

# EFFECTOS DEL HERBICIDA RON-DO® SOBRE *Ceriodaphnia reticulata* (CRUSTACEA, CLADOCERA) Y DEGRADABILIDAD DEL GLIFOSATO (N-FOSFOMETILGLICINA) EN CONDICIONES EXPERIMENTALES

ANA MARÍA GAGNETEN,<sup>1</sup> MARÍA INÉS MAITRE,<sup>2</sup> ULISES RENO,<sup>1</sup>  
LUCIANA REGALDO,<sup>1</sup> SOLEDAD ROLDÁN<sup>1</sup> y SUSANA ENRIQUE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria,  
Pje. El Pozo s/n, 3000 Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup> INTEC (UNL-CONICET). Güemes 3450.

(3000) Santa Fe, Argentina. E-mail: amgagneten@gmail.com.ar

## RESUMEN

En Argentina la expansión de áreas sembradas con soja transgénica produjo un incremento en el consumo de plaguicidas, principalmente del herbicida glifosato (N-fosfometilglicina), con el consiguiente impacto sobre las aguas superficiales y su biota. La necesidad de conocer el efecto del herbicida más utilizado en la Argentina sobre una especie de cladóceros nativos, llevó a plantear los objetivos de este trabajo: 1) evaluar posibles efectos tóxicos del glifosato en su formulación comercial Ron-do®, sobre la sobrevivencia, la fecundidad y la tasa neta de crecimiento poblacional (Ro) de *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera), en ensayos crónicos durante 13 días; 2) evaluar la degradabilidad del glifosato, y detectar la posible presencia de su principal metabolito de degradación, el ácido aminometilfosfónico (AMPA). No se observaron efectos adversos sobre la sobrevivencia de *C. reticulata* pero el incremento en la concentración del contaminante produjo disminución significativa de la fecundidad. Los valores de Ro disminuyeron con el aumento en la concentración de glifosato, mostrando que este parámetro integrador es un buen bioindicador de toxicidad. La vida media del glifosato fue variable según a las concentraciones empleadas; la degradación del glifosato fue gradual a lo largo de los ensayos, sin la aparición de su metabolito AMPA.

### Palabras clave:

Glifosato, *Ceriodaphnia reticulata*, bioindicadores.

# EFFECTS OF HERBICIDE RON-DO® ON *Ceriodaphnia reticulata* (CRUSTACEA, CLADOCERA) AND DEGRADABILITY OF GLYPHOSATE (N-PHOSPHOMETHYLGLYCINE) UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

**ANA MARÍA GAGNETEN,<sup>1</sup> MARÍA INÉS MAITRE,<sup>2</sup> ULISES RENO,<sup>1</sup>  
LUCIANA REGALDO,<sup>1</sup> SOLEDAD ROLDÁN<sup>1</sup> y SUSANA ENRIQUE<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria,  
Pje. El Pozo s/n, 3000 Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>INTEC (UNL-CONICET). Güemes 3450.

(3000) Santa Fe, Argentina. E-mail: amgagneten@gmail.com.ar

## ABSTRACT

In Argentina the expansion of areas cultivated with transgenic soya increased pesticide consumption, mainly of herbicide glyphosate (N-phosphomethylglycine), with the subsequent impact on surface water and biota. The need to assess the effect of the most widely used herbicide in Argentina on a native cladoceran species led to set the objectives of this study: 1) to evaluate possible toxic effects of glyphosate in its commercial formulation Ron-do®, on survival, fertility and population growth rate (Ro) of *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera) in 13 days chronic tests and 2) to evaluate the degradability of glyphosate, in order to detect the presence of its major metabolite of degradation, Aminomethylphosphonic acid (AMPA). No adverse effects on the survival of *C. reticulata* were recorded, but the increase in contaminant concentration caused a significant decrease in the fertility of the species tested. Ro values decreased with increasing concentrations of glyphosate, showing that this parameter is a good and integrative bioindicator of toxicity. The average life of glyphosate varied with the different concentrations tested; glyphosate degradation was gradual along the test, without the appearance of its metabolite AMPA.

### Key words:

glyphosate, *Ceriodaphnia reticulata*, bioindicators.

## INTRODUCCIÓN

Durante la última década la superficie agrícola de la Argentina aumentó de forma exponencial, con la adopción de nuevas tecnologías tales como la siembra directa, la labranza mínima, la utilización de semillas transgénicas y la aplicación creciente de plaguicidas y fertilizantes (Pengue, 2001; Arregui *et al.*, 2003; Álvarez & Steinbach, 2009).

Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Argentina, la superficie sembrada de soja transgénica en el período 2012–2013, sería de 19,1 millones de hectáreas, convirtiéndose en el cultivo más extendido en el país. Por otro lado, según el Sistema Integrado de Información Agropecuaria Argentino (SIIA), la producción prevista para el mismo período sería de 50,6 millones de toneladas. Este volumen de producción de granos, que en su mayor parte se exporta a países de Europa o Asia, demandan la aplicación de grandes cantidades de herbicidas, principalmente de formulados que tienen como principio activo al glifosato ((N–fosfonometil) glicina). El volumen de uso de este herbicida aumentó notablemente, pasando de 1,3 millones de litros de glifosato en 1991 a 180 millones en 2008 (Teubal, 2009), cifras que continúan en aumento. El cultivo de soja transgénica requiere la utilización de glifosato, clasificado toxicológicamente como de Clase III (CASAFE, 2011); por ser altamente soluble en agua y adsorbido fuertemente por la materia mineral y orgánica de los suelos, es considerado como un herbicida seguro para el ambiente. Sin embargo diversos estudios han demostrado su peligrosidad tanto para la biota acuática como terrestre (CONICET, 2009; UNL, 2010, entre otros).

