

Persistencia del herbicida glifosato en suelo cultivado con soja en el departamento de Paysandú y sus efectos sobre los microorganismos

Alexandra Bozzo*

Gabriela Eguren **

Lillian Frioni ***

*Facultad de Agronomía-Universidad de la República-Regional Norte

** Facultad de Ciencias- Universidad de la República

*** Facultad de Agronomía-Universidad de la República

alebozzo@adinet.com.uy

Introducción

En Uruguay el principal cultivo de verano es la soja, el cual continúa en franca expansión desde la zafra 2000/01 alcanzando las 663,8.000 hectáreas sembradas en primavera-verano 2010/2011 (DIEA 2010).

Por otra parte, prácticamente el 100% de la soja cultivada es genéticamente modificada, conocida como soja RR (*Roundup Ready*), que presenta la inserción de un gen de la bacteria *Agrobacterium sp*, que le confiere resistencia al herbicida Glifosato. Esto conllevó a un incremento de las dosis y de la frecuencia de las aplicaciones de este herbicida en el Uruguay. Ello se reflejó en un aumento en la importación de glifosato (más de un 100% en el período 2002-2006), así como de otros fitosanitarios¹ usados en el cultivo de soja como endosulfán, clorpirifos, y cipermetrina, que aumentaron 41, 16 y 79% respectivamente (Sistema de Información en Productos Fitosanitarios, MGAP-DGSA/ Dpto. de Control de Insumos, 2006). Estos datos permiten afirmar que el aumento del área agrícola y de la productividad está asociado a un uso más intensivo de fitosanitarios.

1-Cualquier sustancia, agente biológico, mezcla de sustancias o de agentes biológicos, destinada a prevenir, controlar o destruir cualquier organismo nocivo, incluyendo las especies no deseadas de plantas, animales o microorganismos que causan perjuicio o interferencia negativa en la producción, elaboración o almacenamiento de los vegetales y sus productos. El término incluye coadyuvantes, fitoreguladores, desecantes y las sustancias aplicadas a los vegetales antes o después de la cosecha para protegerlos contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. (MGAP-DGSA, 2011).

Usualmente el cultivo de soja recibe entre tres y cinco aplicaciones. Se realizan entre una y tres aplicaciones previas a la siembra, dependiendo del tipo y largo del barbecho, y aproximadamente dos aplicaciones durante el cultivo (Blum, *et al.*, 2008). El control tardío de malezas (aplicaciones pos siembra) en soja solamente se justifica cuando éstas son de porte alto, como *Amaranthus sp* y *Solanum sisymbriifolium* (Crespo y Longinoti, 1988; Arrieta y Mezquida, 1996) o cuando se establecen estrategias de control del reingreso de malezas por semilla (Arrieta y Mezquida, 1996; Cujó y Martínez, 2001). En este último caso la maleza no interfiere con el cultivo pero es responsable de la resiembra de las malezas del próximo año; bajo este criterio de manejo, el control tardío tiene sentido para las malezas clasificadas como *transitorias*, con dependencia de la semillazón del año anterior (Raygrás).

Esta estrategia es la más utilizada a nivel de los productores del país y explica en gran medida el número de aplicaciones y dosis excesivas para el cultivo de soja. El uso de fitosanitarios se viene cuestionando cada vez más en los últimos años debido a su potencial acumulación en el suelo y efectos negativos sobre sus microorganismos, con consecuencias adversas en la fertilidad del mismo en el largo plazo (Bromilow *et al.*, 1996; Sannino y Gianfreda, 2001). Sin embargo, el uso de herbicidas es un factor importante en la agricultura actual, constituyendo una práctica esencial y generalizada.

Estudios desarrollados en las últimas décadas indican que los efectos de los herbicidas sobre los microorganismos del suelo son variables cuali y cuantitativamente y dependen del herbicida y de las dosis utilizadas (Wardle y Parkinson, 1990). Por otro parte, el proceso bioquímico alterado por acción del herbicida puede resultar fundamental en la productividad de un cultivo o sistemas de cultivos en particular, independiente del potencial de recuperación posterior (Wardle *et al.*, 1994).

El herbicida glifosato

El glifosato es uno de los herbicidas más frecuentemente utilizado a nivel mundial en forestación, control de malezas acuáticas y agricultura (Who, 1994; Martino, 1995; Rodríguez y Almeida, 1995), particularmente en el sistema de siembra directa (Martino, 1997).

Es un herbicida post-emergente, sistémico, de amplio espectro con una alta actividad sobre casi todas las malezas (anuales, perennes, mono o dicotiledóneas) siendo solamente resistentes aquellas genéticamente modificadas. (Who, 1994; Martino, 1995; Rodríguez y Almeida, 1995; Araújo *et al.*, 2003).

A pesar que el glifosato no está recomendado para la aplicación directa en el suelo, una cantidad significativa puede llegar al mismo a través de varios mecanismos: aplicaciones foliares de pre-emergencia (durante la estación temprana del crecimiento del cultivo), Haney *et al.*, 2000), lavado foliar del herbicida y/o de sus metabolitos de degradación, contaminación indirecta de la deriva del producto (Ellis y Griffin, 2002), exudación radical o muerte y descomposición de los residuos de las plantas tratadas (Laitinen *et al.*, 2007).

El glifosato puede ser translocado desde los tejidos foliares hacia las raíces y exudarse hacia el suelo (Coupland y Caseley, 1979). Diversos autores han observado la exudación del glifosato en cultivos celulares (Hetherington *et al.*, 1999).

El carácter sistémico del glifosato permite que el producto, luego de ser absorbido por el follaje, se traslade a través de los tallos y raíces a la planta entera. Este herbicida es particularmente efectivo porque la mayoría de las plantas lo metabolizan muy lentamente o no lo degradan, lo que explica su acción no-selectiva. Finalmente el herbicida se acumula preferentemente en los tejidos metabólicamente activos como son los tejidos meristemáticos. Sin embargo, se han detectado residuos de glifosato y ácido aminometilfosfórico (AMPA), su metabolito principal de degradación, en cultivos celulares de soja, en plantas y frutos de frutilla y de árboles forestales. En las plantas susceptibles, el herbicida no es ni degradado ni metabolizado en grado significativo (Prata *et al.*, 2003).

