

Detección de Glifosato y AMPA en suelos del área agrícola de Entre Ríos y la valoración de efectos en matrices biológicas

Anglada, M.M.*; Foti, N.*; Cerana, J.A.*; Elizalde, J.H.I.*; Ayala, F.A.*; Hernández, J.P.*; Masin, C.E.**; Rodríguez, A.R.***; Lallana, M. del C.*; Riffel, M.F.*; Claus, J.*; Turin, B.*; Maidana, A.*; Pe-reyra, M.J.*; Crettaz, E.* y Toledo, C.E.R.*

AUTORES: *Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos (3100) Oro Verde, Entre Ríos, Argentina.

**Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química -INTEC- (UNL-CONICET), (3000) Santa Fe, Argentina.

***Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad Nacional del Litoral, (3000) Santa Fe, Argentina.

CONTACTO: manglada@fca.uner.edu.ar

Resumen

Se evaluaron residuos de glifosato en muestras de suelo y rastrojo de los lotes Los Hermanitos y Alberdi (Argiudol vértico y Argiudol ácuico) de la provincia de Entre Ríos y se determinó el efecto biológico como una aproximación al estudio de contaminantes originados por la producción agrícola. Se determinó la concentración del herbicida, se realizaron relevamientos de oligoquetos y ensayos de toxicidad con *Eisenia fétida* y se aplicaron bioensayos de germinación con especies sensibles. Se detectó glifosato y ácido aminometilfosfónico (AMPA) en los suelos estudiados durante las campañas 2015 - 2017, alcanzando concentraciones máximas de 222 ppb y 620 ppb, respectivamente. Se observó relación lineal negativa entre la Capacidad de Intercambio Catiónico y el contenido de glifosato en los suelos estudiados, con dependencia de la relación encontrada entre el contenido de materia orgánica y el contenido de herbicida hallado. Cuando se utilizó rastrojo como sustrato en los bioensayos con lechuga y tomate, se detectó fitotoxicidad en uno de los lotes. La mayor abundancia de especies de lombricesse registró en el lote Alberdi (5 especies) y de los sitios de referencia, se destacó el correspondiente a Los Hermanitos (6 especies). La biomasa y densidad presentaron variaciones en los sitios agrícolas para cada campaña, como así también en la cantidad de juveniles y el número de adultos.

Palabras clave: glifosato, AMPA, suelos, persistencia, bioensayos

Objetivos propuestos y cumplidos

La propuesta original de esta investigación tuvo como propósito central determinar, a través de técnicas analíticas convencionales, la presencia de residuos de glifosato en el suelo para las condiciones habituales de uso en el cultivo de soja. De ella derivaron los objetivos particulares consistentes en: evaluar la presencia y posibles efectos acumulativos de glifosato en los componentes del sistema soja a través de bioensayos, en lotes de producción; evaluar a campo el efecto del uso del suelo sobre las lombrices de tierra presentes en el área agrícola entrerriana; evaluar toxicidad por el efecto residual del herbicida mediante bioensayos de germinación con semillas de especies sensibles.

Marco teórico

El consumo de agroquímicos y fertilizantes en la Argentina se incrementó 5,6% en 2017, en relación con el año anterior y el total estimado es de 3,8 millones de toneladas (IES, 2018). En el escenario descripto, los herbicidas ocupan el 59 % del total de fitosanitarios del mercado (INTA, 2012).

El glifosato, N-(fosfonometil) glicina, es el herbicida más ampliamente utilizado en la historia de la agricultura (Johal y Huber, 2009). Actualmente se utilizan en el mundo 2000 millones de litros de este herbicida por año y nuestro país posee el 8,5% de este consumo (Vera, 2011).

“El glifosato tiene tanto éxito precisamente porque durante mucho tiempo se lo consideraba no problemático”, señala Silvia Pieper, 2017 de la Oficina Federal de Medio Ambiente (UBA) de Alemania. Al ser adsorbido por las partículas del suelo, prácticamente no se lo encuentra en las aguas subterráneas, sin embargo tarda más de un año hasta que el 90 por ciento de la sustancia se degrada. En los sedimentos puede permanecer durante mucho tiempo y se cree que podría tener efectos negativos en la biodiversidad del suelo, la vida acuática y para las personas.

El destino de un plaguicida en el ambiente edáfico está gobernado por los procesos de retención, transporte y de degradación, como por su interacción (Cheng, 1990, citado por Aparicio et al, 2015). Estos procesos suelen ser los responsables de la disminución de la cantidad original aplicada de plaguicida. Que un proceso predomine sobre otro va a depender de las propiedades físico-químicas de los plaguicidas y de las características del suelo (Aparicio et al, 2015). Arias-Estevez (2008), cita como factores del suelo que influyen en la persistencia de los herbicidas a la textura, estructura, compactación y materia orgánica.

El glifosato es un producto que tiende a adsorberse al suelo pudiendo por ello acumularse primordialmente en los arcillosos, donde se pueden formar residuos no extractables. En base a lo especificado por la *Environmental Protection Agency* (EPA) y otras fuentes de referencia, el glifosato que llega al suelo es fuertemente adsorbido, aún en suelos con bajos contenidos de arcillas y materia orgánica. Por ello, aunque es altamente soluble en agua, se considera que es inmóvil o casi inmóvil, permaneciendo en las capas superiores del suelo, siendo poco propenso a la percolación y con bajo potencial de escorrentía, excepto cuando se adsorbe a material coloidal o partículas suspendidas en el agua de escorrentía.

Varios investigadores afirman que el Glifosato puede ser fácilmente desorbido en algunas clases de suelo y ser muy móvil en el ambiente. (Dinham, 1998). En un suelo, 80% del Glifosato adicionado desorbió o se soltó en un período de dos horas (Cox 1995). Las pérdidas por volatilización o foto descomposición son insignificantes, pero es descompuesto por microorganismos, reportándose vidas medias en el suelo de alrededor de 60 días según la EPA y de 1 a 174 días, para otros autores. Sin embargo, la EPA añade que en estudios de campo los residuos se encuentran a menudo al año siguiente (Nivia, 2012).

Se considera que la degradación inicial es más rápida que la degradación posterior, resultando en larga persistencia. Esta situación se ha encontrado en varios estudios, siendo 249 días en suelos agrícolas y entre 259 a 296 días en ocho sitios forestales de Finnish; 335 días en un sitio forestal de Ontario

(Canadá); 360 días en tres sitios forestales en Columbia Británica (Canadá) y de 1 a 3 años en 11 sitios forestales de Suecia (Nivia, 2012).

La degradación del glifosato en el suelo, depende principalmente de la actividad microbiana, Wieren-Lehr et al, (1997), citado por Sterren et al, (2016) mencionan que las tasas de mineralización del glifosato están relacionadas tanto a la actividad como a la masa de microorganismos; esto determina su permanencia en el suelo. Johal y Huber (2009) indican que este herbicida genera una merma en la población de microorganismos reductores de Mn. En consecuencia, la aplicación de glifosato podría afectar la actividad de los microorganismos del suelo y de la macrofauna.

Bozzo de Brum (2010), observó cambios transitorios en variables microbiológicas tales como el carbono de la biomasa microbiana y la respiración edáfica en suelos cultivados con soja tratada con glifosato. Sterren et al, 2016, analizando algunas variables biológicas en un suelo vertisol y un molisol de Entre Ríos, en dos momentos posteriores a la aplicación del herbicida (bajo condiciones controladas de laboratorio), evaluaron la residualidad del glifosato y determinaron que la aplicación del herbicida aumentó la respiración (AR) en ambos suelos, tendió a aumentar el carbono de la biomasa microbiana y el potencial de mineralización del Nitrógeno, pero estas diferencias fueron en general no significativas, tanto a los dos como a los 28 días y en ambos suelos. El trabajo puso en evidencia que la aplicación del herbicida glifosato no afectó las poblaciones microbianas en los suelos molisoles. En los vertisoles las poblaciones, medidas por su contenido de C, aumentaron acompañando la mayor residualidad del herbicida en estos suelos.

Las lombrices de tierra (*Annelida: Lumbricina*) forman parte de la macrofauna y son considerados "ingenieros del ecosistema" (Lavelle, 1997; Jiménez et al., 2001^a, citado por Masín, 2015). Trabajos realizados en un suelo agrícola bajo siembra directa, con producción de soja en la provincia de Entre Ríos, permitió determinar que la densidad de las dos especies de lombrices, *M. dubius* y *A. rosea* presentes, así como la relación adultos/juveniles reflejaron el impacto producido por la intensidad de uso y el manejo del suelo, comprobando que la presencia de residuos de glifosato y de AMPA estarían afectando la abundancia de oligoquetos de ambas especies (Masín et al., 2015).

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 (IDRC, 2004). Se define a los bioensayos como una forma de análisis sistemático que utilizando el método científico, permite detectar la presencia de una gran diversidad de agentes tóxicos en un solo análisis a través de la o las modificaciones producidas en una población de seres vivos expuestos a dicho agente (Gómez Perazzoli et al., 2001). Los bioensayos de germinación llevados a cabo con especies terrestres sensibles (rúcula, lechuga, rabanito, berro, tomate, arroz, cebolla) permiten en un reducido tiempo, sin requerir equipamiento sofisticado y asociados a bajo costo, determinar la calidad de aguas y lodos. Por lo tanto resultan muy útiles para ser aplicados en muestras ambientales o en el monitoreo de procesos de detoxificación, saneamiento, control de efluentes o reutilización de biosólidos (Wang, 1991; IDRC/IMTA, 2004), detección de salinidad o presencia de herbicidas en aguas (Foti y Lallana, 2005) y suelo (Forero et al., 2004).

El riesgo ambiental causado por el uso de agroquímicos se ha instalado en la opinión pública con mayor fuerza en los últimos años. Si bien se afirma que los productos liberados son menos tóxicos que aquellos liberados hace más de 20 años, lo que se produjo fue un aumento en las cantidades aplicadas.

Teniendo en cuenta la influencia de las actividades agropecuarias para el ambiente es necesario mejorar el conocimiento sobre el riesgo que genera la utilización de agroquímicos en diferentes cultivos, a fin de sugerir alternativas de uso que minimicen el impacto negativo.

Caracterización del área de estudio

El proyecto se desarrolló en dos establecimientos agrícolas, ubicados en el departamento Paraná, provincia de Entre Ríos, Argentina, designados como 1) Los Hermanitos y 2) Escuela Alberdi (Figura 1).



FIGURA 1: Ubicación de los lotes estudiados en las localidades de Paraná y Oro Verde (Entre Ríos).

Clima

La provincia de Entre Ríos puede dividirse en dos grandes regiones climáticas según Daus y García Gache. Un sector Norte con clima subtropical sin estación seca y otra que afecta al resto de la provincia y presenta un clima templado pampeano.