El glifosato puede alcanzar los sistemas acuáticos por aplicación directa, por deriva proveniente de fumigaciones cercanas, por escurrimiento durante lluvias intensas o por revolatilización desde suelos y posterior transporte (Di Fiori *et al.*, 2012). En Argentina se ha observado que el glifosato también puede alcanzar el agua superficial al lavar los tanques de máquinas fumigadoras en ríos o lagunas poco profundas cercanos a los campos de cultivo (Vera *et al.*, 2010).

La información referente a la degradación del glifosato en agua es dispersa y variada, dependiendo del ambiente estudiado o la experiencia de laboratorio realizada (Cheng *et al.*, 1989; Goldsborough & Beck, 1989; Pérez *et al.*, 2007, Crowe *et al.*, 2011 Coupe *et al.*, 2012). Aunque la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, 1993) informa una vida media de 120 días en sedimentos de lagunas, en el informe presentado por el CONICET (2009) se sostiene que el glifosato puede persistir entre 12 y 60 días en un cuerpo de agua luego de una aplicación directa. Este tiempo es potencialmente suficiente para afectar distintos componentes de los ecosistemas acuáticos continentales.

En nuestro país, se reportaron efectos adversos del glifosato en *Hyalella curvispina* (Mugni *et al.*, 2011), en embriones de anuros (Lajmanovich *et al.*, 2003), en *Leporinus obtusidens* (Salbego *et al.*, 2010), en el perifiton y el fitoplancton (Vera *et al.*, 2010), así como sobre el crecimiento, número y forma de las frondas, estructura de las colonias

y cantidad de clorofila *a* en *Lemna gibba* (Sobrero *et al.*, 2007). Otros estudios han demostrado la peligrosidad del glifosato en especies zooplanctónicas tales como *Daphnia magna* y *Daphnia spinulata* (Alberdi *et al.*, 1996; Cedergreen & Streibig, 2005; Domínguez-Cortinas *et al.*, 2008; Vedrell *et al.*, 2009; Mugni *et al.*, 2011). Poco se conoce, sin embargo, de los efectos de las formulaciones comerciales que contienen al glifosato como principio activo, problema vinculado fundamentalmente a la falta de información acerca de los componentes que integran las presentaciones comerciales del herbicida (Tsiu & Chu, 2003; Puglis & Bonne, 2011). La formulación comercial utilizada en este estudio, se compone de un 48 % (p/v) de sal de isopropilamina [N-(fosfometil) glicina] (CASAFE, 2011).

Teniendo en cuenta la escasez de información en cuanto a los efectos ecotoxicológicos de formulaciones comerciales de glifosato sobre cladóceros y a la controversia aún no resuelta en cuanto a la degradabilidad del glifosato como principio activo, para la realización de los ensayos propuestos en este trabajo se seleccionó el Ron-do® por ser uno de formulados comerciales de glifosato más utilizados en la región (CONICET, 2009; UNL, 2010), con los siguientes objetivos: (1) evaluar posibles efectos tóxicos del herbicida Ron-do® en ensayos crónicos, tomando como modelo biológico a *Ceriodaphnia reticulata*; (2) determinar la degradabilidad de glifosato y la posible presencia de su principal metabolito, el ácido aminometilfosfónico (AMPA) bajo las mismas condiciones experimentales que los ensayos crónicos.

Los resultados obtenidos en este trabajo aportan información sobre la importancia de *Ceriodaphnia reticulata*, un cladóceros frecuente en el litoral continental argentino como organismo indicador para evaluar ambientes contaminados con glifosato. Por otro lado, se destaca la relevancia de la tasa neta de crecimiento poblacional como parámetro integrador en poblaciones experimentales de cladóceros.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### FORMULACIÓN COMERCIAL

La concentración del principio activo de la formulación comercial utilizada en este estudio se confirmó mediante metodología HPLC con detección UV (AOAC, 1997). Las tres concentraciones ensayadas fueron: 5,33; (C1), 15,99 (C2) y 31,98 (C3) mg de equivalentes de ácido por litro (mg e.a./L), las que fueron seleccionadas a partir de la información disponible en la bibliografía (EPA, 1993; Alberdi *et al.*, 1996; Martin & Chu, 2003).

## ORGANISMOS DE PRUEBA E INDICADORES DE TOXICIDAD

Los organismos acuáticos son considerados como indicadores *in situ* de degradación ambiental. Van Gestel & Brummelen (1996) definen a un bioindicador como «un organismo que aporta información sobre las condiciones ambientales de su hábitat mediante su presencia, ausencia o comportamiento». Los crustáceos suelen estar afectados por diversos tipos de contaminantes y por lo tanto suelen ser empleados como bioindicadores de estrés ambiental. Entre los crustáceos, los cladóceros son un grupo biológico muy frecuentemente empleado en estudios ecotoxicológicos de cuerpos de agua continentales y marinos. En este sentido, diferentes especies del género *Ceriodaphnia* han sido ampliamente empleadas en ensayos ecotoxicológicos (DeGraeve *et al.*, 1992; Anderson & Benke, 1994; Ferrari & Ferard, 1996; Gagneten & Vila, 2001; Ceresoli & Gagneten, 2003; Andreotti & Gagneten, 2006). En los últimos años, los antecedentes en la bibliografía ecotoxicológica sobre diferentes especies del género *Ceriodaphnia* se han incrementado como una importante alternativa al empleo de *Daphnia magna*, de distribución holártica.

