

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
AMBIENTALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**EFECTO Y PERSISTENCIA DEL GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS  
BIOLÓGICOS DEL SUELO EN BOSQUE SECUNDARIO, EN SUCUMBÍOS**

**Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniera en Recursos Naturales  
Renovables**

**AUTORA:**

Angélica Rafaela Ruiz Guerrón

**DIRECTOR:**

Ing. M.Sc. Jorge Revelo

**Ibarra – Ecuador**

**2012**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
AMBIENTALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**EFECTO Y PERSISTENCIA DEL GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS  
BIOLÓGICOS DEL SUELO EN BOSQUE SECUNDARIO, EN SUCUMBÍOS**

**Tesis revisada por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación  
como requisito parcial para obtener el Título de:**

**“INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES”**

**APROBADA:**

Ing. Jorge Revelo, M.Sc. ....

**DIRECTOR**

Ing. Oscar Rosales, M.Sc. ....

**ASESOR**

Dr. Marcelo Dávalos, M.Sc. ....

**ASESOR**

Ing. Franklin Valverde, M.Sc. ....

**ASESOR**



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**BIBLIOTECA UNIVERSITARIA**

**AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN**  
**A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA**

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

| <b>DATOS DE CONTACTO</b>    |   |                        |            |
|-----------------------------|---|------------------------|------------|
| <b>Cédula de identidad:</b> | 100300741-4                             |                        |            |
| <b>Apellidos y nombres:</b> | Ruiz Guerrón Angélica Rafaela           |                        |            |
| <b>Dirección:</b>           | Cdla. Los Ceibos Río Vices 2-52, Ibarra |                        |            |
| <b>E-mail:</b>              | rafaela3087@hotmail.com                 |                        |            |
| <b>Teléfono fijo:</b>       | 062641895                               | <b>Teléfono móvil:</b> | 0987923960 |

| <b>DATOS DE LA OBRA</b>            |   |
|------------------------------------|---|
| <b>Título:</b>                     | Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario, en Sucumbíos. |
| <b>Autora:</b>                     | Ruiz Guerrón Angélica Rafaela   |
| <b>Fecha:</b>                      | 26de Octubre del 2012   |
| <b>SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO</b> |   |
| <b>Programa:</b>                   | Pregrado  |
| <b>Título por el que opta:</b>     | Ingeniera Recursos Naturales Renovales  |
| <b>Director:</b>                   | Ing.M.Sc. Jorge Revelo  |

## **2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD**

Yo, ANGÉLICA RAFAELA RUIZ GUERRÓN, con cédula de ciudadanía Nro.100300741-4; en calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con Ley de Educación Superior Artículo 143.

## **3. CONSTANCIAS**

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra 26 de Octubre del 2012.

### **AUTORA: ACEPTACIÓN:**

Angélica Ruiz G.  
C.C: 100300741-4

Esp. Ximena Vallejo  
**JEFE DE BIBLIOTECA**



## UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

### **CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

Yo, ANGÉLICA RAFAELA RUIZ GUERRÓN con cédula de ciudadanía Nro. 100300741-4; manifiesto la voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autora de la obra o trabajo de grado denominada **“EFECTO Y PERSISTENCIA DEL GLIFOSATO SOBRE PÁRAMETROS BIOLÓGICOS DEL SUELO EN BOSQUE SECUNDARIO, EN SUCUMBÍOS”**, que ha sido desarrollado para optar por el título de Ingeniera en Recursos Naturales Renovables en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autorme reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

**Angélica Rafaela Ruiz Guerrón**

C.C.: 100300741-4

## REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

Guía: FICAYA-UTN

Fecha: 26 de Octubre del 2012

**Angélica Rafaela Ruiz Guerrón, EFECTO Y PERSISTENCIA DE GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS BIOLÓGICOS DEL SUELO EN BOSQUE SECUNDARIO, EN SUCUMBÍOS/ TRABAJO DE GRADO.** Ingeniera en Recursos Naturales Renovables Universidad Técnica del Norte. Carrera de Recursos Naturales Renovables Ibarra. EC. Octubre 2012. 69 pág. 19 anexos.

**DIRECTOR:** Ing. M.Sc. Jorge Revelo

El objetivo principal de la presente investigación fue, generar información mediante experimentación de campo, sobre el “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo de bosque secundario, en la provincia de Sucumbíos”. Los resultados obtenidos, permitieron determinar el impacto que ocasiona este herbicida a la microbiota del suelo.

Fecha: 26 de Octubre del 2012

Fecha: 26 de Octubre del 2012

f) Ing. M.Sc. Jorge Revelo f) Angélica Rafaela Ruiz Guerrón

## **PRESENTACIÓN**

*Las ideas, conceptos, tablas, datos, resultados y más informes que se presentan en esta investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.*

***Angélica Rafaela Ruiz Guerrón.***

## **DEDICATORIA**

*A Dios por permitirme vivir, guiarme y bendecirme a cada instante.*

*Todo mi esfuerzo y la lucha constante por alcanzar una de mis más anheladas metas se lo dedico con mucho amor y respeto a mis padres Milton Ruiz y Olivia Guerrón, por apoyarme incondicionalmente en lo moral, espiritual y económico, muy por encima de las muchas limitaciones, inculcando en mi la perseverancia y los valores necesarios para finalizar una etapa más de mi vida.*

*A mis hermanos compañeros de penas y alegrías, que creyeron desinteresadamente en mis capacidades internas para responder éticamente por cada una de mis acciones y que día a día me brindaron con amor sus palabras de aliento y apoyo muy necesarios cuando se lucha por alcanzar una meta y cumplir un sueño.*

*Y todas las personas quienes me han visto luchar, vencer, caer y que comparten conmigo la alegría de poder culminar esta etapa profesional de mi vida, de corazón gracias.*

**Angélica Rafaela.**

## **AGRADECIMIENTO**

*A la Universidad Técnica del Norte y a la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, de la cual me llevo las mejores enseñanzas.*

*Al Centro Universitario de Investigación Ciencia y Tecnología por haberme dado las facilidades para realizar mi proyecto de tesis.*

*Al Ing. Jorge Revelo, M.Sc. Director de Tesis porque gracias por permitirme ser partícipe de sus valiosos conocimientos, sugerencias y comentarios que gracias a ello esta investigación llevo a culminarse con éxito.*

*Al Ing. Oscar Rosales, por ser un maestro ejemplar y amigo que ha sabido brindarme siempre su orientación con profesionalismo ético en la adquisición de conocimientos.*

*Al Ing. Luis Unigarro, por sus sugerencias aportadas que me llevaron cumplir esta investigación.*

*A los señores asesores de tesis Dr. Marcelo Dávalos, Ing. Franklin Valverde, por contribuir con los conocimientos y experiencia a desarrollar este proyecto.*

*Y mi eterna gratitud a todos mis maestros, amigos, compañeros y a todas aquellas personas, testigos de mis triunfos y fracasos.*

**Angélica Rafaela.**

## ÍNDICE GENERAL

|        | <b>CAPÍTULO</b>   | <b>Pág.</b> |
|--------|---|-------------|
|        | <b>INTRODUCCIÓN</b>   | 1           |
| 1.1.   | OBJETIVOS   | 3           |
| 1.1.1. | General   | 3           |
| 1.1.2. | Específicos   | 3           |
| 1.2.   | HIPÓTESIS   | 3           |
|        | <b>CAPÍTULO II</b>  |             |
|        | <b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b>  | 4           |
| 2.1.   | El Plan Colombia  | 4           |
| 2.1.1. | Programa de control de cultivos ilícitos  | 5           |
| 2.1.2. | Depósito fuera del objetivo   | 6           |
| 2.2..  | Parámetros biológicos utilizados para la determinación de los efectos de los herbicidas sobre los microorganismos | 6           |
| 2.3.   | Impactos de los herbicidas en los microorganismos del suelo   | 7           |
| 2.3.1  | Efectos neutros en los microorganismos del suelo  | 8           |
| 2.3.2. | Efectos negativos en los microorganismos del suelo  | 9           |
| 2.4..  | Degradación biológica del glifosato en el suelo   | 10          |
| 2.4.1  | El metabolito AMPA  | 11          |
| 2.4.2  | Adsorción y movilidad del glifosato   | 11          |
| 2.5.   | El Glifosato  | 12          |
| 2.5.1. | Toxicidad   | 14          |
| 2.5.2  | Persistencia del glifosato en el suelo  | 14          |
| 2.6.   | Producto y dosis utilizados en el Plan Colombia   | 15          |
| 2.6.1. | Surfactantes y adherentes asociados al herbicida  | 15          |
| 2.6.2. | Polioxietileno amina (POEA)   | 16          |
| 2.6.3. | Cosmoflux   | 16          |

### CAPÍTULO III

|  |    |
|--|----|
| <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>  | 18 |
| 3.1. Descripción del área donde se realizó el experimento  | 18 |
| 3.2. Factor en estudio   | 19 |
| 3.3. Tratamientos  | 19 |
| 3.4. Unidad experimental   | 20 |
| 3.5. Características del experimento   | 20 |
| 3.6. Diseño Experimental   | 20 |
| 3.7. Variables y métodos de evaluación   | 21 |
| 3.8. Manejo específico del experimento   | 22 |
| 3.8.1 Cálculo de los componentes de la mezcla glifosato + POEA (surfactante)+ Cosmo-Flux 411F (adherente)+agua y su aplicación | 22 |

### CAPÍTULO IV

|  |    |
|--|----|
| <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>  | 24 |
| 4.1. Efecto del glifosato sobre la población de microorganismos del suelo  | 24 |
| 4.1.1. Bacterias totales   | 24 |
| 4.1.2. Hongos totales  | 26 |
| 4.1.3 Actinomicetes  | 27 |
| 4.1.4 Solubilizadores de Fósforo   | 29 |
| 4.1.5 Celulolíticos totales  | 30 |
| 4.1.6 Fijadores de nitrógeno   | 31 |
| 4.2. Presencia y persistencia del glifosato en el suelo  | 32 |
| 4.2.1 Determinación del tiempo de persistencia del efecto del glifosato en el suelo mediante cambios en la población de la microbiota. | 35 |

|                 |                      |    |
|-----------------|----------------------|----|
|                 | <b>CAPÍTULO V</b>    |    |
| CONCLUSIONES    |                      | 41 |
|                 | <b>CAPÍTULO VI</b>   |    |
| RECOMENDACIONES |                      | 42 |
|                 | <b>CAPÍTULO VII</b>  |    |
| RESUMEN         |                      | 43 |
|                 | <b>CAPÍTULO VIII</b> |    |
| SUMMARY         |                      | 45 |
|                 | <b>CAPÍTULO IX</b>   |    |
| BIBLIOGRAFÍA    |                      | 47 |
|                 | <b>CAPÍTULO X</b>    |    |
| ANEXOS          |                      | 53 |

## ÍNDICE DE CUADROS

| No. | Tema   | Pág. |
|-----|--|------|
| 1.  | Tratamientos evaluados para determinar el efecto y persistencia del glifosato sobre los parámetros biológicos del suelo.   | 19   |
| 2.  | Cantidad de cada componente para obtener el volumen de la mezcla asperjada a 1m <sup>2</sup> de suelo, según los tratamientos considerados.  | 23   |
| 3.  | Presencia de glifosato y AMPA en el suelo a los 2, 15, 30 y 45 días de la aplicación, registrado en los tratamientos evaluados en el ensayo “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario”. Sucumbíos, 2011. | 34   |
| 4.  | Valoración de impactos.  | 64   |
| 5.  | Factores ambientales impactados  | 66   |
| 6.  | Acciones impactantes   | 67   |

## ÍNDICE DE ANEXOS

| No  |  | Pág. |
|-----|--|------|
| 1.  | Mapa de ubicación del experimento  | 53   |
| 2.  | Croquis de campo del ensayo y distribución de los tratamientos, bajo el diseño BCA   | 54   |
| 3.  | Reporte de análisis Físico-Químicos de suelo determinado antes de la aplicación de glifosato en el ensayo. Sucumbíos 2011-2012.  | 55   |
| 4.  | Población de bacterias totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.   | 56   |
| 5.  | Población de total de bacterias determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.              | 56   |
| 6.  | Población de hongos totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.  | 56   |
| 7.  | Población total de hongos determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos 2011-2012.                     | 57   |
| 8.  | Población de actinomicetes determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.   | 57   |
| 9.  | Población total de actinomicetes determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos 2011-2012.              | 57   |
| 10. | Población de solubilizadores de fósforo determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.  | 58   |
| 11. | Población total de solubilizadores de fósforo determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos 2011-2012. | 58   |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 12. | Población de celulolíticos totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.  | 58 |
| 13. | Población total de celulolíticos determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos 2011-2012.     | 59 |
| 14. | Población de fijadores de nitrógeno determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.   | 59 |
| 15  | Población de fijadores de nitrógeno determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos 2011-2012.  | 59 |
| 16. | Precipitación, temperatura y humedad del suelo, reportados por la Estación Meteorológica del Aeropuerto de Lago Agrio de la Dirección de Aviación Civil. 2011.              | 60 |
| 17. | Fotografías microorganismos.  | 61 |
| 18. | Fotografías de las actividades realizadas en el ensayo “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario”.Sucumbios2011-2012. | 62 |
| 19. | Estudio de Impacto Ambiental  | 63 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

| No  |  | Pág. |
|-----|--|------|
| 1.  | Comportamiento de la población de bacterias totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.          | 25   |
| 2.  | Correlación entre dosis de glifosato y población total de bacterias.   | 25   |
| 3.  | Comportamiento de la población de hongos totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.             | 26   |
| 4.  | Correlación entre dosis de glifosato y población total de hongos.  | 27   |
| 5.  | Comportamiento de la población de actinomicetes determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.              | 28   |
| 6.  | Correlación entre dosis de glifosato y población total de actinomicetes.   | 28   |
| 7.  | Comportamiento de la población de solubilizadores de fósforo determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012. | 29   |
| 8.  | Correlación entre dosis de glifosato y población total de solubilizadores de fósforo.  | 30   |
| 9.  | Comportamiento de la población de celulolíticos determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.              | 30   |
| 10. | Correlación entre dosis de glifosato y población total de celulolíticos.   | 30   |
| 11. | Comportamiento de la población de fijadores de nitrógeno determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.     | 31   |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 12. | Correlación lineal entre dosis de glifosato y población total de fijadores de nitrógeno.   | 32 |
| 13. | Comportamiento de la población total de bacterias determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.                  | 36 |
| 14. | Comportamiento de la población total de hongos determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.                     | 37 |
| 15. | Comportamiento de la población total de actinomicetes determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.              | 37 |
| 16. | Comportamiento de la población total de solubilizadores de fósforo determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012. | 38 |
| 17. | Comportamiento de la población total de celulolíticos determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.              | 38 |
| 18. | Comportamiento de la población total de fijadores de nitrógeno determinada a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.     | 39 |
| 19. | Precipitación, temperatura y humedad del suelo, Estación Meteorológica del Aeropuerto de Lago Agrio de la Dirección Nacional de Aviación Civil 2011.       | 40 |

## CAPITULO I

### INTRODUCCIÓN

Los herbicidas que contienen como ingrediente activo a glifosato o N, N-bis (fosfonómetil) glicina, son sistémicos, de amplio espectro y de post-emergencia. Inhiben la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintetasa, esencial en plantas y microorganismos para la producción de aminoácidos aromáticos (Murillo, 2002).

Estos herbicidas han sido utilizados en la agricultura ecuatoriana por varias décadas y por Colombia, desde diciembre del 2000, en la erradicación de cultivos ilícitos, con la formulación química, glifosato + POEA 44% + Cosmoflux 1% + agua 55%, sin un plan de manejo ambiental para los Departamentos del Putumayo y Nariño, limítrofes con Ecuador. Colombia no diseñó un conjunto de programas, acciones y medidas concretas de manejo ambiental relacionadas con la prevención, control, compensación y corrección, para los posibles efectos que el glifosato podría causar en la salud humana, el agua, suelos, flora y fauna del bosque, en cultivos y en microorganismos del suelo, de ecosistemas compartidos con Ecuador, porque no se habían realizado investigaciones al respecto (Tribunal Administrativo de Cundinamarca, 2003; AmicusCuriae, 2009; Ewins y Adrian, 2003).

Como mencionan Martínez-Nieto, *et al.*, (2011), los resultados de estudios sobre el efecto del glifosato en el ambiente, son en la mayoría de veces, contradictorios; así, algunos autores (Vargas *et al.*, 2002; Monsanto, 2005; Guiseppet *et al.*, 2006) no han encontrado efectos sobre los componentes biológicos del suelo; otros, (De Andrea *et al.*, 2003; Zablotowicz y Reddy, 2004; Kremeret *et al.*, 2005; Damián y Trivelin, 2010) aseguran que sí los hay. Las consecuencias negativas sobre la

fertilidad de los suelos por el uso de este herbicida, también es discutida, señalando como una de las causas, a las perturbaciones que glifosato produce a la microbiota edáfica (Whitelaw *et al.*, 2004). Sin embargo, en el estudio de la Organización de los Estados Americanos (OEA) para Colombia (Solomon *et al.*, 2005), relacionado con el impacto sobre la microbiota edáfica de las fumigaciones aéreas con glifosato, en dosis normales de campo y especiales para el control de cultivos de coca y amapola, se asevera que hay poca probabilidad de efectos adversos sobre los microorganismos del suelo.