El glifosato es un derivado del aminoácido glicina, con ácido fosfórico unido al radical amino. El glifosato en si mismo es un ácido pero comúnmente es utilizado en forma de sal, más comúnmente como sal de isopropilamina, y en las preparaciones comerciales se le agrega un surfactante, el más conocido es la polioxietil-amina (POEA) (Martino, 1995).

Modo de acción

El glifosato es el único herbicida que actúa inhibiendo la enzima 3-enolpiruvil-siquimato-5-fosfato sintetasa (EPSPS), localizada en el cloroplasto, perteneciente a la ruta del ácido siquímico (siquimato) (Della Cioppa *et al.*, 1986) lo que produce elevadas acumulaciones de este ácido y sus derivados. Reddy y colaboradores (2008) detectaron mayores tenores de ácido siquímico acumulado en soja no resistente al glifosato que en soja resistente al glifosato. El ácido siquímico es un biomarcador fisiológico sensible muy utilizado para evaluar la toxicidad del glifosato (Petersen *et al.*, 2007). La inhibición de la enzima EPSPS, impide la síntesis del ácido corísmico (corismato) requerido para la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano). Cabe resaltar que la ruta del ácido siquímico es un proceso que solo ocurre en plantas, bacterias y hongos y no existe en animales, por lo que la toxicidad aguda en éstos es baja (Busse *et al.*, 2001). Dicha vía es ubicuista en los microorganismos (Bentley, 1990), responsables de importantes procesos en el ciclo de los nutrientes (Robert *et al.*, 1998).

Estos aminoácidos esenciales son utilizados para la síntesis de proteínas y de algunos productos secundarios como son: promotores e inhibidores del crecimiento, compuestos fenólicos y lignina (Franz *et al.*, 1997). Por ejemplo, la fenilalanina es un conocido precursor de varios compuestos involucrados en la resistencia a enfermedades, como son la lignina, los flavonoides, cumarinas, taninos y fitoalexinas (Coggins, 1989; Johal *et al.*, 1984).

Descomposición en el suelo

La descomposición biológica por los microorganismos es generalmente el proceso más importante en la remoción de la mayor parte de los herbicidas (Frioni, 2006; Franz *et al.*, 1997; Torstensson, 1985) y de ella depende la tasa y el grado en que los herbicidas son degradados (Eriksson, 1975; Fernandez, 2007).

Por lo tanto la vida media² del glifosato depende principalmente de la actividad microbiana y no de la descomposición química o fotodescomposición (Carlise and Trevors, 1988).

2- Tiempo requerido para que el 50% del compuesto original se disipe o se degrade (MONSANTO, 2005).

Los metabolitos primarios y predominantes de la degradación microbiana en suelo son glioxilato y ácido aminometilfosfórico (AMPA), el que eventualmente se degrada a agua, dióxido de carbono, amonio y fosfato (Rueppel *et al.*, 1977). Si bien el AMPA es también degradado en suelo, su degradación es generalmente más lenta que la del glifosato debido a fuerte adsorción a partículas de suelo y/o por su menor capacidad de penetrar las paredes celulares o las membranas de los microorganismos del suelo (USDA, 1984).

Si bien la tasa de degradación por microorganismos del suelo es rápida y completa, ésta varía considerablemente con el tipo de suelo y los microorganismos presentes (Shuette, 1998) (**Fig.1**).

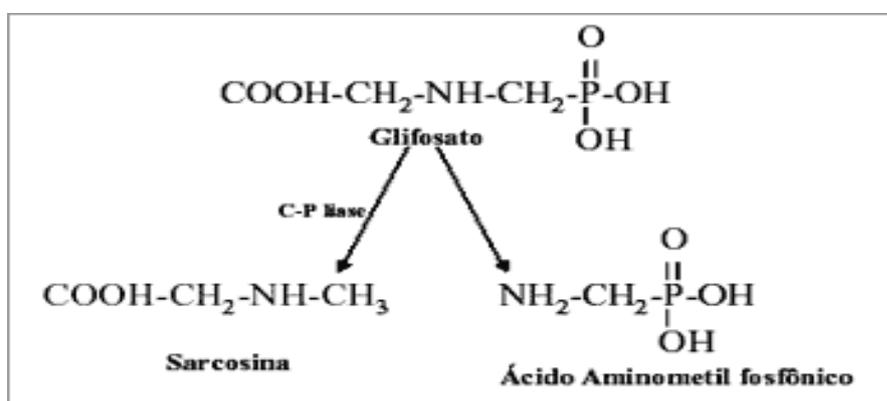


Figura 1- Degradación del glifosato por bacterias del suelo, con producción de los metabolitos ácido aminometilfosfónico (AMPA) y sarcosina (Dick and Quinn, 1995).

Procesos microbianos

Los microorganismos son de extrema importancia en los procesos biogeoquímicos del suelo, a pesar de ocupar menos del 1% de su volumen.

La microbiota del suelo es responsable de la ejecución y el control de funciones esenciales como la descomposición de la materia orgánica, producción de humus, reciclaje de nutrientes, flujo de energía, fijación de nitrógeno atmosférico, solubilización de nutrientes esenciales, como el fósforo, producción de compuestos complejos que causan la agregación del suelo, descomposición de xenobióticos y también control biológico de plagas y enfermedades (Bromilow *et al.*, 1996; Andrea *et al.*, 2000; Moreira y Siquiera, 2002).

La importancia de la actividad microbiana en el reciclaje de la materia orgánica y en la regulación del pool de nutrientes, sugiere que los efectos del estrés sobre la microbiota del suelo están fuertemente relacionados con los efectos en el cultivo, en la vegetación natural y en la productividad del ecosistema (Killham, 1985).

El uso repetido de herbicidas del mismo grupo químico por extensos períodos, sin considerar los intervalos requeridos para la debida recuperación de la funcionalidad de la microbiota del suelo, puede desencadenar alteraciones de difícil reversibilidad (Wardle *et al.*, 1994).

Por tanto es de interés contar con parámetros biológicos que puedan ser empleados en forma rápida y sencilla y que evidencien cambios en los ecosistemas, inducidos por efecto clima, prácticas de manejo, contaminación, rotaciones de cultivos y que a su vez se correlacionen con las características físicas y químicas del suelo.