*Ceriodaphnia reticulata* es una especie de cladóceros de hábitos litorales y limnéticos, que tiene una distribución cosmopolita (Paggi, 1993) y que usualmente se encuentra cerca de las orillas, o en los estratos cálidos superiores del agua (Balcer *et al.*, 1984; Grigorovich *et al.*, 2003).

Para obtener las ejemplares de *C. reticulata* a ser utilizada en los bioensayos, se realizaron muestreos en dos lagunas leníticas no contaminadas por plaguicidas del valle aluvial del río Paraná medio pertenecientes a la Reserva Ecológica El Pozo, en la ciudad de Santa Fe. Se filtraron 300 litros de agua en cada muestreo utilizando una trampa de tipo Schindler–Patalas de 20 L provista de red de 45  $\mu\text{m}$ ; los cladóceros se separaron bajo lupa binocular para su determinación taxonómica. Posteriormente se cultivaron en medio sintético ( $\text{NaCO}_3\text{H}$ : 0,2 g;  $\text{CaCl}_2$ : 0,224 g;  $\text{K}_2\text{SO}_4$ : 0,026 g/L en agua destilada).

Para disminuir el error experimental por variabilidad genética se estableció un cultivo monoclonal a partir de un único neonato (< 24 hs), aclimatado a condiciones de laboratorio durante 4 generaciones, en cámara de incubación ( $22\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ , 18 hs L: 6 hs O; 2300 lux).

Siguiendo el protocolo de EPA (2002), los ensayos crónicos se mantuvieron durante 13 días, tiempo suficiente para que en el control se produjera la tercera camada de neonatos. Se realizaron 10 réplicas por cada tratamiento y control, con neonatos (< 24 hs) que fueron colocados individualmente en vasos con 15 mL de medio de cultivo. A cada uno de ellos se los alimentó tres veces por semana con 40  $\mu\text{L}$  de una suspensión de *Chlorella vulgaris* (absorbancia = 1.5;  $\lambda = 665\text{ nm}$ ) y con la misma frecuencia se renovó el medio de cultivo manteniendo siempre en cada renovación las concentraciones iniciales de glifosato propias de cada concentración ensayada. Los resultados fueron considerados aceptables cuando la mortalidad en el control fue  $\leq 10\%$ .

Como indicadores de toxicidad se registró la sobrevivencia (días) de los ejemplares de *C. reticulata*, la edad de la primera reproducción, la fecundidad y la tasa neta de crecimiento poblacional ( $R_0$ ). Esta tasa es un parámetro estimador de la adecuación biológica de la especie (Begon *et al.*, 1986), porque integra variables demográficas tales como la sobrevivencia y la fecundidad (Stearns, 1993) por lo que resulta un buen indicador del efecto de la adecuación biológica de una especie expuesta a diferentes concentraciones de tóxico (Ceresoli & Gagneten, 2003).  $R_0$  se obtuvo con información registrada en tablas de vida, mediante la siguiente ecuación:  $R_0 = \sum (l_x \cdot m_x)$ . Donde:  $l_x$  = sobrevivencia específica de la edad  $x$ ;  $m_x$  = fecundidad específica de la edad  $x$ . Para evaluar posibles diferencias significativas entre la sobrevivencia y la fecundidad obtenidas en los controles y cada uno de las tres concentraciones ensayadas, se utilizó ANOVA y test a posteriori de Tukey, a un nivel de confianza de 95% con el programa estadístico SPSS versión 9.0 (SPSS, 1992).

#### DEGRADACIÓN DEL GLIFOSATO EN AGUA

Simultáneamente a los ensayos crónicos se prepararon 8 muestras de 15 mL colocando las distintas concentraciones de Ron-do® en el mismo medio de cultivo utilizado en los ensayos crónicos, sin neonatos ni el agregado de alimento. Estas muestras se mantuvieron en las mismas condiciones que los ensayos crónicos ( $22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 18 hs L: 6 hs O; 2300 lux). Tres veces por semana se separó una de ellas para cuantificar la concentración de glifosato y la posible aparición de su principal metabolito (AMPA). Las determinaciones de glifosato y de AMPA fueron realizadas con un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Precisión (HPLC), marca Waters TM 600, con derivatización poscolumna (EPA, 1990) en dependencias del INTEC (CONICET–UNL). Se llevaron a cabo 8 cuantificaciones para cada concentración (C1=5,33; C2=15,99 y C3=31,98 mg e.a./L) a diferentes tiempos 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 y 17 días.

## RESULTADOS

### SOBREVIVENCIA

La sobrevivencia fue de 90, 70, 60 y 80 % para el control, C1, C2 y C3, respectivamente. El análisis de la varianza entre todos los tratamientos no mostró diferencias significativas ( $p = 0.4721$ ) (Fig. 1A).

