

# Cambios en la biomasa microbiana, respiración basal y germinación de cebolla (*Allium cepa* L.) luego de la aplicación de los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin en un entisol del estado Falcón

Changes in microbial biomass, soils respiration and germination of onion (*Allium cepa* L.) after application of Oxyfluorfen, Fluazifop and Pendimenthalin in an entisol of Falcon State

Nectalí RODRIGUEZ<sup>1</sup>, Hednny CORONADO<sup>2</sup>, Duilio TORRES<sup>✉2</sup> y Frank ZAMORA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM), Facultad de Agronomía, Departamento de Ambiente y Tecnología Agrícola, Coro, estado Falcón, Venezuela, <sup>2</sup>Universidad Centro Occidental “Lisandro Alvarado” (UCLA), Facultad de Agronomía, Departamento de Química y Suelos, Cabudare, estado Lara, Venezuela, Apartado postal 400 y <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Experimental Falcón, Coro, estado Falcón. E-mail: duiliotorres@ucla.edu.ve ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 17/10/2008      Fin de primer arbitraje: 20/04/2009      Primera revisión recibida: 05/05/2009  
Fin de segundo arbitraje: 23/08/2009      Segunda revisión recibida: 29/09/2009      Aceptado: 30/09/2009

## RESUMEN

Para evaluar el efecto de los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin sobre la actividad biológica del suelo, un experimento en invernadero fue llevado a cabo. El diseño del experimento fue completamente al azar con arreglo de tratamientos factorial, los factores evaluados fueron: herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin y las dosis: 2 L ha<sup>-1</sup> y 4 L ha<sup>-1</sup>, seis tratamientos y un control fueron evaluados con tres repeticiones para un total de 21 unidades experimentales. El suelo fue incubado durante 45 días, durante este periodo se hicieron determinaciones de respiración edáfica y biomasa microbiana a los 7, 14, 30 y 45 días, además un test de viabilidad fue llevado a cabo para determinar el efecto residual de los herbicidas sobre la germinación de cebolla (*Allium cepa*) los resultados fueron analizados por ANAVAR y pruebas de comparación de medias de Tukey. Los resultados mostraron que la aplicación de dosis altas de Fluaxifop y Pendimentalin tuvo un efecto inhibitorio sobre los microorganismos del suelo, lo cual se tradujo en una reducción de la respiración y de la biomasa microbiana durante los primeros siete días, lo que pudo ocasionar una menor degradación del herbicida durante los primeros días. Así mismo se observó que la degradación fue más rápida para el caso del herbicida Oxifluorfen, considerando que en este tratamiento se observó una mayor respiración edáfica y una mayor biomasa microbiana durante los primeros días de la incubación, así como un mayor porcentaje de germinación en comparación a los tratamientos donde se aplicaron altas dosis de Fluaxifop y Pendimentalin, ya que la alta residualidad de los mismos en el suelo afectó la germinación de las plantas.

**Palabras clave:** Biomasa microbiana, respiración microbiana, herbicidas

## ABSTRACT

To evaluate the effects of Oxyfluorfen, Fluazifop and Pendimenthalin application in a non-cropped soil biological activity, a Greenhouse experiment was carried out. The experimental design was completely random with factorial treatments. The factors evaluated were: herbicides; Oxyfluorfen, Fluazifop and Pendimenthalin; and doses: 2 L ha<sup>-1</sup> and 4 L ha<sup>-1</sup>. These six treatments and 1 control were evaluated, using 3 repetitions for a total of 21 experimental units. Test incubation was done during four dates: 7, 14, 30 and 45 days. Soils respiration and microbial biomass were evaluated and also, viability tests were performed to determine the residual effects of the herbicides on germination of onion (*Allium cepa*) results were analyzed by ANOVA and with a Tukey test. Results showed that higher doses of Fluazifop and Pendimenthalin had an inhibitory effect on soils microorganisms, which resulted in reduction of soils' respiration and microbial biomass during the first 7 days of incubation. The higher degradation occurred with the herbicides Oxyfluorfen was applied. Germination rates were lower in soils treated with higher doses of Fluaxifop and Pendimenthalin. The lower germination produced by Fluaxifop and Pendimenthalin might be due to their higher residuality.