Los parámetros biológicos y bioquímicos son sensibles a leves modificaciones que el suelo puede sufrir (Raiesi, 2006; Sicardi *et al.*, 2004, 2005; Filip, 2002; Nannipieri *et al.*, 2002) y los microorganismos son buenos indicadores por responder a prácticas de manejo de suelos en cortos períodos de tiempo (meses, años) y fáciles de evaluar.

Por ejemplo, cambios en biomasa microbiana, o en la abundancia de grupos funcionales de microorganismos (hongos micorrícicos, microorganismos celulolíticos) pueden ser detectados antes de evidenciar cambios en la materia orgánica del suelo u otras propiedades físicas y químicas del mismos (Sparling, 1992).

Objetivos del trabajo

Los objetivos de este estudio fueron evaluar los efectos de repetidas aplicaciones de glifosato sobre variables microbiológicas de un suelo cultivado con soja en el norte del país y determinar la vida media del glifosato y ácido aminometilfosfórico (AMPA) y su persistencia en suelo.

Materiales y Métodos

Se trabajó en ensayos de soja de primera dentro de un sistema de agricultura continua en siembra directa, instalados desde hace 13 años en la Estación Experimental "Dr. Mario. A. Cassinoni" (EEMAC) ubicada a 10 km de Paysandú, Uruguay. El estudio fue realizado durante los años 2006-2007. El suelo corresponde a un Brunosol Eutrítico Típico (Argiudol Típico) de la Unidad de Suelo San Manuel, con textura limo-arcillosa.

El diseño experimental constó de 10 parcelas de 4m x 1,5m cada una, correspondientes a 2 tratamientos y 5 repeticiones distribuidos al azar. En cada muestreo se tomaron 8 sub-muestras de suelo de cada parcela (muestras compuestas) a una profundidad de 7cm con un calador de densidad aparente de 5cm de diámetro y 7cm de largo. Cada muestra se trasladó al laboratorio en bolsas de polietileno para las determinaciones microbiológicas y químicas. En el primer caso, las muestras fueron inmediatamente secadas al aire, tamizadas con un tamiz de 2 mm y preservadas a 3-5°C hasta su análisis. Para los análisis del glifosato y AMPA, las muestras fueron preservadas a una temperatura de -20°C.

Las parcelas tratadas con dosis recomendadas de campo (1,6 l/ha) de glifosato Ultra Max (74,7%) recibieron una aplicación pre-siembra y dos aplicaciones post-siembra del herbicida mientras que las parcelas control no recibieron las tres aplicaciones del herbicida y las malezas se controlaron manualmente.

Es de destacar que tanto las parcelas control como las tratadas recibieron entre 3 y 4 aplicaciones de glifosato durante 13 años.

Determinaciones

En este ensayo se evaluaron variaciones en la comunidad microbiana a través del carbono de la biomasa microbiana, la actividad microbiana global evaluando la respiración, un grupo de enzimas que hidrolizan el diacetato de fluoresceína (FDA) y la actividad metabólica específica mediante las enzimas fosfatasa ácida y alcalina.

Los índices microbiológicos calculados fueron el cociente de mineralización del carbono orgánico (qM), el coeficiente microbiológico (qMic), el cociente metabólico (qCO₂) y las actividades enzimáticas relativas al carbono de la biomasa microbiana.

Las variables microbiológicas respiración y biomasa microbiana fueron determinadas a los 0, 4, 8, 27, 31, 37, 64, 70, 73, 80, 94, 154 y 190 días del inicio del experimento.

En los días correspondientes a las aplicaciones se realizó un muestreo antes y luego de la aplicación del herbicida. La respiración acumulada fue medida a partir de la tercera aplicación de glifosato y hasta 16 días de aplicado el herbicida. Las actividades enzimáticas fueron determinadas al inicio y al final del experimento.

La vida media y persistencia del glifosato y su metabolito AMPA, el otro objetivo del trabajo, fueron evaluados luego de la tercera aplicación del glifosato (**Fig. 2**).

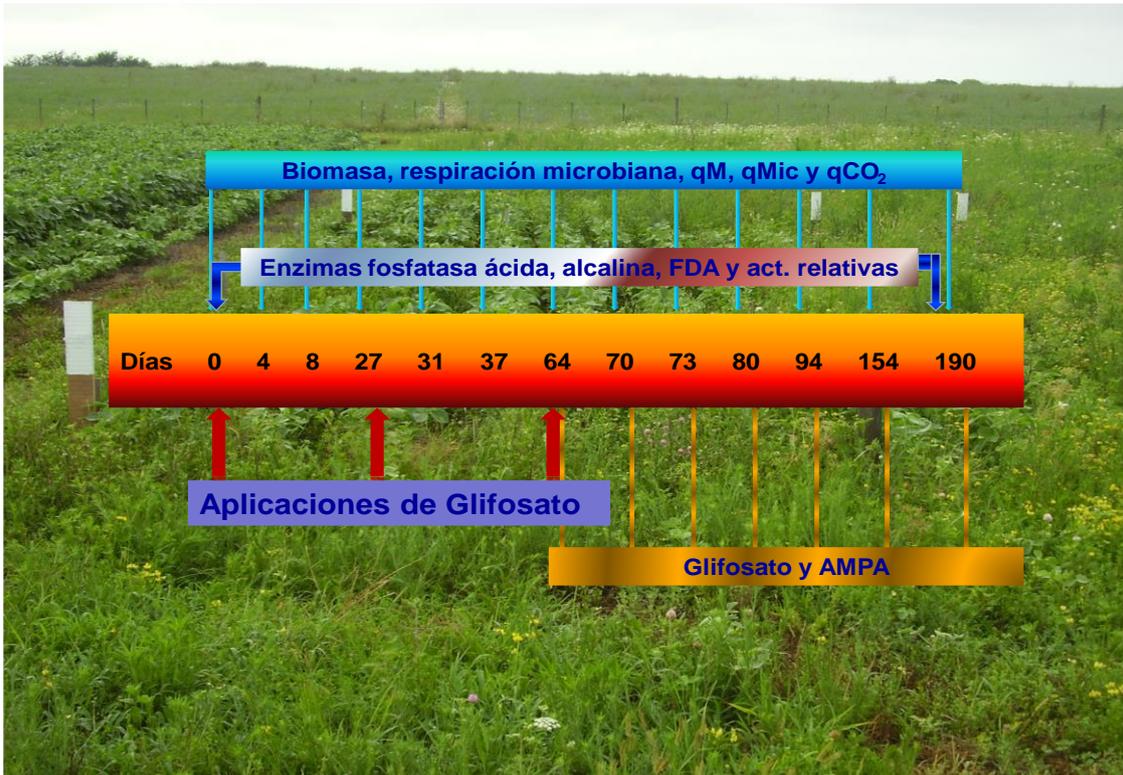


Figura 2- Momentos de muestreo y variables determinadas. Estación Experimental "Dr. Mario. A.Cassinoni" (EEMAC), Paysandú, Uruguay (Período 2006-2007).