Al respecto, Haney *et al.*, (1999) manifiestan que el glifosato ha sido fabricado para ser aplicado directamente a las hojas de las plantas, pero es probable que una cantidad significativa pueda llegar al suelo durante una aplicación. Estudios realizados por EMBRAPA y citados por la Comisión Científica Ecuatoriana (2007), establecen que, durante las aspersiones, es normal que se produzca una “deriva técnica” y que los actuales equipos de aspersión, con calibración, temperatura y vientos ideales, ocasionan que el 32% sean retenidas por las plantas blanco, el 49% vayan al suelo y el 19% se dirijan por el aire a áreas vecinas.

En Ecuador, investigaciones realizadas por Rosas (2012) y Quinchiguango (2012), sobre el impacto de varias dosis de glifosato en la actividad de bacterias totales, hongos totales, actinomicetes, solubilizadores de fósforo, celulolíticos totales y fijadores de nitrógeno del suelo, en el sistema de producción pasto-maíz y en un bosque secundario, en Lago Agrio, 10 km de la frontera con Colombia, no encontraron efectos adversos sobre estos microorganismos, debido a que gran parte del herbicida aplicado fue retenido por el tejido del pasto y por el follaje de los árboles del dosel y subdosel, respectivamente.

Ante la necesidad de disponer de información local acerca del efecto del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo, justificó la ejecución de esta investigación, con el fin de generar información experimental, sobre el efecto de la aplicación directa o por deriva del herbicida al suelo, en las poblaciones de microorganismos y su persistencia, para fines de prevención y bioremediación.

## **1.1.OBJETIVOS:**

### **1.1.1. General**

- Generar información experimental del efecto del glifosato sobre parámetros biológicos y su persistencia en suelo de bosque secundario.

### **1.1.2. Específicos**

- Evaluar el efecto del glifosato sobre la población de microorganismos del suelo (bacterias totales, hongos totales, actinomicetes, solubilizadores de fósforo, celulíticos totales y fijadores de nitrógeno).
- Determinar la persistencia del glifosato y el ácido aminometilfosfónico (AMPA) en el suelo.

## **1.2. Hipótesis**

**Ho:** El glifosato no afecta a la actividad biológica del suelo

**Ha:** El glifosato afecta a la actividad biológica del suelo

**Ho:** La persistencia del glifosato en el suelo es menor a 3 meses

**Ha:** La persistencia del glifosato en el suelo es mayor a 3 meses

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1.El Plan Colombia**

La necesidad de cumplir con el Acuerdo Mundial contra las Drogas Ilícitas–ONU de 1998, obligó al Gobierno de Colombia, a implementar un plan de eliminación total de la producción de cultivos ilícitos llamado Plan Colombia, para lo cual contó con financiamiento de los Estados Unidos de Norte América. Este plan comprende la implementación de las siguientes estrategias: programa de fumigaciones aéreas de herbicidas químicos y de un mico herbicida, erradicación manual, desarrollo de programas de remplazo con cultivos lícitos y destrucción de laboratorios ilícitos en el territorio colombiano (Tribunal Administrativo de Cundinamarca, 2003; AmicusCuriae, 2009; Ewins y Adrian, 2003).

Las fumigaciones aéreas del Plan Colombia comenzaron oficialmente el 22 de diciembre del 2000 en el Departamento del Putumayo (límitrofe con Ecuador), cubriendo 29 000 ha al 28 de enero del 2001 y a 94 000 ha hasta finales de año. Posteriormente, la Administración norteamericana amplió el área de fumigación a 150 000 ha durante el 2002, acción que causó impacto socio-ambiental, afección de la salud humana y reclamos de las poblaciones de frontera (Acción Ecológica, 2002).

Según la Dirección Nacional de Estupefacientes de Colombia, la dosis promedio utilizada fue 23,66 litros/ha (6,25 galones/ha) de glifosato + Cosmoflux, sin embargo al considerar que se han rociado 594 393,3 litros (157 246,9 galones) de Roundup más POEA en la franja de frontera de 10 km de Colombia con Ecuador, la Comisión Científica Ecuatoriana (2007) estimó que la cantidad aplicada por hectárea fue mayor a la indicada y la dosis de Cosmoflux también fue duplicada al considerar que se asperjaron cerca de 13 715,3 litros (3 628,4 galones) (a una concentración del 2,3%). A pesar de esto, en seis años sólo se habían logrado erradicar 3 185 hectáreas.

La mezcla utilizada contenía Roundup Ultra al 44% de glifosato. La etiqueta de este herbicida para uso en los Estados Unidos, señala concentraciones de 1,6% a 7,7% para la mayoría de usos y, como máximo, una concentración del 29%. Para aplicaciones aéreas, indica que no debe exceder de 1 litro por acre del producto formulado. En Colombia, la tasa corresponde a casi 4,5 veces esa cantidad (Comisión Científica Ecuatoriana, 2002).

### **2.1.1. Programa de control de cultivos ilícitos**

El programa de control de cultivos ilícitos en Colombia, para identificar, localizar, georeferenciar y levantar mapas de los sitios de producción, utiliza imágenes satelitales suministradas por los gobiernos de Norteamérica y Europa, sitios que son verificados por medio de vuelos con observadores y/o fotografías en aeroplanos a baja altitud. Los mapas generados en el Sistema de Información Geográfica (GeographicInformationSystem, GIS), muestran a los pilotos las coordenadas del lugar de aspersión y son ingresadas al sistema de navegación de la aeronave, es decir, los campos a asperjar y las rutas de vuelo se conocen con un alto grado de precisión (Solomonet *al.*, 2005).

Las aeronaves están equipadas con un sistema de aspersión de boquillas de gotas lluvia que producen gotas con un diámetro volumen medio entre 300 y 1 500  $\mu\text{m}$ , sistema que es calibrado electrónicamente para dispensar una cantidad de la

mezcla por hectárea, y es verificado por técnicos y pilotos antes del vuelo. Cada operación de asperjado, con 2 o más aeronaves, es escoltada por helicópteros de operaciones de búsqueda y rescate en caso de un accidente o de un incidente (Solomon *et al.*, 2005).

La aspersión es realizada durante el día, antes de la mitad de la tarde, para asegurar condiciones de aplicación apropiadas. Si la lluvia es inminente o la velocidad del viento supera los 7,5 km/h, la aspersión no se realiza. El rociado se realiza a una altura de 30 m y, a pesar de conocer el sitio y la ruta de vuelo, la aspersión en sí está bajo el control de los pilotos. Si hay alguien presente en los cultivos, la aspersión no se realiza por precaución a recibir disparos. La frecuencia de la aplicación varía según las condiciones locales y las acciones tomadas por los cultivadores después de la aspersión de la coca. La aspersión de una plantación de coca en particular, puede tener una frecuencia de retorno de cerca de 6 a 12 meses (Solomon *et al.*, 2005).

### **2.1.2. Depósito fuera del objetivo**

Estudios realizados por EMBRAPA, citado por la Comisión Científica Ecuatoriana (2007), demuestran que durante las aspersiones es normal que se produzca una “deriva técnica” y que los actuales equipos de aspersión, con calibración, temperatura y vientos ideales, distribuyen sus aspersiones así: 32% son retenidas por las plantas blanco; 49% van al suelo y 19% van por el aire a otras áreas vecinas.

### **2.2. Parámetros biológicos utilizados para determinar los efectos de los herbicidas sobre los microorganismos del suelo**

Moreira y Siquiera (2002), reportan que los parámetros biológicos del suelo son sensibles a leves modificaciones que el suelo puede sufrir en presencia de algún agente degradante. En tal sentido, los microorganismos del suelo son potenciales

indicadores por los cambios de sus poblaciones en cortos períodos de tiempo (meses, años) y por su facilidad de evaluarlos.

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

Según Weber *et al.*, (1993), la humedad del suelo y la temperatura afectan varios procesos biológicos como la degradación microbiana, actividad que a su vez influye en la biodisponibilidad y persistencia de los químicos en el suelo. En el perfil del suelo, también influyen en la variabilidad espacial (horizontal y vertical) y temporal (estacional) de los diferentes parámetros microbiológicos como el tamaño de la biomasa, la actividad biológica total, la estructura de la comunidad y la actividad degradativa de los pesticidas (Rover y Kaiser, 1999). Además señalan que la humedad y temperatura del suelo, pueden ejercer mayor efecto que los pesticidas sobre los microorganismos del suelo.

### **2.3. Impacto de los herbicidas en los microorganismos del suelo**

Es bien documentado que la microbiota del suelo es responsable de la ejecución y el control de funciones esenciales como la descomposición de la materia orgánica, la 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, control biológico de plagas y enfermedades (Moreira y Siquiera, 2002) y la fertilidad del suelo (Bromilow *et al.*, 1996 y Andrea *et al.*, 2000), citados por Bozzo (2010). Por lo cual, la preservación de la capacidad metabólica de la microbiota es fundamental para mantener la calidad del suelo (Alef *et al.*, 1995).

En los últimos años, el uso de pesticidas es cuestionando cada vez más por su potencial acumulación en el suelo debido a repetidas aplicaciones en los cultivos y por los efectos negativos sobre los microorganismos con consecuencias adversas en la fertilidad del mismo (Bromilow *et al.*, 1996), citado por Bozzo (2010).

Si bien el uso intensivo de herbicidas pueden causar efectos adversos en la microbiota del suelo (Araújo *et al.*, 2003), también se ha determinado que los microorganismos exhiben una gran adaptabilidad en respuesta al impacto causado por los xenobióticos, evidenciada por el restablecimiento de la actividad metabólica. Según Frioni (1999) citado por Bozzo (2010), los mecanismos por los cuales esto puede suceder, son considerados al reemplazo de especies sensibles por otras tolerantes y a la rápida recolonización luego de la aplicación del herbicida.

Al respecto, Fernández (2007) señala que tanto la tasa como el grado de degradación de los herbicidas, depende de la actividad de los microorganismos del suelo.

### **2.3.1 . Efectos neutros en los microorganismos del suelo**

Carlise y Trevors (1986), demostraron que el glifosato puede estimular o inhibir los microorganismos del suelo dependiendo de la concentración del herbicida utilizada. Así, Wardle y Parkinson (1990) y Hart y Brookes (1996), reportaron que no observaron efectos en la biomasa microbiana y en la actividad; en cambio, Haney (1999) y Araújo (2003), observaron estimulación de la actividad microbiana del suelo, inmediatamente después de la aplicación del glifosato, actividad que lo degrada rápidamente, aún en presencia de altas dosis, concluyendo que la actividad microbiana no fue afectada adversamente.

Estudios realizados por Rueppelet *al.*, (1977), Roslycky (1982) y Haney (1999), en campo, determinaron incrementos en el número de bacterias y hongos,

concluyendo que el glifosato no afecta o produce una leve estimulación de crecimiento de los microorganismos del suelo.

En tal sentido, Araujo *et al.*, (2003), al realizar estudios *in vitro* para evaluar el efecto del glifosato en dos suelos Hapludoll y Haplustoll de Brasil de un área sin historia de glifosato y de otras dos áreas con 6 y 11 años de aplicaciones del herbicida, observaron mayor producción de dióxido de carbono en suelos tratados con glifosato que en aquellos suelos sin historia de aplicaciones del herbicida. Los suelos expuestos a glifosato durante varios años, tuvieron mayor actividad microbiana. Concluyeron que este fenómeno se debería a que las aplicaciones pudieron haber seleccionado poblaciones microbianas capaces de utilizar el herbicida.

Por su parte Ractiliff (2006), citado por Bozzo (2010), reporta que los efectos del glifosato son dosis dependientes y altamente transitorios pudiendo ser explicados por el rápido enriquecimiento de las bacterias oportunistas que utilizan los compuestos como fuente de nutrientes y/o de carbono, por lo que se concluye que las aplicaciones a dosis de campo o dosis mayores del glifosato, no afectan o presentan un pequeño efecto en las comunidades microbianas del suelo.

### **2.3.2. Efectos negativos en los microorganismos del suelo**

Krzysko-Lupicka *et al.*, (1997), sostienen que la abundancia y diversidad de los microorganismos son importantes en los procesos metabólicos del suelo (descomposición de la materia orgánica) y contribuyen a su fertilidad. Dichos autores anotan que el glifosato es utilizado como única fuente de carbono o fósforo, inhibe la población de los hongos del suelo y cambia la composición de cepas, actuando por lo tanto como un agente ambiental de selección.

Existen varios estudios que demuestran la interferencia del glifosato en los procesos de fijación de Nitrógeno, tanto en bacterias que no se relacionan con otros microorganismos, como de bacterias que establecen relaciones simbióticas

con plantas. En estudios con soya transgénica resistente al glifosato, Zablotowicz y Reddy (2004), determinaron que la bacteria nitrificante *Bradyrhizobium japonicum*, posee una enzima sensible al glifosato que propicia la acumulación de ácido chiquímico y ácidos hidroxibenzoicos, inhibiendo el crecimiento y hasta la muerte de la bacteria, en presencia de altas concentraciones de glifosato.

Douglas *et al.*, (1991), indicaron que la mineralización de varios compuestos orgánicos por los microorganismos del suelo es, a menudo, precedida por un período de aclimatación, intervalo de tiempo durante el cual no se detecta la biodegradación. El tiempo de aclimatación requerido por una población microbiana para degradar un químico, está influenciado por la tasa y frecuencia de exposición a dicho químico.

Moreira y Siqueira (2002), citado por Bozzo (2010), analizaron un total de 48 estudios publicados para determinar el tiempo necesario para que la comunidad microbiana se recupere del estrés provocado por los pesticidas. Encontraron que, en 30 casos analizados, hubo una recuperación en menos de 30 días y que solamente en dos casos fueron necesarios más de 60 días para la recuperación del nivel original. Su conclusión final fue que, en general, los efectos de los pesticidas sobre la biota, son de corta duración.

En condiciones reales, los efectos sobre la microbiota presentan gran variabilidad en función de la naturaleza química del herbicida, la dosis, momento y forma de aplicación, tipo de suelo, cultivo establecido y manejos culturales, pudiendo alterar fuertemente las respuestas (Fernández, 2007).

#### **2.4.Degradación biológica del glifosato en el suelo**

Según Carlise y Trevors (1988), citado por Bozzo (2010), la descomposición biológica es considerada como el proceso más importante de los microorganismos en la remoción de la mayor parte de los herbicidas. Señalan que en este proceso, el

herbicida es inactivado y biodegradado por los microorganismos con tasas relacionadas con la actividad microbiana en el suelo y los factores que afectan esta actividad. Además señalan que la vida media del glifosato depende principalmente de la actividad microbiana y no de la descomposición química o foto descomposición.

La tasa de degradación del glifosato ha sido correlacionada con la actividad microbiana de los suelos y ésta a su vez está relacionada con la temperatura. El glifosato es descompuesto por microorganismos en el suelo a través de dos vías: en una de ellas se presenta el clivaje del enlace C-N, lo cual lleva a la formación de ácido aminometilfosfónico (AMPA), el cual es posteriormente transformado en metilamina (Gardner y Grue, 1996); y una segunda vía en la cual ocurre el clivaje del enlace C-P formando sarcosina (N-metil-glicina), el cual es biodegradado a glicina, formando CO<sub>2</sub> a través de la vía del formaldehído (WHO, 1994).

Por su parte Ghassemiet *al.*, (1981), citado por Bozzo (2010), indican que la tasa de degradación del glifosato en el agua es más lenta que en el suelo porque existe menor cantidad de microorganismos, y que si bien la tasa de degradación por microorganismos del suelo es rápida y completa, varía con el tipo de suelo y los microorganismos presentes.

#### **2.4.1. El metabolito AMPA**

El glifosato es descompuesto por microorganismos en el suelo a través del clivaje del enlace C-N, en formación de ácido aminometilfosfónico (AMPA) y luego en metilamina (Gardner y Grue, 1996).

Se ha encontrado que el AMPA es más persistente que el glifosato con una vida media de 199 a 958 días (WHO, 1994).

#### **2.4.2. Adsorción y movilidad del glifosato en el suelo**

Muchos herbicidas son adsorbidos en las fracciones mineral-arcillosa y orgánica del suelo, mediante fuerzas de atracción que los mantienen unidos a las partículas coloidales. Esta adsorción es sustancialmente menor en suelos con textura arenolimoso. La extensión de la adsorción se incrementa con el aumento del contenido de materia orgánica y de arcilla, dando lugar a que haya menos herbicida disponible para actuar sobre las malezas, menor lixiviación y que se retarde la acción bacteriana para degradarlo (Santos y Flores, 1995).

La adsorción de glifosato en el suelo presenta características especiales; puesto que todos los pesticidas son adsorbidos de manera débil o moderada, principalmente por el material orgánico del suelo, debido a que sus moléculas presentan grupos no polares (alifáticos y/o aromáticos) y frecuentemente tienen sólo un grupo funcional. En cambio, el glifosato es una molécula pequeña con tres grupos funcionales (carboxil, amino y fosfonato) y es fuertemente sorbida por los minerales del suelo. Por otra parte, el glifosato es un ácido poliprótico y cuando se encuentra en solución puede formar aniones mono y divalentes en el rango de pH 4 a 8, común a muchos tipos de suelos. Estos aniones presentan una gran afinidad por cationes trivalentes como el  $Al^{3+}$  y el  $Fe^{3+}$  presentes en la fracción mineral o partículas de materia orgánica del suelo de las zonas tropicales; los cuales son efectivos sorbentes y por tanto inmovilizadores del glifosato (Borggaard y Gimsing, 2008).

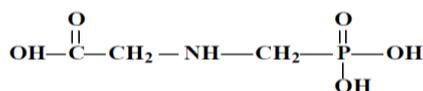
## **2.5. El Glifosato**

El glifosato es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, utilizado para eliminar malezas indeseables (pastos anuales y perennes, hierbas de hoja ancha y especies leñosas) en ambientes agrícolas, forestales y paisajísticos (Kaczewer, 2002).