En el departamento Paraná el clima es templado húmedo. La temperatura media anual es de 18,4 °C, con estaciones poco definidas desde el punto de vista térmico, presentando una transición imprecisa. Las heladas son un fenómeno que tiene una expresión altamente microclimática, influido por los cursos de agua. Las precipitaciones presentan una media anual de alrededor de 1.100-1.200 mm, con marcada variabilidad interanual (RIAP Entre Ríos, 2006).

Para el caso del período de evaluación que comprende los meses de setiembre de 2015 a junio de 2017, de acuerdo a los datos de la estación meteorológica de la EEA INTA Paraná se observa variabilidad de las temperaturas, acorde a las estaciones del año, lo cual marca una gran estacionalidad del clima, determinando épocas frías, cálidas y templadas.

Suelos

1) Establecimiento los Hermanitos

El mismo se halla ubicado sobre la ruta Nacional N° 12 (31°45'31.48" S; 60°21'54.45"O). Posee una superficie de 140 hectáreas, dedicadas en los últimos dieciocho años a agricultura bajo siembra directa.

Se halla sobre una peniplanicie suavemente ondulada, caracterizado por la presencia de lomas, me-

dias lomas altas y medias lomas bajas. El suelo se clasificó como Argiudol vértico, Serie General Racedo (Plan Mapa de Suelos, 1998). Estos son suelos molisoles integrados a los vertisoles.

2) Escuela Alberdi

Es un lote productivo de 20 ha, de la Escuela Normal Rural Juan Bautista Alberdi de la localidad Oro Verde (31°50'59.60"S; 60°30'53.18"O). La historia agrícola de los últimos cinco años, contempla tres años de pastura base alfalfa y una rotación soja-maíz.

El suelo se clasificó como Argiudol ácuico, Serie Oro Verde (Plan Mapa de Suelos, 1998). El lote se halla sobre una peniplanicie suavemente ondulada, caracterizado por una secuencia de lomas, medias lomas altas y medias lomas bajas.

Metodología

Variables edáficas estudiadas

- En todo el perfil:
- Reacción del suelo pH por el método potenciométrico en relación suelo-agua 1:2,5 p/v (Jackson, 1976).
- Materia Orgánica (MO) por el método de Walkley y Black (Jackson, 1976)
- Nitrógeno Total (Nt) (Kjeldahl)
- Fósforo asimilable (P disp.) por Método Bray Kurtz 1 modificado Norma IRAM-SAGPyA 29570-1;
- Densidad Aparente (Dap) por el método del cilindro (Baver et al., 1973)
- Textura por análisis granulométrico por sedimentación con pipeta de Robinson (Baver et al., 1973).
- Resistencia Mecánica a la Penetración (RMP). Eijelkamp penetrolgger, cono de 2cm², ángulo de 30° y velocidad de penetración de 2cm/seg.
- En el horizonte superficial:
- Complejo de intercambio (CIC) por extractante Acetato amonio 1 N (Jackson, 1976); Potasio intercambiable (K inter), Calcio intercambiable (Ca inter) y Sodio intercambiable (PSI) por fotometría de llama y Calcio intercambiable (Ca inter) por titulación complejométrica.
- Valor T (total de cationes intercambiables) por saturación con Cl Ca y extractante Cl NH₄
- Cálculo de valor S Saturación Básica (% de cationes básicos intercambiables, sobre los cationes totales) y valor T.
- Nitrógeno de Nitratos (NO₃) (Harper);
- Las determinaciones de CIC y Cationes intercambiables, sólo se realizaron en las muestras del horizonte superficial (Ap).
-

Determinación de residuos de glifosato y estudios de persistencia en campo

El estudio en campo se realizó en los dos lotes agrícolas consignados y abarcó el período octubre de 2015 - julio de 2017. Se siguió el manejo habitual que hace el productor y contempló la utilización del glifosato en una/dos aplicaciones previo a la siembra y aplicaciones en pos emergencia del cultivo, sobre cultivares tolerantes al herbicida (Tabla 1).

TABLA 1: Herbicidas y dosis empleadas en los dos lotes agrícolas evaluados.

			Dosis	Productos
ALBERDI	2015-16	1° aplicación	2 l/ ha ⁻¹ + 100 cc/ha	Sal potásica glifosato SL66,2%;e.a.54 % + fertilizante líquido (Grado: 4,5-17-0)
		2° aplicación	2 l/ ha	sal potásica de glifosato SL 66,2 % e.a.54 %
		3° aplicación	2 l/ha	sal potásica de glifosato SL 66,2%;e.a.54 %
	2016-17	1° aplicación	2 l/ha + 1 l/ha	sal potásica de glifosato SL 66,2 % e.a.54 % + atrazina WG 90 %
		2° aplicación	2 l/ha + 1 l/ha + 0,5 l/ha	sal potásica glifosato SL 66,2 %;e.a.54 % + atrazina WG 90 % + S-Metolaclo EC 96 %
LOS HERMANITOS	2015-16	1° aplicación	1,8 l/ha + 0,8 l/ha + 0,5 l/ha + 0,5 l/ha	Sal potásica glifosato SL 66,2 % + Imazetapir SL 10 % + Quizalofop p-etil 10,8 % + aceite vegetal metilado
	2016-17	1° aplicación	1,8 l/ ha ⁻¹ + 0,2 l/ha + 1 l/ha + 0,2 l/ha	sal potásica de glifosato SL 66,2 % e.a.54 % + Haloxifop R metil EC 3,11 % + Sulfato de amonio + aceite vegetal metilado
		2° aplicación	3 l/ha + 0,4 l/ha + 25 g/ha + 0,2 l/ha	sal potásica de glifosato 66,2 % e.a. 54 % + Fluroxipir EC 28,79 % + Diclosulam WG 84 % + aceite vegetal metilado

Las aplicaciones y los productos utilizados fueron decididos y realizados por el productor. En función de ello se realizaron testeos previos y se determinó la concentración efectiva media (CE 50) de cada producto comercial de glifosato y de las mezclas empleadas, con cada especie, a fin de utilizarlas como control positivo en los trabajos.

Se muestreó en el inicio de cada campaña y luego de 24 h de realizada cada aplicación con el herbicida. El último muestreo en cada lote, se realizó en momentos próximos a la cosecha del cultivo implantado con excepción del lote Alberdi, donde ese muestreo sólo se realizó en la primera campaña agrícola. Se establecieron tres puntos donde se obtuvieron muestras compuestas (integradas por tres sub muestras), extraídas de los primeros 10 cm del perfil. El material se introdujo en bolsas de polietileno, debidamente rotuladas y se llevó al laboratorio. Allí, se prepararon muestras de 50 g de suelo seco al aire, molidas con mortero y tamizadas por 2 mm. Luego, fueron enviadas al Laboratorio de Análisis de pesticidas de la EEA INTA Balcarce, para la determinación de glifosato y AMPA.

Para las determinaciones analíticas, realizadas, el método que se utilizó fue el siguiente: a 5 gramos de cada suelo fortificado con 50 µL de glifosato marcado isotópicamente (10ppm, en todas las muestras se agregó la misma cantidad de glifosato marcado, como forma de controlar internamente la técnica) se le agregó 25 ml de una solución extractante compuesta por Na₂ B₄ O₇ y K₂HPO₄ (100 mM, pH=9), la cual aporta el pH necesario para la derivatización posterior y favorece la desorción del glifosato adsorbido al suelo. Luego, las muestras fueron sonicadas (3 ciclos de 10 min) y centrifugadas. Se toman 2 ml del sobrenadante y se derivatizan con 2 ml de una solución de 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC-Cl) en acetonitrilo (1 mg ml⁻¹), dejando incubar en oscuridad durante la noche. Luego, se adicionan 5 ml de diclorometano a cada muestra derivatizada para extraer compuestos hidrofóbicos y eliminar el exceso de FMOC. Se centrifugan las muestras, se toma la fase acuosa y se filtra por membrana de nylon de 0.2 µm, recolectándose en viales de 2 ml para su posterior análisis por UHPLC-MS/MS. El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo líquido de ultra performance (Waters, ACQUITY UPLC(R)) con una columna ACQUITY UPLC(R) BEH C18 1.7 µm 2.1 x 50 mm unida a una precolumna Acquity VanGuard BEH C18 (1.7 µm, 5 x 2.1 mm), acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Quattro Premier(R) XE - MS/MS) con fuente de ionización electrospray (ESI) de diseño Z-spray. Para la separación cromatográfica se empleó un gradiente de metanol y agua, ambos adicionados con 5 mM de acetato de

amonio, a un flujo de 0.400 ml min⁻¹. Para la espectroscopía de masas en tándem, se utilizó una ionización en modo positivo (ESI+, 3.0 kV). Como gas de nebulización y secado se usó nitrógeno de alta pureza y como gas de colisión Argón. Para cada molécula se seleccionaron tres transiciones de masas, tomando la más intensa para la cuantificación y las dos restantes para confirmación. Para el análisis de los datos se empleó el software Masslynx 4.1 y su paquete Targetlynx.

Determinación de los efectos sobre la fauna edáfica de lombrices y bioensayos de toxicidad en *Eisenia fetida*

En campo

En cada uno de los sitios (agrícolas y de referencia) se realizaron muestreos, uno antes de iniciar la campaña de soja 2015-2016 y otro al finalizar la misma (después del momento de la cosecha). Se tomó como información de partida (background) al primer relevamiento de lombrices de tierra respecto a los antecedentes de uso del lugar.

Los muestreos consistieron en extraer 30 bloques de 30x30x30 cm siguiendo la metodología del programa Tropical Soil Biology and Fertility (Anderson & Ingram, 1993). La revisión de los bloques y extracción de las lombrices se llevó a cabo de forma manual en el mismo lote. En el laboratorio de Ecotoxicología del Grupo Medio Ambiente (INTEC - UNL - CONICET) de Santa Fe se realizó el conteo, y determinación de peso fresco. La diagnosis de los mismos se efectuó siguiendo claves de Righi (1979), Mischis (1991) y Reynolds (1996). La asignación del grupo ecológico al que pertenecen las especies encontradas se realizó atendiendo la clasificación de Bouché (1977).

Se determinaron las variables biológicas: densidad (individuos/m²), biomasa (g/m²), riqueza específica y diversidad (H') mediante índice de Shannon. Los valores de densidad y biomasa se compararon entre tipos de lotes mediante análisis de varianza. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa InfoStat© versión 2008.

