

EVALUACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE HERBICIDAS SOLOS Y EN MEZCLA CON FUNGICIDAS EN CAMAS BIOLÓGICAS, MEDIANTE EL USO DE TEST BIOLÓGICO.

Sánchez, Pablo ¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Litoral)

Director/a: Dr. Scotta, Roberto Ricardo
Co-director/a: M. Sc. Lutz, Alejandra

Área: Ciencias Biológicas.

Palabras Claves: biodegradación; fitosanitarios, fitotoxicidad

INTRODUCCIÓN

Los fitosanitarios son productos muy utilizados en el sistema agrícola argentino, ocupando el cuarto lugar en cuanto al consumo de fitosanitarios, luego de China, Estados Unidos, y Brasil. Por este motivo, resulta fundamental desarrollar tecnologías innovadoras y accesibles que respondan de una manera sustentable al problema de la contaminación.

Se estima que en Argentina se realizan unos 10 millones de cargas de tanque, contabilizando la totalidad de equipos operativos (Leiva y Picapietra, 2012). Las “Buenas Prácticas Agrícolas”, indican que la preparación del caldo de aplicación y la eliminación del agua de lavado de los equipos pulverizadores debe realizarse en zonas destinadas para tal fin (CASAFE, 2015). Es por ello que, la utilización de “camas biológicas” es una estrategia para abordar este problema.

En cuanto a la estructura de las camas biológicas, podemos encontrar diferentes tipos y sistemas. La más adecuada para equipos que trabajan en cultivos extensivos es la cama biológica indirecta donde la pulverizadora se estaciona sobre una plataforma de material que esta impermeabilizada para recoger todos los líquidos en un tanque y luego asperjarlos en las camas biológicas (Guerra, 2020).

La biomezcla donde se produce la degradación de los fitosanitarios está compuesta generalmente por un porcentaje de paja, suelo y turba (50%, 25% y 25% en volumen, respectivamente) (Castillo, 2014). Cada uno de estos componentes posee una característica que le provee determinadas funciones. La paja es el sustrato principal para actividad microbiana, especialmente de hongos que degradan la lignina. El suelo también es una fuente importante de microorganismos degradadores de pesticidas, especialmente bacterias (Castillo *et al.*, 2008), además, por ser rico en materia orgánica y en contenido de arcilla, promueve la actividad microbiana (Torstensson, 1996). Por último, la turba en la biomezcla contribuye a la capacidad de absorción, control de humedad, y también degradación abiótica de pesticidas (Castillo y Torstensson, 2007).

La biodegradación por acción de los microorganismos del suelo constituye una de las vías más importantes. Los microorganismos degradan las cadenas carbonadas y otros compuestos de los plaguicidas, utilizándolos como fuentes de energía y nutrientes (Singh y Walker, 2006).

Título del proyecto: Evaluación de la degradación de herbicidas en camas biológicas mediante el empleo de bioensayos.

Instrumento: CAID

Año de convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Director/a: Dr. Scotta, Roberto Ricardo

Co-director/a: M Sc. Lutz, Alejandra

Ciertos organismos tienen potencialidades para degradar, por ejemplo, el glifosato; se identificó una cepa del género *Bradyrhizobium* capaz de crecer en glifosato como única fuente de carbono y energía (Zabaloy y Gómez, 2005). Otra cepa bacteriana autóctona capaz de utilizar el ácido 2,4-D como única fuente de carbono y energía fue aislada de un río contaminado en Buenos Aires, Argentina (Gonzalez *et al.*, 2012).

Durante las campañas agrícolas se utilizan, para la protección de los cultivos, mezclas de tanques con productos de acción herbicida y fungicida. Los fungicidas más utilizados en cultivos extensivos pertenecen a la familia de los triazoles, estrobirulinas, benzimidazoles y dicarboxamidas (March, 2014), estos fungicidas pueden tener un efecto importante sobre los hongos que actúan en la degradación de los fitosanitarios.

OBJETIVOS

Evaluar la degradación en camas biológicas de herbicidas solos y en mezcla con fungicidas, mediante el uso de test biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio de Sanidad Vegetal FCA-UNL, Esperanza, Santa Fe. Para la construcción de las camas biológicas se utilizaron 9 tubos de PVC de 20 cm de diámetro y 65 cm de alto. El 6 de agosto de 2019, se colocó en cada tubo una mezcla compuesta por 50% de rastrojo de trigo en fragmentos de 3 cm, 25 % de suelo del horizonte A de un suelo serie Esperanza, con historia agrícola y 25 % de resaca de río, manteniéndolos a capacidad de campo. Los tratamientos fueron:

- T1) 6,14 g. i. a. de glifosato + 3,42 g. i. a. de 2,4 D + 0,018 g. i. a. de metsulfuron metil
- T2) 6,14 g. i. a. de glifosato + 3,42 g. i. a. 2,4 D + 0,018 g. i. a. de metsulfuron metil + 0,3 g. i. a. de azoxistrobina metil + 0,12 g. i. a. de cyproconazole.
- T3) Testigo.

