

EFFECTO DEL GLIFOSATO Y PARAQUAT SOBRE EL PROCESO DE NITRIFICACIÓN EN UN SUELO DEL CORREGIMIENTO DE RÍO FRÍO (MAGDALENA, COLOMBIA)

Dary Luz Mendoza M., Jesús Peña G., Alberto Franco G.*

Recibido: Septiembre 17/98 - Aprobado: Abril 5/99

Keywords: Glyphosate; Paraquat; Nitrification.

RESUMEN

Se realizaron ensayos *in vitro* para determinar el efecto tóxico de los herbicidas glifosato y paraquat sobre el proceso de nitrificación con suelo franco-arenoso (pH: 5.8, Humedad:13.05%), en el corregimiento de Río Frío, Magdalena. Los experimentos se realizaron por cuantificación espectrofométrica (método del ácido fenoldisulfónico) de la concentración de nitratos producidos durante un periodo de incubación de 30 días usando el producto comercial y el principio activo grado estándar, en concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm de cada uno de los herbicidas. Se observó una reducción de la nitrificación y un incremento en el período de retardo al aumentar las concentraciones, sin embargo, solamente con altas dosis del glifosato comercial (100 y 1000 ppm de Round Up) y paraquat comercial (1000 ppm de Gramoxone) hubo inhibición de la nitrificación. Tanto el paraquat comercial como el estándar, a 10 y 100 ppm, causaron leves disturbios sobre la nitrificación, la cual retornó a una

normalidad relativa después de 30 días de incubación. Se observó una diferencia significativa ($p < 0,001$) entre el glifosato comercial (concentración máxima de nitrato 55,0 μ g/g) y el glifosato estándar (510,12 μ g/g NO₃⁻) a una concentración de 1000 ppm, lo cual sugiere que los adyuvantes en el producto comercial contribuyen a aumentar el efecto tóxico del herbicida. Estos datos son de interés para desarrollar técnicas de utilización de plaguicidas que permitan la recuperación de las poblaciones microbianas importantes para la fertilidad de los suelos.

ABSTRACT

Several assays were performed to investigate the toxic effects of Glyphosate and Paraquat herbicides on soil nitrification in Rio Frio, Magdalena (pH and moisture soil, 5.8 and 13.05% respectively). The experiments were done with the commercial and standard product, in concentrations of 10, 100 and 1000 ppm. A reduction of nitrification and an increase of the slow phase were observed with increasing concentrations of the herbicide. However, an inhibition of soil nitrification was obtained only with high

* Departamento de Química, Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico, A.A. 1890, Barranquilla, Colombia.

concentrations of commercial glyphosate (Round Up in concentrations of 100 and 1000 ppm) and commercial paraquat (Gramoxone in concentrations of 1000 ppm). Interestingly, commercial and standard paraquat in concentrations of 10 and 100 ppm caused only short lasting disturbances and nitrification usually returned to a relative equilibrium after 30 days. In addition, significant difference between the effects of commercial glyphosate (production of NO_3^- , 55,0 $\mu\text{g/g}$) and standard glyphosate (510,12 $\mu\text{g/g}$ NO_3^-) was observed. These results suggest that adjuvants in the commercial glyphosate contribute significantly to the toxicity of the herbicide. These data are important for the development of procedures for using plaguicidas that allow the recovering of microbial populations involved in soil fertility.

INTRODUCCIÓN

Los procesos de producción agrícola, encaminados a buscar insumos más eficientes y una mayor producción, han llevado a un aumento en el uso de agroquímicos, cuyos efectos negativos sobre la fertilidad de los suelos se derivan de las perturbaciones que producen en la microflora (1). Estudios previos donde se determina la influencia de los herbicidas sobre la microflora del suelo (2,3), han demostrado que los impactos negativos sobre microorganismos fijadores de nitrógeno y sobre los procesos de amonificación y nitrificación se dan a altas concentraciones de plaguicidas. El-Abyad y Abou-Taleb (4) demostraron que los efectos sobre las poblaciones microbianas dependen del tipo y concentra-

ción de herbicida usado, así como de la naturaleza del suelo tratado.