Resultados

Propiedades biológicas del suelo

Los resultados de este estudio mostraron que las sucesivas aplicaciones de glifosato Ultra Max en el cultivo de soja a dosis recomendada de campo (1,6 l/ha) no ejercieron marcados efectos en la mayoría de las variables microbiológicas evaluadas, las cuales no presentaron diferencias significativas en los efectos promedios de los tratamientos y en los efectos promedio de la interacción entre tratamientos y momento de aplicación.

Las variaciones observadas fueron pequeñas y transitorias pudiendo estar más relacionadas a cambios estacionales (humedad, temperatura, rastrojos) que al efecto del herbicida. Esto puede deberse fundamentalmente a que tanto las parcelas tratadas como las control han estado sometidas a 13 años de aplicaciones de glifosato.

La respiración microbiana y el cociente de mineralización del carbono orgánico (qM) fueron afectados significativamente en el día 73 del inicio del experimento, que corresponde a 9 días luego de la tercera aplicación de glifosato.

En la respiración microbiana ($p < 0,0189$), se liberó un 52,8% más de CO_2 en el control *versus* el tratado, con $354 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1}$ suelo seco y $187 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1}$ de suelo seco, respectivamente. El qM, ($p < 0,0189$) presentó un valor de $76,5 \text{ mg C-CO}_2 \cdot \text{C-orgánico}^{-1} \cdot 100$ en el control *versus* $40,5 \text{ mg C-CO}_2 \cdot \text{C-orgánico}^{-1} \cdot 100$, en el tratado. Al día 80, los tratamientos control y tratado con glifosato no mostraron diferencias significativas en ninguna de las dos variables microbiológicas mencionadas indicando un efecto transitorio del herbicida sobre dichas variables (**Fig. 3**).

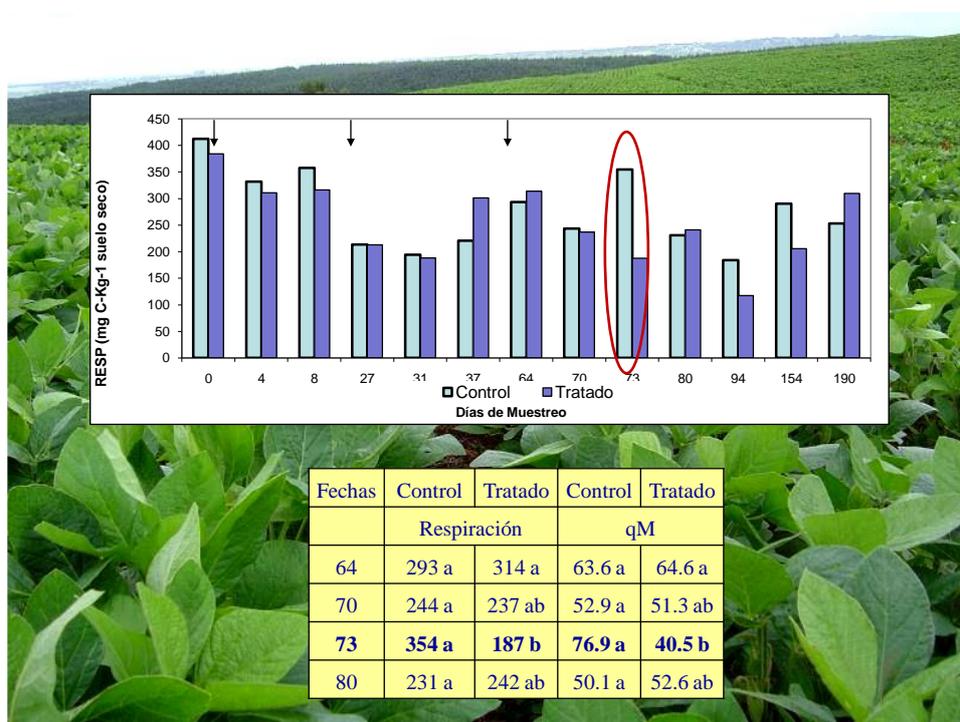


Figura 3- Valores promedios del Carbono correspondiente a la respiración microbiana (mg C-Kg^{-1} suelo seco) en las parcelas control y tratadas con glifosato en los 190 días. Los días cero y 190 corresponden al primer y último muestreo (cosecha de soja) respectivamente. Estación Experimental “Dr. Mario. A.Cassinoni” (EEMAC), Paysandú, Uruguay (Período 2006-2007).

La menor respiración microbiana encontrada en los tratamientos tratados podría atribuirse a las acumulaciones de AMPA en el suelo en el día 70 del inicio del experimento.

Como se mencionó anteriormente, el principal metabolito de degradación del glifosato es el AMPA. Junto a este metabolito se libera además el ácido glioxílico, que por su composición química no constituye una molécula tóxica para la actividad microbiana del suelo y según Roberts (1998), dicha molécula es degradada a CO₂. Sin embargo, para que ocurra la oxidación del ácido glioxílico se requiere oxígeno y Tejada (2009) señala el hecho de que elevados niveles de ácido glioxílico en el suelo, consumen altos niveles de oxígeno para su degradación.

El oxígeno utilizado en esta reacción química, puede ser “sustrato” para los microorganismos del suelo. Este hecho reduciría el C-biomasa y consecuentemente sus actividades intracelulares (deshidrogenasa), y sus actividades extracelulares (ureasa, beta glucosidasa, fosfatasa y arilsulfatasa). Por lo tanto, la carencia de oxígeno que ocurriría por la oxidación del ácido glioxílico podría ser responsable de la disminución de las propiedades biológicas del suelo durante el período de incubación luego de la adición del glifosato.