En laboratorio

Se realizaron bioensayos de toxicidad con *Eisenia fetida* en forma coincidente con los tratamientos de glifosato realizados en los lotes Los Hermanitos y Alberdi donde los suelos de referencia respectivos, fueron los tratamientos control. Al momento de la aplicación en campo del herbicida, por cada tratamiento con tres réplicas cada uno, se colocaron nueve bandejas plásticas de 45x30x10cm conteniendo suelo-rastrojo del propio sitio asegurando que reciban el asperjado. Posteriormente las bandejas se llevaron a laboratorio y colocaron diez ejemplares adultos de *Eisenia fetida* por réplica manteniéndolas en condiciones de temperatura y humedad requeridas por dicha especie, en tanto que se alimentaron semanalmente con estiércol de vaca y residuos vegetales según Masin & Rodríguez (2012). Dos días antes de cada aplicación según cronograma, se revisó cada bandeja para registrar la biomasa en peso vivo y el número de ootecas y juveniles. Posteriormente los individuos se colocaron en nuevas bandejas que contenían el sustrato con la subsiguiente aplicación (2da y 3ra), hasta la cosecha, momento en el que se dio por finalizado el bioensayo. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA ($p \leq 0,05$).

Determinación de los efectos en bioensayos de germinación con semillas

En campo

En cada uno de los lotes agrícolas seleccionados, se realizó el muestreo inicial previo a las aplicaciones con herbicidas, el cual se utilizó como testigo o control para todos los bioensayos. Se recolectó abundante material tanto de suelo como de rastrojo de los tres bloques, a fin de su utilización durante los dos años de duración del proyecto. Este material se mantuvo en heladera a 4 °C, hasta el momento de

su utilización. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con arreglo factorial 3 x 2 siendo los factores: FA (aplicaciones) con 3 niveles; sin aplicación (T1), primera aplicación (T2), segunda aplicación (T3); y DDA (días desde la aplicación) con dos niveles; 1 y 30 días.

Se realizó ANOVA y homogeneidad de varianzas. Se utilizó la prueba LSD de Fisher con un nivel de confianza del 95 % mediante el software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2015).

En laboratorio

Para los bioensayos se utilizaron semillas de dos especies, lechuga y tomate. Se aplicó el protocolo del IDRC/IMTA (2004) adaptado por Lallana et al., (2009). El poder germinativo de la lechuga fue de 95 % y de 97 % la semilla de tomate sin curar, mejorada, "Uco-14", proveniente de EEA INTA La Consulta, Mendoza.

Se determinó la concentración efectiva media (CE 50) de cada producto comercial de glifosato y de las respectivas mezclas empleadas en los campos, con cada especie, a fin de utilizarlas como control positivo en los ensayos.

En cada caja de Petri se colocó parte de la muestra de suelo o rastrojo según correspondiere, se humedeció y se sembró en cada una 20 semillas. Se taparon colocando un trozo de polietileno entre la base y la tapa de la caja. Para cada tratamiento se realizaron 5 repeticiones de 20 semillas cada una. También se sembraron 5 cajas de un control negativo (T-), a las cuales se les colocaba en la base un disco de papel de filtro humedecido con 3 ml de agua destilada y 5 cajas de un control positivo (T+), con papel de filtro humedecido con la concentración herbicida correspondiente a la CE 50 determinada previamente. Todas las cajas se llevaron a cámara de crecimiento (25°C ±1°C) por 96 horas en el caso del bioensayo de lechuga y por 168 h para el de tomate. Al cabo de ese tiempo se midió, con calibre digital, la longitud radical (mm) de todas las plántulas.

Resultados

Variables edáficas estudiadas

En lote Los Hermanitos se observó una disminución del espesor del horizonte A en el sector de la loma, el cual se redujo de 16 cm a 14 cm en la media loma alta y muestra el efecto de la erosión hídrica que afecta el horizonte superficial.

De acuerdo a los análisis de suelo realizados se determinó a nivel superficial, un contenido de materia orgánica del 3,72% coincidente con los valores encontrados para suelos con características vérticas.

Se registraron valores superiores al 70% de saturación de bases en los horizontes superficiales de las tres situaciones topográficas y un valor de CIC que varió de 28,4 meq/kg de suelo en la media loma alta y de 30,9 y 30,7 meq/kg de suelo en la loma y media loma baja, respectivamente. Los valores de saturación de bases y de CIC concuerdan con los suelos que contienen arcillas montmorillonitas en su constitución.

El contenido de fósforo disponible determinado en la superficie de la loma fue de 9,4 ppm y de 21,2 y 30 ppm para la media loma alta y la media loma baja, respectivamente. Representando valores relativamente altos para este tipo de suelo.

Conjuntamente se obtuvo información de la densidad aparente (DAP) y la resistencia mecánica a la penetración (RMP), en las tres situaciones topográficas (loma, media loma alta y media loma baja). Se determinaron valores de DAP 1,36; 1,25 y 1,34 gr/cm³.

Se observó un aumento en la RMP para el suelo de la loma (Figura 2 A), alcanzando el valor crítico entre los 0 y 5 cm. Se verificó un aumento de la RMP a partir de los 5 cm de profundidad, alcanzando el valor crítico de 2MPa, para las 3 situaciones topográficas.

En el Lote Alberdi, se observó erosión superficial en la zona de la loma. El contenido de materia orgánica en el horizonte superficial fue de 3,3 % en la loma, 4 % en la media loma alta y 3,5 % en la media loma baja y se redujo más del 50 % en el horizonte subsiguiente.

Los valores de CIC variaron de 24,6 meq/kg de suelo para en la loma, 29,8 y 28,5 meq/kg de suelo, en la media loma alta y media loma baja, respectivamente. El porcentaje de saturación en bases sustenta los valores mínimos para la clasificación de suelos del orden molisol. Los valores de DAP fueron de 1,36; 0,93 y 1,01 gr/cm³. Se observó un aumento en la RMP para el suelo de la loma (Figura 2 B), alcanzando el valor crítico de resistencia mecánica a la penetración entre los 0 y 5 cm.

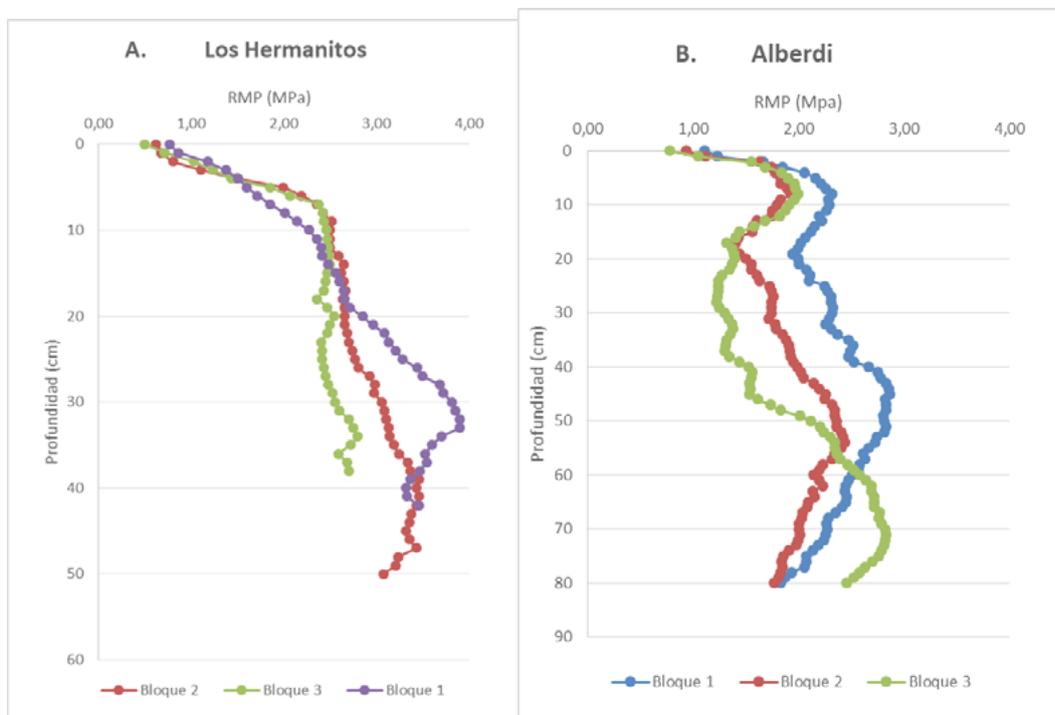


FIGURA 2: Resistencia mecánica a la penetración, lote Los Hermanitos (A) y lote Alberdi (B)

Comparando los lotes se observó mayor RMP en el lote de los Hermanitos, respecto de la observada en el lote de Alberdi, y eso se encuentra relacionado con los valores de DAP mencionados anteriormente.

Se determinó un mejor comportamiento físico del suelo del lote Alberdi, respecto de Los Hermanitos, y ello posiblemente se deba al manejo mixto agrícola-ganadero con inclusión de pasturas y verdes que mejoran la condición física de los suelos a nivel sub-superficial y en profundidad. Por lo cual suelos con una mayor porosidad y con una menor limitación para la infiltración del agua, pueden disminuir el escurrimiento de los plaguicidas hacia zonas más bajas de la topografía o cursos de agua. Sin lugar a dudas, la incorporación de pasturas perennes, que mejoran la condición física de los suelos, contribuiría a controlar los escurrimientos evitando la migración de agua y plaguicidas que pueden ir en solución o suspensión.

Determinación de residuos de glifosato y estudios de persistencia en suelo

Se determinó la concentración de glifosato y AMPA en los suelos seleccionados y se estudiaron las relaciones entre las distintas propiedades químicas y físico químicas del suelo con los valores hallados.

Estudiando las dosis medias aplicadas del herbicida (equivalente ácido) y las concentraciones halladas en el suelo en cada situación topográfica, luego de 24 h de aplicado se determinó 8 % y el 11,3% del glifosato aplicado en Los Hermanitos (Figura 3 A) y del 7.56 % al 14.82% para el lote Alberdi (Figura 3 B). Esto indica que gran parte de los productos aplicados son capturados por la cubierta vegetal o el rastrojo y parte puede ser disipada al ambiente en el momento posterior a la aplicación.

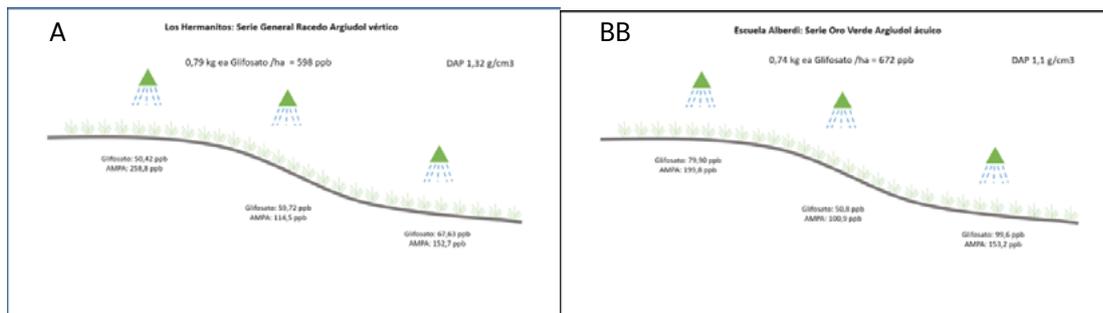


FIGURA 3: Concentración de glifosato y AMPA en cada posición topográfica. A: los Hermanitos; B: Alberdi.