En la zona bananera del Magdalena, el glifosato y el paraquat son dos de los plaguicidas de amplio uso en el control de las malezas anuales y perennes. El glifosato (N-fosfonometilglicina), se clasifica entre los plaguicidas misceláneos; la presencia de tres grupos polares en la molécula lo hacen muy soluble en agua y otros compuestos polares (5). Es un herbicida postemergente, no selectivo, de amplio espectro. Hay poca información sobre su destino ambiental, uno de éstos es el conocimiento del tiempo que tarda en desaparecer de los campos tratados, para determinar una rotación segura en cultivos sencillos. Además, presenta poca tendencia a fotodegradarse; sin embargo, sus residuos son susceptibles a degradación microbiana, con una vida media menor de dos semanas. No obstante, los residuos pueden persistir por más tiempo en suelos anaeróbicos y permanece activo en suelos que no lo absorben fácilmente, persistiendo su efecto fitotóxico (6).

El paraquat pertenece al grupo químico de los biperidilos. Es un sólido altamente soluble en agua, no volátil y se descompone a luz UV. La formulación más común es el dicloruro 1,1'-dimetil-4,4' biperidilo, en concentraciones solubles al 20% y al 24%. Es un defoliante y herbicida no selectivo, post-emergente de contacto, posee la característica de enlazarse fuertemente a las arcillas del suelo, donde es difícil desplazarlo, por lo cual se asume que es "inactivado". Este paraquat enlazado es perjudicial para microorganismos, lombrices y microartrópodos y tiene un impacto negativo sobre el manejo del nitrógeno proveniente de

fuentes no químicas, en varios sistemas de cultivo (7).

En este trabajo se evaluó el impacto de los herbicidas glifosato y paraquat sobre el proceso de nitrificación del suelo de la zona bananera del Magdalena, empleando un método de incubación (8) y técnicas químicas espectrofotométricas para la determinación de nitratos. Los experimentos se realizaron con el producto comercial y el estándar de cada herbicida; se usó suelo de textura franco-arenosa, los cuales se caracterizan por tener estructura granular, consistencia suelta y liviana, además son moderadamente profundos, fértiles y de características que permiten una agricultura diversificada y segura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de suelo

El estudio se realizó con muestras de suelo franco-arenoso de la zona agrícola del corregimiento de Rio Frío en el departamento del Magdalena, las cuales se recolectaron según lo establecido en la referencia 9. A estas muestras se les hizo análisis preliminares de contenido de humedad y PH.

Reactivos

Se utilizó glifosato comercial (Round Up de Monsanto), Estándar N-(phosphonomethyl)Glycine 99,5% de Sigma; Paraquat comercial (Gramoxone de Basf Química), Estándar Methyl Viologen (Gramoxone; paraquat dichloride) 95,5 % de Sigma.

Incubación

Se pesaron muestras equivalentes a 10 g de suelo en base seca y se tamizaron en una malla de 2-4 mm, ajustando a un 60% la capacidad de retención de agua (calculada teniendo en cuenta la subsecuente adición de soluciones acuosas). Las muestras se recolectaron en frascos de 250ml.

A la muestra de suelo de cada frasco se agregó un mililitro de una solución de 2000 ppm de ion amonio suministrado como $(\text{NH}_4^+)_2 \text{SO}_4^{2-}$. El procedimiento incluye un blanco de agua destilada, un control con sulfato de amonio, un sistema tratado conteniendo 10, 100 y 1000 ppm de paraquat comercial (Gramoxone) y otro sistema tratado conteniendo 10, 100 y 1000 ppm de paraquat estándar. Las soluciones se prepararon de tal forma que la concentración de ingrediente activo estuviese en un volumen de 0,1 ml. Debido a que el paraquat se presenta en forma de cloruro altamente soluble, el solvente utilizado en la preparación de las soluciones fue el agua, tanto para el estándar como para el comercial. Los frascos fueron sellados con un tapón de corcho y el agua perdida por evaporación se reemplazó periódicamente. Posteriormente se escogieron muestras al azar para analizar su contenido de nitrato. El mismo procedimiento se usó para el glifosato (estándar y comercial).