La ausencia de efectos de aplicaciones sucesivas de glifosato sobre las actividades enzimáticas analizadas puede ser explicada por el hecho de que las determinaciones fueron realizadas al inicio y al final del experimento, circunstancia que pudo no haber coincidido con los momentos de mayor efecto del herbicida y su derivado sobre la microbiota del suelo.

Vida media y persistencia del glifosato y AMPA

La *vida media del glifosato y del AMPA* medida inmediatamente después de la tercera aplicación del herbicida (día 64) fue de 7 y 10 días respectivamente. Esto significa que el 50% de las concentraciones iniciales de glifosato y AMPA se detectaron al día 71 y al día 74 del inicio del experimento respectivamente.

El glifosato presenta una persistencia³ moderada en el suelo (Strange-Hansen *et al.*, 2004; Accinelli *et al.*, 2005) y puede variar entre menos de un mes hasta años (Cox, 1995; Dinham, 1998; Haney *et al.*, 1999), con una vida media entre 44 y 60 días (Kollman *et al.*, 1995).

3- Resistencia a la transformación por procesos de degradación de origen biológico o físico (Mackay, 2001).

En la **Figura 4** se observan los valores promedio de glifosato y AMPA en el suelo en función del tiempo (luego de la tercera aplicación del herbicida y hasta el momento de la cosecha de la soja).

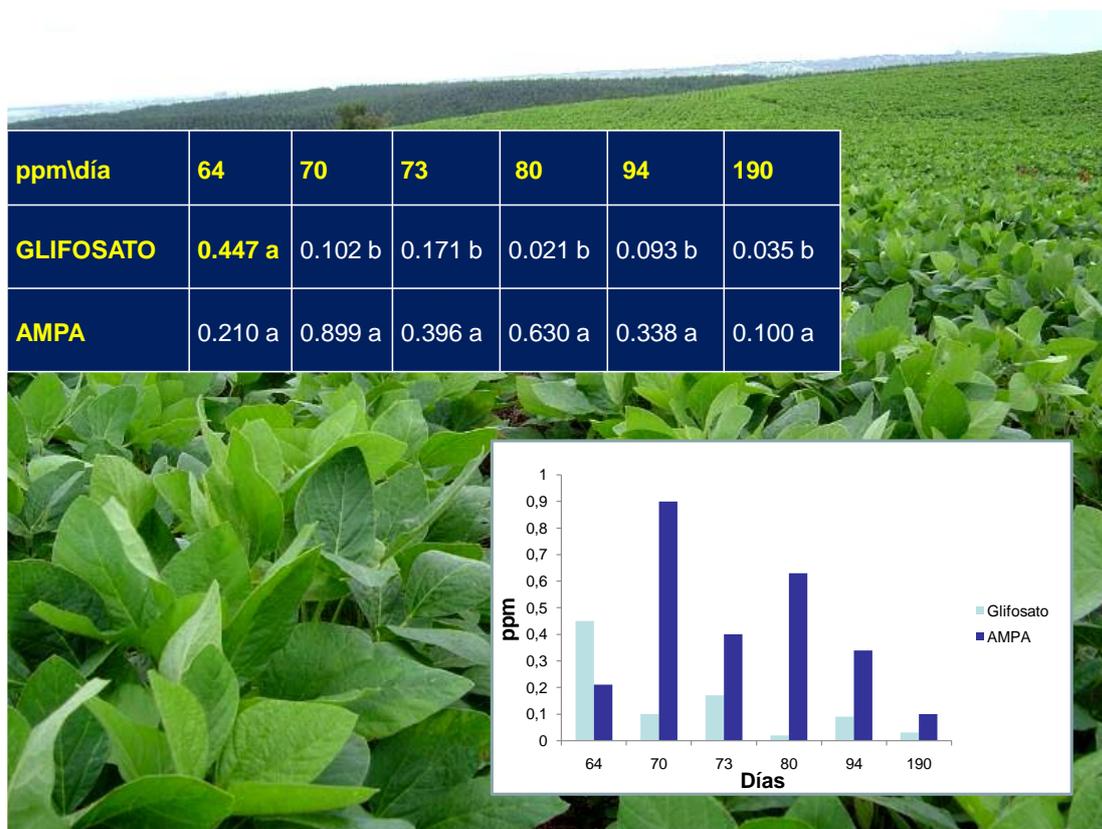


Figura 4. Valores promedio de glifosato y AMPA (ppm) en las parcelas tratadas con glifosato en los 190 días. Los días cero y 190 corresponden al primer y último muestreo (cosecha de soja) respectivamente. Estación Experimental “Dr. Mario. A.Cassinoni” (EEMAC), Paysandú, Uruguay (Período 2006-2007).

Según los resultados del presente estudio, el glifosato y AMPA presentaron una rápida degradación microbiana en este suelo. Si bien se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control en parámetros como la respiración microbiana y en el cociente de mineralización del C orgánico luego de repetidas aplicaciones del herbicida, éstas desaparecieron luego de 80 días. Resultados que pueden estar parcialmente explicados por una adaptación microbiológica producida durante los 13 años de aplicaciones de glifosato (3 a 4 aplicaciones anuales), que pueden haber seleccionado poblaciones microbianas capaces de utilizar el herbicida como fuente de nutrientes.

Los herbicidas con una relación C/N<15 (C/N del glifosato es de 3/1) presentan la potencialidad de mineralizarse fácilmente y dado que los microorganismos heterótrofos requieren C y N para su sobrevivencia y crecimiento, el glifosato puede ser el responsable del incremento inmediato de la actividad microbiana del suelo (Haney *et al.*, 1999).

Los resultados obtenidos concuerdan con los señalados por otros autores en otros fitosanitarios que son degradados principalmente por la actividad microbiana del suelo al igual que el glifosato, como sucede con el aldicarb (insecticida carbamato aplicado al suelo). Bromilow *et al.* (1996) realizaron aplicaciones anuales de dicho insecticida durante más de 20 años en cebada de primavera y encontraron que la degradación microbiana es responsable de varias transformaciones de la molécula y que ésta fue 18 veces más rápida en parcelas que recibieron aplicaciones repetidas en comparación con parcelas sin historia de aplicaciones.

Las tasas de degradación del glifosato evaluadas en este trabajo son consistentes con las de la literatura (Cheah *et al.*, 1998; Eberbach, 1998). La breve vida media del glifosato y de su metabolito de degradación pueden explicarse por las *condiciones favorables de temperatura de suelo y de agua disponible* en los días posteriores a la tercera aplicación (temperatura media entre 28 y 30°C y entre un 50 y 100% de agua disponible aproximadamente), favorables para la degradación microbiana.