### FECUNDIDAD Y EDAD DE LA PRIMERA REPRODUCCIÓN

El número de neonatos producidos por *C. reticulata* al final del ensayo fue de 135, 34, 20 y 0 para el Control, C1, C2, C3, respectivamente. El análisis de la varianza entre los tratamientos mostró diferencias extremadamente significativas (ANOVA,  $p < 0,0001$ ). El test a posteriori de Tukey mostró diferencias altamente significativas entre el control y los dos tratamientos intermedios ( $p < 0,01$ ). No se produjeron neonatos en la concentración más alta (C3) (Fig. 1B).

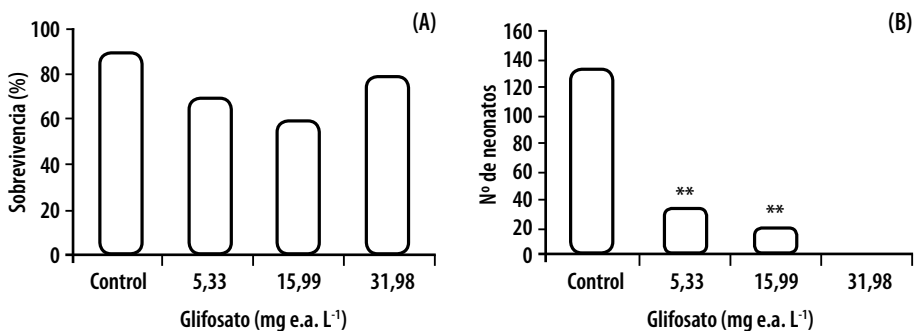
La edad de la primera reproducción en C1 fue de 9,7 días y en C2 fue de 11,2 días, mostrando esta última, diferencias altamente significativas con el control ( $p < 0,01$ ) (Tabla 1).

### TASA REPRODUCTIVA NETA (Ro)

Los valores de Ro obtenidos fueron: 13,5; 5,0; 2,5 y 0 para el Control, C1; C2; C3, respectivamente. Estos resultados confirman la toxicidad del glifosato para *C. reticulata* al incrementar su concentración.

### DEGRADACIÓN DEL GLIFOSATO EN AGUA

En los 17 días establecidos para los análisis cromatográficos, se observó un 74,53 % de degradación de glifosato en agua (vida media de 13 días) y 34,8 % para C2 y C3, respectivamente, sin la aparición del metabolito AMPA. La diferencia en el porcentaje registrado podría deberse a que, en igual volumen de solución C3 (31,98 e.a mg/L) contiene el doble de glifosato que C2 (15,99 e.a mg/L) (Fig. 2).



**Figura 1.** (A) Sobrevivencia de *C. reticulata*, en tres concentraciones de glifosato y un control (sin glifosato) a los 13 días de exposición. (B) Número de neonatos producidos por *C. reticulata* a los 13 días en tres concentraciones de glifosato y un control (sin glifosato). (\*\* diferencias altamente significativas con el control.)

Concentración de glifosato (mg a.e. L-1)	Edad de la primera reproducción (días)
Control = 0	8,1 ( $\pm 1,85$ )
C1 = 5,33	9.7 ( $\pm 1,38$ )
C2 = 15,99	11,2 ( $\pm 1,64$ )**
C3 = 31,98	–

Tabla 1. Edad de la primera reproducción de *C. reticulata* luego de 13 días de exposición a tres concentraciones de glifosato y el control (sin el agregado de glifosato). La tabla muestra el promedio ( $\pm$ ) desviación estándar. (\*\*diferencias altamente significativas con el control, ( $p < 0.01$ ). – Indica que los organismos no produjeron neonatos.)

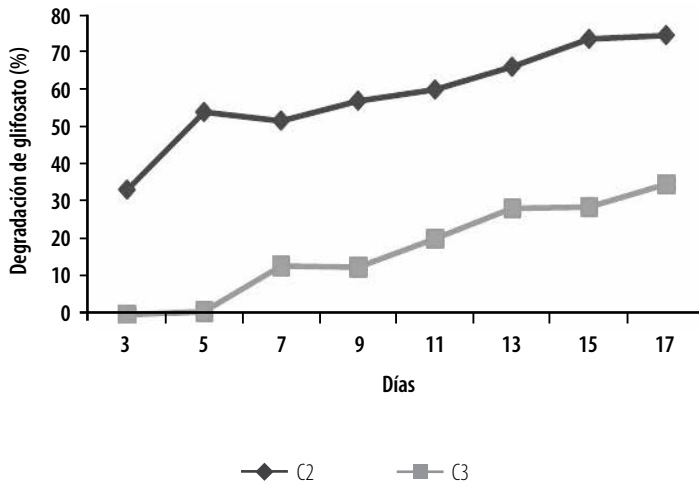


Figura 2. Degradación de glifosato (%) durante 17 días de ensayo. Las concentraciones iniciales fueron C2= 15,99 y C3=31,98 mg/L de glifosato.



## DISCUSIÓN

Este estudio mostró alteraciones en los patrones de fecundidad de *C. reticulata* al aumentar la concentración del formulado comercial de glifosato (Ron-do®), siendo este parámetro más sensible que la sobrevivencia para la especie seleccionada. De modo similar, Cuhra *et al.* (2013), encontraron que la tasa de supervivencia de *D. magna* fue similar entre el control y los tratamientos a concentraciones de 1,35 y 0,45 mg/L de glifosato y Roundup® respectivamente. Además, a partir del análisis de degradación del glifosato en agua se pudo observar la importancia que tiene considerar las sustancias que acompañan al glifosato en los formulados comerciales, ya que podrían estar afectando la degradación de este último.