Composición: el glifosato es un ácido, pero se usa comúnmente como sal, siendo la forma más utilizada la sal isopropilamina (IPA) de N-(fosfometil) glicina, o sal isopropilamina de glifosato.

Fórmula química: C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P (Figura 1).

**Figura 1:** Estructura química del Glifosato



**Fuente:** Documento Plan de Manejo Ambiental  
Erradicación de Cultivos Ilícitos, 2000.

Es altamente soluble en agua y prácticamente insoluble en solventes orgánicos. Por ser hidrosoluble, se lo usa mezclado a otras sustancias como solventes, coadyuvantes y demás, denominados como “ingredientes inertes”, que lo fijan a la planta para mejorar la penetración en los tejidos. Sobre estos ingredientes no se proporciona información en las etiquetas y en muchos casos son sustancias biológicas, químicas o toxicológicamente activas (Comisión Científica Ecuatoriana, 2007).

El nombre comercial más conocido de este producto es Roundup, patentado por Monsanto. Existen varias formulaciones que se caracterizan comúnmente por contener 480 g/l de sal isopropilamina(IPA) de glifosato y el surfactante POEA (polioxietyl amina). POEA pertenece a la familia de alquilaminaspolietoxiladas sintetizadas de ácidos grasos de origen animal. Según Kaczewer (2002), citado por la Comisión Científica Ecuatoriana (2007), reporta que el POEA tiene mayor toxicidad. El Glifosato + POEA + Cosmoflux está considerado como un organofosforado.

ROUNDUP presenta una solución viscosa de color ambarino claro, pH 4,4 a 4,9, gravedad específica 1,17, olor tenue a amina y de categoría III, medianamente tóxico (Tribunal Administrativo de Cundinamarca, 2003).

### **2.5.1. Toxicidad**

De acuerdo con información de la Dirección Nacional de Estupefacientes (2007), la decisión de recomendar el glifosato obedeció a un procedimiento sistemático y científico, el cual consideró las variables ambientales y de riesgo toxicológico como elementos que rigen el criterio para su selección. Las características toxicológicas consideradas fueron las siguientes: a) baja toxicidad (categoría IV), según el ICA (Organismo Científico del Gobierno Colombiano para estos fines) y Ministerio de Salud; b) reducido potencial tóxico en humanos y animales; c) dosis letal media entre 4 900 - 5 000 miligramos por kilogramo de peso vivo. Comparativamente es menos tóxico que la aspirina, que posee una dosis letal media de 1000 mg/kg vivo; d) no posee características teratogénicas, cancerígenas o mutagénica; e) no posee acción residual. Su vida media en el suelo es de 1 a 4 semanas como máximo; f) se bio-degrada por la acción microbiana en productos como dióxido de carbono, agua, nitrógeno y ciertos fosfatos; g) es un herbicida sistémico (actúa como vacuna), es decir, se manifiesta desde dentro de la planta; h) no es un producto volátil o corrosivo; i) el efecto de deriva es prácticamente nulo o menor de 2% (Solomonet *al.*, 2005).

### **2.5.2. Persistencia del glifosato en el suelo**

En el suelo el glifosato es retenido fuertemente en las partículas coloidales, a través de la molécula del ácido fosfórico. Presenta una vida media de 30 días y sufre una degradación de tipo microbiano, por descomposición en ácido aminometilfosfónico (AMPA) y bióxido de carbono (Gutiérrez, 2007).

Según el documento Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos (2000), la vida media del glifosato (tiempo requerido para que la mitad de la cantidad del producto aplicado se metabolice o desaparezca), puede variar de 3 a 141 días. Normalmente el efecto biocida del producto es de corta duración en suelos tropicales, porque la molécula es susceptible a la degradación rápida de los

microorganismos del suelo, fraccionándose en componentes como CO<sub>2</sub>, agua, cierta fracción nitrogenada y algunos fosfatos.

En la región amazónica, la degradación de este herbicida sería aún más rápida porque al presentar mayor temperatura y alta pluviosidad (humedad), la actividad microbiológica sería más acelerada.

Al respecto, Racke *et al.*, (1997), al comparar la degradación de los plaguicidas en condiciones tropicales y templadas, concluyeron que existía una mayor tasa de degradación en condiciones tropicales; de ahí que, dado que las actividades microbianas del suelo están fuertemente influenciadas por la temperatura y la humedad, la degradación del herbicida será mayor en suelos tropicales con temperaturas y pluviosidad más altas durante todo el año, que en los suelos templados. Es por esto que en ambientes tropicales existen altas tasas de recambio de la materia orgánica del suelo por una mayor actividad microbiana.

## **2.6. Producto y dosis utilizados en el Plan Colombia**

El producto y dosis del o los herbicidas utilizados en el Plan Colombia, se desconocen, sin embargo, según fuentes oficiales se fumigó un promedio de 23,66 litros (6,25 galones/ha) del herbicida Roundup con sus ingredientes activos glifosato N-(fosfonometil) glicina (44%) + POEA (polioxietileno amina) + Cosmoflux 1% + agua (55%), lo que equivale a 10,4 litros de Roundup (con POEA incluido) sin diluir, más 0,24 litros de Cosmo-Flux y 0,08 litros de Cosmo-InD , mezclados en 12,94 litros de agua (Comisión, Científica Ecuatoriana, 2007).

### **2.6.1. Surfactantes y adherentes asociados al herbicida**

Son sustancias que se añaden al ingrediente activo de un herbicida para mejorar su eficacia y facilidad de uso. Sirven para muchos propósitos y comprenden un rango muy amplio de sustancias, que van desde solventes hasta surfactantes y modificadores del pH. La solubilidad en el agua y la naturaleza iónica del

glifosato retardan su penetración a través de la cera de la cutícula de la planta. Por esta razón, el glifosato se formula comúnmente con surfactantes que disminuyen la tensión superficial de la solución e incrementan la penetración en los tejidos de las plantas (Solomon *et al.*, 2005).

### **2.6.2. Polioxietileno amina (POEA)**

La mayoría de productos que contienen glifosato, usan un surfactante para ayudar a que penetre en los tejidos de la planta, confiriéndole a la formulación comercial, características toxicológicas diferentes a las del glifosato sólo. En el caso de Roundup, contiene glifosato y el surfactante polioxietileno amina (POEA), sintetizado de ácidos grasos de origen animal y agua (Murillo, 2002).

POEA es un surfactante que se usa para que el glifosato pase a través de la cutícula de las plantas, ya que ésta tiene características no polares (lipofílicas), que dificulta la absorción del químico. Tiene una toxicidad aguda mucho mayor que la del glifosato, causa daño gastrointestinal, alteraciones del sistema nervioso central, problemas respiratorios, destrucción de los glóbulos rojos, daños al hígado y riñones, es corrosivo de ojos y fuerte irritante de piel. Además está contaminado por 1-4 dioxano, el cual ha causado cáncer y daño a hígado y riñones en humanos (Comisión Científica Ecuatoriana, 2007).

### **2.6.3. Cosmoflux**

Del Cosmoflux se sabe que su adición al Roundup ocasiona que este herbicida sea más tóxico. El compuesto utilizado tendría una vida media entre 60 días hasta tres años (Cox, 1995).

De acuerdo con cifras del Consejo Nacional de Estupefacientes, el surfactante Cosmo-Flux 411F puede incrementar hasta cuatro veces la acción biológica del herbicida Roundup, sugiriendo niveles relativos de exposición 104 veces mayores

que la dosis recomendada para aplicaciones agrícolas normales en Estados Unidos (Tribunal Administrativo de Cundinamarca, 2003).

Se describe químicamente como una mezcla de aceite mineral y surfactantes especializados no iónicos con agentes de acoplamiento. El ingrediente activo es descrito como una mezcla de esteres de Hexitan: alcoholes lineales + aryletoxilado. Contiene además isoparafinas líquidas: aceite isoparafínico de alta pureza, de muy baja fitotoxicidad, de muy bajo contenido de aromáticos y baja tensión superficial que mejora la humectabilidad, promoviendo así la eficacia de los ingredientes activos (Comisión Científica Ecuatoriana, 2007).

No forma parte de la formulación comercial, pero se le añade para aumentar el nivel de acción del herbicida. Se ha demostrado que aumenta en 4 veces el efecto del Roundup al incrementar el poder de penetración del glifosato (Comisión Científica Ecuatoriana, 2007).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Descripción del área donde se realizó el experimento

El sitio del experimento se encuentra ubicado en:

|   |  |
|---|--|
| Provincia:  | Sucumbíos                                |
| Cantón:   | Lago Agrio                               |
| Parroquia:  | Jambelí                                  |
| Sector:   | Malvinas 2                               |
| Lugar:  | Finca “La Edita”                         |
| Coordenadas UTM:                                      | X= 266566; Y= 10018201                   |
| Datum:  | WGS 84                                   |
| Zona:   | 18 S                                     |
| Altitud:  | 371 msnm                                 |
| Temperatura media anual:                              | 22-24°C(INAMHI, 2008)                    |
| Precipitación:  | 2000-2500 mm(INAMHI, 2008)               |
| Tipo de clima:  | Cálido Húmedo (Cañadas, 1983)            |
| Zona de vida:   | Bosque húmedo tropical (Holdridge, 1977) |
| Taxonomía del suelo (USTaxonomy)                      |  |
| Orden:  | INCEPTISOL                               |
| Suborden:   | TROPEPT                                  |
| Gran grupo:   | DYSTROPEPT                               |
| Subgrupo:   | Oxic y Typic DYSTROPEPTS                 |
| Características físicas y químicas del suelo: Anexo 3 |  |

La investigación se efectuó de agosto a octubre del 2011, en la finca La Edita, ubicada en el sector Las Malvinas 2, cantón Lago Agrio, provincia de Sucumbíos (Anexo 1) y se complementó con análisis de muestras de mantillo y suelo en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas de la E. E. Santa Catalina del INIAP, localizada en Cutuglagua, cantón Mejía, provincia de Pichincha y en el laboratorio de Eco toxicología del Ministerio de Electricidad y Energía Renovable localizado en el cantón Quito, provincia de Pichincha.

### 3.2. Factor en estudio

Herbicida Roundup<sub>SL</sub>(glifosato 48%) + POEA (surfactante polioxietileno-amina) + adherente Cosmo-flux 411F 1% + agua 51%.

### 3.3. Tratamientos

Se evaluaron 6 tratamientos: 5 dosis del herbicida Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%) + POEA (surfactante: polioxietileno-amina) + adherente Cosmo-flux 411F 1%) + agua 51% y un testigo sin aplicación del herbicida (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados para determinar el efecto y persistencia del glifosato Roundup<sub>SL</sub>, sobre parámetros biológicos del suelo.

| No. | Código | Descripción                                    |                      |
|-----|--------|--|----------------------|
|     |        | Dosis de Roundup <sub>SL</sub> (glifosato 48%) |                      |
|     |        | (gal/ha)                                       | (cc/m <sup>2</sup> ) |
| 1   | T1     | 6,25*  | 2,37                 |
| 2   | T2     | 4,69   | 1,78                 |
| 3   | T3     | 3,12   | 1,19                 |
| 4   | T4     | 1,57   | 0,59                 |
| 5   | T5     | 0,63**   | 0,30                 |
| 6   | T6     | 0,00   | 0,00                 |

\*= dosis utilizada en el Plan Colombia

\*\* = dosis de uso agrícola

### 3.4. Unidad experimental

La unidad experimental estuvo conformada por una parcela de 1 m<sup>2</sup>, ubicada en un bosque secundario, con textura arcillosa, presencia de abundante hojarasca y materia orgánica en descomposición.

### 3.5. Características del experimento

|  |                   |
|--|-------------------|
| Número de tratamientos:                  | 6                 |
| Número de repeticiones:                  | 2                 |
| Número de unidades experimentales:       | 12                |
| Área unidad experimental:                | 1 m <sup>2</sup>  |
| Distancia entre unidades experimentales: | 50 cm             |
| Distancia entre repeticiones:            | 1 m               |
| Área del experimento:                    | 40 m <sup>2</sup> |

### 3.6. Diseño Experimental

Los tratamientos fueron distribuidos en un Diseño Experimental de Bloques Completos al Azar (DBCA) con 2 repeticiones. Con el promedio de las dos repeticiones, en los seis tratamientos, se elaboraron gráficos para determinar tendencias de comportamiento de las poblaciones de los microorganismos del suelo, a las dosis de glifosato.

Para determinar la intensidad de asociación y el tipo de tendencia entre las variables dependientes (poblaciones de microorganismos) y la variable independiente (dosis de glifosato), se realizó la prueba de correlación ( $p < 0,05$ ).

De igual forma, con los datos de análisis periódicos de población de los microorganismos del suelo, correspondientes a los tratamientos T1 (6,25 gal Roundup<sub>SL</sub>/ha de glifosato) y T6 (0,00 gal Roundup<sub>SL</sub>/ha de glifosato), se elaboraron gráficos para establecer el tiempo que persiste el efecto del glifosato,

intervalo considerado desde el momento de la aplicación del herbicida hasta cuando las poblaciones de los microorganismos recuperaron los niveles iniciales.

### **3.7. Variables y métodos de evaluación**

Para medir el efecto de las dosis de glifosato sobre las poblaciones de microorganismos del suelo del bosque secundario, se consideraron las variables:

- Población de bacterias totales
- Población de hongos totales
- Población de actinomicetes
- Población de solubilizadores de fósforo
- Población de microorganismos celulolíticos totales
- Población de fijadores de nitrógeno

Las poblaciones de los microorganismos fueron expresadas en unidades formadoras de colonias/gramo de suelo seco (UFC/gss).

Para esto, antes de la aplicación de los tratamientos de glifosato, se tomaron muestras de suelo y también a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación, a una profundidad de 0 a 10 cm (hojarasca y mantillo).

Para cuantificar los diferentes grupos de microorganismos se utilizó el método de dilución serial y siembra en medios específicos de acuerdo a las metodologías descritas por Girard y Rougieux (1964), Novo y Hernández (2003) y Yáñez (2004). Los medios selectivos utilizados fueron los siguientes: Agar Nutriente para bacterias totales, Agar Rosa de Bengala para hongos totales, Agar Caseína para actinomicetes, Agar Ramos Callao para solubilizadores de fósforo, Agar Extracto Suelo para celulolíticos totales, medio semisólido Watanabe para fijadores de nitrógeno. Estos análisis fueron realizados en el laboratorio de Microbiología de Suelos del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas de la E. Santa Catalina del INIAP.

Para determinar la persistencia del glifosato y del ácido aminometilfosfónico (AMPA) en el suelo, se consideraron las variables:

- Presencia de glifosato en el suelo expresada en mg/kg
- Presencia de AMPA en el suelo expresada en mg/kg

Para esto, se tomaron muestras compuestas de suelo a las profundidades de 0 a 5 cm (hojarasca y mantillo) y de 5 a 20 cm, a los 2, 15, 30 y 45 días después de la aplicación del herbicida. Las muestras, correctamente etiquetadas, fueron llevadas al laboratorio de Eco toxicología del Ministerio de Electricidad y Energía Renovable, para determinar la presencia de glifosato y del ácido aminometilfosfónico (AMPA), mediante un cromatógrafo líquido Varian modelo 9010 (equipado con Derivatizador Post-columna PICKERING PCX 5200, detector de fluorescencia SHIMADZU modelo RF-551 y un integrador Hewlett Packard modelo HP 3392 serie II) y la metodología de Spann y Hargreaves, 1994.

### **3.8. Manejo específico del experimento**

Las 12 unidades experimentales, de 1m<sup>2</sup> cada una, separadas por 50 cm entre unidad y 1 m entre repetición, fueron establecidas en el suelo de un bosque secundario. Luego fueron identificadas con rótulos indicando el tratamiento y la repetición (Anexo 2).

#### **3.8.1. Cálculo de los componentes de la mezcla: glifosato + POEA (surfactante) + Cosmo-flux 411F (adherente) + agua y su aplicación.**

La dosis utilizada en el experimento fue aquella que probablemente fue usada en las fumigaciones aéreas del Plan Colombia de 6,25 gal Roundup<sub>SL</sub>/ha. De esta dosis se calculó la dosis en cc/m<sup>2</sup> = 2,37 cc/m<sup>2</sup>. Antes de aplicar el herbicida, se determinó el volumen de agua requerido para cubrir 1 m<sup>2</sup> = 60 cc. A continuación se calculó la cantidad de Cosmo-flux, para lo cual se consideró la recomendación de la etiqueta de 1%, determinando en promedio 0,60 cc de Cosmo-flux/60 cc del

volumen total de la mezcla. Luego se preparó la mezcla en las dosis consideradas en los tratamientos (Cuadro 2) y fueron aplicadas con una bomba manual de mochila y boquilla de aspersión cónica. Para evitar deriva del herbicida a parcelas vecinas, se utilizaron pantallas de plástico.