Extracción y determinación colorimétrica de nitratos

Los nitratos se extrajeron en 100 ml de agua destilada, con agitación de 1 hora y filtración en papel Whatman # 42. La de-

terminación colorimétrica de los nitratos se hizo a partir de 1 ml del filtrado. Los iones cloruro fueron eliminados con 0,2 ml de solución de Sulfato de Plata 0,02 N. Luego se agregó agua destilada hasta completar un volumen de 5 ml, la materia suspendida se precipitó con solución saturada de óxido de calcio y se llevó a sequedad. Los nitratos se determinaron por el método del ácido fenoldisulfónico a una longitud de onda de 410 nm (8,10). Cada muestra se analizó por triplicado y el promedio de las lecturas se usó para el cálculo de la concentración por medio de una curva de calibración.

Los resultados se expresaron como μg de NO_3^- producidos y como mg de NH_4^+ transformados por gramo de suelo en base seca, el tiempo en el cual no se detec-

tó producción de nitratos fue designado como período de retardo. Estos datos fueron sometidos a un análisis de regresión lineal y análisis de varianza factorial mediante el programa Statview (Versión 4.5 Abacus).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó un corto período de retardo (2 días) en los sistemas control, ocasionado posiblemente por el cambio brusco que sufren las bacterias al variar su hábitat natural. El nivel máximo de actividad de las bacterias se observó a los 29 días del ensayo, cuando se alcanzó una concentración de 638,08 mg de NO_3^- / g de suelo en base seca (humedad del suelo: 13.05 %) equivalente a 186,25 μg de

Tabla 1. Producción de nitrato ($\mu\text{g}/\text{g}$ suelo base seca) en muestras de suelo inoculadas con Gramoxone y Paraquat estándar en concentraciones de 10, y 1000ppm, durante 29 días de incubación. El menor tiempo de retardo y la más producción de nitratos es observado en el sistema control y en los sistemas ensayados con la menor concentración de herbicida.

| DÍAS | CONTROL | GRAMOXONE | | | PARAQUAT | | |
|------|---------|-----------|--------|---------|----------|--------|---------|
| | | 10ppm | 100ppm | 1000ppm | 10ppm | 100ppm | 1000ppm |
| 1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0 |
| 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0 |
| 3 | 58.7 | 0.0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0 |
| 4 | 87.5 | 57.5 | 0.0 | 0 | 75.4 | 0 | 0 |
| 5 | 106.8 | 80.9 | 0.0 | 0 | 103.3 | 84.0 | 0 |
| 6 | 128.8 | 101.3 | 0.0 | 0 | 103.6 | 97.8 | 0 |
| 9 | 239.4 | 170.5 | 111.6 | 0 | 222.6 | 159.1 | 143.6 |
| 10 | 276.4 | 194.9 | 165.3 | 147.4 | 275.9 | 207.5 | 152.2 |
| 11 | 301.4 | 343.7 | 170.1 | 183.5 | 317.6 | 263.8 | 171.1 |
| 12 | 338.6 | 250.0 | 206.3 | 112.9 | 329.3 | 303.7 | 215.3 |
| 16 | 449.5 | 286.6 | 280.3 | 215.3 | 340.3 | 312.8 | 251.2 |
| 17 | 451.9 | 335.8 | 292.0 | 253.2 | 364.4 | 304.5 | 285.5 |
| 18 | 450.7 | 398.2 | 377.0 | 271.3 | 409.5 | 393.2 | 318.2 |
| 19 | 517.5 | 468.1 | 427.1 | 283.8 | 484.3 | 411.9 | 307.0 |
| 20 | 551.1 | 456.4 | 385.8 | 296.9 | 546.6 | 432.3 | 320.3 |
| 23 | 559.7 | 459.8 | 470.2 | 319.6 | 571.8 | 418.8 | 366.5 |
| 24 | 588.6 | 491.2 | 484.0 | 369.5 | 579.3 | 495.1 | 380.6 |
| 25 | 604.5 | 517.4 | 437.4 | 470.2 | 581.4 | 598.1 | 468.9 |
| 26 | 621.7 | 575.9 | 480.5 | 474.8 | 614.1 | 615.0 | 531.1 |
| 29 | 638.1 | 592.4 | 525.2 | 487.2 | 625.8 | 615.1 | 555.0 |