Se consideraron las variables, capacidad de intercambio catiónico, pH actual, textura del suelo, materia orgánica, densidad aparente y resistencia mecánica a la Penetración, condiciones de suelo relacionadas con la retención, detección y persistencia (Aparicio 2015).

En primer lugar, se evaluó el pH actual con el contenido de Glifosato y AMPA, no encontrándose relación entre el parámetro evaluado y el herbicida ($R^2=0.0179$). En cambio para el AMPA la relación de variables mejoró ($R^2=0.2178$) a medida que el pH se acercó a la neutralidad, posiblemente debido a la mayor cantidad y calidad de microorganismos encargados de la degradación del herbicida a AMPA.

Se observó una relación lineal negativa ($R^2= 0.8363$) entre la CIC y el contenido de glifosato en los suelos estudiados (Figura 4 A) con dependencia de la relación encontrada entre el contenido de materia orgánica (% MO) y el contenido de herbicida hallado (relación lineal negativa con un ajuste $R^2 = 0.76359$ (Figura 4 B). En base a ello, a medida que un suelo aumenta la capacidad de intercambio catiónico, la molécula de glifosato se adsorbe más fuertemente a los coloides del suelo. El contenido de AMPA y los correspondientes a materia orgánica y CIC, no mostraron relación ($R^2=0,1972$).

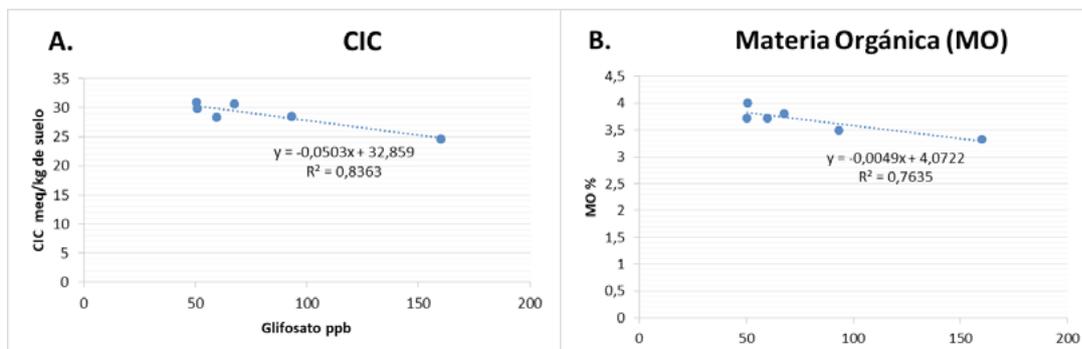


FIGURA 4: Relación entre la concentración de glifosato con la CIC (A) y el % MO (B).

Los valores de concentración de glifosato determinados a las 24 h de la aplicación, fueron variables entre sí, pudiendo esto deberse a la diferencia en la retención del pulverizado en la cubierta vegetal y el rastrojo.

El efecto acumulativo esperable a partir de la aplicación secuencial del herbicida, se verificó parcialmente, dado que ocurrieron disminuciones marcadas de la concentración en algunas de las evaluaciones realizadas. En lote Los Hermanitos, la mayor concentración del herbicida, se determinó 24 h luego de la primera aplicación y en la primera campaña agrícola, alcanzando a 144,33 ppb (Figura 5 A). El mayor valor de concentración fue detectado para el glifosato, después de la tercera aplicación del herbicida en la primera campaña agrícola en el lote Alberdi (Figura 5 B) alcanzó un valor promedio de 172,33 ppb.

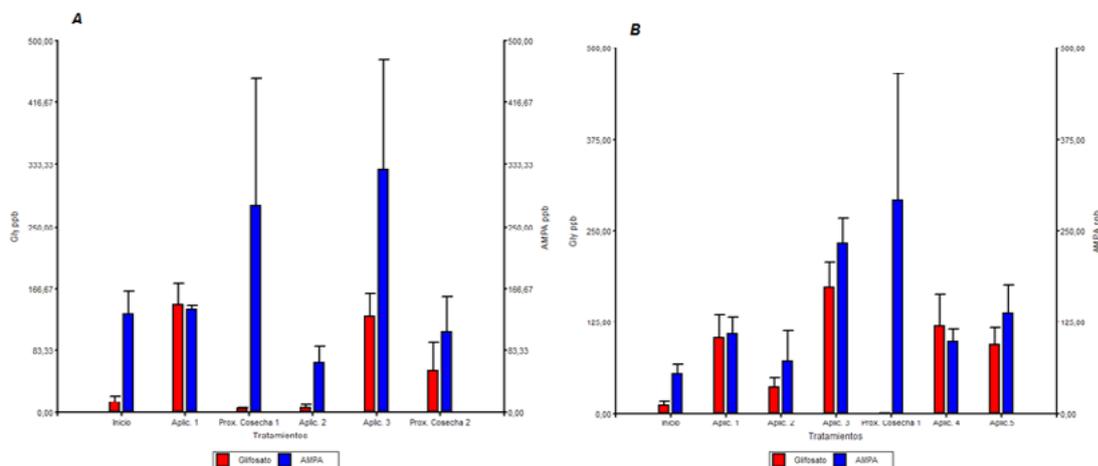


FIGURA 5: Residuos de glifosato y AMPA período 2015 – 2017. Los Hermanitos (A) y Alberdi (B)

En las determinaciones efectuadas en proximidad de la cosecha, durante la primera campaña agrícola, se detectó glifosato (promedio hasta 5,16 ppb Los Hermanitos y 0,83 ppb Alberdi). El glifosato disminuyó su concentración, luego de tres pulverizaciones realizadas y en un período aproximado a 188 días (Figura 5 B, aplicación 1 - próximo a cosecha 1) y también en comparación con el muestreo previo a las aplicaciones. En la segunda campaña, luego de dos aplicaciones en el lote Alberdi (Figura 5 B, aplicación 4 y aplicación 5, próximas entre sí), se verificó una disminución en la concentración promedio de glifosato hallado (119 ppb, y 94,7 ppb) luego de transcurridos aproximadamente 77 días desde la primera pulverización. En cuanto al lote Los Hermanitos, la situación fue similar (129,4 ppb y 56 ppb), pero el tiempo transcurrido entre la aplicación 3 en pos emergencia (Figura 5 A) y la evaluación realizada próxima a la cosecha del cultivo tratado, fue significativamente mayor (166 días).

Las condiciones de los lotes estudiados parecen poco propicias para una traslocación importante de los compuestos aunque se observaron algunas diferencias entre ellos.

Los registros obtenidos para el AMPA, metabolito primario, estable y predominante, confirman la actividad microbiana del suelo y la degradación del glifosato durante los dos ciclos estudiados. La presencia y concentración de AMPA detectadas son más altas que las del glifosato en los dos lotes, alcanzando valores puntuales de hasta 620 ppb. Los perfiles toxicológicos del glifosato y del AMPA, son similares, según lo establecido en la reunión conjunta sobre residuos de plaguicidas de la FAO/OMS, 2004.

La disminución de la concentración de glifosato al final de cada ciclo agrícola, se verificó en ambos lotes estudiados y se produjo de manera independiente de las aplicaciones realizadas con el herbicida y al tiempo transcurrido desde la última aplicación. Posiblemente se deba a que las dosis utilizadas y la cantidad de aplicaciones realizadas responden a condiciones de campo en situaciones donde no aparecen malezas de difícil control.

Determinación de los efectos sobre la fauna edáfica de lombrices y bioensayos de toxicidad con *Eisenia fetida*

Relevamiento en campo: 2015, 2016 y 2017

α- Paraná Campo Los Hermanitos

Tanto la densidad como la biomasa de lombrices variaron durante los muestreos, siendo los valores más altos en la campaña soja 2016/2017 para el sitio de testeo y en el de referencia. La riqueza de especies fue mayor en el sitio de referencia (5) respecto al sitio agrícola (3). Tablas 2 y 3.

TABLA 2. Parámetros biológicos de la oligoquetofauna en el campo “Los Hermanitos” en cada muestreo durante todo el estudio.

	Previo campaña soja - 11/2015			Campaña soja - 2015/2016			campaña soja - 2016/2017		
	ZA	ZM	ZB	ZA	ZM	ZB	ZA	ZM	ZB
Den+sidad (ind.m ⁻²)*	- ^a	4±7 ^a	- ^a	65±44 ^a	19±22 ^b	30±31 ^b	186±90 ^a	60±22 ^b	94±51 ^b
Biomasa (g.m ⁻²)*	- ^a	0,10±0,17 ^a	- ^a	13,74±7,66 ^a	0,63±0,64 ^b	0,90±0,94 ^b	6,38±2,83 ^a	1,82±0,71 ^a	2,98±1,68 ^a
Riqueza de especies	1			2			3		

Referencias: ZA= Zona Alta; ZM= Zona Media; ZB= Zona Baja; *valores representados mediante media ± error estándar; letras diferentes indican diferencias significativas (p< 0,05).

TABLA 3. Valores de densidad, biomasa y riqueza de lombrices en el sitio de “referencia” de Paraná, en los diferentes muestreos.

	Previo a campaña soja 11/2015	Campaña soja 2015/2016	Campaña soja 2016/2017
Densidad (ind.m ⁻²)*	61 ± 9 ^a	40 ± 10 ^a	92 ± 14 ^b
Biomasa (g.m ⁻²)*	17,27 ± 2,7 ^a	12,95 ± 4,65 ^a	24,45 ± 4,13 ^a
Riqueza de especies	4 - <i>A. morrisi</i> - <i>Metaphire californica</i> - <i>Aporrectodea rosea</i> - <i>Octolasion tyrtaeum</i>	6 - <i>A. morrisi</i> - <i>M. californica</i> - <i>A. rosea</i> - <i>Aporrectodea trapezoides</i> - <i>O. tyrtaeum</i> - <i>M. dubius</i>	5 - <i>A. morrisi</i> - <i>M. californica</i> - <i>A. trapezoides</i> - <i>O. tyrtaeum</i> - <i>M. dubius</i>

Referencias: *valores representados mediante media ± error estándar; letras diferentes indican diferencias significativas (p< 0,05).

b- Oro Verde Campo Escuela Alberdi

La biomasa y densidad fue mayor en la campaña soja 2015/2016 en el sitio agrícola (Tabla 4). En tanto que en el sitio de referencia (Tabla 5) ambos parámetros biológicos fueron mayores en la campaña 2016/2017. La riqueza de especies fue 6 en el sitio de referencia y 5 en el sitio agrícola.

TABLA 4. Valores de los parámetros biológicos de la oligoquetofauna en el sitio agrícola “Escuela Alberdi” durante los muestreos realizados en todo el estudio.