**Cuadro 2.** Cantidad de cada componente para obtener el volumen de la mezcla asperjada a 1m<sup>2</sup> de suelo, según los tratamientos considerados.

| Tratamientos     | Dosis de<br>Glifosato +<br>POEA* | Dosis de<br>Cosmo-flux | Volumen<br>de agua | Volumen<br>mezcla total |
|------------------|----------------------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|
|                  | cc/m <sup>2</sup>                |                        |                    |                         |
| T1 (6,25 gal/ha) | 2,37                             | 0,60                   | 57,03              | 60,00                   |
| T2 (4,69 gal/ha) | 1,78                             | 0,60                   | 57,62              | 60,00                   |
| T3 (3,12 gal/ha) | 1,19                             | 0,60                   | 58,21              | 60,00                   |
| T4 (1,57 gal/ha) | 0,59                             | 0,60                   | 58,81              | 60,00                   |
| T5 (0,63 gal/ha) | 0,30                             | 0,60                   | 59,09              | 60,00                   |
| T6 (0,00 gal/ha) | 0,00                             | 0,00                   | 0,00               | 00,00                   |

\* = Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%)

## CAPÍTULO IV

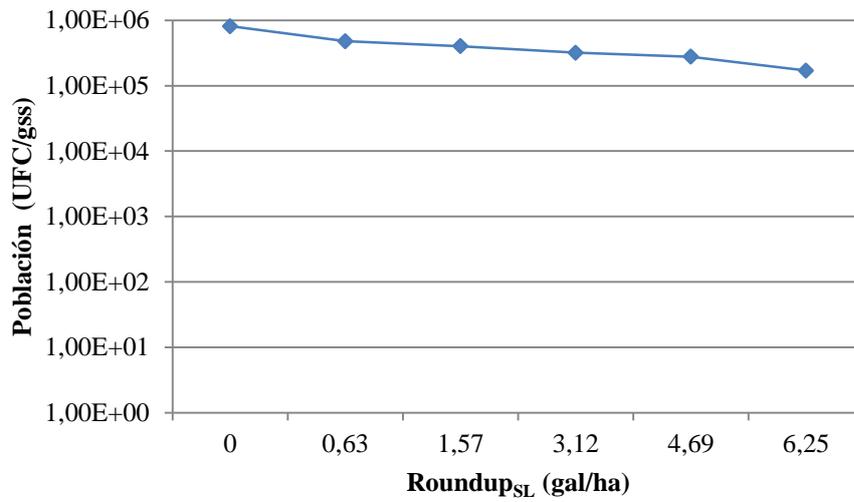
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Efecto del glifosato sobre la población de los microorganismos del suelo:

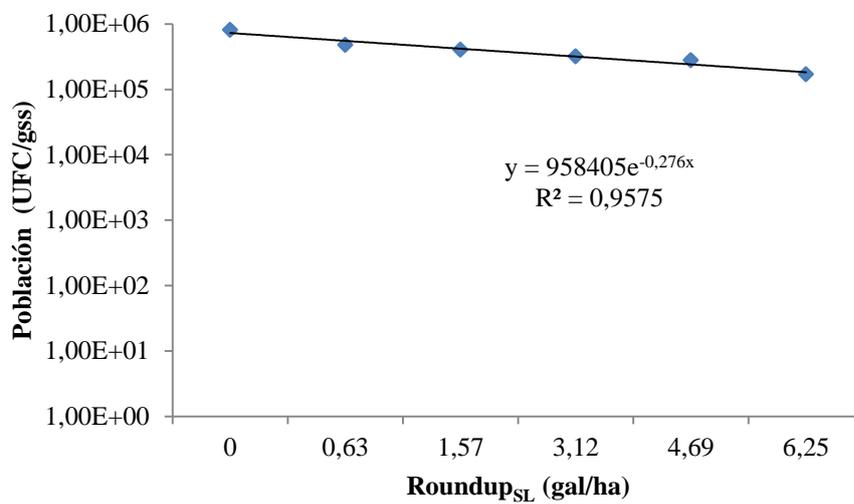
##### 4.1.1. Bacterias totales

En el Gráfico 1, se observa que la población de bacterias totales muestra una tendencia a disminuir a medida que aumenta la dosis de glifosato Roundup<sub>SL</sub>. La prueba de regresión permitió determinar una respuesta de tendencia lineal negativa y un valor de correlación  $R^2 = 0,9575$ , estadísticamente significativo ( $p < 0,01$ ) (Gráfico 2). Es decir que el 95,75% de probabilidades son atribuibles a las dosis de glifosato Roundup<sub>SL</sub> sobre la disminución de la población de bacterias totales del suelo.

Los resultados obtenidos discrepan con aquellos reportados por Ractiliff *et al.*, (2006) quienes señalan que las aplicaciones a dosis de campo o dosis mayores de glifosato, no afectan o presentan un pequeño efecto en las comunidades de bacterias oportunistas que utilizan los compuestos como fuente de nutrientes y o de carbono. Los resultados distintos se aducen a diferencias en el tipo de suelo y a condiciones climáticas donde los estudios fueron realizados.



**Gráfico 1.** Comportamiento de la población de bacterias totales determinado dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

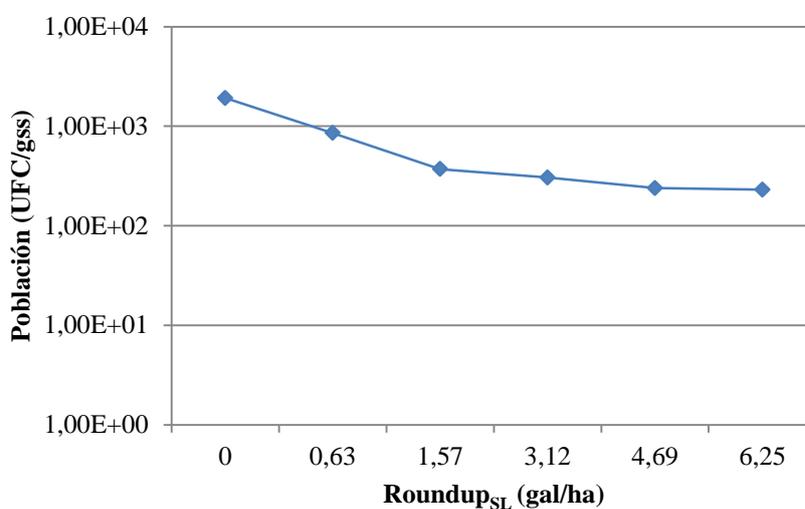


**Gráfico 2.** Correlación entre dosis de glifosato y poblaciones totales de bacterias

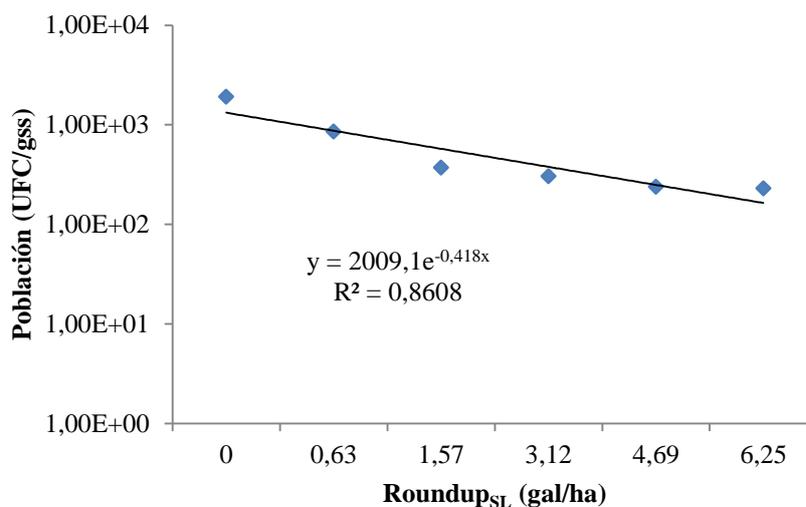
#### 4.1.2. Hongos totales

En el Gráfico 3, se observa que la población de hongos totales muestra tendencia a disminuir, a medida que aumenta la dosis de glifosato Roundup<sub>SL</sub>. La prueba de regresión establece una respuesta de tendencia lineal negativa que sugiere que la disminución de la población de hongos totales guarda relación con el incremento de la dosis de glifosato, efecto que es confirmado por el valor de correlación  $R^2 = 0,8608$ , estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 4); es decir, el 86,08% de probabilidades es atribuible a las dosis de glifosato sobre el decremento de la población de hongos totales.

Los resultados obtenidos concuerdan con aquellos reportados por Krzysko-Lupicka *et al.*, (2008), quienes señalan que suelos tratados con glifosato presentaron alteraciones en la composición de hongos autóctonos, siendo menos afectados las especies de *Fusarium*.



**Gráfico 3.** Comportamiento de la población de hongos totales determinado dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

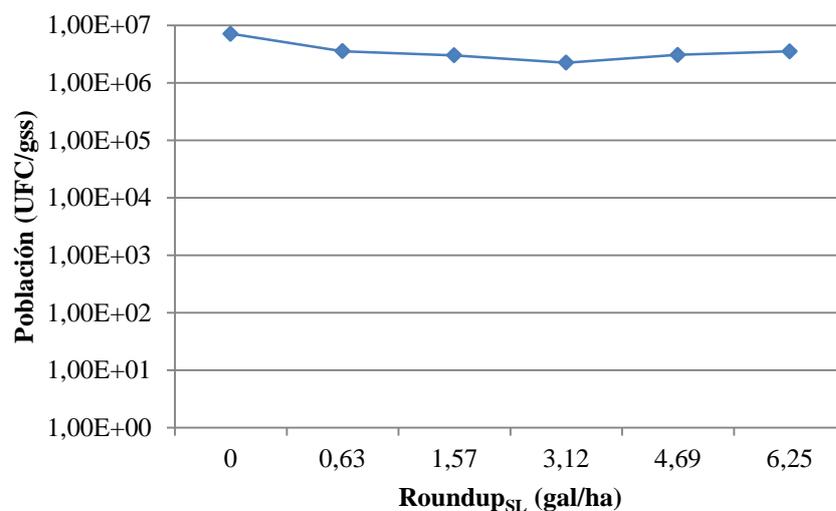


**Gráfico 4.** Correlación entre dosis de glifosato y poblaciones de hongos totales

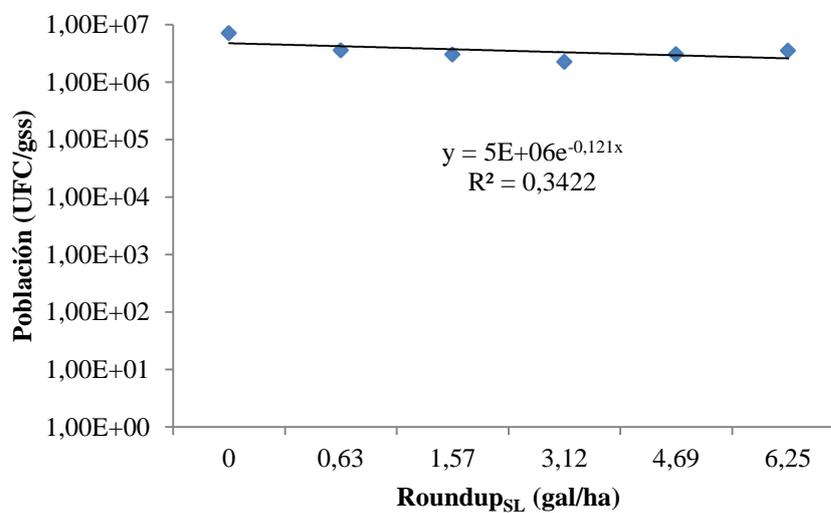
#### 4.1.3. Actinomicetes

En el caso de los actinomicetes, el Gráfico 5 muestra ligeras variaciones de la población, las cuales estadísticamente no son significativas por el valor de correlación  $R^2 = 0,3422$  ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 6). Solamente el 34,22% de esta variación se podría atribuir a las dosis de glifosato, es decir, el herbicida no afecta la población de actinomicetes.

Los resultados obtenidos discrepan con aquellos reportados por Covetto (1988), citado por Eslava, *et al*, (2007), quien señala que el glifosato actúa como un fuerte promotor del crecimiento de actinomicetes, fomentando la microbiota.



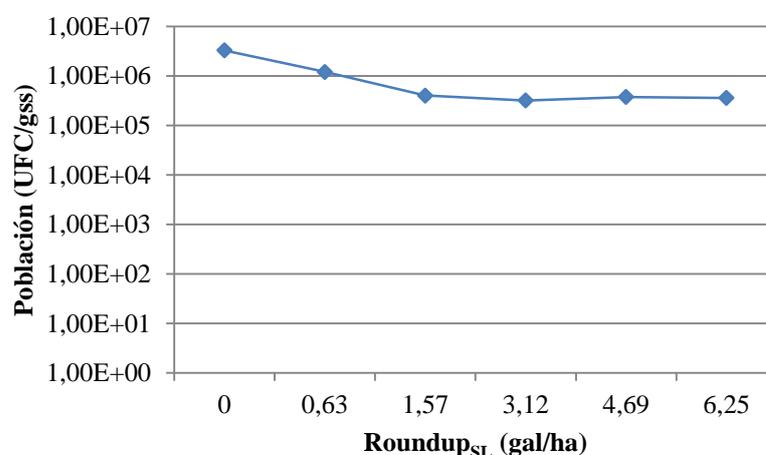
**Gráfico 5.** Comportamiento de la población de actinomicetes determinado dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.



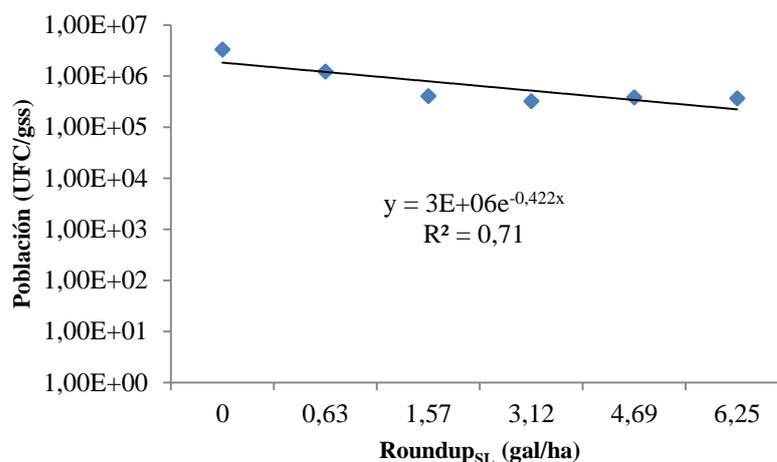
**Gráfico 6.** Correlación entre dosis de glifosato y poblaciones totales de actinomicetes

#### 4.1.4. Solubilizadores de fósforo

La población de solubilizadores de fósforo, muestra tendencia a disminuir a medida que aumenta la dosis de glifosato (Gráfico 7); sin embargo, el valor de  $R^2 = 0,71$ , no significativo ( $p < 0,05$ ), establece que esta tendencia no depende de las dosis de glifosato (Gráfico 8). Únicamente el 71% de probabilidades se podría atribuir a las dosis de glifosato, en esta disminución.



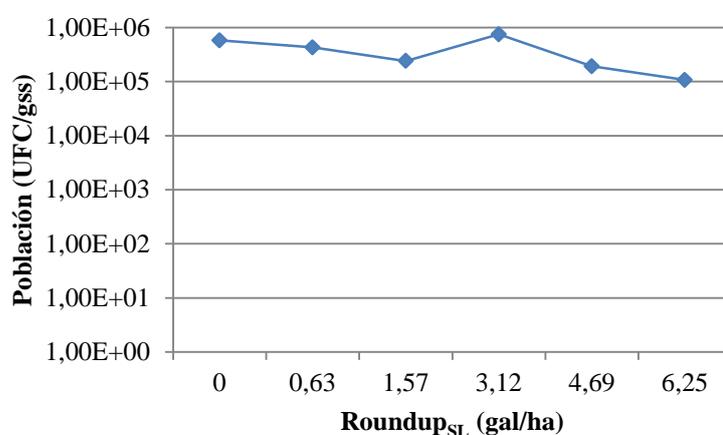
**Gráfico 7.** Comportamiento de la población de solubilizadores de fósforo determinado 2 días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.



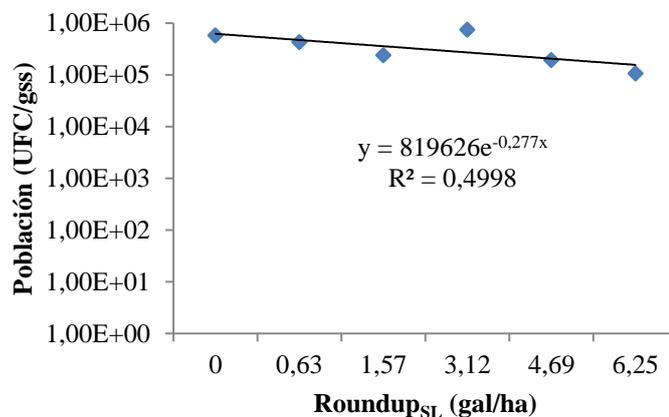
**Gráfico 8.** Correlación entre dosis de glifosato y poblaciones totales de solubilizadores de fósforo.

#### 4.1.5. Celulolíticos totales

El Gráfico 9 muestra que la población de celulolíticos totales presenta tendencia a disminuir a medida que aumenta la dosis de glifosato Roundup<sub>SL</sub>; sin embargo, si bien la prueba de regresión establece una respuesta de tendencia lineal negativa, que sugiere que la disminución de la población de celulolíticos totales guarda relación con el incremento de las dosis de glifosato, el valor de  $R^2 = 0,4998$ , estadísticamente no significativo ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 10), indica lo contrario.