Tabla 2. Producción de nitrato ($\mu\text{g/g}$ suelo base seca) en muestras de suelo inoculadas con Round Up y glifosato estándar en concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm durante un período de incubación de 29 días.

| DÍAS | CONTROL | ROUND UP | | | GLIFOSATO SD | | |
|------|---------|----------|--------|---------|--------------|--------|---------|
| | | 10ppm | 100ppm | 1000ppm | 10ppm | 100ppm | 1000ppm |
| 1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 58.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 50.2 | 0 | 0 |
| 4 | 86.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 74.0 | 55.7 | 33.5 |
| 5 | 106.8 | 90.7 | 62.3 | 18.7 | 83.1 | 69.7 | 51.7 |
| 6 | 127.4 | 109.9 | 73.3 | 7.6 | 97.3 | 82.7 | 62.0 |
| 9 | 239.4 | 204.9 | 117.6 | 10.5 | 184.3 | 184.3 | 122.2 |
| 10 | 276.4 | 235.1 | 217.5 | 20.6 | 240.2 | 240.0 | 165.3 |
| 11 | 301.4 | 256.3 | 192.2 | 101.0 | 266.6 | 205.8 | 192.0 |
| 12 | 338.6 | 294.8 | 381.3 | 20.7 | 305.9 | 268.6 | 226.1 |
| 16 | 449.5 | 282.8 | 235.4 | 32.7 | 347.9 | 292.8 | 217.0 |
| 17 | 451.9 | 300.0 | 254.9 | 29.6 | 330.8 | 310.7 | 241.2 |
| 18 | 450.7 | 296.9 | 330.7 | 48.9 | 428.1 | 352.2 | 289.5 |
| 19 | 517.5 | 447.8 | 266.9 | 25.7 | 467.9 | 445.8 | 390.7 |
| 20 | 551.1 | 462.2 | 313.4 | 26.1 | 470.7 | 468.4 | 324.5 |
| 23 | 559.7 | 488.4 | 332.4 | 44.7 | 488.5 | 486.4 | 363.7 |
| 24 | 588.6 | 502.9 | 336.5 | 53.6 | 460.4 | 510.0 | 373.7 |
| 25 | 604.5 | 502.9 | 399.5 | 47.5 | 590.0 | 540.0 | 442.5 |
| 26 | 621.7 | 488.8 | 415.0 | 47.5 | 597.6 | 527.5 | 499.8 |
| 29 | 641.5 | 522.5 | 445.0 | 55.0 | 625.0 | 555.6 | 510.1 |

NH_4^+ / g de suelo en base seca, del total de 200 μg de ion amonio adicionado por gramo de suelo en base seca (Tablas 1 y 2).

El paraquat adicionado como Gramoxone mostró un efecto inhibitorio sobre el proceso de nitrificación similar al del pa-

raquat estándar. Con Gramoxone, a una concentración de 10 ppm de ingrediente activo, el período de retardo fue de 3 días y la producción máxima de nitrato fue de 592,44 $\mu\text{g/g}$ (172 $\mu\text{g/g}$ NH_4^+). A una concentración de 100 ppm el período de retardo se incrementó a 6 días y la

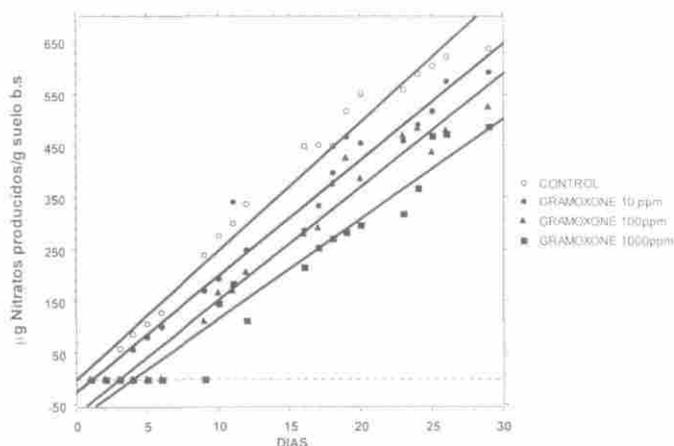


Figura 1a. Efecto del paraquat comercial sobre el proceso de nitrificación del suelo.

