realizaron cuatro replicados por cada ensayo. En cada experimento se incluyeron 4 recipientes con el mismo suelo testigo en ambas secciones (control dual).

3. Análisis estadístico de los resultados

Los datos fueron analizados utilizando ANOVA de una vía y test de Tukey o métodos no paramétricos según corresponda.

Resultados y conclusiones

Las malezas tuvieron una cobertura media del 20% en las parcelas tratadas con clorpirifos y testigos, mientras que con glifosato fue menor al 5%; en concordancia los rendimientos difirieron significativamente entre los tratamientos ($p < 0.05$), siendo mayores en las parcelas tratadas con glifosato (aprox. 31 qq/ha). Las *malezas presentes fueron: Parietaria sp., Digitaria sanguinalis, Gamochoetta spicatta, Bowlesia incana* en todas las parcelas, y Comelina sp. en un 65% de las muestras. También Coniza bonariensis se registró en un 22% las muestras. Por otro lado, la macrofauna resultó muy escasa, estando prácticamente ausentes las lombrices, ya que sólo se encontraron 2 ejemplares inmaduros en los 27 muestreos realizados. Por ser ejemplares inmaduros no se pudo llevar a cabo la determinación taxonómicamente. Cabe destacar que carencia de lombrices ha sido informada en suelos con muchos años de agricultura bajo laboreo en otros países. Por otro lado, se registró la presencia de Calosoma argentinensis (Coleoptera) en el 60% de las muestras, y escasos números de cienpies, vaquitas predatoras y nidos de hormigas coloradas.

Con respecto a la DMO, no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y los testigos durante el ensayo a 10, 50 y 93 días del tratamiento con clorpirifos y del 2do. de glifosato. Tampoco se encontró efecto de mallas (IM cercano a 1), como era de esperar dado el bajo recuento de macrofauna registrado.

En los estudios con lámina cebo en los ensayos a campo, al cabo de 50 días, el análisis de la AAM indica que hay un bajo consumo de cebo, debido a la muy baja densidad de lombrices en los suelos ensayados (similar a lo evidenciado por el IM). Sin embargo, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre testigos y suelos tratados, implicando que la AAM se ve afectada por el tratamiento con los formulados empleados. La actividad alimentaria varió con la profundidad del suelo; en general, el máximo se registró en las capas superiores. La compactación del suelo puede haber influido en la estratificación de la AAM observada.

En laboratorio, la exposición a los suelos tratados con los formulados de GLI y CIP muestreados a 24 horas del tratamiento con CIP, también produjo una disminución significativa ($p < 0.001$) en la AAM de lombrices Eisenia fetida andrei.

La preferencia o rechazo de los suelos tratados frente a suelos testigos, se ensayó luego de 3 días de exposición de ejemplares de E. fetida andrei en recipientes "ad hoc". Las lombrices mostraron una tendencia significativa ($p < 0.05$) a evitar los suelos tratados con GLI muestreados a 10 días del tratamiento con CIP. No hubo diferencias visibles en el caso de los suelos tratados con CIP.

Cada uno de los métodos empleados para evaluar la actividad biológica del suelo 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. Este trabajo reveló efectos deletéreos de las formulaciones de glifosato y clorpirifos, aplicadas a las concentraciones recomendadas. Sin embargo, las respuestas evaluadas ocurren a concentraciones en las que no hay mortalidad, indicando su utilidad para la detección temprana de efectos adversos de los agroquímicos sobre las poblaciones de lombrices.

Agradecimientos

Este estudio fue posible gracias al subsidio de UBACyT, Proyecto código X 208. Además agradecemos a la Dra. Catalina Mischis (Cát. De Diversidad animal, FCN, UN Córdoba) por su colaboración para certificar la pureza de la cría de lombrices del laboratorio de la Cátedra de Toxicología y Qca. Legal (FCEN-UBA).

Bibliografía

- BIERKENS J, Klein G, Corbisier P, Van den Heuvel R, Verschaeve L, Weltens R, Schoeters G. 1998. Comparative sensitivity of 20 bioassays for soil quality. Chemosphere, 37 (14-15): 2935-2947.
- BOCOCK K.L; GILBERT O.J. 1957. The disappearance of leaf litter under different woodland conditions. Plant and Soil 9: 179-85.

- CORTET J; GILLON D; JOFFRE R; OURCIVAL J.M; POISONT-BELAGUER N. 2002. Effect of pesticides on organic matter recycling and microarthropods in a maize field: use and discussion of the litterbag methodology. *European J Soil Biol.* 38: 261-65.
- EDWARDS CA, Bohlen PJ. 1996. *Biology of Earthworms*, 3^d edn., Chapman & Hall, London.
- HELLING B, Pfeiff G, Larink O. 1998. A comparison of feeding activity of collembolan and enchytraeid in laboratory studies using the bait-lamina test, *Applied Soil Ecology*, 7, 207-212.
- ISO (International Organization for Standardization) 1993. 11268-1: Soil quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) - Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate.
- ISO 1999. 11268-3: Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations.
- LANGDON CJ, Pearce TG, Meharg AA, Semple KT. 2003. Interactions between earthworms and arsenic in the soil environment: a review, *Environmental Pollution*, 124, (3): 361-373.
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) 1984. Earthworm acute toxicity tests, N° 207. In *OECD Guideline for testing of Chemicals*, OECD, Paris, France.
- PAOLETTI MG, (1999). The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74, 137-155.
- RUF A, Beck L, Dreher P, Hund-Rinke K, Römbke J, Spelda J. 2003. A biological classification concept for the assessment of soil quality: "biological soil classification scheme" (BBSK), *Agriculture, Ecosystems & Environment*.
- SCHAEFER M. 2003. Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology *J. soils & sediments*, 3, (2), 79-84.
- STADLER T. 1998. Bioindicadores de la contaminación de suelos: efectos secundarios de insecticidas sobre la fauna edáfica. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia e Instituto Nacional de Investigaciones en Ciencias Naturales*, Buenos Aires, Argentina, Vol. *Ecotoxicología*, Nueva Serie N° 153, 1-10.