



Plan de Gestión de Datos

INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

1. – Datos del Proyecto

- Título del Proyecto (en castellano)

Evaluación de la degradación de herbicidas en camas biológicas mediante el empleo de bioensayos.

- Título del Proyecto (en inglés)

Evaluation of the degradation of herbicides in biobeds through the use of bioassays.

- Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen

Los fitosanitarios son productos utilizados para controlar las plagas que causan pérdidas en los cultivos. Los volúmenes comercializados en 2014 en Argentina fueron de 304.151.844 L o Kg. de producto. Los herbicidas representan el 87% del mercado y el 81 % de estos se emplean en los cultivos de soja, maíz, girasol y trigo en orden de importancia. La aplicación de estos se realiza con equipos pulverizadores de arrastre o autopropulsados, el lavado interno y la limpieza exterior de estos puede ser una importante fuente de contaminación puntual. Una alternativa para abordar esta problemática es la utilización de camas biológicas o sistemas de biopurificación que contienen una biomezcla compuesta por paja, suelo y turba en proporciones en volumen de 50%, 25% y 25% y están diseñados para recolectar y descontaminar líquidos residuales con alta concentración de pesticidas. La detección de plaguicidas por métodos químicos con instrumental específico es precisa, pero compleja, costosa y no siempre pueden identificarse y cuantificarse la totalidad de metabolitos producidos en su degradación, los cuales pueden tener una toxicidad mayor a los compuestos de origen. Una alternativa para evaluar el proceso de descontaminación en camas biológicas es la utilización de bioensayos o pruebas biológicas, mediante organismos que puedan utilizarse directamente sobre la biomezcla monitoreando su toxicidad. Los bioensayos de aplicación directa sobre la biomezcla se pueden realizar utilizando semillas de plantas vasculares, lombrices de tierra y nematodos. Estas pruebas son aplicadas para monitoreo de procesos de detoxificación, saneamiento, control de efluentes o reutilización biosólidos por su sensibilidad y sencillez de ejecución. El objetivo de este proyecto es evaluar la degradación de herbicidas en camas biológicas mediante bioensayos. En Argentina en el 2019 se instaló la primera cama biológica para la degradación de fitosanitarios. Debido a la reciente introducción de este sistema en nuestro país es necesario disponer de información local para el diseño y manejo de las mismas, como la capacidad de retención de agua, las dosis de producto que no afecten las comunidades microbianas del suelo minimizando las funciones de transformación y degradación de estos compuestos, el empleo de microorganismos para agregar a la biomezcla que promuevan la degradación de los plaguicidas o conocer los efectos negativos plaguicidas como los fungicidas en la degradación de mezclas de herbicidas.

- Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen

Pesticides are products used to control organisms that cause damage to crops. 304,151,844 L or Kg of pesticides were marketed in Argentina in 2014. Herbicides represent 87% of the market and 81% of these are used in soybean, corn, sunflower



and wheat crops, in order of importance. The internal and external washing water of the spray equipment used for the application of pesticides can be an important source of point contamination. Biobeds that contain a biomix composed of straw, soil and peat in volume proportions of 50%, 25% and 25% and are designed to collect and decontaminate residual liquids with a high concentration of pesticides. The detection of pesticides by chemical methods with specific instruments is precise, but complex, expensive, and it is not always possible to identify and quantify all the metabolites produced in their degradation, which may have greater toxicity than the original compounds. An alternative to evaluate the decontamination process in biological beds is the use of bioassays or biological tests, through organisms that can be used directly on the biomix to monitor its toxicity. Direct application bioassays on the biomix can be carried out using vascular plant seeds, earthworms and nematodes. These tests are used to monitor detoxification, sanitation, effluent control or biosolids reuse processes due to their sensitivity and simplicity of execution. The aim of this project is to evaluate the degradation of herbicides in biobeds through bioassays. In Argentina, the first biological bed for the degradation of plant protection products was installed in 2019. Due to the recent introduction of this system in our country, it is necessary to have local information for its design and management, such as the water retention capacity, the doses of product that do not affect the microbial communities in the soil and the degradation of pesticides, and the use of microorganisms to add to the biomix that promote the degradation of herbicides.

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano)

Camas biológicas F Herbicidas Bioensayos

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés)

Biobeds Herbicides Bioassay

2 – Datos del Director/ar del Proyecto

- Nombre y Apellido

Roberto Ricardo Scotta

- Unidad Académica

Facultad de Ciencias Agrarias

- Teléfono oficial de contacto

03496-426400

-Teléfono móvil de contacto

0342-155487796

-E-mail del Director/a del Proyecto

rrscotta@fca.unl.edu.ar

DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

-Describe la toma de muestras / datos a realizar

Elaboración de la curva de retención hídrica.