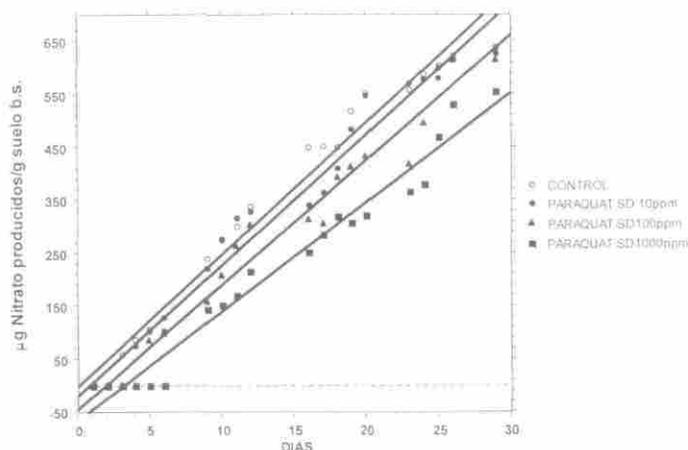


Figura 1b. Efecto del paraquat estándar sobre el proceso de nitrificación del suelo.

producción máxima de nitrato fue de 525,14 $\mu\text{g/g}$ (152,46 $\mu\text{g/g NH}_4^+$). A 1000 ppm, el período de retardo fue de 9 días y la producción de nitrato se redujo a 487,21 $\mu\text{g/g}$ (141,45 $\mu\text{g/g NH}_4^+$). En comparación con el Gramoxone, el paraquat estándar exhibe un período de retardo menor a concentraciones de 100 y 1000 ppm, y los niveles de producción máxima de nitrato fueron de 615,00 $\mu\text{g/g}$ (178,59 $\mu\text{g/g NH}_4^+$) y 555 $\mu\text{g/g}$ (161,13 $\mu\text{g/g NH}_4^+$) respectivamente (Figuras 1a y 1b).

Por su parte los sistemas ensayados con Round Up presentaron un período de retardo de 4 días, este período es mayor al exhibido por la formulación estándar en cada concentración. Los niveles máximos de producción de nitrato para Round Up fueron de 522,5 $\mu\text{g/g}$ (151,70 $\mu\text{g/g NH}_4^+$); 445,00 $\mu\text{g/g}$ (129,20 $\mu\text{g/g NH}_4^+$); y 55,00 $\mu\text{g/g}$ (15,97 $\mu\text{g/g NH}_4^+$), para las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm de ingrediente activo, respectivamente. Para el glifosato como formulación estándar, los niveles máximos de producción de nitrato fueron leve-

mente mayores que para Round Up en concentraciones de 10 y 100 ppm ingrediente activo; 625 $\mu\text{g/g}$ (181,45 $\mu\text{g/g NH}_4^+$); 555,6 $\mu\text{g/g}$ (161,30 $\mu\text{g/g NH}_4^+$); Sin embargo a una concentración de 1000 ppm la producción de nitrato fue mucho mayor 510,12 $\mu\text{g/g}$ (148,00 $\mu\text{g/g NH}_4^+$) (Figuras 2a y 2b).

Al aumentar las concentraciones de principio activo de cada herbicida se incrementa la fase de retardo del proceso de nitrificación, posiblemente como consecuencia de la reducción de poblaciones microbianas, ya que el período de retardo refleja el tiempo requerido por estas para recuperarse. A medida que transcurre el tiempo, hay una recuperación gradual de la actividad microbiana, esta recuperación puede resultar de la degradación del plaguicida o por la destoxicación de las mismas poblaciones.