Los resultados del presente estudio podrán ser utilizados en numerosos países productores de soja transgénica, como Estados Unidos, Brasil (USDA, 2013), dado que existe superposición entre la distribución de *C. reticulata* (Paggi, 1993) y los mayores productores de soja transgénica, tales como Brasil o Estados Unidos.

Compuestos químicos de diferente naturaleza pueden alterar la fecundidad de los organismos (Wong *et al.*, 1987; Zou *et al.*, 1997; Martínez-Jerónimo, 2013). En este sentido, Papchenkova *et al.* (2009) evaluaron la fecundidad de *Daphnia magna* expuesta a concentraciones de 25 y 50 mg L<sup>-1</sup> de Ron-do®, en ensayos crónicos de 15 días, comunicando también diferencias en el número de neonatos entre los tratamientos y el control. Por su parte, Cuhra *et al.* (2013) encontraron resultados similares para *Daphnia magna*, utilizando el mismo formulado comercial y su principio activo (glifosato) a concentraciones de 0,45 mg/L y a 1,35 y 4,05 mg e.a./L, respectivamente.

Por otro lado, el retardo en el inicio de la reproducción de *C. reticulata* registrado en este estudio, podría atribuirse a un retardo en el crecimiento de los organismos. Otros autores (Montagna & Collins, 2004) registraron retardo en el crecimiento del cangrejo *Trichodactylus borellianus* al estudiar el efecto del glifosato en su producto comercial Roundup®. El herbicida no afectó el consumo de oxígeno ni la actividad metabólica del cangrejo pero sí afectó su crecimiento por interrumpir su ciclo de ecdisis y eventualmente provocando su muerte. Contrariamente, los mismos autores (Montagna & Collins 2005) en su estudio de la toxicidad del Roundup® sobre *Palaemonetes argentinus*, registraron una disminución del consumo de oxígeno al exponer al camarón a los efectos del contaminante, pero no se alteró su crecimiento, a pesar de que el tóxico también en este caso afectó los mecanismos regulatorios de los procesos de muda.

En cuanto a la determinación de la tasa neta de crecimiento poblacional (Ro), en este estudio se llegó a las mismas consideraciones señaladas por Gagnetten & Vila (2001) y Ceresoli & Gagnetten, (2003) al estudiar efectos tóxicos del Cu y de efluente de curtiembres sobre otras especies de cladóceros. En este sentido, se confirma que Ro es un buen indicador de la adecuación biológica de cladóceros en estudios ecotoxicológicos pues

considera parámetros poblacionales integradores y no sólo la mortalidad, punto final comúnmente utilizado en ensayos de toxicidad aguda.

El formulado comercial Ron-do® produjo un retardo en el inicio de la actividad reproductiva y una notable disminución del número de neonatos a medida que aumentó su concentración. La importante disminución en la fecundidad podría tener un efecto negativo directo sobre el mantenimiento de las poblaciones en los sistemas naturales.

Teniendo en cuenta el necesario equilibrio de las redes tróficas, la disminución del número poblacional de esta especie en ambientes naturales podría afectar negativamente a niveles tróficos superiores e inferiores, pues se alimenta mayoritariamente de microalgas y materia orgánica particulada. En este sentido, al ser los cladóceros uno de los principales componentes de la dieta de camarones de agua dulce *Palaemonetes argentinus* (González Sagrario, 2004) y de larvas y juveniles de peces zooplánctófagos de agua dulce, su disminución podría afectar directamente a la supervivencia de los mismos (Acosta, 2005; Rennella, 2007). Por otro lado, una disminución de su número o un retardo en sus ciclos reproductivos, podrían provocar floraciones algales, generando eutrofización indeseable de los sistemas acuáticos. En 2003, Tsiu & Chu, informaban sobre el escaso conocimiento disponible acerca de la toxicidad de las formulaciones comerciales de glifosato para una gran cantidad de organismos acuáticos. Si bien el tema ha recibido atención por la comunidad científica, la mayoría de los trabajos evalúan los efectos del Roundup® sobre diferentes especies de biota acuática (Papchenkova *et al.*, 2009; Raipulis *et al.*, 2009; Lipok *et al.*, 2010; Vera *et al.*, 2010; Dutra *et al.*, 2011; Romero *et al.*, 2011; Cuhra *et al.*, 2013).

El número de formulados comerciales utilizados en la Argentina se incrementó en los últimos años y además se generaron formulaciones con mayor número de componentes, para mejorar el control de malezas resistentes (VanGessel, 2001; Vila-Aiub *et al.*, 2008; Cerdeira *et al.*, 2011; Diez de Ulzurrun & Leaden, 2012). En este sentido, la Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE, 2011), citan 32 productos que tienen como ingrediente activo al glifosato, en diversas concentraciones y tipos de sales (potásica, monopotásica, isopropilamina, amónica, monoamónica y dimetilamina). Este hecho, sumado a la falta de información sobre la totalidad de los componentes, en especial los coadyuvantes (*additives*) que conforman estos formulados (Puglis & Bonne, 2011), llevan a considerar la no conveniencia de extrapolar los resultados obtenidos con un formulado, a otros formulados.