Momentos de muestreo	Zonas	Densidad (ind.m ⁻²)*	Biomasa (g.m ⁻²)*	Riqueza de especies
Previo campaña soja - 11/2015	Alta	69 ± 45 ^a	11,30 ± 7,85 ^a	3
	Media	67 ± 32 ^a	10,52 ± 7,69 ^a	
	Baja	54 ± 52 ^a	6,50 ± 7,7 ^a	

Campaña soja – 2015/2016	Alta	87±59 ^a	22,81 ± 16,80 ^a	5
	Media	143 ± 70 ^a	34,70 ± 20,26 ^a	
	Baja	114 ± 58 ^a	13,58±14,61 ^b	
Campaña maíz - 2016/2017	Alta	83±19 ^a	21,07 ± 24,56 ^a	3
	Media	147 ± 18 ^b	39,55 ± 6,58 ^b	
	Baja	62±15 ^a	15,35±2,81 ^a	

Referencias: *valores representados mediante media ± desvío estándar; letras diferentes indican diferencias significativas (p< 0,05).

TABLA 5. Valores de densidad y biomasa de lombrices en el sitio de “referencia” de Oro Verde, antes y después de la campaña de soja.

	Previo a campaña soja (11/2015)	Campaña soja (2015/2016)	Campaña soja (2016/2017)
Densidad (ind.m ⁻²)*	67 ± 12 ^a	95 ± 22 ^a	127 ± 25 ^b
Biomasa (g.m ⁻²)*	28,64 ± 5,69 ^a	30,81 ± 5,63 ^a	67,13 ± 13,68 ^b
Riqueza de especies	6 - <i>A. morrisi</i> - <i>M. californica</i> - <i>A. rosea</i> - <i>A. trapezoides</i> - <i>E. fetida</i> - <i>O. tyrtaeum</i>	3 - <i>A. morrisi</i> - <i>A. rosea</i> - <i>O. tyrtaeum</i>	3 - <i>A. morrisi</i> - <i>A. trapezoides</i> - <i>O. tyrtaeum</i>

Referencias: *valores representados mediante media ± desvío estándar; letras diferentes indican diferencias significativas (p< 0,05).

Bioensayos de toxicidad con *Eisenia fetida*

a- Paraná lote Los Hermanitos

Campaña 2015-2016

Al momento de la cosecha, el aumento de peso de los individuos adultos fue significativamente menor sólo en la zona media (Figura 6).

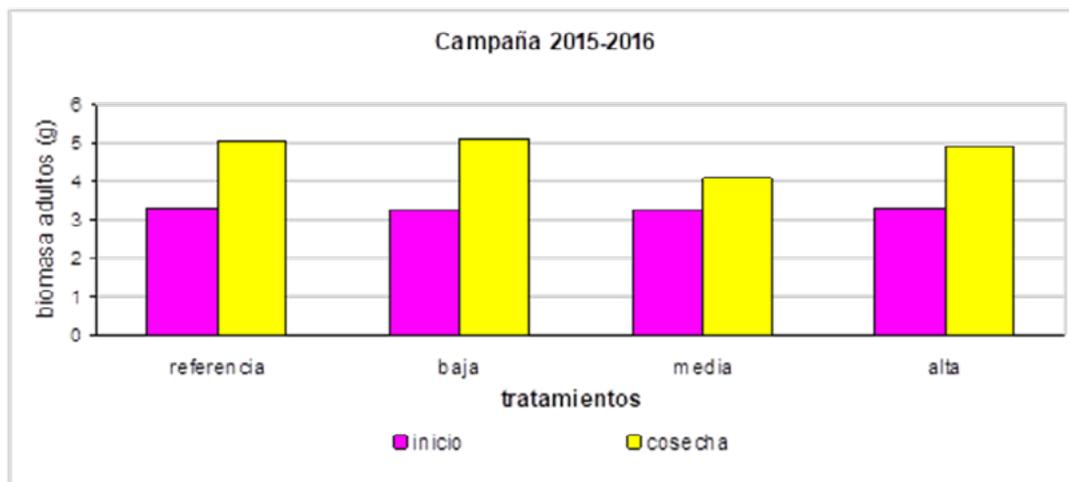


FIGURA 6: Evolución del peso de *Eisenia fetida* en los diferentes tratamiento campaña 2015-2016.

Respecto al desempeño reproductivo, se evaluó proporción de individuos clitelados y cantidad de juveniles donde los valores de ambas variables fueron similares para los tratamientos referencia y zona alta.

Campaña 2016-2017

El descenso de biomasa en adultos en todos los tratamientos fue significativo, destacándose el tratamiento referencia respecto a las zonas baja, media y alta, si bien el peso fue menor en todos comparado con el peso inicial (Figura 7).

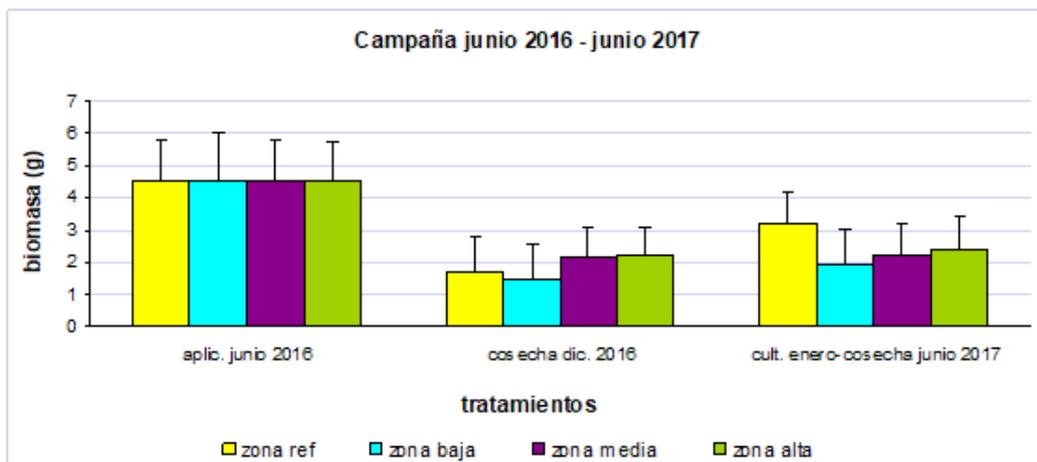


FIGURA 7: Evolución del peso de *Eisenia fetida* en los diferentes tratamiento campaña 2016-2017.

En cuanto a la reproducción, la viabilidad de los cocones y crecimiento de juveniles fue positivamente significativa, llegando al estado adulto en todos los tratamientos al final de la campaña.

tratamiento	junio 2016		diciembre 2016		junio 2017		
	% clit.	% clit.	coc.	juv.	% clit.	coc.	juv.
referencia	100	100	1	14±3	100	32±1	10±4
baja	100	104	1	61±8	60	21±7	14±1
media	100	113	1	47±20	65	29±13	27±6
alta	100	139	0	30±12	77	18±2	21±12

b- Oro Verde lote Escuela Alberdi

Campaña 2015 - 2016

Al momento de la cosecha, el peso de las lombrices descendió significativamente en la zona baja, en tanto que los ejemplares de los tratamientos referencia, media y alta presentaron una importante recuperación de peso en relación al peso inicial (Figura 8).

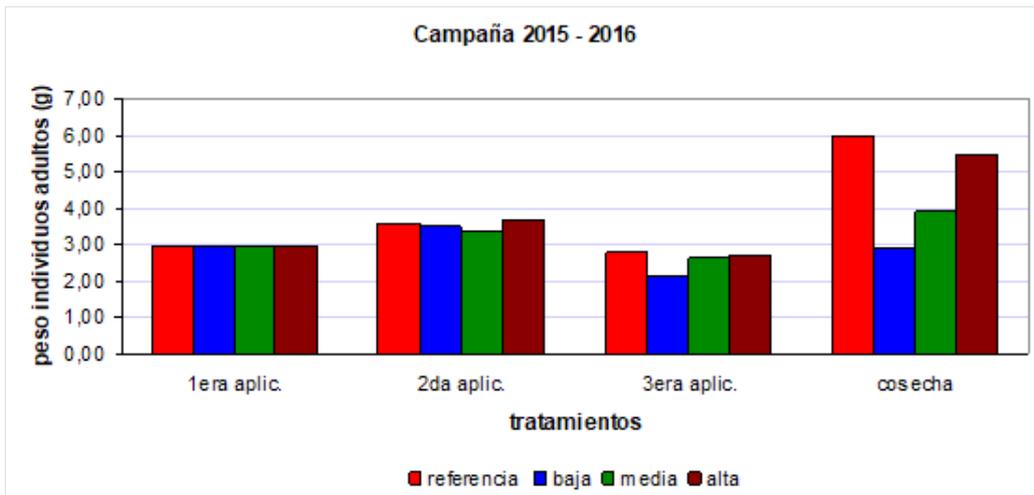


FIGURA 8: Evolución del peso de *Eisenia fetida* en los diferentes tratamiento campaña 2015-2016.

El porcentaje de semiclitelados respecto a clitelados fue muy bajo durante el ciclo de cultivo; la tasa cocones producidos-juveniles nacidos, mostró diferencias significativas sólo en la zona baja.

Campaña 2016 - 2017

Al momento de la cosecha el aumento de biomasa en el tratamiento referencia fue significativo respecto a las zonas baja, media y alta, si bien fue menor comparado al peso inicial. (Figura 10)

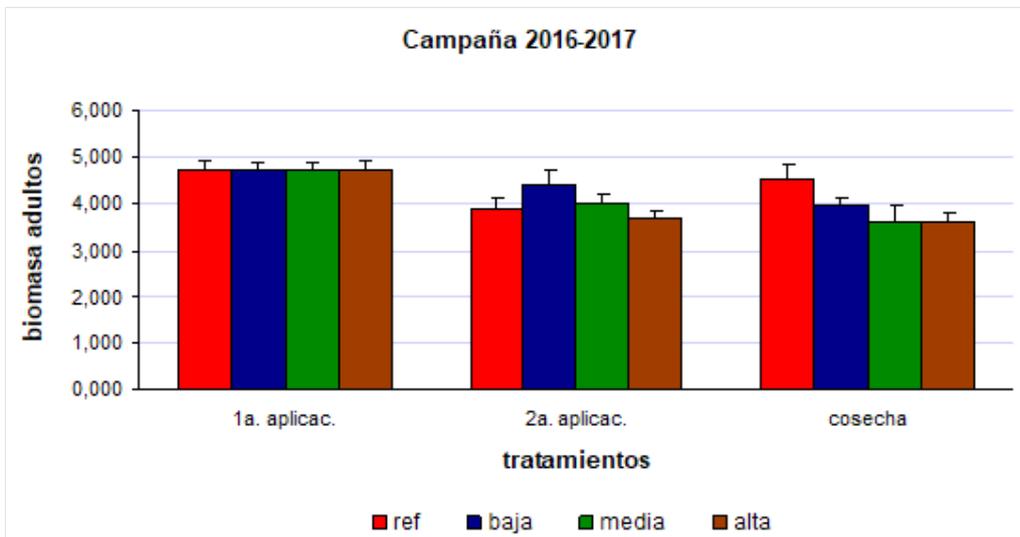


FIGURA 9: Evolución del peso de *Eisenia fetida* en los diferentes tratamiento campaña 2016-2017.