Gramoxone y paraquat estándar a concentraciones de 10 y 100 ppm no mostraron efecto inhibitorio significativo sobre el proceso de nitrificación ($p > 0.05$), notándose un completo restablecimiento

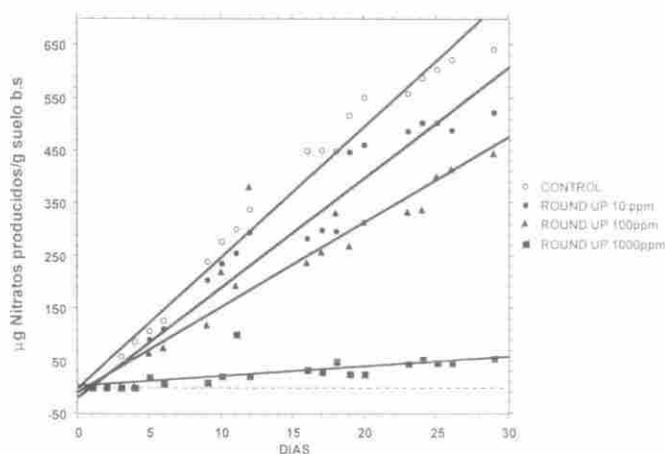


Figura 2a. Efecto del glifosato comercial sobre el proceso de nitrificación del suelo.

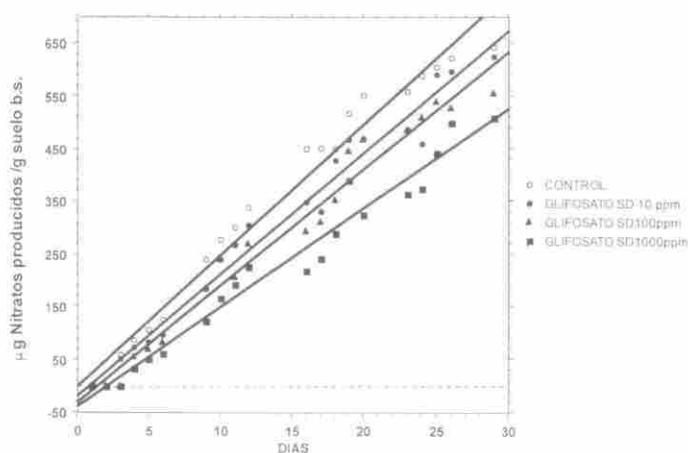


Figura 2b. Efecto del glifosato estándar sobre el proceso de nitrificación del suelo.

de la actividad microbiana después de 30 días de incubación; mientras que, Gramoxone a 1000 ppm, con una diferencia significativa con respecto al control ($p = 0.032$), causó un efecto inhibitorio más evidente. Round Up, aplicado en altas concentraciones (100 ppm, $p = 0.041$ y 1000 ppm, $p < 0.0001$) causó una inhibición estadísticamente significativa del proceso de nitrificación; menos del 8%

del total de ion amonio adicionado fue recuperado después de 30 días de incubación, en muestras inoculadas con 1000 ppm.

Aunque el suelo tratado con los estándares mostró una recuperación ligeramente mayor que el tratado con los comerciales, no existe diferencia significativa entre ellas (Figura 3), con excep-