Se extraerán muestras de la biomezca con estructura no perturbada en cilindros de 5 cm de alto x 5 cm de diámetro. Posteriormente estas muestras se saturarán por medio de elevación gradual de una lámina de agua y se equilibrarán a diferentes potenciales mátricos utilizando una mesa de tensión de arena y por medio de presiones aplicadas en placas porosas (Klute, 1986). Luego, se colocarán en estufa a 105°C hasta peso constante para determinar su contenido de humedad gravimétrico y la densidad del suelo (Blake & Hartge, 1986). Con esta información se calculará el contenido hídrico



volumétrico para elaborar la curva de retención hídrica (CRH) ($\theta = f \psi$).

Degradación de herbicida a valores no detectable por bioensayos en una campaña.

Para comprobar la cantidad de herbicidas que puede degradarse en una campaña las biomezclas se prepararán con 50% de rastrojo de trigo en fragmentos de 3 cm, 25 % de suelo del horizonte A, con historia agrícola y 25 % de resaca de río. Esta biomezcla se llevará al invernadero de Sanidad Vegetal 60 días antes de comenzar los tratamientos, colocándolas en tubos de PVC de 20 cm de diámetro y 65 cm de alto, los cuales se pondrán en bandejas de 25 cm de ancho, 30 cm de largo y 10 cm de alto y se mantendrán a capacidad de campo. Durante el periodo de ensayo se registrará la temperatura de las biomezclas de cada tratamiento con termómetro LCD Digital waterproof, y se determinará el pH por vía potenciométrica al comienzo del ensayo, a los 30, 90 y 120 días, utilizando la relación biomezcla-agua de 1:2,5.

Los tratamientos serán aplicaciones semanales de una mezcla de los herbicidas glifosato (LS 62%), 2,4-D (SL 60%) y metsulfurón metil (WG 60%), durante 120 días, con 3 repeticiones por tratamiento.

Tratamiento 1: aplicación de una mezcla de 6,14 g i.a de glifosato, 3,42 g i.a de 2,4-D y 0,018 g i.a de metsulfuron en 300 ml de agua.

Tratamiento 2: aplicación de una mezcla de 3,07 g i.a de glifosato, 1,71 g i.a de 2,4-D y 0,009 g i.a de metsulfuron en 300 ml de agua.

Tratamiento 3: aplicación de una mezcla de 0,61 g i.a de glifosato, 0,34 g i.a de 2,4-D y 0,0018 g i.a de metsulfuron en 300 ml de agua.

Tratamiento 4: testigo, aplicación de 300 ml de agua.

A los 30, 60, 90 y 120 días luego de la última aplicación (DDA), se extraerán muestras de cada tratamiento con un cilindro de PVC de 5 cm de diámetro y 65 cm de largo. La biomezcla se colocará en una bandeja 1,5 L y se homogenizará para realizar los bioensayos con la metodología propuesta por Foti y colaboradores (2005). Se utilizarán lechuga, rúcula y lenteja para los ensayos de poder germinativo (por ser especie muy sensible a los herbicidas antes mencionados). Se colocará la biomezcla en cajas de Petri de 10 cm de diámetro y se llevarán a estufa a temperatura controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 48 horas. Luego se realizará el recuento de semillas germinadas y la medición de la longitud de raíz primaria. Para esto las plántulas se limpiarán, se secarán y serán escaneadas, para luego con el programa Image-Pro Plus 6.0 medir la longitud radicular para calcular el índice de germinación.

$$IG(\%) = \left(\frac{N^{\circ} \text{sem. germinadas, TR}}{N^{\circ} \text{sem. germinadas, Testigo}} \right) * \left(\frac{\text{Long. radícula, TR}}{\text{Long. radícula, Testigo}} \right) * 100$$

Los resultados serán analizados mediante el análisis de la varianza y las medias se compararán con el test de Tukey para cada tratamiento (el paquete estadístico a utilizar será InfoStat)

Determinación de la actividad microbiana

La determinación de la actividad de los microorganismos se realizará mediante la medición de la respiración microbiana. Las muestras se extraerán al inicio del tratamiento (tiempo 0) y a los 120 días. La biomezcla se secará a temperatura ambiente y se tamizará, luego se tomará una alícuota de 20 g y se colocará junto con una cubeta con 15 ml de hidróxido de sodio (NaOH) como secuestrante de CO_2 en un frasco de vidrio cerrado herméticamente, por un período de incubación de 7 días a capacidad de campo, 60% humedad y 28-30 °C temperatura. Simultáneamente, se preparará un frasco con las mismas condiciones, pero sin biomezcla. Este frasco será utilizado como blanco para descontar el CO_2 proveniente del aire. Luego de la



incubación se medirá la cantidad de CO₂ producido a través de una reacción de titulación con ácido clorhídrico (HCl) y empleando como indicador fenolftaleína. Con la siguiente ecuación se obtendrá la cantidad de CO₂ producido por respiración microbiana.