La relación juveniles/cocones no acusó diferencias significativas siendo en promedio 2 juveniles por cocón para todos los tratamientos.

Determinación de los efectos en bioensayos de germinación con semillas

En el lote de la escuela Alberdi, utilizando suelo como sustrato no se detectó efecto sobre la longitud radical de lechuga y tomate, en ninguna de las aplicaciones de las dos campañas evaluadas, ni en los

distintos momentos evaluados (1 y 30 DDA); al compararlos con el testigo correspondiente muestreado antes de las aplicaciones.

Cuando se utilizó rastrojo como sustrato, de este mismo lote, se observó reducción del crecimiento radical en ambas especies y fue significativamente inferior al compararlo con el testigo sin aplicación (Figura10 y 11). Este efecto tóxico fue más evidente, en las dos campañas evaluadas, hasta los 30 DDA al utilizar lechuga.

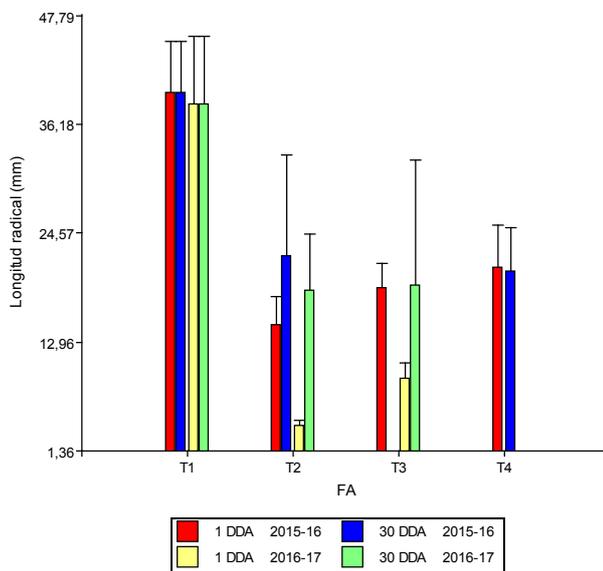


FIGURA 10: Longitud radical promedio de plántulas de lechuga (mm) crecidas en rastrojo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2, T3 y T4 tratados con 1, 2 y 3 aplicaciones de glifosato, respectivamente.

En la primera campaña evaluada el efecto sobre el crecimiento radical de tomate a los 30 DDA fue menor al compararlo con el de la segunda campaña (Figura11).

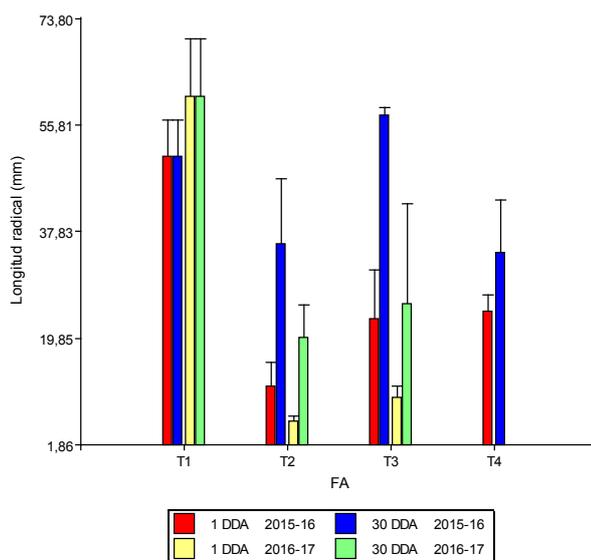


FIGURA 11: Longitud radical promedio de plántulas de tomate (mm) crecidas en rastrojo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2, T3 y T4 tratados con 1, 2 y 3 aplicaciones de glifosato, respectivamente.

En el lote Los Hermanitos, se observó una persistencia de la residualidad hacia los 30 DDA, mostrando que la mezcla con otros herbicidas podría presentar efecto fitotóxico tanto en suelo (Figura12 y 13), como en rastrojo (Figura14 y 15) por lo menos hasta los 30 DDA. Este efecto se observó tanto con tomate como con lechuga en las dos campañas evaluadas, siendo mayor el efecto en la campaña 2015-16.

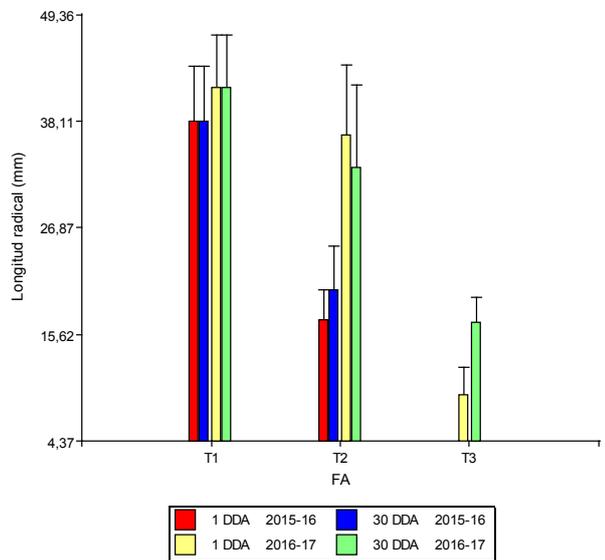


FIGURA 12: Longitud radical promedio de plántulas de lechuga (mm) crecidas en suelo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2 y T3 tratados con 1 y 2 aplicaciones de glifosato, respectivamente.

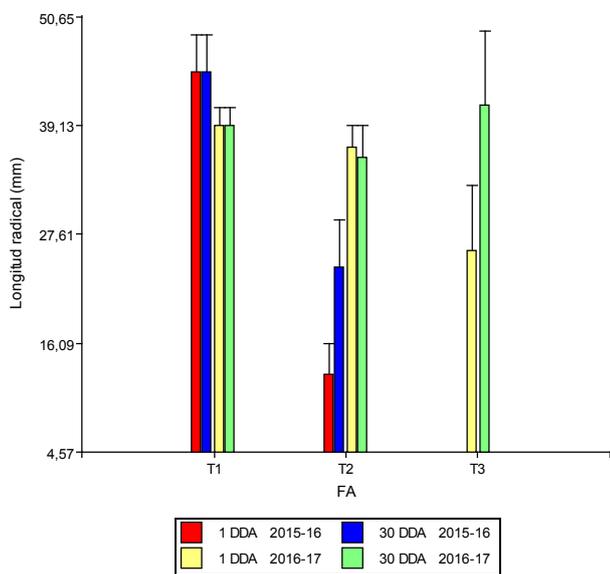


FIGURA 13: Longitud radical promedio de plántulas de tomate (mm) crecidas en suelo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2 y T3 tratados con 1 y 2 aplicaciones de glifosato, respectivamente.

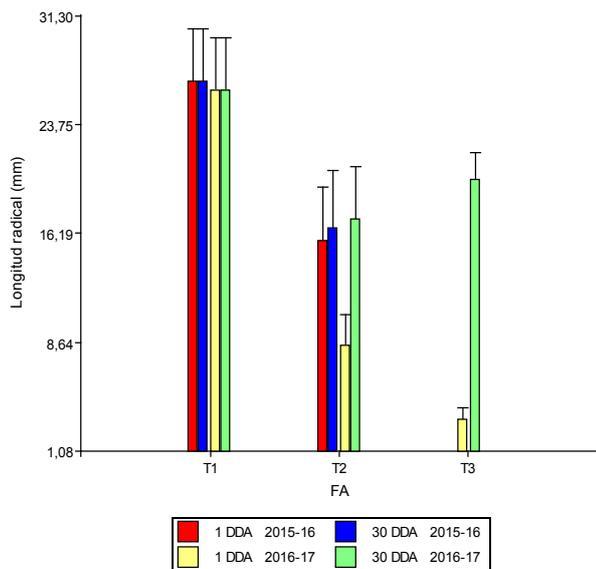


FIGURA 14: Longitud radical promedio de plántulas de lechuga (mm) crecidas en rastrojo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2 y T3 tratados con 1 y 2 aplicaciones de glifosato, respectivamente.

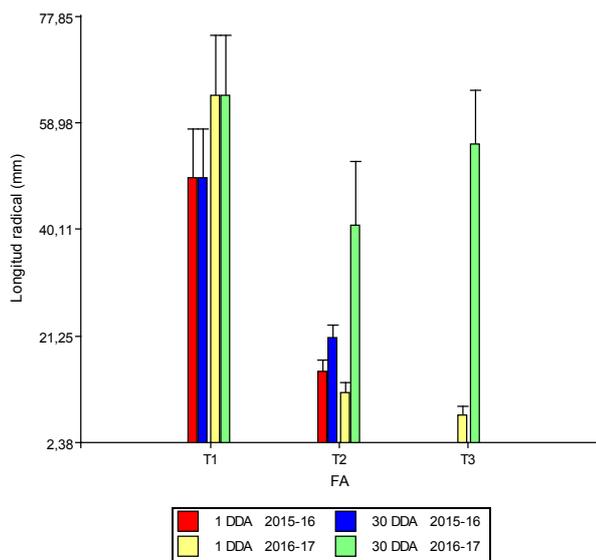


FIGURA 15: Longitud radical promedio de plántulas de tomate (mm) crecidas en rastrojo a 1 y 30 DDA en las campañas 2015-16 y 2016-17. T1: Testigo sin aplicación; T2 y T3 tratados con 1 y 2 aplicaciones de glifosato, respectivamente

Conclusiones

Glifosato y AMPA fueron detectados en suelos Argiudoles (ácuico y vértico) del Departamento Paraná, Entre Ríos en evaluaciones realizadas en 2 lotes agrícolas bajo siembra directa durante las campañas 2015 – 2017. El rango de concentraciones varió desde 1 ppb a 222 ppb para glifosato y de 34 ppb a 620 ppb para AMPA. Comparando ambos lotes, el mayor valor de glifosato se determinó en el lote Alberdi y duplicó al encontrado en el lote Los Hermanitos. En cambio para el AMPA, la concentración más alta se verificó en Los Hermanitos, superando en un 41 % el valor determinado en Alberdi. En ambos lotes estudiados se verificó la disminución de la concentración de glifosato al final de cada ciclo agrícola y se

produjo de manera independiente del número de aplicaciones realizadas con el herbicida y al tiempo transcurrido desde la última aplicación.