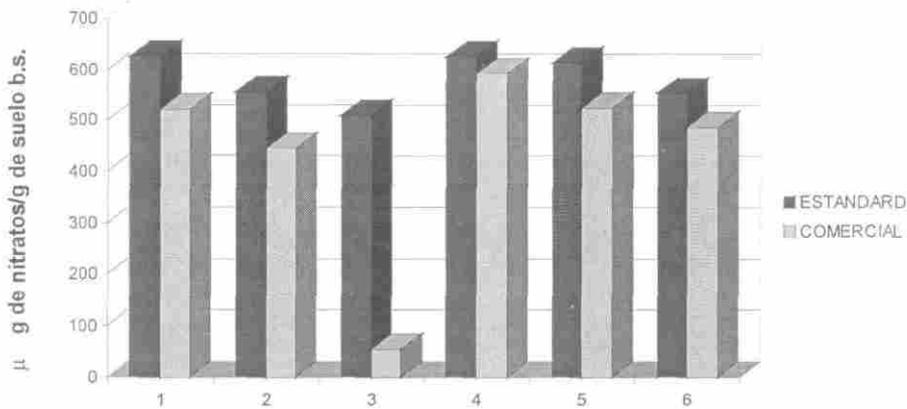


Figura 3. Concentración máxima de nitrato producida en los sistemas ensayados con la formulación Estándar y comercial de cada herbicida. 1,2 y 3 corresponden a 10, 100 y 1000 ppm de Glifosato; 4,5, y 6 a 10, 100 y 1000 ppm de Paraquat.

ción del glifosato de 1000 ppm donde sí hay significancia ($p < 0,001$). Esta diferencia puede ser por los efectos interactivos entre los varios solventes, cosolventes y otros componentes dentro del producto comercial Round Up (6). Las formulaciones comerciales contienen coadyuvantes para aumentar o reforzar la eficacia del ingrediente activo; todos estos ingredientes son xenobióticos y por consiguiente poseen el potencial para ser tóxicos para la nitrificación (8).

CONCLUSIONES

1. Concentraciones de 100 y 1000 ppm de Round Up y 1000 ppm de Gramoxone causaron una inhibición estadísticamente significativa en el proceso de nitrificación del suelo franco-arenoso del corregimiento de Río Frío, Magdalena. 2- Las muestras de suelo franco-arenoso tratadas con paraquat estándar y glifosato es-

tándar en concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm no muestran inhibición significativa del proceso de nitrificación. 3- Debe anotarse que el procedimiento de incubación está clasificado como un sistema cerrado y heterogéneo, donde los productos acumulados durante el experimento y los niveles de sustrato están continuamente cambiando, haciendo imposible mantener una tasa de crecimiento microbiano constante, y donde la distribución homogénea entre el sustrato y el suelo es difícil; aun así, el procedimiento permite estimar la toxicidad de los herbicidas ensayados, debido a su gran sensibilidad a los xenobióticos, lo cual es una ventaja para los estudios de impacto ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Greaves M.P., Davies H.A., Marsh J.A., Winfield G.I. *Herbicides and*

- soil microorganisms*. Microbiol Res **1996** Mar; 151(1):105-111.
2. Allievi L., Gigliotti C., Salardi C., Valsecchi G., Brusa T., Ferrari A. *Influence of the herbicide bentazon on soil microbial community*. Appl. Microbiol **1966** Sep; 14(5):724-731.
 3. Greaves M.P., Davies H.A., Marsh J.A., Wingfield G.I. *Effects of pesticide on soil microflora using dalapon as an example*. Arch. Environ. Contam. Toxicol **1981** July; 10(4):437-449.
 4. El-Abad M.S., Abou-Taleb A.M. *Effects of the herbicide simazine and bromophenoxim on the microflora of two soil types in Egypt*. Zentralbl Mikrobiol **1995**; 140(8):607-619.
 5. Monsanto. *Sales y derivados del MON-0573 herbicida post-emergente*. Boletín Técnico MON 057-1-71.
 6. Nivia E. *Glifosato*. Boletín Enlace. Rapalmira. Palmira, Colombia **1992**; 23: 6-7
 7. Nivia E. *Paraquat*. Boletín Enlace. Rapalmira. Palmira, Colombia **1993**; 25: 15-8
 8. Stratton G.W. *Effects of the herbicide Endosulfan on Nitrification in low pH agricultural soil*. Toxicity Assessment **1990**; 5: 319-336.
 9. Motta B., Rodríguez C., Montenegro H., Marulanda J., Correa A., Bendecke M. *Métodos analíticos de laboratorio de suelos*. Ministerio de Hacienda y Crédito Público, Instituto Geográfico "Agustín Codazzi", Subdirección Agrícola. Bogotá, Colombia **1990**.
 10. Primo Yufera E., Carrasco Dorrién J.M. *Química Agrícola*. Editorial Alhambra España **1973**; 2:281-282.