**Key words:** Microbial biomass, soils respiration, herbicides.

## INTRODUCCIÓN

La aplicación de herbicidas se ha incrementado en los últimos años, producto de un aumento en la actividad agrícola, lo cual pudiese estar causando problemas de contaminación, que causan deterioro de la calidad del suelo y el agua, así como problemas de salud pública. En el caso de la zona bajo estudio se estudiaron los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin debido a que estos son altamente tóxicos, se aplican con mucha frecuencia en la zona, además se han reportado graves problemas ambientales asociados al uso de esos productos, en tal sentido Zamora (2003) encontró que en el sector Barrio Nuevo gran parte de la población presentó altos niveles de contaminación por el uso de agroquímicos al detectarse altos niveles de colinesterasa en la sangre en habitantes de la zona, debido a la utilización de dosis excesivas de agroquímicos, causando igualmente una disminución de la biomasa microbiana y de la actividad biológica del suelo, afectando así la calidad del mismo.

En tal sentido diversas investigaciones han mostrado que el uso de herbicidas puede producir diversos efectos sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas del suelo Vischetti *et al.*, (1997); Perucci *et al.*, (2000); Sannino y Gianfreda (2001); Moorman *et al.*, (2001), Klódka y Nowak, (2004) y Alvear *et al.*, (2006), lo que afecta muchos procesos esenciales en el ciclado de nutrientes y el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, la interferencia de los herbicidas sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas se relacionaría directamente con la fertilidad del suelo (Vischetti, 1997).

En base a esta premisa investigadores como Paul y Voroney (1989) y Chowdhury *et al.*, (2008), señalan que la biomasa microbiana es un excelente predictor para evaluar la capacidad de degradación de plaguicidas en el suelo, llegando a la conclusión de que el conocimiento de este parámetro puede ayudar a entender el comportamiento de los microorganismos en diferentes agroecosistemas. En este mismo orden de ideas Dick (1994) y Nannipieri *et al.*, (1990), señalan que la respiración del suelo puede ser usada como criterio para establecer la toxicidad de los plaguicidas. Si bien es conocido que existen métodos científicos altamente precisos para la cuantificación de herbicidas en suelo, como la cromatografía de gases, no es menos cierto que los mismos resultan costosos, por lo cual la selección de indicadores

biológicos como la biomasa microbiana y la respiración edáfica, constituyen alternativas viables para evaluar la residualidad y permanencia de diferentes agroquímicos en diferentes agroecosistemas.

Dado que en el Sector Barrio Nuevo del Municipio Federación, del estado Falcón, la explotación intensiva de hortalizas condujo a un incremento en el uso de plaguicidas en los últimos años, se planteó evaluar el efecto de los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin sobre la respiración basal y la biomasa microbiana de suelo, con el fin de cuantificar el efecto de estos herbicidas sobre la actividad biológica del suelo y su efecto sobre el porcentaje de germinación de semillas de cebolla (*Allium cepa*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del área de estudio

El estudio fue llevado a cabo en la población de La Sabanita, Municipio Federación, estado Falcón, ubicado entre las coordenadas 10°43'17" LN hasta 10°47'27" y entre 69°34'07" hasta 69°41'42" LO, a unos 15 Km de la ciudad de Churuguara y abarca una superficie aproximada de 1500 ha, de las cuales 25% se explotan actualmente con rubros hortícolas, principalmente tomate, pimentón y cebolla.

### Características de los suelos usados en la incubación

Los suelos predominantes en la zona se clasifican taxonómicamente como un Aridic Ustifluvents de textura arcillosa, mineralogía mixta, régimen de temperatura isotérmico, con drenaje interno moderado, externo rápido y permeabilidad moderada (Miquilena 1999).

### Selección de plaguicidas evaluados

En función de entrevistas realizadas a agricultores, se seleccionaron los plaguicidas que se aplican en mayor dosis, los que poseen la menor solubilidad y los considerados altamente tóxicos, los cuales fueron: Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin que además se emplean con mayor frecuencia en la zona, las dosis aplicadas se describen a continuación, en el cuadro 1.

Cuadro 1. Cálculo de dosis de herbicida aplicada.