Los suelos del ensayo presentaron algunas diferencias en cuanto a la capacidad de intercambio catiónico y de materia orgánica que podrían ayudar a explicar la diferencia en los valores residuales hallados y para considerar el destino ambiental, habida cuenta que la adsorción y desorción del herbicida depende del suelo, la textura, la CIC y el contenido de materia orgánica, entre otras. Se observó una relación lineal negativa entre la CIC y el contenido de glifosato en los suelos estudiados, con dependencia de la relación encontrada entre el contenido de Materia Orgánica y el contenido de herbicida hallado.

Se determinó que el glifosato retenido en los suelos a las 24 hs de la aplicación, varió entre el 8 % y el 11,3% del glifosato aplicado para Los Hermanitos y del 7.56 al 14.82% para el lote Alberdi, estimando que gran parte del producto aplicado es interceptado por la cubierta vegetal o el rastrojo.

A través de la técnica de bioensayos de germinación utilizando suelo (Argiudol acuico) del lote Alberdi como sustrato, no se detectó efecto sobre la longitud radical de lechuga y tomate, en ninguna de las aplicaciones de las dos campañas evaluadas, ni en los distintos momentos evaluados (1 y 30 DDA). Cuando se utilizó rastrojo como sustrato, de este mismo lote, se observó reducción del crecimiento radical en ambas especies y fue significativamente inferior al compararlo con el testigo sin aplicación. Este efecto tóxico persistió hasta los 30 DDA en las dos campañas evaluadas. En el lote Los Hermanitos (Argiudol vértico), se observó residualidad hacia los 30 DDA, mostrando que la mezcla con otros herbicidas podría presentar efecto fitotóxico tanto en suelo como en rastrojo. Este efecto se observó tanto en tomate como con lechuga y en las dos campañas evaluadas. En todos los bioensayos en los que se utilizó rastrojo como sustrato se observó un menor crecimiento radical que en los realizados con suelo.

En los diferentes muestreos de oligoquetofauna, las especies halladas en común para ambos lotes agrícolas, fueron *Eukerria stagnalis* y *Microscolex dubius*. La mayor abundancia de especies se registró en el lote Alberdi (5 especies) y en cuanto a los sitios de referencia, se destacó el correspondiente a Los Hermanitos con la presencia de 6 especies. En Los Hermanitos, tanto la densidad como la biomasa de oligoquetos fueron mayores en el tercer muestreo (campaña de soja 2016/2017). A la cosecha se registraron muy pocas ootecas, sólo se pudo evaluar proporción de individuos clitelados y cantidad de juveniles y el mejor desempeño en número y biomasa correspondió a la zona de referencia. Al final de la campaña se destaca que el número de adultos registró un aumento significativo en todos los tratamientos comparado al número de inicio. En Alberdi, a la cosecha de la primera campaña, los ejemplares de todos los tratamientos presentaron una importante recuperación de peso, en relación al peso inicial y en el relevamiento asociado a la segunda campaña, tanto la densidad como la biomasa de lombrices variaron significativamente entre las zonas. Al final del ensayo, el mayor porcentaje fue para el tratamiento referencia y la biomasa de juveniles fue significativamente mayor respecto al resto.

Se determinó la presencia de residuos de glifosato y AMPA en dos suelos agrícolas de Entre Ríos, sin registrarse acumulación al final de cada ciclo agrícola. El impacto de su presencia podría impactar negativamente en alguna etapa del ciclo de vida de las lombrices. En las especies vegetales sensibles utilizadas como indicadores, de los residuos presentes en el suelo, no se detectó fitotoxicidad.

Indicadores de producción

Formación de recursos humanos

Tipo	1er informe avance	Informe final	total
Dirección de Tesis de Posgrado	1	1	1
Dirección de Becarios de Iniciación CIN		2	2
Dirección de Becarios de Iniciación UNER	5	1	6
Dirección de pasantes			
Dirección de Tesinas	1	1	1
Becaria posdoctoral CONICET		1	1
Becaria Doctoral CONICET	1		1
Estudiantes de posgrado	7	7	7

Publicaciones

Tipo	1er informe avance	Informe final	total
Publicaciones Con Referato	8	11	19
Publicaciones Sin referato			-
Libro/s como autor	1	1	2
Libro/s como coautor		2	2
Libro/s como compilador		1	1
Presentaciones a congresos nacionales	13	25	38
Participación en Convenios		3	3
Cursos dictados como consecuencia de la investigación realizada		1	1
Título de posgrado obtenido	1	1	2
Cursos de posgrado realizados	14	15	29
Actividades de extensión realizadas	8	1	9

Bibliografía

Marco teórico

- Aparicio, V.C.; De Gerónimo, E.; Hernandez Guijarro, K.; Pérez, D.; Portocarrero, R.; Vidal, C (Editores) 2015 Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. INTA Ediciones.
- CASAFE.2011. Mercado argentino de productos Fitosanitarios.
- Cox, C. 1995. Glyphosate, Part 1: Toxicology. En: Journal of Pesticides Reform:15 (3). Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, Eugene, OR. USA. 13 p.
- Dinham, B. 1998. Resistance to glyphosate. En: Pesticides News 41: 5, September 1998. The Pesticides Trust. PAN-Europe. London, UK
- IES Consultores, 2018. Consumo de agroquímicos y fertilizantes. <https://www.elonce.com/secciones/economicas/538112>
- Instituto de Ingeniería Rural (INTA) 2012.Evolución del mercado de herbicidas en Argentina. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-_economia_y_desarrollo_agroind-_boletin1-2.pdf.
- Johal, G. S & Huber, D. M. 2009. Glyphosate effects on diseases of plants. Europ. J. Agronomy 144-152.

- Masin, C.E.; Rodriguez, A.R.; Maitre, M.I.; Cerana, J.; Hernández, Juan P.; Anglada, M.M.; Elizalde, J.H.I.; Lallana, M.C. 2015 Riqueza de lombrices de tierra en un argiudol bajo cultivo de soja (Colonia Ensayo, Entre Ríos). Revista Científica Agropecuaria 19(1-2): 39-50 Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER
- Nivia, E. 2012. Efectos sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato. http://www.mamacoca.org/docs_de_base/Fumigas/Nivia_Efectos_salud_ambiente_herbicidas_con_Glifosato.pdf. Consulta 6 de noviembre de 2015.
- Sterren, M.A.; Ulrich, W.; Benintende, S. 2016. Residualidad de glifosato en suelos de Entre Ríos y su efecto sobre los microorganismos del suelo. Ecología Austral 26:246-255 Asociación Argentina de Ecología.
- Vera, M. S. 2011. Impacto del glifosato y algunos de sus formulados comerciales sobre el perifiton de agua dulce. Acta Toxicológica Argentina 19 (2): 87-88
- Pieper, S. 2017. Glifosato semana clave para su futuro en Europa. Agrovoz. <http://agrovoz.lavoz.com.ar/agricultura/glifosato-semana-clave-para-su-futuro-en-europa>. Consulta 10 junio de 2018.
- Gómez Perazzoli, A.; Espínola, J.; Escarcena, J.; Tagliani, J.C. 2001. Informe de Proyecto. Evaluación participativa de calidad de agua en Montevideo Rural. Montevideo, UR, 39 p [online] <http://idinfo.idrc.ca/archive/corpdocs/118027/a-Evaluación-participativa.pdf>. Consulta [8 de junio de 2004].
- IDRC/IMTA (Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Canadá). 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Ed. IMTA. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México. 189 pp.

Determinación de residuos de glifosato y estudios de persistencia en campo

- Aparicio V.; De Gerónimo, E.; Hernández Guijarro, K.; Pérez, D.; Portocarrero, R.; Vidal, C. 2015. Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. 1ª ed. Balcarce, Buenos Aires; Famaillá, Tucumán; Reconquista, Santa Fe. Ediciones INTA. 73 p.
- Arias-Estévez, M.; López-Periago, E.; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gándara, J.; J C Mejuto, J.C.; García-Río, L. 2008. Review. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. Agriculture, Ecosystems and Environment 123: 247-260
- Bozzo de Brum, M. A. 2010. Persistencia del glifosato y efecto de sucesivas aplicaciones en el cultivo de soja en agricultura continua en siembra directa sobre parámetros biológicos del suelo. Tesis de Maestría. Universidad de la Republica, Facultad de Ciencias: Maestría en Ciencias Ambientales. Montevideo, Uruguay
- Calderón, M.J.; Quintana, M.A.; López Piñeiro, A.; Hermosín, M.C.; Cornejo, J.; 2005. Estudio preliminar sobre el comportamiento del herbicida glifosato en dos suelos de Extremadura. Estudios de la Zona No Saturada del Suelo Vol. VII. F.J. Samper Calvete y A. Paz González.
- Conde, A. P. 2011. Efecto del glifosato sobre comunidades microbianas benéficas y patógenas del suelo en Uruguay. Tesis de Maestría en biología opción microbiología. PEDECIBA. Laboratorio de microbiología de suelos - CIN, Facultad de Ciencias.
- Gutierrez, H.F.; Arregui, M.C. 2000. Comportamiento de Herbicidas en suelos, agua y plantas. Revista FAVE 14 (1) 73-89. 2000
- Lauber, C. L.; Strickland, M.S.; Bradford, M.A. and Fierer, N. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. Soil Biol Biochem 40:2407-2415
- Maitre, M.I., Lorenzatti, E.; Lenardón, A. & Enrique, S. 2008. Adsorción-desorción de glifosato en dos suelos argentinos. Natura neotropicalis 39:19-31.
- Morales Rangel, A.I. 2016. Análisis del comportamiento ambiental de los herbicidas de mayor uso en la subcuenca del río Tecolutla Veracruz. Tesis de Maestría en Ciencias de Estudios ambientales y de la sustentabilidad. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Okada E.; Costa J. L.; Bedmar, F. 2016. Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. Geoderma 263:78-85.

Primost, J.E.; Marino, D.J.G.; Aparicio, V.C.; Costa, J.L.; Carriquiriborde, P. 2017. Glyphosate and MPA, "pseudo-persistent" pollutants under realworld agricultural management practices in the mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution* 229(2017) 771-779.

Sterren, M.A.; Urich, W.; Benintende, S. 2016. Residualidad de glifosato en suelos de Entre Ríos y su efecto sobre los microorganismos del suelo. *Ecología Austral* 26:246-255 Asociación Argentina de Ecología.

Oligoquetofauna y ensayos de toxicidad con *Eisenia Fetida*

Anderson J. M. & Ingram J. S. I. 1993. Tropical soil biology and fertility. A handbook of methods. 2nd. Ed. Wallingford, CAB International. 221 p.

Bartz M. L. C.; Pasini A & Brown G. B. 2013. Earthworms as soil quality indicators in Brazilian no-tillage systems. *Applied Soil Ecology* 69: 39– 48.