Otra de las causales de la corta vida media del herbicida y su derivado puede encontrarse en los *elevados contenidos de materia orgánica* característicos de estos suelos, asociado a una mayor actividad biológica. Según Torstensson (1985), la rápida disipación del glifosato en un suelo sin laboreo se debe a una *activa y diversa comunidad microbiana unida a una mayor abundancia de sustratos carbonados disponibles*. En sistemas de laboreo conservacionista la mineralización del glifosato es muy alta (Haney *et al.*, 2000). Según Peruzzo *et al.*; (2008), la mayor actividad microbiana presente en el horizonte superficial causa una rápida degradación en esa profundidad.

Las *abundantes precipitaciones* dieron lugar a excesos de agua en los 7cm superiores del suelo (profundidad de muestreo) antes o luego de realizadas las aplicaciones pueden haber *transportado verticalmente los compuestos a horizontes más profundos* fuera del área de muestreo, como fue reconocido en la bibliografía.

Peruzzo *et al.*, (2008) y Veiga *et al.*, (2001) encontraron una alta movilidad vertical del glifosato y AMPA en suelo tratado, enriqueciendo rápidamente con altas concentraciones a los horizontes subsuperficiales, donde la degradación es menor. Explican esta movilidad por la elevada solubilidad del glifosato que permite su migración en la solución junto con la porosidad y moderada permeabilidad del suelo y las precipitaciones durante el período estudiado. Peruzzo *et al.*, (2008), sostienen que el laboreo conservacionista resulta en un aumento de la infiltración del agua pudiendo afectar más intensamente el transporte del herbicida a horizontes más profundos. Según Tejada (2009), la vida media y la persistencia del glifosato en la solución del suelo es mayor en experiencias de laboratorio que en el campo debido a la ausencia de procesos de lavado en el laboratorio.

En nuestro estudio, la persistencia del glifosato y AMPA en el suelo Brunosol eútrico fue mayor a 126 días (días entre la tercera aplicación del herbicida y último muestreo, correspondiente a la cosecha de la soja) en las parcelas tratadas y mayor a 190 días en las parcelas control. Si bien la vida media del glifosato y su metabolito AMPA fue breve, la persistencia fue alta ya que al momento de la cosecha de la soja aún se detectaron residuos de ambos. La vida media de 7 días en el glifosato significa que el 50% de los residuos presentes inicialmente fueron disipados o degradados en 7 días, pero pueden estar presentes niveles detectables aún luego de 3 o 4 vidas medias, aunque la concentración en el suelo podría ser muy baja y los residuos podrían estar fuertemente unidos a las partículas del suelo. Torstensson *et al.*, (1989) detectaron residuos de glifosato en niveles muy bajos en suelos de bosque subártico de Suecia 3 años luego de la aplicación, lo que fue atribuido a la falta de actividad microbiana durante los meses de invierno y a la liberación gradual de pequeñas cantidades del glifosato adsorbido desde los residuos de la vegetación tratada más que una insuficiente capacidad de los suelos de degradar el glifosato. La detección de residuos de glifosato en el suelo no significa que los mismos estén biodisponibles. En realidad, los métodos de laboratorio para extraer el glifosato del suelo involucran potentes condiciones (extracción con 0,1-0,5 M KOH) que liberan los residuos que bajo condiciones normales estarían unidas al suelo aunque no disponibles.

Uno de los efectos ambientales más importantes en el uso de los fitosanitarios es su persistencia en el suelo ya que mientras más persistente sea, mayor será la probabilidad de que los residuos afecten los microorganismos del suelo y se incorporen a cadenas tróficas que pueden terminar en el hombre.

Las aplicaciones sucesivas y sobre todo el empleo de dosis superiores a las recomendadas incrementan la probabilidad de acumulaciones hasta alcanzar y superar los niveles tóxicos (CONAMA, 2001; Téllez, 2002).

La *adsorción de los pesticidas* en el suelo juega un rol fundamental en su destino debido a que este hecho condiciona su presencia en la solución del suelo y por lo tanto su disponibilidad para una posible degradación microbiana y/o disipación en el ambiente (Al Rabaj y Schiavon, 2005).

Según Braja y Alfonso (2005), esta fuerte adsorción se opone a su degradación que es esencialmente de naturaleza biológica y puede dar lugar a persistencias relativamente largas. Veiga *et al.*, (2001) y Calderón *et al.*, (2005), concluyeron que la persistencia del glifosato en el suelo depende del *contenido de arcilla*.

La persistencia del glifosato y AMPA determinada en el presente estudio podría asociarse a una fuerte adsorción de estos compuestos en minerales dominantes de tipo 2:1, o sea de carga mayoritariamente permanente como son la montmorillonita e illita, a los elevados tenores de materia orgánica en estos suelos, a su acidez (pH 5,5) (Al Rabaj y Schiavon, 2005) y a las condiciones anaerobias casi permanentes presentes en los 7 cm de suelo desde el 20/02/07 al 2/05/07. El exceso de agua puede reducir la disponibilidad de oxígeno para los microorganismos y por lo tanto la degradación de los compuestos xenobióticos (Douglas and Krueger, 1991).

Conclusión: Se concluye finalmente que es necesario respetar las dosis recomendadas de aplicación del glifosato en los distintos sistemas de manejo del suelo y en lo posible, limitar sus aplicaciones a lo estrictamente necesario, para no alterar la microbiota del suelo.

Recomendaciones: Se sugiere que, además de las variables microbiológicas clásicas evaluadas en este estudio, se incorpore la evaluación de poblaciones microbianas específicas muy importantes en la promoción del crecimiento vegetal (fijadores de N₂, nitrificantes, hongos micorrícicos, etc.) y aquellas no cultivables, mediante la evaluación de la biodiversidad microbiana con el empleo de técnicas genéticas, a los efectos de contar con mayores elementos de juicio sobre los efectos de los fitosanitarios sobre los microorganismos del suelo.