**Gráfico 9.** Comportamiento de la población de celulolíticos totales determinado dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

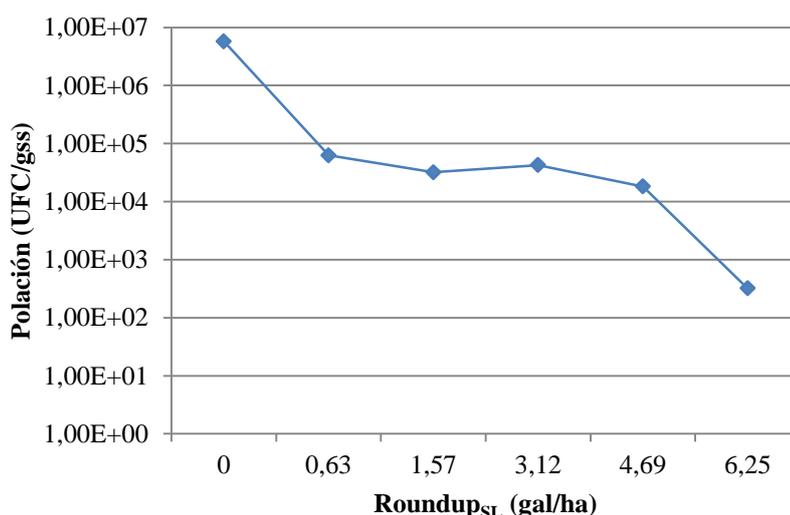


**Gráfico 10.** Correlación entre dosis de glifosato y poblaciones totales de celulolíticos.

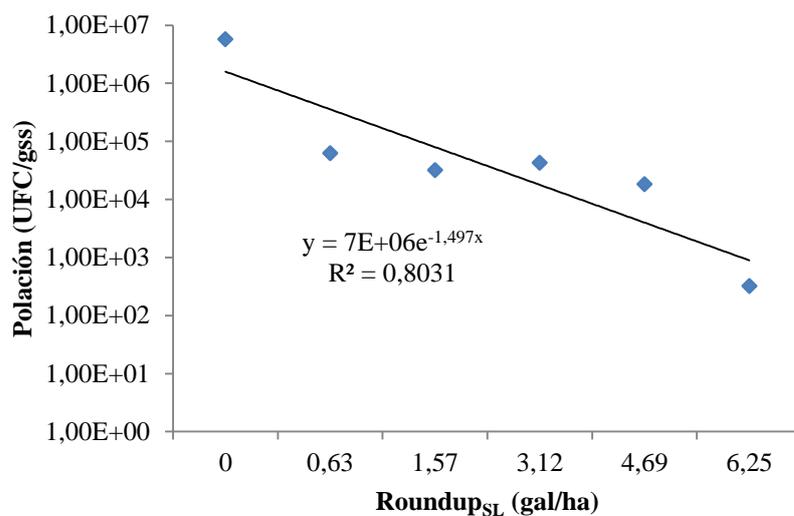
#### 4.1.6. Fijadores de nitrógeno

En el Gráfico 11, la población de fijadores de nitrógeno muestra una tendencia a disminuir a medida que aumenta la dosis de glifosato Roundup<sub>SL</sub>. Sin embargo, a pesar que la prueba de regresión determina una respuesta de tendencia lineal negativa, el valor de  $R^2 = 0,8031$ , estadísticamente no significativa ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 12), indica que el 80,31% de probabilidades en la disminución de la población, se podría atribuir al herbicida, misma que es mayor a la registrada en bacterias, hongos y solubilizadores de fósforo (Gráficos: 2, 4 y 8).

Este resultado concuerda con los resultados reportados por Zablutowicz y Reddy (2004), quienes determinaron interferencia del glifosato en los procesos de fijación de nitrógeno, tanto en bacterias que no se relacionan con otros microorganismos, como de bacterias que establecen relaciones simbióticas con plantas. Además establecieron que las bacterias nitrificantes *Bradyrhizobium* poseen una enzima sensible al glifosato que propicia la acumulación de ácido chiquímico y ácidos hidroxibenzoicos, inhibiendo el crecimiento y hasta la muerte de la bacteria, en presencia de altas concentraciones de glifosato.



**Gráfico 11.** Comportamiento de la población de fijadores de nitrógeno determinado dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.



**Gráfico 12.** Correlación entre dosis de glifosato y población total de fijadores de nitrógeno.

Según los resultados obtenidos, se acepta la hipótesis alternativa de que el glifosato afecta la actividad biológica del suelo, al determinar significativos decrementos de la población de fijadores de nitrógeno, bacterias y hongos totales; menor decremento en solubilizadores de fósforo y ligeros decrementos en actinomicetos y celulolíticos totales.

También se establece que la magnitud del efecto negativo del glifosato en la actividad biológica del suelo, depende de la dosis de glifosato; así, mayor reducción de la actividad biológica se presenta cuando se aplican altas dosis del herbicida al suelo y una ligera reducción, cuando se utilizan dosis bajas.

De acuerdo con lo anterior y considerando que en la deriva de las aspersiones aéreas, la cantidad de glifosato que llega al suelo es pequeña, el efecto a la microbiota del suelo sería ligero o ninguno, como señalan Quinchiguango (2012) y Rosas (2012).

#### 4.2. Presencia y persistencia del glifosato en el suelo

En el Cuadro 4, se observa que a los dos días de la aplicación y en el sustrato de 0 a 5 cm, se detecta a glifosato en los tratamientos T1 (6,25gal del herbicida/ha), T2 (4,69gal del herbicida/ha), T3 (3,12gal del herbicida/ha) y T4 (1,57gal del herbicida/ha). En el tratamiento T5 (0,63gal del herbicida/ha, dosis de uso agrícola) el valor de glifosato fue menor al límite de cuantificación de 0,3 mg/kg (< LC) y en el T6 (0,00 gal del herbicida/ha), no se detecta a glifosato.

A los 15 y 30 días de la aplicación, en el sustrato de 0 a 5 cm únicamente se detecta a glifosato en los tratamientos T1 (6,25gal del herbicida/ha) y T2 (4,69gal del herbicida/ha). En el tratamiento T3, niveles menores al límite de cuantificación y en el T4, niveles menores al límite de detección, a los 15 días. A los 45 días, en todos los tratamientos los niveles de glifosato fueron menores al límite de detección (LD = 0,1 mg/kg).

En cambio, en el sustrato de 5 a 20 cm, en todos los tratamientos se determinaron niveles de glifosato menores al límite de cuantificación o de detección, lo que indica que la mayor cantidad del herbicida quedó retenido en el primer estrato y que presentó poca movilidad.

La retención del glifosato en el sustrato de 0 a 5 cm, es sustentada al considerar las características físicas químicas del suelo del ensayo: textura arcillosa, pH 4,5, materia orgánica 5,5%, hierro 441 ppm (Anexo 3), que tienen la característica de retener fuertemente las moléculas de ácido fosfórico del herbicida (Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos, 2000).

Estos resultados concuerdan con Gutiérrez (2007), quien indica que el glifosato es prácticamente inmovilizado por las partículas coloidales, con mínima probabilidad de transporte por lixiviación o arrastre por escorrentía, también señala que permanece 30 días y que su degradación microbiana, produce bióxido de carbono y AMPA, metabolito que no fue detectado en ningún estrato del suelo y muestreo (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Presencia de glifosato y AMPA en el suelo a los 2, 15, 30 y 45 días después de la aplicación de cinco dosis de Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%) en el suelo de un bosque secundario. Sucumbíos, 2011. (n = 2).

| Glifosato y AMPA<br>(mg/kg) |                             |                     |                                  |      |           |      |           |      |           |      |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|----------------------------------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| Tratamientos                |                             |                     | Frecuencia de muestreo<br>(días) |      |           |      |           |      |           |      |
|                             |                             |                     | 2                                |      | 15        |      | 30        |      | 45        |      |
| Código                      | Dosis glifosato<br>(gal/ha) | Profundidad<br>(cm) | Glifosato                        | AMPA | Glifosato | AMPA | Glifosato | AMPA | Glifosato | AMPA |
| T1                          | 6,25                        | 0 - 5               | 5,8                              | < LD | 1,0       | < LD | 0,9       | < LD | < LD      | < LD |
|                             |                             | 5-20                | < LC                             | < LD | < LC      | < LD | < LD      | < LD | < LD      | < LD |
| T2                          | 4,69                        | 0 - 5               | 4,7                              | < LD | 1,2       | < LD | 0,8       | < LD | < LD      | < LD |
|                             |                             | 5-20                | < LD                             | < LD | < LD      | < LD | < LD      | < LD | -         | -    |
| T3                          | 3,12                        | 0 - 5               | 0,5                              | < LD | < LC      | < LD | < LC      | < LD | -         | -    |
|                             |                             | 5-20                | < LD                             | < LD | < LD      | < LD | -         | -    | -         | -    |
| T4                          | 1,57                        | 0 - 5               | 1,1                              | < LD | < LD      | < LD | -         | -    | -         | -    |
|                             |                             | 5-20                | < LD                             | < LD | -         | -    | -         | -    | -         | -    |
| T5                          | 0,63                        | 0 - 5               | < LC                             | < LD | -         | -    | -         | -    | -         | -    |
|                             |                             | 5-20                | -                                | -    | -         | -    | -         | -    | -         | -    |
| T6                          | 0,00                        | 0 - 5               | -                                | -    | -         | -    | -         | -    | -         | -    |
|                             |                             | 5-20                | -                                | -    | -         | -    | -         | -    | -         | -    |

<LC Menor al límite de cuantificación, glifosato 0,3 mg/kg

Menor al límite de cuantificación AMPA 3,0 mg/kg

<LD Menor al límite de detección, glifosato 0,1 mg/kg

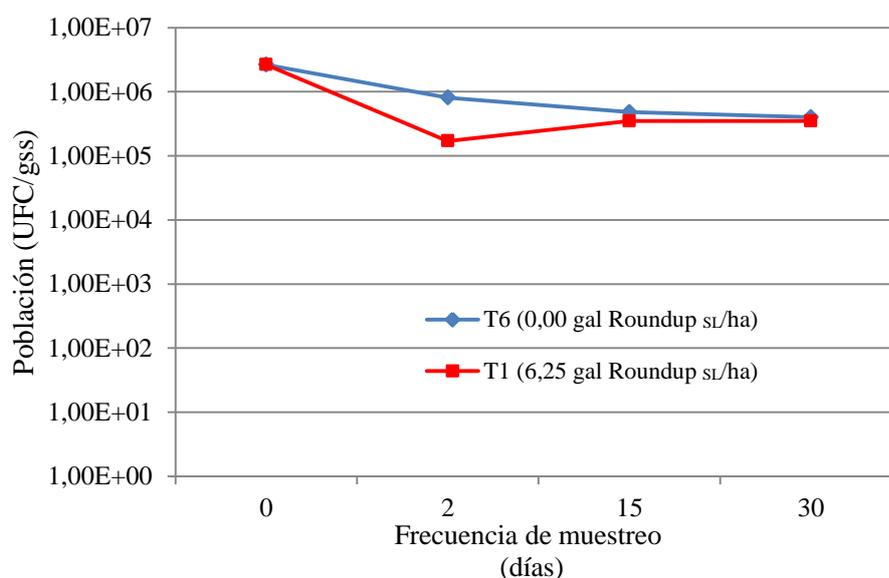
Menor al límite de detección AMPA 1,0 mg/kg

- Muestras no analizadas por no detección de Glifosato y AMPA en las muestras que les anteceden y por costos

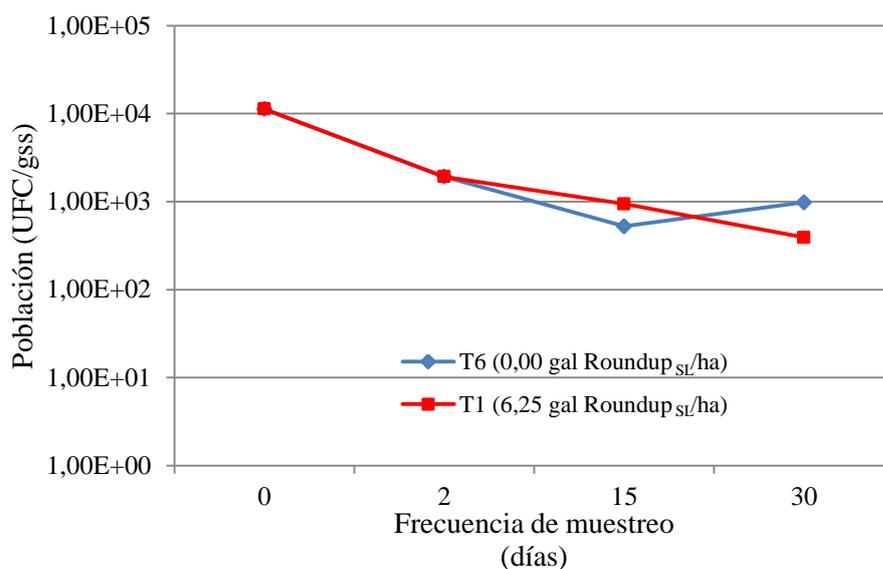
#### 4.2.1. Determinación del tiempo de persistencia del efecto del glifosato en el suelo mediante cambios en la población de la microbiota

En los Gráficos: 13, 14, 15, 16, 17 y 18, se observa un ligero decremento de las poblaciones de bacterias totales, hongos, actinomicetos, solubilizadores de fósforo, celulolíticos y fijadores de nitrógeno, respectivamente, en el tratamiento T1 (6,25 gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha), en relación al tratamiento T6 (0,00 gal Roundup<sub>SL</sub>/ha), a los 2 días de aplicado el herbicida, para luego estabilizarse a los 15 y 30 días, excepto en la población de fijadores de nitrógeno (Gráfico 18), donde se observa que la población disminuye significativamente a los 2 y 15 días de la aplicación, en el tratamiento T1 en relación al T6, para luego normalizarse a los 30 días.

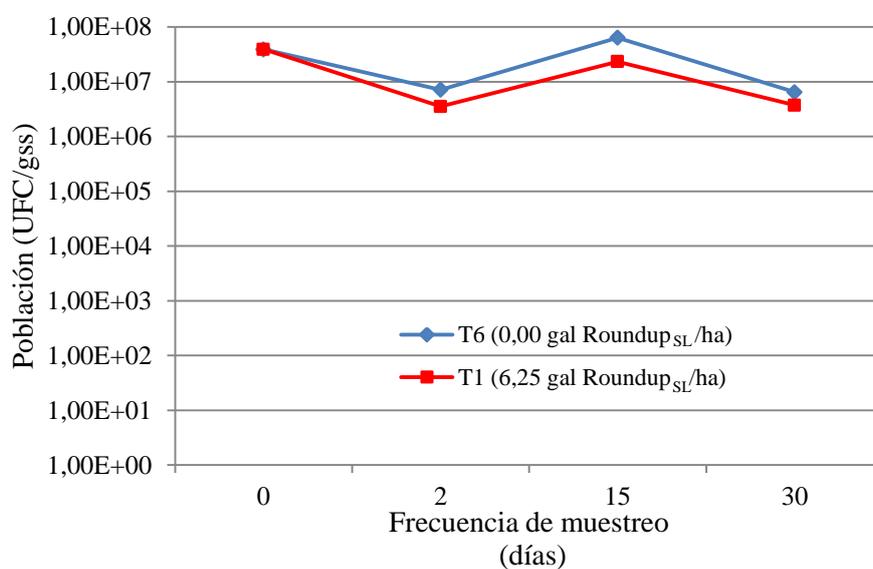
De acuerdo con estos resultados, se podría asumir que el efecto del glifosato en el suelo no es mayor a 45 días, persistencia que concuerda en gran parte con Gutiérrez (2007), quien señala que el glifosato presenta una vida media de 30 días y que su degradación es de tipo microbiano.



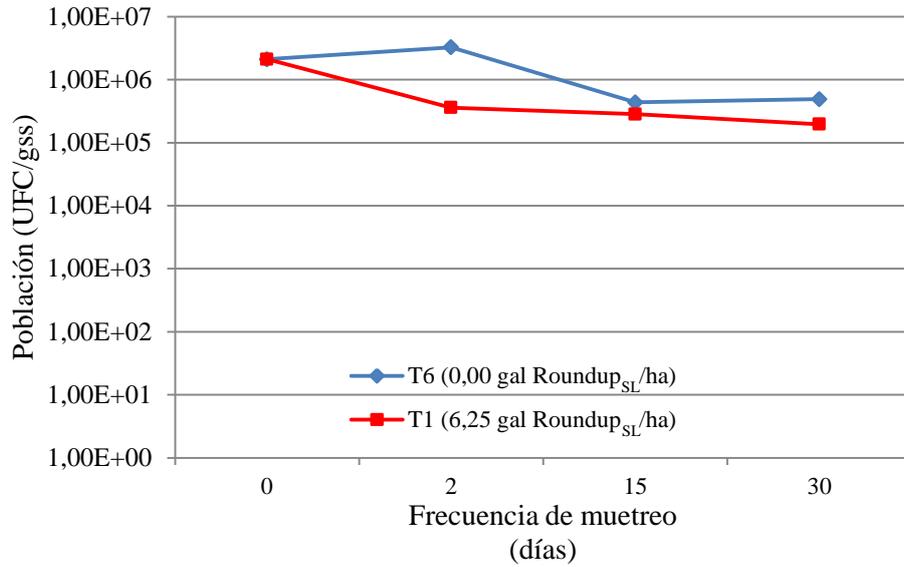
**Gráfico 13.** Comportamiento de la población total de bacterias determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.