$$mgCO_2/7días/g = \frac{(Blanco - muestra) * 4,4}{peso\ de\ la\ biomezcla(g)}$$

Blanco= mL de HCl gastados para titular el blanco

Muestra= mL de HCl gastados para titular la muestra

4,4= factor de conversión entre HCl y CO₂

Determinación de los microbiomas o comunidades microbianas de la biomezcla

El análisis cuantitativo de las comunidades microbianas de la biomezcla se realizará al inicio del ensayo y a los 120 días después a través del recuento en placa de microorganismos viables. Se pesarán 10 g de la biomezcla y se colocarán en una botella de vidrio estéril con 90 ml de agua peptonada al 0,1 % agitándose 25 veces de manera vigorosa (dilución 10⁻¹) y se llevarán a cabo diluciones decimales seriadas en agua peptonada. Se cuantificarán las bacterias heterótrofas totales utilizando el medio de cultivo Plate Count Agar (PCA), donde las placas se incubarán durante 48 horas a 28°C (APHA–AWWA, 1998). Para el recuento de hongos heterótrofos totales se utilizará el medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA) y la incubación se realizará durante 6 días a 25°C. En el recuento de actinomicetes se utilizará el medio almidón-caseína adicionándole fluconazol al 0,25% para inhibir el crecimiento de hongos y las placas se incubarán a 28°C por un período total de 10 días (APHA – AWWA, 1998). Los resultados obtenidos de los recuentos microbianos se expresarán en ufc/g de suelo seco.

Efectos de los fungicidas sobre la degradación de herbicidas

Para evaluar el efecto de los fungicidas sobre la degradación de mezclas de herbicidas las camas biológicas se prepararán como ya se mencionó anteriormente, con 3 repeticiones por tratamiento. Tratamiento 1, mezcla de herbicidas; Tratamiento 2, mezcla de herbicidas más fungicidas y Tratamiento 3 testigo.

Tratamiento 1: aplicación de una mezcla de 3,07 g i.a de glifosato, 1,71 g i.a de 2,4-D y 0,009 g i.a de metsulfuron en 300 ml de agua.

Tratamiento 2: aplicación de una mezcla de 3,07 g i.a de glifosato; 1,71 g i.a de 2,4-D ;0,009 g i.a de metsulfuron; 0,33 g i.a de azoxistrobina y 0,12 g i.a de ciproconazole en 300 ml de agua

Tratamiento 3: testigo, aplicación de 300 ml de agua.

A los 15, 30, 60 y 120 días después de la última aplicación se extraerán muestras de biomezcla con caladores para realizar evaluaciones de fitotoxicidad, determinando el índice de germinación. Se compararán los índices de germinación por fecha realizando la comparación de medias mediante el test de Tukey.

Uso de *Trichoderma sp.* en camas biológicas para degradar atrazina

En la evaluación del efecto del agregado de *Trichoderma sp.* en la biomezcla, sobre la degradación de atrazina mediante biotest. Se preparará la biomezcla (como se mencionó anteriormente) y aplicará atrazina cada 7 días, durante 4 semanas. Los Tratamientos serán: **T 1:** 7, 45 g.i.a de atrazina en 300 ml de agua. **T 2:** 7, 45 g.i.a de atrazina en 300 ml de agua más 1 aplicación de *Trichoderma harzianum* cepa Th2 3,24% (2x10⁸ conidios por ml) dosis equivalente a 1,5 kg por ha. y T3: Testigo aplicación de 300 ml de agua. Posteriormente se evaluará mediante biotest la fitotoxicidad de los distintos tratamientos a los 15, 30, 60 y 120 días después de la última aplicación. Se compararán los índices de germinación por fecha realizando la comparación de medias mediante el test de Tukey.



Alteración generada por herbicidas en las poblaciones de nematodos presentes en la biomezclas.

La evaluación de los nematodos presentes en las biomezclas se realizará a los 15 y 90 días después de la última aplicación de los herbicidas. Las extracciones serán de acuerdo al procedimiento de Jenkins (1964), donde se identificarán y contabilizarán bajo microscopio estereoscópico los diferentes grupos tróficos de nematodos presentes.

<p>– Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? (marque X)</p>	
	NO X
	SI. Elija una de las opciones:
	a) Se encuentra en evaluación de protección por medio de patentes
	b) No se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible
	c) Existe un contrato con un tercero que impide la divulgación
	d) Otro. Justifique.
<p>– Período de Confidencialidad: Es el período durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El período máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.</p> <p>Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con "X".</p>	
	1 (UN) año
	2 (DOS) años X
	3 (TRES) años
	4 (CUATRO) año
	5 (CINCO) años
	Otro.
	Motivos:

Lutz Alejandra

Scotta R.R.

100 2019 ·
Año del Centenario
de la Universidad
Nacional del Litoral



100 2019 ·
Año del Centenario
de la Universidad
Nacional del Litoral