El 17 de octubre de 2019, se realizó la aplicación de los fitosanitarios, utilizando 300 ml de agua (en el testigo se aplicó agua sola). Se realizaron 3 repeticiones por tratamiento.

Bioensayos

A los 20, 40 y 60 días luego de la última aplicación (DDA), se extrajeron muestras de cada tratamiento con un cilindro de PVC de 5 cm de diámetro hasta una profundidad de 35 cm. La biomezcla se colocó en una bandeja 1,5 L, se homogeneizó y se llenaron 16 cajas de Petri de 10 cm de diámetro. Para los test de fitotoxicidad se utilizaron semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), rúcula (*Eruca sativa*) y lenteja (*Lens culinaris*). Se colocaron 20 semillas en cada caja de Petri (de rúcula y lechuga), con 5 réplicas. Para lenteja 4 cajas de Petri con 17 semillas cada una y 2 cajas de Petri con 16 semillas. Todas las cajas con la biomezcla fueron humedecidas con agua destilada. Previamente se determinó el poder germinativo de las semillas, siendo para lenteja el 97%, para lechuga 98% y para rúcula 77%. Las cajas de Petri fueron colocadas en estufa a temperatura controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 48 horas. Luego se realizó el recuento del número de semillas germinadas (expresándolo en %) y la medición de la longitud de raíz primaria (OECD, 2003). Para esto las plántulas se limpiaron, se secaron y fueron escaneadas. Con el programa Image-Pro Plus 6.0 se midió la longitud radicular. Se calculó el promedio de la longitud radical y el porcentaje de germinación de cada repetición. Estos valores se utilizaron para obtener un índice de germinación (IG %) (Ecuación 1) (Fonti, 2005):

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

IG: índice de germinación

TR: tratamiento

Los valores de índice de germinación fueron analizados estadísticamente utilizando el análisis de la varianza y la comparación de media se utilizó el test de LSD Fisher ($\alpha \leq 0,05$). Los valores fueron transformados mediante la raíz cuadrada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo, lechuga fue la especie que presentó el menor índice de germinación, en las tres fechas de evaluación (Cuadro 1), esto puede deberse a que, lechuga es una de las especies más sensible a herbicidas (Forero *et al.*, 2004). A los 20 DDA se observaron los mayores índices de germinación para las tres especies, esto puede deberse a que las muestras fueron tomadas hasta 0,35 m de profundidad y, si bien glifosato es altamente adsorbido al suelo, los herbicidas metsulfuron metil y 2,4 D sal amina tienen alta movilidad en suelo (PPDB), no alcanzaron a distribuirse homogéneamente en el perfil por medio de los riegos realizados.

En la primera fecha, solamente el tratamiento de herbicida para rúcula y lenteja tuvo índices de germinación cercanos a al 60% o superiores, se considera que cuando este índice es igual o superior a 60% no hay efectos fitotóxicos (Zucconi, 1981). En esta fecha, para las tres especies, el tratamiento con herbicida solo, tuvo mayor índice de germinación que el tratamiento herbicida más fungicida, esto puede deberse a la acción fungicida que afecta a los hongos y retardan la proliferación de las bacterias que actúan degradando los productos (Marinozzi *et al.*, 2012).

Cuadro 1. Índice de germinación de las tres especies evaluadas en dos tratamientos de fitosanitarios, en 3 fechas de después de la aplicación.

Especies	Rúcula		Lechuga		Lenteja	
	Tratamientos		Tratamientos		Tratamientos	
	F + H	H	F + H	H	F + H	H
20 días	27,2 a	59,4 b	14,7 a	18,0 a	42,1 a	79,1 b
40 días	34,0 a	38,1 a	9,5 a	11,4 a	18,7 a	10,8 a
60 días	37,7 a	33,3 a	11,3 a	3,0 b	27,7 a	10,0 b

F+H= Tratamiento de herbicida más fungicida. H= Tratamiento de herbicida

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (LSD Fisher $\alpha \leq 0,05$).

A los 40 y 60 DDA, todos los tratamientos tuvieron IG menores al 60% para las tres especies. A diferencia de la primera fecha, donde los mayores IG se daban en el tratamiento de herbicida, a los 40 DDA no hubo diferencias entre tratamiento para las tres especies. A los 60 DDA, el tratamiento herbicida más fungicida tuvo mayor IG que el de herbicida solo, pero con diferencias significativas solo para lechuga y lenteja. La acción de azoxistrobina sobre los hongos de camas biológicas se puede disipar a los 30 días y los triazoles a los 60 días; además, se ha observado que luego de una aplicación de fungicida hay un crecimiento más rápido de otros hongos no afectados, mejorando la degradación de los herbicidas (Marinozzi *et al.*, 2012).