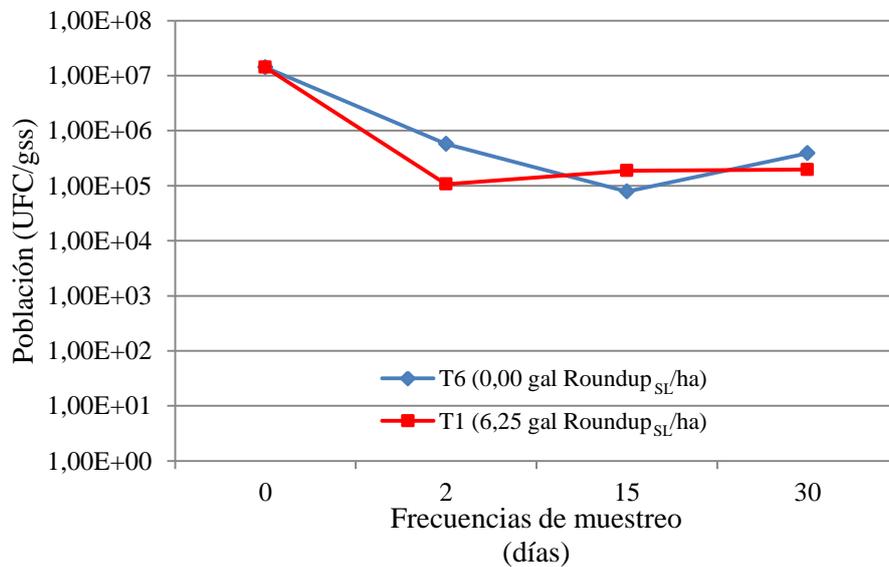
**Gráfico 14.** Comportamiento de la población total de hongos determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.



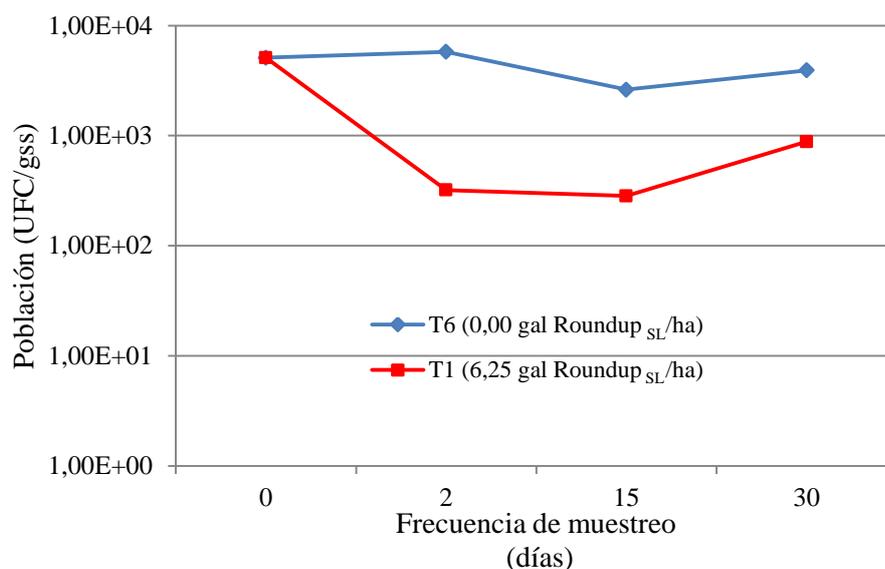
**Gráfico 15.** Comportamiento de la población total de actinomicetes determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.



**Gráfico 16.** Comportamiento de la población total de solubilizadores de fósforo determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.



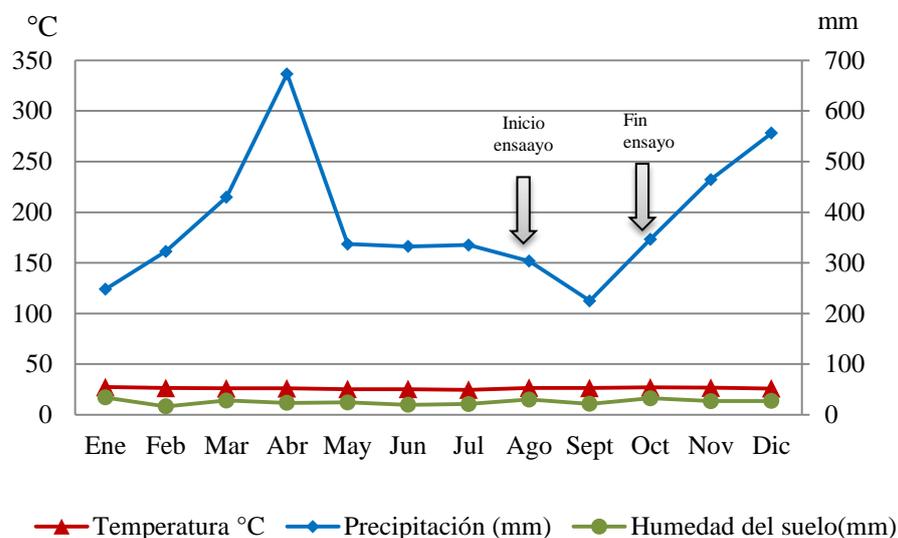
**Gráfico 17.** Comportamiento de la población total de celulolíticos determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.



**Gráfico 18.** Comportamiento de la población total de fijadores de nitrógeno determinado a los 0, 2, 15 y 30 días en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

Por otra parte, la disminución de la población en el tiempo (entre muestreos o estacional), observada en las Gráficas de comportamiento de la población de los microorganismos de los dos tratamientos, se aduce, principalmente, a influencia de la precipitación, la cual según el Gráfico 19, muestra que de agosto a octubre del 2011, se registró la menor pluviosidad, época en que se desarrollo el experimento. Esta observación coincide con lo señalado por Busset *et al.*, (2001) y Domsch *et al.*, (1983), quienes indican que los factores ambientales temperatura, humedad del suelo y precipitación, influyen mucho más que los pesticidas, en el crecimiento de los microorganismos del suelo.

Además, según Weber *et al.*, (1993) la humedad del suelo y la temperatura, afectan directamente varios procesos biológicos como la degradación microbiana, que a su vez influye en la biodisponibilidad y persistencia del herbicida e incluso, en el metabolismo de la planta.



**Gráfico 19.** Precipitación, temperatura y humedad del suelo, registrados por la Estación Meteorológica del Aeropuerto de Lago Agrio de la Dirección de Aviación Civil. 2011.

Finalmente, la recuperación de los niveles de población de los microorganismos del suelo a los 30 días de la aplicación (Gráficos: 13, 14, 15, 16, 17 y 18) y la detección de valores menores a 0,1 mg/kg de glifosato en el suelo a los 45 días (Cuadro 4), permitieron determinar que la persistencia del efecto del glifosato en el suelo es de 30 y 45 días.

Los resultados obtenidos permiten aceptar la hipótesis nula de que la persistencia del glifosato en el suelo es menor a tres meses y alcanzar el segundo objetivo.

La rápida degradación del glifosato en las condiciones climáticas y edáficas de la Amazonía ecuatoriana está relacionada con diferentes factores como son: humedad, temperatura y actividad microbiológica del suelo las que son altas durante todo el año; entre las propiedades químicas del suelo (Anexo 3), se observa que el pH es ácido 4,5, la materia orgánica del suelo es alta (5,5), hay presencia de Al, el contenido de Fe es alto con 441 ppm, capacidad de intercambio catiónico (CIC) alta con 20,9 meq/100 g de suelo, la suma de bases es

baja 1,07 meq/100 g de suelo, saturación de bases baja con 5,1%; la alta CIC y los valores bajos de suma de bases y saturación de bases favorecen la adsorción del glifosato en las arcillas y materia orgánica presentes en el suelo. Además la textura del suelo es arcillosa; todas estas características de clima y suelo (físicas, químicas y biológicas) contribuyen a la acelerada degradación del glifosato.

Estas observaciones son corroboradas por Fernández, (2007), quien señala que tanto la tasa como el grado de degradación de los herbicidas, depende de la actividad de los microorganismos del suelo.

La adsorción de muchos herbicidas en las fracciones mineral-arcillosa y orgánica del suelo, mediante fuerzas de atracción que los mantienen unidos a las partículas coloidales, la extensión de la adsorción se incrementa con el aumento del contenido de materia orgánica y de arcilla, dando lugar a que haya menos herbicida disponible para actuar sobre las malezas, menor lixiviación y que se retarde la acción bacteriana para degradarlo (Santos y Flores, 1995). El glifosato es una molécula pequeña con tres grupos funcionales (carboxil, amino y fosfonato) y es fuertemente sorbida por los minerales del suelo. Por otra parte, el glifosato es un ácido poliprótico y cuando se encuentra en solución puede formar aniones mono y divalentes en el rango de pH 4 a 8, común a muchos tipos de suelos. Estos aniones presentan una gran afinidad por cationes trivalentes como el  $Al^{3+}$  y el  $Fe^{3+}$  presentes en la fracción mineral o partículas de materia orgánica del suelo de las zonas tropicales, los cuales son efectivos sorbentes y por tanto inmovilizadores del glifosato (Borggaard y Gimsing, 2008).

Según el Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos (2000), la vida media del glifosato (tiempo requerido para que la mitad de la cantidad del producto aplicado se metabolice o desaparezca), puede variar de 3 a 141 días. Normalmente el efecto biocida del producto es de corta duración en suelos tropicales, porque la molécula es susceptible a la degradación rápida de los microorganismos del suelo, fraccionándose en componentes como  $CO_2$ , agua, cierta fracción nitrogenada y algunos fosfatos.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES**

Con base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Las dosis evaluadas de Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%), afectaron la actividad biológica del suelo, mostrando mayor decremento de la población en fijadores de nitrógeno, bacterias y hongos totales; menor decremento en solubilizadores de fósforo y ligeros decrementos en actinomicetos y celulolíticos totales.
- La magnitud del efecto negativo del glifosato en la actividad biológica del suelo, dependió de la dosis de glifosato. Mayor reducción de la actividad biológica la causan dosis altas y ligera reducción, dosis bajas.
- La persistencia del efecto del glifosato en el sustrato de 0 a 5 cm del suelo fue de 30 a 45 días.
- La no presencia de glifosato en el sustrato de 5 a 20 cm, indica que éste fue retenido en el sustrato de 0 a 5 cm, impidiendo su movilidad.
- Al considerar que por deriva de la aspersión aérea, la cantidad de glifosato que llega al suelo es pequeña, se asume que el efecto en la microbiota sería ligero y por corto tiempo.

## **CAPÍTULO VI**

### **RECOMENDACIONES**

- A pesar de los resultados obtenidos, se recomienda utilizar las dosis de glifosato indicadas para el control de malezas en los sistemas de producción de cultivos y limitar su uso para lo estrictamente necesario.

## **CAPÍTULO VII**

### **RESUMEN**

#### **EFFECTO Y PERSISTENCIA DEL GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS BIOLÓGICOS DEL SUELO EN BOSQUE SECUNDARIO, EN SUCUMBÍOS**

Con el propósito de generar datos experimentales de los efectos que el glifosato causaría a la microbiota del suelo por deriva de las aspersiones aéreas del Plan Colombia para eliminar plantaciones de coca en la zona de frontera de Ecuador-Colombia, se realizó este estudio con los siguientes objetivos: 1) Evaluar el efecto del glifosato sobre la población de bacterias totales, hongos totales, actinomicetes, solubilizadores de fósforo, celulolíticos totales y fijadores de nitrógeno; 2) Determinar la persistencia del glifosato y del ácido aminometilfosfónico (AMPA) en el suelo. Para este fin, en la hacienda La Edita (Lago Agrio-Sucumbíos) y con el conocimiento que la mezcla utilizada en las aspersiones fue Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%) + POEA (surfactante: polioxietileno-amina) + adherente Cosmoflux 411F 1% + agua 55%), en dosis de 6,25 gal/ha, se evaluaron seis tratamientos: T1 (6,25gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha), T2 (4,69gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha), T3 (3,12gal de Roundup<sub>SL</sub> /ha), T4 (1,57gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha), T5 (0,63gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha), T6 (0,00gal de Roundup<sub>SL</sub>/ha). El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar (DBCA) con 2 repeticiones. Las variables medidas fueron: población de los microorganismos del suelo, antes y a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación del herbicida, expresadas en unidades formadoras de colonias/gramos de suelo seco (UFC/gss). Presencia de glifosato y AMPA en muestras de suelo tomadas de 0 a 5 y 5 a 20 cm de profundidad, a los 2, 15, 30, y 45 días de la aplicación del herbicida, expresadas en mg/kg, para conocer su movilidad.

La prueba de correlación entre los niveles de glifosato y las poblaciones de microorganismos del suelo, detectó significación estadística para bacterias ( $p < 0,01$ ), hongos totales ( $p < 0,05$ ) y en proporción ligeramente menor, en fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo. A los 2 días de la aplicación, en el sustrato de 0 a 5 cm, glifosato fue detectado únicamente en los tratamientos T1, T2, T3 y T4, y en ningún tratamiento en el estrato de 5 a 20 cm. Este resultado sugiere que glifosato fue retenido en el primer estrato, impidiendo su movilidad. A su vez, la detección de glifosato en el sustrato de 0 a 5 cm, en los tratamientos T1 y T2, a los 15 y 30 días de la aplicación y en ningún tratamiento a los 45 días, indica que la persistencia del glifosato en el suelo es de 30 a 45 días, observación que es reforzada al considerar que las poblaciones de los microorganismos del tratamiento T1 alcanzaron niveles similares a los del tratamiento T2, a los 15 y 30 días, es decir que la población se restablece por la no presencia del glifosato. Por otro lado, la ligera disminución de las poblaciones de los microorganismos observada en los tratamientos T1 y T6, a los 2, 15 y 30 días de la aplicación (población estacional), se aduce a influencia de la precipitación.

Se concluye que las dosis evaluadas de Roundup<sub>SL</sub> (glifosato 48%), afectaron la actividad biológica del suelo, mostrando mayor decremento de la población en bacterias, hongos totales y fijadores de nitrógeno; menor decremento en solubilizadores de fósforo y ligeros decrementos en actinomicetos y celulolíticos totales. La magnitud del efecto negativo del glifosato en la actividad biológica del suelo, depende de la dosis de glifosato, mayor reducción causan dosis altas y ligera reducción, dosis bajas. La persistencia del efecto del glifosato en el sustrato de 0 a 5 cm del suelo fue de 30 a 45 días. La no presencia de glifosato en el sustrato de 5 a 20 cm, indica que éste fue retenido en el sustrato de 0 a 5 cm, impidiendo su movilidad. Considerando que por deriva de la aspersion aérea, la cantidad de glifosato que llegaría al suelo es pequeña, se asume que el efecto en la microbiota es ligero y por corto tiempo. A pesar de los resultados obtenidos, se recomienda utilizar las dosis de glifosato indicadas para el control de malezas en los sistemas de producción de cultivos y limitar su uso a lo estrictamente necesario

## CAPÍTULO VIII

### SUMMARY

#### **EFFECT AND PERSISTENCE OF GLYPHOSATE ON SOIL BIOLOGICAL PARAMETERS SECONDARY FOREST, IN SUCUMBÍOS**

In order to generate experimental data on the effects that glyphosate causes soil microbiota drift of aerial spraying of Plan Colombia to eliminate coca plantations in the Ecuador-Colombia border, this study was performed with the following objectives: 1) to evaluate the effect of glyphosate on the population of total bacteria, total fungi, actinomycetes, solubilizing phosphorus, total and cellulolytic nitrogen fixers, 2) determine the persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in the soil. to this end, in the hacienda La Edita (LagoAgrio - Sucumbíos) and with the knowledge that the mixture used in the spraying was Roundup<sub>SL</sub> (glyphosate 48%) + POEA (surfactant: polyoxyethylene-amine) + adherent Cosmo-flux 411F 1% + 55% water), at a dose of 6.25 gal / ha, six treatments: T1 (6.25 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha), T2 (4.69 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha), T3 (3.12 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha), T4 (1.57 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha), T5 (0.63 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha), T6 (0.00 gal Roundup<sub>SL</sub> / ha). The experimental design was a randomized complete block (RCBD) with 2 replications. The variables measured were: population of soil microorganisms, before and at 2, 15 and 30 days after herbicide application, expressed in CFU / gss. Presence of glyphosate and AMPA in soil samples from 0 to 5 and 5 to 20 cm deep, at 2, 15, 30, and 45 days after application of the herbicide, expressed in mg / kg, to know their mobility.

The correlation between the test levels of glyphosate and populations of soil microorganisms, bacteria detected for statistical significance ( $p < 0.01$ ), total fungi

( $p < 0.05$ ) and slightly smaller proportion in nitrogen fixers phosphorus solubilizers. At 2 days after application, the substrate of 0-5 cm, glyphosate was detected only in treatments T1, T2, T3 and T4, and no treatment in the layer of 5-20 cm. This result suggests that glyphosate was retained in the first layer, preventing their mobility. In turn, the detection of the substrate glyphosate from 0 to 5 cm, in T1 and T2, at 15 and 30 days of the application and in any treatment at 45 days, indicating that the persistence of glyphosate in soil is 30 to 45 days, an observation that is reinforced when considering that populations of microorganisms reached similar levels T1 to T2 treatment, at 15 and 30 days, meaning that the population is not restored by the presence glyphosate. on the other hand, the slight decline in populations of microorganisms observed in T1 and T6, at 2, 15 and 30 days after application (seasonal population), is argued to influence precipitation.