Agradecimientos

Parte de los resultados presentados de este capítulo fueron extraídos de la Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales-Facultad de Ciencias–UDELAR: “ Persistencia del glifosato y efecto de sucesivas aplicaciones en el cultivo de soja en agricultura continua en siembra directa sobre parámetros biológicos del suelo” realizada por la Ing.Agr. Alexandra Bozzo y aprobada en setiembre de 2010. Deseamos expresar nuestros sinceros agradecimientos a todos los que directa o indirectamente brindaron su apoyo e hicieron posible la realización de esta investigación.

Bibliografía

- ACCINELLI, C.; KOSKINEN, J.; SEENBINGER, A.; PARTY, A.; SADOEWSKI, M. 2005. Effects of Incorporated Corn Residues on Glyphosate Mineralization and Sorption in Soil. Applied Soil Microbiology and Biochemistry. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53 (10), pp 4110–4117
- AL RAJAB, A.; SCHIAVON, M. 2005. The retention of glyphosate in different three agricultural soils. 35th Congress of French Group of Pesticides (35th, 18-20 Mai 2005, Marne-La-Vallée (France). Communication oral.
- ANDREA, M.; PETTINELLI, J. 2000. Efeito de applicacoes de pesticides sobre a biomassa e a respiracao de microorganismos de solos. Arquivo Instituto Biológico, Sao Paulo 67: 223- 228.
- ARAÚJO, A.; MONTEIRO, R.; ABARKELI, R. 2003. Effect of glyphosate on microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, Oxford. 52: 799-804.
- ARRIETA, A.; MESQUIDA, M. 1996. Efecto del control químico en el crecimiento y potencial reinfestación del *Solanum sisymbriifolium* en soja. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Facultad de Agronomía. 44p.
- BLUM, A.; NARBONDO, I.; OYHANTCABAL, G.; SANCHO, D. 2008. Soja transgénica y sus impactos en Uruguay. La nueva colonización. Montevideo, RAP-AL Uruguay. 194p.
- BENTLEY, R. 1990. The shikimate pathway- a metabolic tree with many branches. *Critical reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 25: 307-324.

- BRAJA, B.; y ALFONSO, D. 2005. Amonimethylphosponic acid and glyphosate adsorption onto goethite: a comparative study. *Environmental Science and Technology*, 39: 585-592.
- BROMILOW, R.; EVANS, A.; NICHOLS, P.; TODD, A.; BRIGGS, G. 1996. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. *Pesticide Science* 48: 63-72.
- BUSSE, M.; RATCLIFF, A.; SHESTAK, C.; POWERS, R. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1777-1789.
- CALDERON, M.; QUINTANA, M.; LOPEZ, HERMOSIN, C. 2005. Estudio preliminar sobre el comportamiento del herbicida glifosato en dos suelos de Extremadura. Sevilla, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología.
- CARLISLE, S.; TREVORS, J. 1988. Glyphosate in the environment. *Water Air Soil Poll.* 39, 409-420 on respiration and hydrogen consumption in soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 27: 391-401.
- CHEA, U.; KIRWOOD, R.; LUM, K. 1998. Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:1217-1223.
- COGGINS, J. 1989. The shikimate pathway as target for herbicides and fungicides. In: Dodge, A.D. (Ed.), *Herbicides and plant metabolism*. Society for Experimental Biology. Seminar Series 38. pp. 97-112.
- CONAMA. 2001. *Geotecnia: Diagnostico de la Gestión Integral de la Cuenca del Cachapoal, VI Región*. Informe final. Stgo de Chile.
- COUPLAND, D.; CASELEY, J. 1979. Presence of C14 activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with carbon-14 labeled glyphosate. *New Phytologist* . 83: 17-22.
- COX, C. 1995. Glyphosate. 2. Human exposure and ecological effects. *Journal of pesticide reform: a publication of the Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides* 15 (4): 14-20

- CRESPO, J.; LONGINOTTI, J. 1988. Alternativas de manejo en el cultivo de soja. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Facultad de Agronomía. Uruguay.
- CUJO, J.; MARTINEZ, H. 2001. Evaluación de alternativas para el control químico de malezas en soja (*Glicine max*) bajo el régimen de cero laboreo. Tesis Ing. Agr. Montevideo. Facultad de Agronomía. Uruguay.
- DELLACIOPPA, G.; BAUER, B. KLEIN.; D.; SHAH, R.; FRALEY.; G. KISHORE. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. Proceedings National Academy Science USA. 83: 6873- 6877.
- DICK, R.; QUINN, J. 1995. Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation. Applied Microbiology Biotechnology. 43(3): 545-550.
- DINHAM, B. 1998. Resistance to glyphosate. Pesticides News 41: 5.
- DOUGLAS, J.; KRUEGER, J. 1991. Microbial transformations of herbicides and pesticides. Advances in applied microbiology 36: 1-66.
- EBERBACH, P. 1998. Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(phosphonomethyl)glycine) in four soils. Pesticide Science 52, 229–240.
- ELLIS, J. M. and J. L. Griffin. 2002. Benefits of soil-applied herbicides in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). Weed Technol 16:514–547.
- ERIKSSON, K.; 1975. Roundup. Weeds and weeds Control. 16: 15-6.
- FERNANDEZ, G. 2007. Efeitos de herbicidas na microbiota do solo em sistema fechado. Tesis Doctorado. Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil, Universidad de Estadual Paulista. 60p.
- FILIP, Z. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. Agriculture, Ecosystems and Environment 88:169-174.

- FRANZ, J.; MAO, M.; SIKORSKI, J.; 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. Washington, DC, American Chemical Society. 653p. (American Chemical Society Monograph 189).
- FRIONI, L. 2006. Degradación de xenobióticos. En: Microbiología básica, ambiental y agrícola. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, pág 393-405
- HANEY, R.; SENSEMAN, S.; HONS, F.; ZUBERER, D. 1999. Effect of glyphosate on soil microbial activity. Proc-S-Weed-Sci-Soc. Raleigh, N.C., etc. Southern Weed Science Society 52 p. 215.
- HANEY, R.; SENSEMAN, S.; HONS, F.; ZUBERER, D. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. Weed Science 48: 89-93.
- HETHERINGTON, P. 1999. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. Journal of Experimental Botany 50: 1567-1576.
- JOHAL, G.; RAHE, J. 1984. Effect of soilborne plant-pathogenic fungi on the herbicidal action of glyphosate on bean seedlings. Phytopathology 74: 950-955.
- KILLHAM, K. 1985. A physiological determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. Environmental Pollution 38: 283- 294.
- KOLLMAN, W.; SEGAWA. J. 1995. Interim report of the pesticide chemistry database. Environmental hazards Assesment Program. Department of Pesticide Regulation.
- LAITINEN, P.; SARI R.; SIIMES, K. 2007. Glyphosate translocation from plants to soil—does this constitute a significant proportion of residues in soil? Plant Soil. 300, 51–60.
- MACKAY, D. 2001. Environmental chemicals and their properties (Capítulo 3). En: Multimedia environmental models: The fugacity approach. Lewis Publishers. Second edition. pp. 29-54.
- MARTINO, D. 1995. El Herbicida Glifosato: su manejo más allá de la dosis por hectarea. INIA La Estanzuela. Serie técnica Nº 61.