La mezcla con fungicidas, si bien en un primer momento tuvo un efecto negativo en la degradación de los herbicidas, hacia el final de la experiencia el efecto fue inverso, por lo que es necesarios realizar nuevos trabajos sobre este tema.

CONCLUSIÓN

Los herbicidas 2,4 D, metsulfuron metil y glifosato, solos o en mezcla con fungicidas (azoxistrobin metil y cyproconazole), en camas biológicas, 60 DDA no fueron degradados, realizando las evaluaciones mediante test biológicos (%IG).

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- CASAFE. 2015. Lineamientos de base. Red de BPA. Disponible en: <https://www.casafe.org/pdf/2015/BUENAS-PRACTICAS-AGRICOLAS/BuenasPracticasAgricolas-LineamientosdeBase.pdf>
- Castillo, M. D. P. 2014. Pasado, presente y futuro de las biobeds. JTI – Swedish Institute of Agricultural and Environmental Engineering. Sweden. [online] Disponible en: <http://agrequima.com.gt/site/wp-content/uploads/2017/01/12-Biobeds-Workshop-Pasado-Presente-y-Futuro-MPC.pdf> Consulta: 05/05/2018.
- Castillo, M. D. P., Torstensson, L. 2007. Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. J. Agric. Food Chem. 55: 5725–5733.
- Castillo, M. D. P., Torstensson, L. y Stenström, J. 2008. Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Use. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6206–6219.
- Forero C.; Rodríguez E. E.; Fuentes, C. 2004. Detección de residuos biodisponibles de glifosato en aguas y suelos: Optimización de una técnica de bioensayo con plantas indicadoras. *Agronomía Colombiana*, vol. 22, núm. 1, pp. 63-73. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Foti, N. M., Billard C., Lallana V. H. 2005. Bioensayos de germinación con semillas de rúcula y lechuga para monitoreo de calidad de agua. *Revista Científica Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias – UNER*. 9(1): 47-53
- González A.J., Gallego A., Gemini V.L., Papalia M., Radice M., Gutkind G., Planes E., Korol S.E. 2012. Degradation and detoxification of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by an indigenous *Delftia* sp. strain in batch and continuous systems. *International Biodeterioration & Biodegradation* 66: 8-13.
- Guerra, V. 2020. Camas biológicas: una herramienta versátil y proactiva para el uso adecuado de fitosanitarios. *Revista RIA – INTA*. Vol 46 N°2. Pag 140-144. ISSN 1669-2314. ISSN 0325-8718. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina
- Leiva, P.D y Picapietra, G. 2012. Compatibilidad para mezclas de tanque de tres herbicidas utilizados en barbecho químico. Sitio Argentino de Producción Animal. Grupo Protección Vegetal–INTA Pergamino. Pergamino (Buenos Aires). Disponible en: http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_combate_de_plagas_y_malezas/161_Ensayo_mezclas.pdf Consulta: 17/07/21
- March, G. 2014. *Agricultura y plaguicidas: Un Análisis Global*. 1ª ed. FADA-Fundación Agropecuaria para el Desarrollo de Argentina. Río Cuarto, Córdoba, Argentina ISBN 978-987-45427-1 7
- Marinozzi, M., Coppola, L., Monaci, E., Karpouzas, D.G., Papadopoulou, E., Menkissoglu-Spiroudi, U., Vischetti, C. 2013 The dissipation of three fungicides in a biobed organic substrate and their impact on the structure and activity of the microbial community. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 2546–2555.
- OECD. Organization for Economic Co-operation and Development. 2003. Guideline for the testing of chemicals proposal for updating guideline 208 Terrestrial Plant Test: 208: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. 19p.
- PPDB. 2007. Pesticide Properties Database. Disponible en: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/index.htm>
- Singh B.K., Walker A. 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiology Reviews*. 30: 428-471.
- Torstensson, L. 1996. Herbicides in the Environment. *Proceedings of the Second International Weed Control Congress*. Copenhagen, Denmark; Vol. 1-4, 267-274.
- Zabaloy M.C., Gómez M.A. 2005. Diversity of rhizobia isolated from an agricultural soil in Argentina based on carbon utilization and effects of herbicides on growth. *Biology Fertility Soils* 42: 83-88.
- Zucconi, F.; Pera, A.; Forte, M.; DE Bertoldi, M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle* 22: 54-57.