We conclude that the current dose of Roundup<sub>SL</sub> (glyphosate 48%), affected soil biological activity, showing greater decrease in the population of bacteria, fungi and total nitrogen fixers; lowest decrease in phosphorus solubilizing and slight decreases in actinomycetes and cellulolytic total. The magnitude of the negative effect of glyphosate in soil biological activity dependent on the dose of glyphosate doses cause greater reduction and slight reduction, low doses. The persistence of the effect of glyphosate on the substrate 0-5 cm soil was 30 to 45 days. The non-glyphosate in the presence of substrate 5 to 20 cm, indicates that it was retained in the substrate of 0 to 5 cm, preventing their mobility. Whereas for aerial spray drift, the amount of glyphosate that hits the ground is small, it is assumed that the effect on the microbiota is light and for a short time. Despite these results, we recommend using the glyphosate indicated for the control of weeds in crop production systems and limit usage to the minimum required.

## CAPÍTULO IX

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. ACCIÓN ECOLÓGICA. 2002. Informe de Verificación (octubre 2002). Impactos en Ecuador de las fumigaciones realizadas en el Putumayo dentro del Plan Colombia. pp. 2-10.
2. ALEF, K. 1995. Soil respiration. In: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Alef, K., Nannipieri, P. (eds). London, Academic Press. pp. 214-219.
3. AMICUS CURIAE. 2009. Impactos en Ecuador de las fumigaciones a cultivos ilícitos en Colombia. 64 p.
4. ARAÚJO, A.; MONTEIRO, R.; ABARKELI, R. 2003. Effect of glyphosate on microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, Oxford. 52: 799-804.
5. BORGGAARD; GIMSING A. L. 2008. Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: a Review. *Pest Manag. Sci.* 64:441 – 456.
6. BOZZO, M. 2010. Persistencia del glifosato y efecto de sucesivas aplicaciones en el cultivo de soja en agricultura continúa en siembra directa sobre parámetros biológicos del suelo. Tesis de Magister en Ciencias Ambientales. Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Maestría en Ciencias Ambientales. Montevideo, Uruguay.135p.
7. BUSTOS, F. 2010. Evaluación de Impactos Ambientales y Consultoría Ambiental. pp. 274

8. CARLISLE, S.; TREVORS, J. 1986. Effect of the herbicide glyphosate on respiration and hydrogen consumption in soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 27: 391-401.
9. CAÑADAS, L. 1983. El Mapa Bioclimático y Ecológico del Ecuador. MAG-PRONAREG. Quito- Ecuador.
10. COMISION CIENTIFICA ECUATORIANA. 2007. El sistema de Aspersiones Aéreas del Plan Colombia y sus Impactos sobre el Ecosistema y la Salud en la Frontera Ecuatoriana. Quito-Ecuador. 152p.
11. COX, C. 1995. Glyphosate 2. Human Exposure and ecological effects. *Journal of pesticide reform: a publication of the Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides*. pp. 14-20.
12. DIRECCIÓN NACIONAL DE ESTUPERFACIENTES (DNE). 2007. Carta dirigida el 17 de enero del 2007 al Colectivo de Abogados José Alvear Restrepo con el N° 085 y firmada por el Brigadier General Jorge Alirio Barón Leguizamon como Director Antinarcóticos.
13. DOCUMENTO PLAN DE MANEJO AMBIENTAL ERRADICACIÓN DE CULTIVOS ILÍCITOS. 2000. pp 16,17. Consultado el 5 de mayo, 2011. Disponible: [http://dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/glifosato.pdf](http://dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/glifosato.pdf).
14. DOUGLAS, J.; KRUEGER, J. 1991. Microbial transformations of herbicides and pesticides. *Advances in applied microbiology* 36: 1-66.
15. EWINS y ADRIAN. 2003. La conexión Fusarium - glifosato en la atención de los científicos. 9p.
16. ESLAVA, P.; RAMIREZ, W.; RONDÓN, I. 2007. Sobre los efectos del glifosato y sus mezclas: Impacto en peces nativos. Instituto de Acuicultura

de los Llanos–IALL Instituto de Investigaciones de la Orinoquia Colombia  
–IIOC–Universidad de los Llanos. Colombia. 153p.

17. FERNANDEZ, G. 2007. Efeitos de herbicidas namicrobiota do solo em sistema fechado. Tesis Doctorado. Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil, Universidad de Estadual Paulista. 60p.
18. GARDNER, S., GRUE, C., 1996. Effects of Rodeo and Garlon 3A on nontarget wetland species in Central Washington. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 441-451.
19. GUTIERREZ, M., 2007, “Glifosato”. Consultado el 11 de marzo. 2012. Disponible:<http://www.encolombia.com/medicina/Urgenciastoxicologicas/glifosato.htm>.G
20. HANEY, SENSEMAN, HONS Y ZUBERER, 1999). Effect of glyphosate on soil microbial activity. *Proc-S-Weed-Sci-Soc.* 52: 215.
21. HART, M.; BROOKES, P. 1996. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. *Soil Biology and Biochemistry* 28:1641- 1649.
22. HOLDRIDGE, L. 1977. *Ecología Basada en Zonas de Vida*, Costa Rica. 206p
23. KACZEWER, J. (2002). Toxicología del Glifosato: Riesgos para la salud humana. Consultado 18 de febrero, 2012. Disponible: [http://www.mamacoca.org/FSMT\\_sept\\_2003/es/doc/kaczewer\\_toxicologia\\_del\\_glifosato\\_es.htm](http://www.mamacoca.org/FSMT_sept_2003/es/doc/kaczewer_toxicologia_del_glifosato_es.htm).
24. KRZYSKO-LUPICKA, H. 1997. The use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere* 34: 2601- 2605.

25. MARTÍNEZ, P., BERNAL, J., ROMERO, L. 2011. Efectos del glifosato sobre microorganismos diazotrofos y nitrificantes en ecosistemas alto andino y seco tropical colombianos. *Revista Pilquen. Sección Agronomía.* Año XIII. N° 11, 2011. 12p.
26. 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.
27. MURILLO, I. 2002. Efectos sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato (en línea). Consultado el 15 de febrero del 2011. Disponible: <http://www.glifocidio.org/docs/impactos%20generales/ig8.pdf>
28. QUINCHIGUANGO, B., 2012. Efecto del glifosato sobre la flora, fauna, propiedades químicas, físicas, y mineralógicas y biológicas del suelo y su residualidad en bosque secundario, en Sucumbíos. Universidad Técnica del Norte. Ibarra.
29. RACKE, K.D.; SKIDMORE, M.W.; HAMILTON, D.J.; UNSWORTH, J.B.; MIYAMOTO, J. y COHEN, S.Z. 1997. Pesticide fate in tropical soils. *Pure and Applied Chemistry.*
30. ROSAS, M., 2012. Movilidad de glifosato en el suelo, agua de escurrimiento, persistencia y daño en el tejido vegetal del sistema de cultivo pasto - maíz, en Sucumbíos. Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador.
31. ROVER, M, KAISER, E.; 1999. Spatial heterogeneity within the plough layer: low and moderate variability of soil properties. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 93- 104.

32. ROSLYCKY, E., 1982. Glyphosate and the response of the soil microbiota. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 87-92.
33. 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
34. SANTOS, A. Y FLORES, M. 1995. Effects of glyphosate on nitrogen-fixing of free living heterotrophic bacteria. *Letters in Applied Microbiology* 20(6): 349 – 352.
35. 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.
36. SOLOMON, K., ANADON, A., MARSHALL, J Y SANIN, L., 2005. “Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de los Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con herbicida glifosato (PECIG) y en los cultivos lícitos, en la salud humana y en el medio ambiente. Washington, D.C. Estados Unidos de América. 143p.
37. TRIBUNAL ADMINISTRATIVO DE CUNDINAMARCA. 2003. Expediente N.01-0022, accionante Claudia Sampedro y Héctor A. Suárez, en contra del Ministerio del Medio Ambiente y otros. Sentencia para impedir y remediar las fumigaciones para erradicar cultivos ilícitos en la frontera Colombo-Ecuatoriana. 115 p.
38. WARDLE, D.; PARKINSON, D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil* 122: 21-28.
39. WEBER, J.; BEST, J.; GONESE, J. 1993. Biovariability and bioactivity of sorbed organic chemicals. In D. M LINN *et al.*, eds. Sorption and

degradation of pesticides and organic chemicals in soil. Madison, WI: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. pp. 153-196.

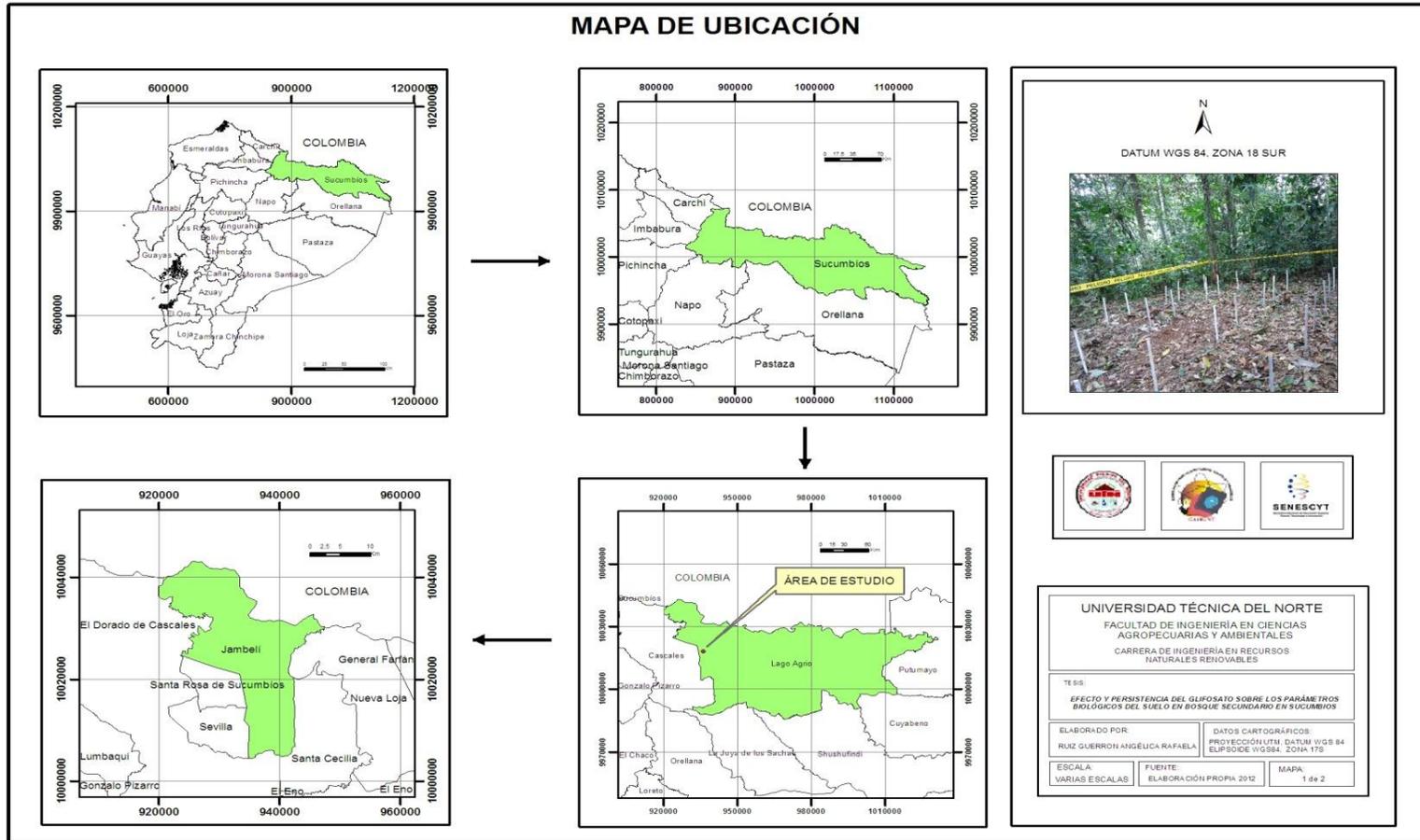
40. WHO. 1994. Glyphosate. Environmental Health Criteria No. 159. Geneva: World Health Organization.

41. ZABLOTOWICZ, R.M. Y REDDY, K. N. 2004. Impact of Glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* Symbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean: A Mini Review. J. Environ. Qual. 33:825–831

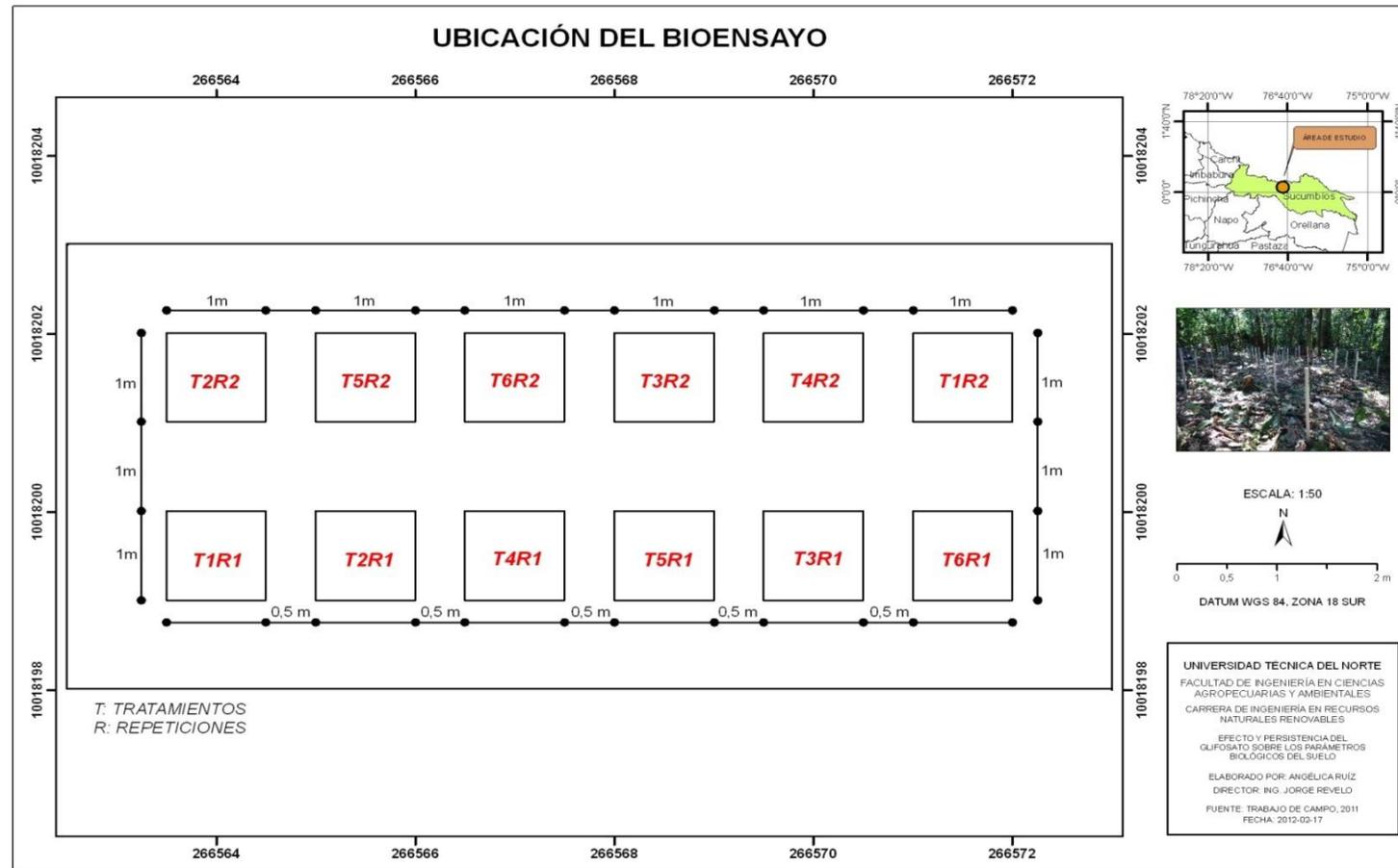
## **CAPÍTULO X**

## **ANEXOS**

# Anexo 1. Mapa de ubicación del experimento



## Anexo 2. Croquis de campo del ensayo y distribución de los tratamientos



**Anexo 3.** Reporte de análisis físico-químico del suelo del ensayo, antes de la aplicación de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Análisis</b>     | <b>Unidad</b>  | <b>Valor</b> |
|---------------------|----------------|--------------|
| pH                  |                | 4,5          |
| M.O.                | %              | 5,5          |
| Al+H                | meq/100ml      | 2,4          |
| NH <sub>4</sub>     | ppm            | 77           |
| Fósforo             | ppm            | 5,5          |
| Azufre              | ppm            | 6            |
| Potasio             | meq/100ml      | 0,1          |
| Calcio              | meq/100ml      | 0,99         |
| Magnesio            | meq/100ml      | 0,47         |
| Zinc                | ppm            | 4,2          |
| Cobre               | ppm            | 4,8          |
| Hierro              | ppm            | 441          |
| Manganeso           | ppm            | 16,7         |
| Boro                | ppm            | 0,2          |
| Suma de bases       | meq/100g suelo | 1,07         |
| Saturación de bases | %              | 5.1          |
| CIC                 | meq/100g suelo | 20,9         |
| Textura             | Arcillosa      |              |

**Anexo 4.** Población de bacterias totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos<br/>(Roundup<sub>SL</sub> gal/ha)</b> | <b>Población<br/>(UFC/gss)</b> |
|---|--------------------------------|
| T6 (0,00)   | 8,10x10 <sup>5</sup>           |
| T5 (0,63)   | 4,79x10 <sup>5</sup>           |
| T4 (1,57)   | 4,01x10 <sup>5</sup>           |
| T3 (3,12)   | 3,19x10 <sup>5</sup>           |
| T2 (4,69)   | 2,78x10 <sup>5</sup>           |
| T1 (6,25)   | 1,70x10 <sup>5</sup>           |