Con respecto a la degradación del glifosato en agua, algunos trabajos comunican resultados diferentes a los aquí obtenidos en cuanto a la vida media del glifosato. En este sentido, el informe acerca de la toxicidad del glifosato presentado por la UNL (2010) cita estudios de campo en los que la permanencia fue de entre 3,5 y 70 días. En estudios de laboratorio, Lajmanovich *et al.*, (2003) comunicaron 96 hs, luego de evaluar el formula-

do comercial de glifosato Glyphos® en agua artificiales, encontrando una degradación de 30% a las 24 hs, a partir de una concentración inicial de 10 mg L<sup>-1</sup> de glifosato. Por otro lado, Vera *et al.* (2010) registraron una vida media de 4,2 días en agua naturales, utilizando Roundup® y según Lewis & Green (2011) la vida media es de 12 y 49 días en campo y en laboratorio, respectivamente. Es decir, la degradación del glifosato en agua es muy variable dependiendo de que se trate de aguas naturales o de medios de cultivo, en condiciones controladas de laboratorio. Lajmanovich *et al.* (2003) realizaron ensayos en laboratorio para estudiar la cinética del formulado comercial Glyphos®, en agua destilada y agua de río, demostrando una degradación no apreciable en agua destilada, pero sí en agua de río. Esto estaría demostrando que la degradación en aguas naturales es principalmente de origen microbiológico (Zaranyika & Nyandoro, 1993).

Si bien la bibliografía disponible informa diferentes tiempos de vida media y de porcentajes de degradación en comparación a los encontrados en este trabajo, hay que destacar que en este estudio se utilizó una formulación comercial de glifosato, en la cual se especifica sólo la cantidad de principio activo (Ron-do® = 48 % (p/v) de sal de isopropilamina [N-(fosfonometil) glicina]), brindando escasa o nula información acerca de las concentraciones y características de los coadyuvantes y sustancias inertes que, como se señalara, generalmente integran la composición del formulado y que podrían estar afectando la degradación del glifosato en el medio de cultivo utilizado.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo aportan información sobre la relevancia de los estudios ecotoxicológicos para analizar el efecto de formulaciones comerciales con glifosato. Se mostró además que la especie *C. reticulata* podría ser utilizada como organismo indicador para evaluar ambientes naturales contaminados con glifosato.

Por otro lado, se destaca la importancia de la aplicación de bioindicadores integra- dores tales como la tasa neta de crecimiento poblacional, en ensayos crónicos con microcrustáceos.

La vida media del glifosato en el medio sintético estático fue variable según las con- centraciones empleadas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento otorgado por la Universidad Nacional del Litoral a través de los Proyectos CAI+D Orientado N° 14 y CAI+D 14–100/02: «Influencia de Agroquímicos utilizado en gramíneas y soja sobre organismos acuáticos y terrestres».

**Recibido | Received:** 8 de agosto de 2013

**Aceptado | Accepted:** 29 de octubre de 2013

## REFERENCIAS

- Acosta, F.** 2005. Caracterización del zooplancton de lagunas en la llanura inundable del Río Ichilo (Cochabamba – Bolivia). *Rev. Biol. Ecol.* 17: 1–14.
- Alberdi, J. L., M. E Sáenz, W. D. Di Marzio & M. C. Tortorelli.** 1996. Comparative acute toxicity of two herbicides, Paraquat and Glyphosate, to *Daphnia magna* and *Daphnia spinulata*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 229–235.
- Alvarez, R. & H. S. Steinbach.** 2009. A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in Argentine Pampas. *Soil Tillage Res.* 104: 1–15.
- Anderson, D. H. & A. Benke.** 1994. Growth and reproduction of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* from a forested floodplain swamp. *Limnol. Oceanogr.* 39 (7): 1517–1527.
- Andreotti, C. & A. M. Gagneten.** 2006. Efectos ecotoxicológicos del sedimento del río Salado inferior (Argentina) en la sobrevivencia y reproducción de *Moina micrura* (Crustacea, Cladocera). *Rev. Toxicol.* 23: 146–150.
- AOAC. Official Methods of Analysis.** 1990. Met. 983.10. Glyphosate (technical) and Pesticides Formulations. Liquid Chromatographic Method. 205 pp.
- Arregui, M. C., A. Lenardón, D. Sanchez, M. I. Maire & R. Scotta.** 2003. Monitoring Glyphosate Residues in Transgenic Glyphosate Resistant Soybean. *Pest Manag. Sci.* 2: 163–166.
- Balcer, M., N. Korda & S. Dodson.** 1984. Zooplankton of the Great Lakes: A Guide to the identification and Ecology of the Common Crustacean Species. University of Wisconsin Press. 58 pp.
- Begon, M., J. L. Harper & C. R. Townsend.** 1986. Ecology. *Blackwell Scientific Publications:* 876 pp.
- Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE).** 2011. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. Buenos Aires, 15. 350 pp.
- Consejo Nacional de Ciencia y Técnica (CONICET).** (2009). Informe: Evaluación de la Información Científica vinculada al glifosato en su incidencia sobre la salud humana y el ambiente. Buenos Aires, Argentina. 133 pp.
- Cedergreen, N. & J. C. Streibig.** 2005. The toxicity of Herbicides to Non–target Aquatic Plants and Algae: Assessment of Predictive Factors and Hazard. *Pest Manag. Sci.* 61: 1152–1160.