- MARTINO, D. 1997. Siembra directa en los sistemas agrícola ganaderos del litoral.- INIA La Estanzuela. Serie Técnica N° 82.
- MONSANTO. 2005. Backgrounder Glyphosate Half Life in Soil. En línea. Disponible en: http://www.monsanto.com/products/Documents/glyphosate-background-materials/gly_halflife_bkg.pdf
- MOREIRA, F.; SIQUIERA, J. 2002. Xenobióticos no solo. In: MOREIRA, F. M.S.; SIQUIERA, J. O. Microbiología e bioquímica do Solo. Lavras: UFLA. pp. 243-284.
- NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P.; 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns, R.G., Dick, R.P. (eds), Enzymes in the environment: activity, ecology and applications. Marcel Dekker Inc. pp. 1-33.
- PERUZZO, P.; PORTA, A.; RONCO, A. 2008. Levels of glyphosate in surface Waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. Environmental Pollution 156:61-66.
- PETERSEN, I.; BRUUN, H.; RAVN, H.; SORENSEN, J.; SORENSEN, H. 2007. Metabolic effects in rapessed (*Brassica napus* L.) seedlings alter root exposure to glyphosate. Pesticide Biochemistry and Physiology 89: 220-229.
- PRATA, F.; CAMPONEZ, V.; LVORENTI, A.; TORNISIELO, V.; BORGES, J. 2003. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. Scientia Agricola 60(1).
- RAIESI, F. 2006. The conversion of overgrazed pastures to almond orchards and alfalfa cropping Systems may favor microbial indicators of spoil quality in Central Iran. Science Direct. 121: 309-318.
- REDDY, K.; RIMANDO, A.; DUKE, S.; NANDULA, V. 2008. Aminomethylphosphonic Acid accumulation in plant species treated with glyphosate. Journal of Agriculture and Food Chemistry 56 (6): 2125-30.
- ROBERTS, T.; HUTSON, H.; LEE, P.; NICHOLLS, P.; PLIMMER, J. 1998. Metabolic pathways of agrochemicals. Part 1: Herbicides and plants growth regulators. London: The Royal Society of Chemistry. pp. 386-400.

- RODRIGUES, B.; ALMEIDA, F. 1995. Guía de herbicidas. Londrina: Instituto Agronómico do Paraná. 675p.
- RUEPPEL, M.; BRIGHTWELL, B.; SCHAEFER, J; MARVEL, J. 1977. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 25: 517-528.
- SANNINO, F.; GIANFREDA, L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*.45: 417-425.
- SHUETTE, J. 1998. Environmental Monitoring and Pest management. Sacramento, CA, Department of Pesticide Regulation. 95824-5624
- SICARDI, M.; GARCIA-PRECHAC, F.; y FRIONI, L. 2004. Soil microbial indicators sensitive to land use conversion from pastures to commercial *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) plantations in Uruguay. *Applied Soil Ecology* 27:125-133
- SICARDI, M., GARCIA-PRECHAC, F. y L. FRIONI. 2005 Monitoreo de la calidad de los suelos de Uruguay: Indicadores microbiológicos. *Agrociencia IX*, Nº 1 y 2 :277-283
- SPARLING, G.; 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon is sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research* 30: 195-207.
- STRANGE-HANSEN, R.; HOLM, P., JACOBSEN, O. AND JACOBSEN, C. 2004. Sorption, mineralization and mobility of N-(phosphonomethyl) glycine (glyphosate) in five different types of gravel. *Pest Manage. Sci.* 60:570-578.
- TEJADA, M. 2009. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate + diflufenican herbicides. *Chemosphere* 76:365-373.
- TELLEZ, V. 2002. Propuesta metodológica para determinar áreas de influencia de fuentes contaminantes de recursos hídricos mediante la aplicación del sistema de Información geográfica en la IX Región. Proyecto para optar al grado de licenciado en medicina veterinaria, Stgo – Chile. Universidad Mayor. 133 pp.
- TORSTENSSON, N; LUNDGREN, L; STENSTROM. J. 1989 Influence of climatic and edaphic factors on the persistence of glyphosate and 2,4-D in forest soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 18: 230-239.

- TORSTENSSON, L. 1985. Behaviour of glyphosate in soils and its degradation. En: The herbicide glyphosate (Grossbard.E; Atkinson D., eds). London, Butterworth. pp.137-149.
- USDA. 1984. Forest Service. Pesticide background Statements.p.61-672. In USDA: Agriculture Handbook Nº 633. Vol.1. Herbicide. Part 2.
- URUGUAY. DGSA, 2006. Consultado en junio de 2006. En línea. Disponible en: <http://chasque.apc.org/dgsa>
- URUGUAY. DGSA, 2011. Consultado en junio de 2011. En línea. Disponible en: <http://chasque.apc.org/dgsa>
- URUGUAY. DIEA, MGAP. 2010. Encuesta agrícola Primavera 2010. En línea. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/DIEA>
- VEIGA, F.; ZAPATA, J.; FERNANDEZ, M.; ALVAREZ, E. 2001. Dynamics of glyphosae and aminomethylphosphonic acid in forest soil Galici. Science of the Total Environment 271(1-3):135-44.
- WARDLE, D. AND PARKINSON, D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil* 122: 21-28.
- WARDLE, D.; NICHOLSON, K.; RHAMAN, A. 1994. Influence of herbicide applications on the descomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 37:29-39.
- WHO. 1994. Glyphosate. Environmental Health Criteria 159. Geneva: WHO. 1994, 161 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1994. Glyphosate. Geneva, WHO, International Programme on Chemical Safety (Environmental Healt Criteria 159).