**Anexo 5.** Población total de bacterias determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos<br/>(Roundup<sub>SL</sub><br/>gal/ha)</b> | <b>Inicial</b>        | <b>2 días</b>         | <b>15 días</b>        | <b>30 días</b>        |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| T6 (0,00)   | 2,64 x10 <sup>6</sup> | 8,10 x10 <sup>5</sup> | 4,79 x10 <sup>5</sup> | 3,99 x10 <sup>5</sup> |
| T1 (6,25)   | 2,64 x10 <sup>6</sup> | 1,70 x10 <sup>5</sup> | 3,48 x10 <sup>5</sup> | 3,48 x10 <sup>5</sup> |

**Anexo 6.** Población de hongos totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos<br/>(gal/ha)</b> | <b>Población<br/>(UFC/gss)</b> |
|----------------------------------|--------------------------------|
| T6 (0,00)                        | 1,92 x10 <sup>3</sup>          |
| T5 (0,63)                        | 8,54 x10 <sup>2</sup>          |
| T4 (1,57)                        | 3,70 x10 <sup>2</sup>          |
| T3 (3,12)                        | 3,05 x10 <sup>2</sup>          |
| T2 (4,69)                        | 2,39 x10 <sup>2</sup>          |
| T1 (6,25)                        | 2,30 x10 <sup>2</sup>          |

**Anexo 7.** Población total de hongos determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos (gal/ha)</b> | <b>Inicial</b>     | <b>2 días</b>      | <b>15 días</b>     | <b>30 días</b>     |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| T6 (0,00)                    | $1,13 \times 10^4$ | $1,92 \times 10^3$ | $5,25 \times 10^2$ | $9,80 \times 10^2$ |
| T1 (6,25)                    | $1,13 \times 10^4$ | $1,92 \times 10^3$ | $9,43 \times 10^2$ | $3,92 \times 10^2$ |

**Anexo 8.** Población de actinomicetes determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos (gal/ha)</b> | <b>Población (UFC/gss)</b> |
|------------------------------|----------------------------|
| T6 (0,00)                    | $7,14 \times 10^6$         |
| T5 (0,63)                    | $3,54 \times 10^6$         |
| T4 (1,57)                    | $3,00 \times 10^6$         |
| T3 (3,12)                    | $2,23 \times 10^6$         |
| T2 (4,69)                    | $3,07 \times 10^6$         |
| T1 (6,25)                    | $3,53 \times 10^6$         |

**Anexo 9.** Población total de actinomicetes determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos (gal/ha)</b> | <b>Inicial</b>     | <b>2 días</b>      | <b>15 días</b>     | <b>30 días</b>     |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| T6 (0,00)                    | $3,89 \times 10^7$ | $7,14 \times 10^6$ | $6,38 \times 10^7$ | $6,47 \times 10^6$ |
| T1 (6,25)                    | $3,89 \times 10^7$ | $3,53 \times 10^6$ | $2,33 \times 10^7$ | $3,73 \times 10^6$ |

**Anexo 10.** Población de solubilizadores de fósforo determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos<br/>(gal/ha)</b> | <b>Población<br/>(UFC/gss)</b> |
|----------------------------------|--------------------------------|
| T6 (0,00)                        | $3,27 \times 10^6$             |
| T5 (0,63)                        | $1,20 \times 10^6$             |
| T4 (1,57)                        | $4,00 \times 10^5$             |
| T3 (3,12)                        | $3,19 \times 10^5$             |
| T2 (4,69)                        | $3,74 \times 10^5$             |
| T1 (6,25)                        | $3,60 \times 10^5$             |

**Anexo 11.** Población total de solubilizadores de fósforo determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos</b> | <b>Inicial</b>     | <b>2 días</b>      | <b>15 días</b>     | <b>30 días</b>     |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| T6 (0,00)           | $2,10 \times 10^6$ | $3,27 \times 10^6$ | $4,37 \times 10^5$ | $4,90 \times 10^5$ |
| T1 (6,25)           | $2,10 \times 10^6$ | $3,60 \times 10^5$ | $2,83 \times 10^5$ | $1,96 \times 10^5$ |

**Anexo 12.** Población de celulolíticos totales determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos<br/>(gal/ha)</b> | <b>Población<br/>(UFC/gss)</b> |
|----------------------------------|--------------------------------|
| T6 (0,00)                        | $5,77 \times 10^5$             |
| T5 (0,63)                        | $4,27 \times 10^5$             |
| T4 (1,57)                        | $2,40 \times 10^5$             |
| T3 (3,12)                        | $7,45 \times 10^5$             |
| T2 (4,69)                        | $1,92 \times 10^5$             |
| T1 (6,25)                        | $1,07 \times 10^5$             |

**Anexo 13.** Población total de celulolíticos determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos (gal/ha)</b> | <b>Inicial</b>     | <b>2 días</b>      | <b>15 días</b>     | <b>30 días</b>     |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| T6 (0,00)                    | $1,42 \times 10^7$ | $5,77 \times 10^5$ | $7,87 \times 10^4$ | $3,92 \times 10^5$ |
| T1 (6,25)                    | $1,42 \times 10^7$ | $1,07 \times 10^5$ | $1,88 \times 10^5$ | $1,96 \times 10^5$ |

**Anexo 14.** Población de fijadores de nitrógeno determinada dos días después de aplicar cinco dosis de glifosato. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos (gal/ha)</b> | <b>Población (UFC/gss)</b> |
|------------------------------|----------------------------|
| T6 (0,00)                    | $5,77 \times 10^6$         |
| T5 (0,63)                    | $6,25 \times 10^4$         |
| T4 (1,57)                    | $3,21 \times 10^4$         |
| T3 (3,12)                    | $4,25 \times 10^4$         |
| T2 (4,69)                    | $1,82 \times 10^4$         |
| T1 (6,25)                    | $3,21 \times 10^2$         |

**Anexo 15.** Población total de bacterias determinada a los 2, 15 y 30 días después de la aplicación en las dosis consideradas en los tratamientos T1 y T6. Sucumbíos, 2011-2012.

| <b>Tratamientos</b> | <b>Inicial</b>     | <b>2 días</b>      | <b>15 días</b>     | <b>30 días</b>     |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| T6 (0,00)           | $5,10 \times 10^3$ | $5,77 \times 10^3$ | $2,62 \times 10^3$ | $3,92 \times 10^3$ |
| T1 (6,25)           | $5,10 \times 10^3$ | $3,21 \times 10^2$ | $2,83 \times 10^2$ | $8,82 \times 10^2$ |

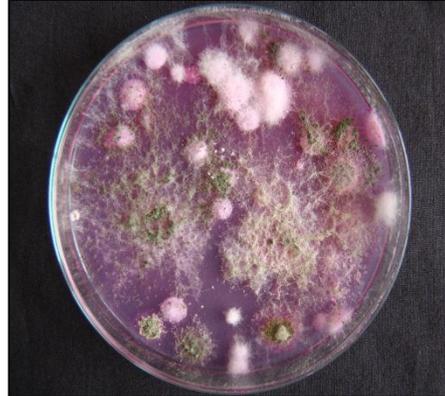
**Anexo 16.** Precipitación, temperatura y humedad del suelo, reportados por la Estación Meteorológica del Aeropuerto de Lago Agrio de la Dirección de Aviación Civil. 2011.

| <b>Meses</b> | <b>Precipitación<br/>(mm)</b> | <b>Temperatura<br/>(°C)</b> | <b>Humedad<br/>del suelo<br/>(mm)</b> |
|--------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| Enero        | 247,9                         | 27,3                        | 36,5                                  |
| Febrero      | 322,7                         | 26,3                        | 18,876                                |
| Marzo        | 429,9                         | 26,1                        | 30,5                                  |
| Abril        | 673,3                         | 26,0                        | 25,84                                 |
| Mayo         | 337,0                         | 25,3                        | 26,5                                  |
| Junio        | 332,5                         | 25,2                        | 21,968                                |
| Julio        | 335,3                         | 24,7                        | 23,5                                  |
| Agosto       | 303,5                         | 26,5                        | 32,5                                  |
| Septiembre   | 225,0                         | 26,4                        | 27,776                                |
| Octubre      | 346,6                         | 27,0                        | 35                                    |
| Noviembre    | 464,5                         | 26,7                        | 29,228                                |
| Diciembre    | 556,3                         | 25,9                        | 29,5                                  |

**Anexo 17.** Fotografías de los microorganismos del suelo



**Fotografía 1.** Bacterias totales



**Fotografía 2.** Hongos totales



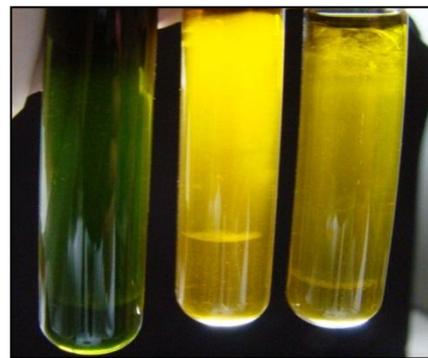
**Fotografía 3.** Actinomicetes



**Fotografía 4.** Celulolíticos totales



**Fotografía 5.** Solubilizadores de fósforo



**Fotografía 6.** Fijadores de nitrógeno

**Anexo 18.** Fotografías de las actividades realizadas en el ensayo “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario”. Sucumbíos 2011-2012



**A.** Delimitación del ensayo **B.** Coadyuvante y herbicida



**C.** Aplicación de glifosato



**D.** Toma de muestras

## **Anexo 19. Estudio de Impacto Ambiental**

### **TEMA**

Estudio del impacto ambiental de la implementación del Proyecto de Investigación; “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario”, en Sucumbíos.

### **OBJETIVOS:**

#### **Objetivo General:**

Determinar los impactos que se producen como resultado de la implementación del Proyecto de Investigación: “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario”, en Sucumbíos.

#### **Objetivos Específicos:**

- Identificar los impactos ambientales positivos y negativos que se producen en el bosque secundario y en el suelo de la finca “La Edita”, como consecuencia de la implementación y ejecución del presente ensayo.
- Formular alternativas de manejo para disminuir los impactos en el ambiente.

#### **Evaluación de impactos**

#### **Metodología**

Los impactos producidos en esta investigación se evaluaron a través de las matrices de interacción de impactos según la metodología de Leopold.

La Matriz de Leopold, consiste en una tabla de doble entrada donde relaciona las actividades que se realizan en el proyecto y los componentes ambientales, produciéndose así una interacción que se la calificó aplicando los parámetros de Magnitud e Importancia (Bustos, F. 2010).

**LEYENDA:**

- |                            |       |
|----------------------------|-------|
| 1 Magnitud del impacto     | (M) 1 |
| 2. Importancia del impacto | (M) 2 |

**Cuadro 4.** Valoración de Impactos

| Impacto Positivo |              | Impacto Negativo |              |
|------------------|--------------|------------------|--------------|
| Calificación     | Equivalencia | Calificación     | Equivalencia |
| 3                | Alto         | -3               | Alto         |
| 2                | Medio        | -2               | Medio        |
| 1                | Bajo         | -1               | Bajo         |

Fuente: Bustos, F.2010

**Área de Influencia Directa (AID)**

El área de influencia directa fue el sitio donde se instaló el ensayo, con una superficie de 40 m<sup>2</sup> dentro del bosque secundario en la finca La Edita.

**Área de Influencia Indirecta (AII)**

El área de influencia indirecta se consideró un espacio localizado a 5 m alrededor del ensayo.

**Acciones**

A1.- Delimitación del ensayo

- A2.- Aplicación del herbicida
- A3.- Toma de muestras de suelo
- A4.- Mantenimiento de unidades experimentales

**Factores ambientales**

- F1.- Suelo
- F2.- Flora silvestre
- F3.- Microflora
- F4.- Edafofauna
- F5.- Salud
- F6.- Empleo ocasional

**Matriz de Leopold para la identificación de impactos**

| <div style="text-align: center;"> <p>ACCIONES</p> <p>FACTORES AMBIENTALES</p> </div> |      |                  | A1                                      | A2                      | A3                       | A4                                       |   |
|--|------|------------------|---|-------------------------|--------------------------|--|---|
|  |      |                  | DELIMITACIÓN DE UNIDADES EXPERIMENTALES | APLICACIÓN DE GLIFOSATO | TOMA DE MUESTRA DE SUELO | MANTENIMIENTO DE UNIDADES EXPERIMENTALES |   |
| <b>BIÓTICO</b>   | ABT. | F1               | SUELO                                   | X                       | X                        | X  | X |
|  | F2   | FLORA SILVESTRE  | X                                       | X                       | X                        | X  |   |
|  | F3   | MICRO-FLORA      | X                                       | X                       | X                        | X  |   |
|  | F4   | EDAFOFAUNA       | X                                       | X                       | X                        |  |   |
| <b>SOC ECON.</b>   | F5   | SALUD            |   | X                       |                          |  |   |
|  | F6   | EMPLEO OCASIONAL | X                                       | X                       | X                        | X  |   |

### Matriz de Leopold para la evaluación de impactos

|                        |                  |                      |   | ACCIONES |    |    |    |   |                          |                          |  |
|------------------------|------------------|----------------------|---|----------|----|----|----|---|--------------------------|--------------------------|--|
|                        |                  |                      |   | A1       | A2 | A3 | A4 |   |                          |                          |  |
|                        |                  | FACTORES AMBIENTALES |   |          |    |    |    | DELIMITACIÓN DE UNIDADES EXPERIMENTALES | APLICACIÓN DE GLIFOSATO  | TOMA DE MUESTRA DE SUELO | MANTENIMIENTO DE UNIDADES EXPERIMENTALES |
|                        |                  |                      |   |          |    |    |    | DEAFECTACIONES POSITIVAS                | DEAFECTACIONES NEGATIVAS | AGREGACIÓN               |  |
| ABT.                   | F1               | SUELO                |   | M        | -1 | -2 | -3 | 1                                       | 1                        | 3                        | -13                                      |
|                        |                  |                      |   | I        | 1  | 2  | 3  | 1                                       | 1                        | 3                        | -2                                       |
| BIÓTICO                | F2               | FLORA SILVESTRE      |   | M        | -1 | -1 | -1 | 1                                       | 1                        | 3                        | -2                                       |
|                        |                  |                      |   | I        | 1  | 1  | 1  | 1                                       | 1                        | 3                        | -2                                       |
|                        | F3               | MICRO-FLORA          |   | M        | -1 | -1 | -1 | 1                                       | 1                        | 3                        | -2                                       |
|                        |                  |                      |   | I        | 1  | 1  | 1  | 1                                       | 1                        | 3                        | -2                                       |
| F4                     | EDAFOFAUNA       |                      | M | -1       | -1 | -1 |    |   | 0                        | 3                        | -11                                      |
|                        |                  |                      | I | 1        | 1  | 1  |    |   | 0                        | 1                        | -1                                       |
| SOC. ECONO.            | F5               | SALUD                |   | M        |    | -1 |    |   | 0                        | 1                        | -1                                       |
|                        |                  |                      |   | I        |    | 1  |    |   | 0                        | 1                        | -1                                       |
| F6                     | EMPLEO OCASIONAL |                      | M | 2        | 2  | 2  | 2  | 4                                       | 0                        | 16                       |  |
|                        |                  |                      | I | 2        | 2  | 2  | 2  | 4                                       | 0                        | 16                       |  |
| AFECTACIONES POSITIVAS |                  |                      |   | 1        | 1  | 1  | 4  | COMPROBACIÓN                            |                          |                          |  |
| AFECTACIONES NEGATIVAS |                  |                      |   | 3        | 5  | 4  | 0  |   |                          |                          | -5                                       |
| AGREGACIÓN             |                  |                      |   | 0        | -4 | -8 | 7  |   |                          |                          |  |

## Jerarquización de impactos

**Cuadro 5.** Factores ambientales impactados

| <b>Factor ambiental</b> | <b>Jerarquización de impacto</b> |
|-------------------------|----------------------------------|
| F6: Empleo ocasional    | +16                              |
| F1: Suelo               | -13                              |
| F4: Edafofauna          | -3                               |
| F3: Micro-Flora         | -2                               |
| F2: Flora silvestre     | -2                               |
| F5: Salud               | -1                               |

**Cuadro 6.** Acciones impactantes

| <b>Acción</b>                                | <b>Índice de valor ambiental</b> |
|--|----------------------------------|
| A4: Mantenimiento de unidades experimentales | +11                              |
| A3: Toma de muestras                         | -8                               |
| A2: Aplicación de glifosato                  | -4                               |
| A1: Delimitación de unidades experimentales  | 0                                |

### Conclusiones:

La matriz de Leopold presenta 4 acciones y 6 factores del ambiente que están agrupados en 3 componentes (abiótico, biótico y socio-económico), y 20 interacciones entre acciones y factores.

Como resultado de la calificación de la matriz de Leopold, se obtuvo una agregación de impactos de -5, lo que quiere decir que la investigación tiene una incidencia ambiental negativa de carácter bajo.

Por otra parte la principal actividad que generó impacto negativo al ambiente fue la toma de muestras con un número de agregaciones de -8 y el factor ambiental afectado fue el recurso suelo con un número de agregaciones de -13.

**Alternativas de manejo de impactos en el ensayo “Efecto y persistencia del glifosato sobre parámetros biológicos del suelo en bosque secundario, en Sucumbíos”.**

Como alternativa, se recomienda utilizar las dosis de glifosato indicadas para el control de malezas en los sistemas de producción de cultivos y limitar su uso a lo estrictamente necesario, para minimizar los efectos del herbicida sobre la microbiota del suelo.