

**BIOENSAYOS DE GERMINACIÓN PARA DETERMINAR
TOXICIDAD POR GLIFOSATO EN RASTROJO Y SUELO DE UN
LOTE AGRÍCOLA**

por

María Natalia Foti

Tesis para obtener el grado académico de

DOCTOR EN INGENIERÍA

Mención en Ciencias Agropecuarias de las Facultades de
Ciencias de la Alimentación, Ciencias Agropecuarias e Ingeniería
de la

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS



Director de la Tesis: Víctor Hugo Lallana

Julio de 2017

Resumen

La determinación de residuos de plaguicidas en muestras ambientales tradicionalmente se lleva a cabo mediante técnicas cromatográficas. En la actualidad, se reconoce que la caracterización y medición de los tóxicos o componentes de los residuos peligrosos por separado no es suficiente para asegurar la ausencia de efectos indeseables, puesto que tanto la mezcla como posibles transformaciones en el ambiente pueden modificar su efecto nocivo. De ahí que el uso de ensayos biológicos esté siendo considerado una herramienta importante para la evaluación de toxicidad global de contaminantes. El concepto de bioensayo deriva de la toxicología clásica, el cual ha sido adaptado y aplicado al diagnóstico ambiental, considerándose como un complemento a los análisis fisicoquímicos convencionales. Las pruebas de toxicidad constituyen una herramienta eficaz para la predicción de niveles de concentración de compuestos tóxicos, en los que mediante la analítica clásica no se logra obtener efectos observables, extendiéndose estas evaluaciones al ámbito de poblaciones, comunidades o ecosistemas para la identificación de elementos biológicos en riesgo. Dentro de las metodologías estandarizadas, *Lactuca sativa* L. (lechuga) ha sido recomendada por diferentes organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras ambientales y compuestos puros, por ser una de las especies más sensibles y evaluable cuantitativamente por el crecimiento de la raíz.

La hipótesis es que la fracción biodisponible del herbicida glifosato afecta negativamente la elongación de la raíz de lechuga. El objetivo general de este trabajo es detectar la presencia de residuos biodisponibles de glifosato en suelo y rastrojo, en un sistema de rotación trigo-soja, por medio de bioensayos con semillas de lechuga.

Previamente se planificaron y ejecutaron una serie de ensayos como son la curva dosis-respuesta (CE50) de formulaciones comerciales de glifosato empleando dos especies vegetales, disipación de glifosato en el agua por efecto de la luz, aplicación del método directo e indirecto en ensayos biológicos con glifosato, bioensayos con semilla pregerminada y sin pregerminar, bioensayos para detección de residuos biodisponibles de glifosato en suelo a través del método indirecto. Los resultados de estos ensayos preliminares permitieron planificar y ejecutar el ensayo principal. La CE50 calculada para distintas formulaciones de glifosato varió entre 2 a 3 ppm.

En las campañas 2014-15 y 2015-16, en un lote agrícola se realizó el muestreo de la situación inicial, tanto de suelo como de rastrojo, para utilizar como testigos. Se realizaron muestreos a los 1, 3, 7, 14, 21 y 30 días después de la aplicación (dda) en dos años sucesivos. Se colocó en cajas de Petri, parte de la muestra de suelo (homogeneizado) o rastrojo (molido) de cada

fecha de muestreo, se humedeció y se sembró 20 semillas pregerminadas de lechuga en cada caja. Se realizaron 5 repeticiones por fecha de muestreo (100 semillas por tratamiento), comparándolos con muestras de rastrojo y de suelo colectadas antes de la aplicación. Se incluyó además un control negativo con agua destilada y un control positivo con un tóxico de referencia (sulfato de zinc). Todas las cajas se llevaron a cámara de crecimiento ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ con alternancia de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad) por 72 horas más. En total cada ensayo duró 96 horas incluyendo el período de pregerminación (24 h). Cumplido este tiempo se sacaron las semillas de cada caja con una pinza, se colocaron sobre una goma eva oscura en forma secuencial e inmediatamente se midió la longitud radical con calibre digital. Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva y comparación de medias empleando Tukey y Dunnett (Alfa 0,05). Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial para comparar suelo y rastrojo entre campañas.

Se calculó la Inhibición de la elongación de la radícula (Elr), relacionando la longitud radical promedio del testigo agua destilada con respecto al testigo suelo y rastrojo. Se pudo establecer el efecto suelo y el efecto rastrojo sobre la elongación de la raíz. Por diferencia se calculó la inhibición de la elongación radical debida al efecto glifosato hasta los 7 dda, tanto en suelo (entre 28 y 9 %), como en rastrojo (entre 28 y 12 %) en la campaña 2014-15. En la campaña 2015-16 la inhibición fue detectable hasta los 14 dda en suelo (entre 50 y 9%), mientras que en rastrojo se detectó en todas las fechas con una disminución paulatina hasta los 30 dda (entre 36 y 3 %).

En la campaña 2014-15 las precipitaciones registradas fueron mayores que la media histórica y las longitudes radicales promedio de los ensayos con suelo fueron menores que con rastrojo al compararlos con los de la campaña 2015-16. En la campaña 2015-16, en cambio, las lluvias fueron menores que la media histórica y las raíces de lechuga crecieron menos en rastrojo que en suelo. Se podría asociar esto con un posible lavado de glifosato desde el rastrojo al suelo cuando las lluvias fueron más abundantes.

Frente a los costos de los análisis de glifosato por técnicas cromatográficas, los bioensayos con semillas de especies sensibles ofrecen diversas ventajas: a) es un método rápido con pocos requerimientos instrumentales, b) es versátil, ya que se puede ajustar la técnica para detectar toxicidad de diversos compuestos tanto en agua como en suelo u otros sustratos y c) es repetible, económico y permite obtener resultados en poco tiempo. El nivel de detección en el caso del glifosato resultó 1000 veces menor comparado con la técnica cromatográfica, no obstante permite comprobar la presencia del tóxico.