- Cerdeira, A. L., D. L. P. Gazziero, S. O. Duke, & M. B. Matallo.** 2011. Agricultural Impacts of Glyphosate-Resistant Soybean Cultivation in South America. *J. Agric. Food Chem.* 59: 5799–5807.
- Ceresoli, N. & A. M. Gagneten.** 2003. Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales. *Interciencia* 28: 469–475.
- Coupe, R. H., S. J. Kalkoff, P. D. Capel & C. Greigore.** 2012. Fate and Transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface Waters of agricultural basins. *Pest. Manag. Sci.* 68: 16–30.
- Crowe, A. S., N. Leclerc, J. Struger & S. Brown.** 2011. Application of glyphosate-based herbicide to *Phragmites australis*. Impact on groundwater and near shore lake water at a beach on Gregorian Bay. *J. Great Lakes Res.* 37: 616–624.
- Cuhra, M., T. Traavik & T. Bøhn.** 2013. Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 22: 251–262.
- Cheng, Y. L., H.-CH. Chiang, L. Q. Wu & Y. S. Wang.** 1989. Residues of Glyphosate in an aquatic environment after control of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *J. Weed Sci. Technol.* 34 (2): 117–122.
- DeGraeve, G. M., J. D. Cooney, B. H. Marsh, T. Pollock & N. Reichenbach.** 1992. Variability in the performance of the 7-d *Ceriodaphnia dubia* survival and reproduction rates in two southeastern black-water rivers. *Limnol. Oceanogr.* 32: 221–234.
- Diez de Ulzurrun, P. & M. I. Leaden.** 2012. Sensitivity analysis of *Lolium multiflorum* biotypes to Glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides. *Planta daninha* 30: 667–673.
- Di Fiori, E., H. Pizarro, M. Dos Santos & A. Daniel Cataldo.** 2012. Impact of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* on glyphosate concentration in water. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 81: 106–113.
- Domínguez-Cortinas, G., J. Mejía-Saavedra, G. E. Santos-Medrano & R. Rico-Martínez.** 2008. Analysis of the toxicity of glyphosate and Faena® using the freshwater invertebrates *Daphnia magna* and *Lecane quadridentata*. *Toxicol. Environ. Chem.* 90: 377–384.
- Dutra, B. K., F. A. Fernandes, D. M. Failace & G. T. Oliveira.** 2011. Effect of Roundup® (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive traits of *Hyalella castroi* (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae). *Ecotoxicology* 20 (1): 255–263.
- Environmental Protection Agency (EPA).** 1990. Method 547: Determination of Glyphosate in Drinking Water by Direct-Aqueous-Injection HPLC, Post-Column Derivatization, and Fluorescence Detection.
- Environmental Protection Agency (EPA).** 1993. Reregistration Eligibility Decision (RED). Glyphosate. 74 pp.
- Environmental Protection Agency (EPA).** 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth Edition.
- Ferrari B. & J. Ferard.** 1996. Effects of nutritional renewal frequency on survival and reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.* 6: 765–770.
- Gagneten, A. M. & I. Vila.** 2001. Effects of Cu<sup>+2</sup> and pH on the fitness of *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894) (Crustacea, Cladocera) in microcosm experiments. *Environ. Toxicol.* 5: 428–438.
- Goldsbororough, L. & A. Beck.** 1989. Rapid Dissipation of Glyphosate in Small Forest Ponds. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.* 18 (4): 537–544.
- González Sagrario, M.** 2004. Rol de las macrófitas sumergidas en las interacciones tróficas de lagos someros. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universidad Bariloche. 145 pp.
- Grigorovich, I. A., A. V. Kornishin, D. K. Gray, I. C. Duggan, R. I. Colautti & H. J. Mac Isaac.** 2003. Lake Superior: an invasion coldspot) *Hydrobiologia* 499: 191–210.