Bartz M. L. C.; Brown G. B.; Gonçalves da Rosa M.; Filho O. K.; James S. W.; Decaëns T. & Baretta D. 2014. Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. *Applied Soil Ecology* 83: 59–70.

Bedano J. C. & Ruf A. 2007. Soil predatory mite communities (Acari: Gamasina) in agroecosystems of Central Argentina. *App. Soil Ecol.* 36: 22-31.

Bottinelli N.; Capowiez Y. & Ranger J. 2014. Slow recovery of earthworm populations after heavy traffic in two forest soils in northern France. *Applied Soil Ecology* 73: 130– 133.

Bouché M. 1977. Stratégies lombriciennes. *Ecol. Bull.* 25: 122-132.

Bueno C. G. & Jiménez J. J. 2014. Livestock grazing activities and wild boar rooting affect alpine earthworm communities in the Central Pyrenees (Spain). *Applied Soil Ecology* 83: 71–78.

Crittenden S. J.; Eswaramurthy T.; de Goede R.G.M; Brussaard L. & Pulleman M.M. 2014. Effect of tillage on earthworms over short- and medium-term unconventional and organic farming. *Applied Soil Ecology* 83: 140–148.

Domínguez A.; Bedano J. C. & Becker A. R. 2009. Cambios en la comunidad de lombrices de tierra (Annelida: Lumbricina) como consecuencia del uso de la técnica de siembra directa en el centro-sur de Córdoba, Argentina. *Ci. Suelo (Argentina)* 27 (1): 11-19.

Doran J. W. & Zeiss M. R. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15: 3-11.

Hedde M.; Bureau F.; Delporte P.; Cécillon L. & Decaëns T. 2013. The effects of earthworm species on soil behaviour depend on land use. *Soil Biology & Biochemistry* 65: 264-273

Ibañez, E. 2004. Bioindicadores de calidad de suelo basados en las poblaciones de macrofauna y su relación con características funcionales del suelo. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia, Palmira (Valle). 185 p

Lagerlöf J.; Pålsson O. & Arvidsson J. 2012. Earthworms influenced by reduced tillage, conventional tillage and energy forest in Swedish agricultural field experiments. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science*, 62: 235-244.

Masin C. E.; Rodríguez A. R. 2012. Evaluación preliminar de dos tipos de dieta en la especie endogea *Aporrectodea trapezoides* (Dugés, 1828) (Oligochaeta: Lumbricidae). *Megadrilogica* Vol. 15, N° 10, pp 219-226.

Mischis C. C. 1991. Las lombrices de tierra (Annelida, Oligochaeta) de la Provincia de Córdoba, Argentina. *Bol. Academia Nacional de Ciencias Córdoba*. 59 (3 y 4): 187-237

Momo F.; Giovanetti C. & Malacalza L. 1993. Relación entre la abundancia de distintas especies de lombrices de tierra (Annelida, Oligochaeta) y algunos parámetros fisicoquímicos en un suelo típico de la estepa pampeana. Publicación de la Asociación Argentina de Ecología. Universidad Nacional de Luján. Bs. As. Argentina.

Pelosi C.; Pey B.; Hedde M.; Caro G.; Capowiez Y.; Guernion M.; Peigné J.; Piron D.; Bertrand M. & Cluzeau

- D. 2014. Reducing tillage in cultivated fields increases earthworm functional diversity. *Applied Soil Ecology* 83: 79-87
- Pimentel D. 1997. *Techniques for Reducing Pesticide Use: Economic and Environmental Benefits*, Wiley, New York. In: Altieri, M. A. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74. Paoletti, M. G. (Eds.) 1999. Elsevier Science B. V. pp 19-31
- Reynolds J. W. 1996. *Course manual Earthworm biology and ecology*. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba (Argentina). 196 p
- Righi G. 1979. Introducción al estudio de las lombrices del suelo (Oligoquetos Megadrilos) de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, N° 10: 89-155
- Rodríguez-Campos J.; Dendooven L.; Alvarez-Bernal D. & Contreras-Ramos S. M. 2014. Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: A review. *Applied Soil Ecology* 79: 10-25
- Ullé J.; Andriulo A.; Faggioli V.; Scianca C.; Castro A.; Rimatori F.; Colombini D.; Villalba F.; Dalpiaz J.; García L. & Darder M. L. 2012. Análisis e interpretación de indicadores de calidad de suelos en sistemas orgánicos agrícolas ganaderos. *Memoria Técnica INTA*. 13-17
- Van Eekeren N.; de Boer H.; Hanegraaf M.; Bokhorst J.; Nierop D.; Bloem J.; Schouten T.; de Goede R. & Brussaard L. 2010. Ecosystem services in grassland associated with biotic and abiotic soil parameters. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 1491-1504
- Van Straalen & Krivolutsky, D. M. 1997. Bioindicator systems for soil pollution. *NATO ASI Series*. 16. In: Pankhurst, C.; Doube, B. M. & Gupta, V. V. S. R. (Eds.) 1997. *Biological Indicators of Soil Health*. Cab. International, Oxon, UK. Pp 235-264
- Velázquez E.; Lavelle P. & Andrade M. 2007. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 3066-3080- West H. K.; Stuart Davies M.; John Morgan A. & Herbert R. 2001. Intraspecific variation in calcium and strontium accumulation/depuration in an epigeic earthworm species. *European Journal of Soil Biology*. Vol. 37, Issue 4, 329-332
- Xu S.; Johnson-Maynard J. L. & Prather T. S. 2013. Earthworm density and biomass in relation to plant diversity and soil properties in a Palouse prairie remnant. *Applied Soil Ecology* 72: 119- 127

Bioensayos de germinación de semillas para determinar toxicidad

- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. Infostat versión 2015. Grupo Infostat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dutka, B.J. 1989. Short-term root elongation toxicity bioassay. *Methods for Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments*. Rivers Research Institute (NWRI) Burlington. Ont. Canada.
- Elizalde, J.H.I.; Lallana, M.C.; Foti, M.N.; Panario, M.E. 2013. Efecto residual de glifosato en suelo y rastrojo en un cultivo de soja. *Revista Científica Agropecuaria* 17 (1-2): 27-38 (2013).
- Forero, C.V.; Rodríguez, E.E.P.; Fuentes, C.L. 2004. Detección de residuos biodisponibles de glifosato en aguas y suelos: Optimización de una técnica de bioensayo con plantas indicadoras. *Agronomía Colombiana*, 22 (1): 63-73.
- Foti, M.N.; Lallana, V.H. 2005. Bioensayo de germinación con semillas de *Eruca sativa* Mill. para la detección de salinidad y presencia de herbicida en agua. *Revista FABICIB* (9): 9-16.
- Foti, M.N.; Billard, C.E.; Lallana, V.H. 2005. Bioensayos de germinación con semillas de rúcula y lechuga para monitoreo de calidad de agua. *Rev. Cient. Agropec.* 9(1):47-53.
- Foti, M. N.; Lallana, V.H. 2007. "Bioensayos de germinación para detectar un herbicida hormonal en muestras de agua, vegetales y de suelo". *Natura Neotropicalis* 38(1 y 2): 69-75.
- Gómez Perazzoli, A.; Espínola, J.; Escarcena, J.; Tagliani, J.C. 2001. Informe de Proyecto. Evaluación participativa de calidad de agua en Montevideo Rural. Montevideo, UR, 39 p [online] <http://idrinfor.idrc.ca/>

- archive/corpdocs/118027/a-Evaluación-participativa.pdf. Consulta [8 de junio de 2004].
- Iannacone, J.; Alvarino, L.; Caballero, C.; Sánchez, J. 2000. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. *Gayana (Concepc.)* vol.64 (2):1 39-146.
- IDRC/IMTA (Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Canadá). 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Ed. IMTA. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México. 189 pp.
- Lallana, V.H.; Elizalde, J.H.I.; Billard, C.; Lallana, M. del C.; Muzzachiodi, N.; Carñel, G.; Boschetti, N.G.; Rivarola, S.; Sabattini, R.A.; Meucci, G.; González, R.; Ferreira, T.; Serrano, P. 2009. Caracterización ecológico-ambiental de represas para riego en Entre Ríos. Coordinador: V.H. Lallana. Ed. *EDUNER*, Concepción del Uruguay, Argentina. 304 p.
- Lallana; M. del C.; Lallana, V.H.; Billard, C.; Foti, M.N.; Elizalde, J.H.I. (2013). Determinación de reducción del crecimiento radical (CE 50) por una formulación de glifosato utilizando lechuga y trigo como especies bioindicadoras. *Rev. FCA UN Cuyo* 45(1): 143-151.
- Martin, M.L. (2011). Impacto del uso de plaguicidas asociados al cultivo de soja transgénica sobre especies no blanco de la flora riparia y acuática. Informe SEDICI. Tesis doctoral. 194 p.
- Ortega, M.C.; Aguado, M.T.; Ordovás, J.; Moreno, M.T.; Carmona, E. (2000). Propuesta de bioensayos para detectar factores fitotóxicos en sustratos y enmiendas. *Actas de Horticultura*, 32:363-376.
- Plan Mapa de Suelos.1998. Carta de Suelos de la República Argentina. Departamento Paraná, Provincia de Entre Ríos. Acuerdo complementario del Convenio INTA- Gob. de E.R. INTA EEA Paraná. Serie Relevamiento Recursos Naturales N° 17. 114 p.
- Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water, Air and SoilPollution*59: 381-400.
- Wauchope, R.D.; Buttler, T.M.; Hornsby, A.G.; Augustijn Beckers, P.W.M.; Burt, J.P. 1992.Pesticide properties database for environmental decision making. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*123:1-157

PID 2176

Denominación del Proyecto

Detección de Glifosato y AMPA en suelos del área agrícola de Entre Ríos y la valoración de efectos en matrices biológicas

Directora

ANGLADA, Marta

Codirector

ELIZALDE, José H.

Unidad de Ejecución

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Dependencia

Universidad Nacional de Entre Ríos

Convenios o instituciones intervinientes

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química –INTEC- (UNL-CONICET), (3000) Santa Fe, Argentina.

Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad Nacional del Litoral, (3000) Santa Fe, Argentina.

Contacto

manglada@fca.uner.edu.ar

Integrantes del proyecto

Masin, Carolina E. (integrante externo); Rodríguez, Alba R. (integrante externo); Ayala, Fabián A.; Hernández, Juan P.; Lallana, María del C.; Maidana, Alberto; Scorciapino, Claudia M.; Toledo, Carlos E.; Cerana, Jorge A. (colaborador); Crettaz, Matías (alumno); Riffel, María F. (alumno); Tortul, Pablo E. (alumno)

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

10/09/2015 y 09/09/2018

Aprobación del Informe Final por Resolución CS N° 043/19 (15-04-2019)