- Hartman, W. A. & D. B. Martin.** 1984. Effects of suspended bentonite clay on the acute toxicity of glyphosate to *Daphnia pulex* and *Lemna minor*. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 33: 355–361.
- Lajmanovich, R. C., E. Lorenzatti, M. I. Maitre, S. Enrique & P. M. Peltzer.** 2003. Comparative acute toxicity of the commercial herbicides glyphosate to neotropical tadpoles *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae). *Fresh. Environ. Bull.* 12: 364–367.
- Lewis, K. & A. Green.** 2011. The Pesticide Properties Database. Chemistry International. *IUPAC* 30–31.
- Lipok, J., H. Studnik & S. Gruyaert.** 2010. The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents: Glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73: 1681–1688.
- Martin, T. K. T. & L. M. Chu.** 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52: 1189–1197.
- Martinez-Jerónimo, F., M. Arzate-Cárdenas & R. Ortiz-Butrón.** 2013. Linking sub-individual and population level toxicity effects in *Daphnia schoedleri* (Cladocera: Anomopoda) exposed to sublethal concentrations of the pesticide a-cypermethrin. *Ecotoxicology* 22: 985–995.
- Montagana, M. & P. Collins.** 2004. Efecto de un formulado comercial del herbicida glifosato sobre el cangrejo *Trichodactylus borellianus* (Crustacea, Decapoda: Brachyura). *FABICIB* 8: 145–153.
- Montagana, M. & P. Collins.** 2005. Toxicity of glyphosate on the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus*. *Nauplius* 2: 149–157.
- Mugni, H., A Ronco & C. Bonetto.** 2011. Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 3: 350–354.
- Paggi, J. C.** 1993. Análisis preliminares de la distribución geográfica de los cladóceros sudamericanos (108–113). En: A Boltovskoy & Hl Lopez (eds.) Conferencias de Limnología. *Instituto de Limnología Dr. R.A Ringuélet*, La Plata, 300 pp.
- Papchenkova, G. A., I. L. Golovanova & N. V. Us-hakova.** 2009. The parameters of reproduction, sizes, and activities of hydrolases in *Daphnia magna* Straus of successive generations affected by roundup herbicid. *Inland Wat. Biol.* 2: 286–291.
- Pengue, W. A.** 2001. Impacto de la Expansión de la soja en Argentina. Globalización, Desarrollo Agropecuario e Ingeniería Genética: Un modelo para armar. *Biodiversidad, Sustento y Culturas* 29: 7–14.
- Pérez, G. L, A. Torremorell., H. Mugni, P. Rodríguez., M. Solange Vera., M. do Nascimento, L., Ade, J., Bustingorry, R., Escaray, M., Ferraro, I., Izaguirre, H., Pizarro, C., Bonetto, D.P. Morris & H. Zagaresse.** 2007. Effects of the Herbicide Roundup on Freshwater microbiol communities: A Mesocosm Study. *Ecol. Appl.* 17(8): 2310–2322.
- Puglis, H. J. & M. D. Boone.** 2011. Effects of Technical-Grade Active Ingredient vs. Commercial Formulation of Seven Pesticides in the Presence or Absence of UV Radiation on Survival of Green Frog Tadpoles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 145–155.
- Raipulis, J., M. M. Toma & M. Balode.** 2009. Toxicity and genotoxicity testing of Roundup. *Proc. Latvian. Ac. Sci.* 63: 29–32.
- Rennella, A. M.** 2007. Relevancia de las Interacciones Tróficas en la Determinación de las Estructuras del Zooplancton en Grandes Lagunas Pampeanas. Área de Sistemas de Producción Acuática. Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.
- Romero, D. M., M. C. Ríos de Molina & A. B. Juárez.** 2011. Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 74: 741–747.

- Salbego, J., A. Pretto, C. R. Gioda, C. Cavalheiro de Menezes, R. Lazzari, J. Radünz Neto, B. Baldissarroto & V. L. Loro.** 2010. Herbicide Formulation with Glyphosate Affects Growth, Acetylcholinesterase Activity, and Metabolic and Hematological Parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 58(3): 740–745.
- Sobrero, C., M. L. Martin & A. Ronco.** 2007. Fitotoxicidad del herbicida Roundup® Max sobre la especie no blanco *Lemna gibba* en estudios de campo y laboratorio. *Hidrobiológica* 17: 31–39.
- SPSS.** 1992. Versión 8.0. SPSS Inc. Chicago.
- Stearns, S. C.** 1993. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press. England. 249 pp.
- Teubal, M.** 2009. Expansión del modelo sojero en la Argentina. De la producción de los alimentos en los commodities (191–197). En: Lizárraga, L., Vacaflores, C. (eds.) *La persistencia del campesino en América Latina. Comunidad de Estudio Jaina*. Tarija, Bolivia.
- Tsui, M. T. K. & L. M. Chu.** 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52: 1189–1197.
- United States Department of Agriculture (USDA).** 2013. Commodity and Country Analysis. <http://www.fas.usda.gov/psdonline/> [Consulta: 15 de marzo de 2013].
- Universidad Nacional del Litoral (UNL).** 2010. Informe acerca del grado de toxicidad del glifosato. Santa Fe, Capital, Argentina.
- Van Gestel, C., & T. van Brimmelen.** 1996. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology* 5: 217–225.
- Van Gessel, M. J.** 2001. Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49: 703–705.
- Vendrell, E., D. Ferraz, D. Gómez de Barreda, C. Sabater & J. M. Carrasco.** 2009. Effect of glyphosate on growth of four freshwater species of phytoplankton: a microplate bioassay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82: 538–542.
- Vera, M. S., L. Lagomarsino, M. Sylvester, G. L. Pérez, P. Rodríguez, H. Mugni, R. Vila-Aiub M. M., R. A. Vidal, M. C. Balbi, P. E. Gundel, F. Trucco & Ghera C. M.** 2008. Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview. *Pest Manag. Sci.* 64: 366–371.
- Sinistro, M. Ferraro, C. Bonetto, H. Zagarese & H. Pizarro.** 2010. New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology* 19 (4): 710–721.
- Wong, P. Y., S. K. Lau & W. O. Fu.** 1987. Antifertility effects of some sulphonamides and related compounds and their accumulation in the epididymides of male rats. *J. Reprod. Fertil.* 81: 259–267.
- Zaranyika, M. F. & M. G. Nyandoro.** 1993. Degradation of glyphosate in aquatic environment: An enzymatic kinetic model that takes in account microbial degradation of the colloidal (or sediment) particle adsorbed glyphosate. *J. Agricult. Food Chem.* 41(5): 838–842.
- Zou, E.** 1997. Effects of sublethal exposure to zinc chloride on the reproduction of the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 437–441.