Dosis	Herbicidas					
	Oxyfluorfen		Fluaxifop		Pendimentalin	
	Dosis recomendada (Lt/há((cm <sup>3</sup> ))	Dosis aplicada en 400 cm <sup>3</sup>	Dosis recomendada (kg/ha)	Dosis aplicada en suelo incubado (ml/400cm <sup>3</sup> )	Dosis recomendada (l/ha)	Dosis aplicada en suelo incubado (ml/400cm <sup>3</sup> )
Baja	400	0,8	31,25	62,5	2	4
Alta	800	1,6	62,50	130	4	8

### Diseño del experimento

El estudio se realizó bajo un diseño completamente al azar con arreglo de tratamiento factorial, los factores evaluados fueron; herbicidas (3) niveles: Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimentalin en dos dosis (2): 2 l/ha y 4 l/ha, se evaluaron 6 tratamientos + un testigo con tres repeticiones en cada uno, para 21 unidades experimentales. Los tratamientos fueron identificados como: T: testigo. FPB: Fluaxifop dosis baja; FPA: Fluaxifop dosis alta; OB Oxifluorfen dosis Baja; OA: Oxifluorfen dosis alta; PB: Pendimentalin dosis baja y PA: pendimentlin dosis alta

### Preparación de muestra de suelo y aplicación de agroquímicos

Se aplicaron las dosis correspondientes en los suelos colectados, posteriormente se realizó la incubación del suelo, para lo cual se colocó el suelo en recipientes de 400 cm<sup>3</sup> capacidad. En cada recipiente se tomaron muestras para determinar los cambios en la respiración basal y la biomasa microbiana del suelo a los 7, 15, 30 y 45 días.

### Determinación de la respiración basal y biomasa microbiana

#### Respiración basal

La determinación de la respiración basal se realizó según la metodología propuesta por Anderson (1982), mediante la utilización de una trampa de álcali y por titulación con HCl 0,1 N en presencia del indicador Fenolftaleína, los resultados de la respiración basal se expresaron en mgCO<sub>2</sub>/kg de suelo.

#### Biomasa microbiana

Se usó la metodología propuesta por Islam y Weil (1998), la cual consistió en el uso de irradiación con microondas y se estableció la diferencia entre la

muestras tratadas y no tratadas, ambas muestras fueron mezcladas con una solución extractante de 0,5 M de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en relación suelo extractante 1:5, se filtró y el carbono orgánico en el filtrado fue determinado por el método de Walkley y Black (1934). Los resultados de biomasa microbiana se expresaron en µg CO<sub>2</sub>/kg de suelo.

### Evolución del efecto residual de los herbicidas por el método de Zucconi modificado

Esta metodología se basó en determinar el porcentaje de germinación de semillas de cebolla (*Alium cepa* L), al colocar 10 semillas de estas en cápsula de Petri donde se adicionaron 5 ml del extracto acuoso en proporción suelo:agua 1:10. Las semillas permanecieron durante 48 horas en cámara de germinación oscura; finalmente se calculó el índice de germinación. (IG)=%GLm/Lc (Zucconi, 1981).

### Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico INFOSAT versión 1.1, se realizó un análisis de varianza (ANAVAR) a cada una de las variables en estudio. En el caso de aquellas variables para las cuales se detectaron diferencias significativas, se procedió a realizar pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Descripción del suelo evaluado

En el cuadro 2, se presentan la clase textural, y los valores promedios de densidad aparente (Da), espacio poroso total (EPT), macro porosidad (Macrop.), micro porosidad (Microp.), conductividad hidráulica saturada (Ks), infiltración básica (I), a dos profundidades. Los valores de Da, observados en los sectores Barrio Nuevo y Corraleja, para las profundidades de 0-10 y 10-20 cm, son considerados muy cercanos a los límites críticos, para las clases texturales predominantes (Florentino, 1997).

Cuadro 2. Características del suelo en La Sabanita, Municipio Federación, estado Falcón, Venezuela.

Profundidad	Textura	Da (Mg/m <sup>3</sup> )	EPT (%v/v)	Macrop (%v/v)	Microp. (%v/v)	KS (cm/h)	M.O (%)	pH 1:2,5 en agua	C.E. 1:5 suelo:H <sub>2</sub> O (ds/m)
0-10	A	1,32	51,3	9,5	41,80	1,35	2,1	7,8	1,0
10-20	A	1,38	48,0	9,3	38,70	1,31			

A: Arcillosa Da: Densidad aparente; EPT: Espacio poroso total; Macrop: macroporosidad; Microp: microporosidad; Ks: Conductividad hidráulica saturada; M.O: Materia orgánica; C.E: Conductividad eléctrica

Estos resultados, indican que estos suelos presentan tendencia a procesos de compactación, lo cual podemos relacionarlos con el sistema de labranza utilizado, que consiste generalmente en la utilización de rastra de tiro a una profundidad constante (0-10 cm), sin la utilización de un arado profundo que permita romper capas de suelo en los primeros estratos, produciendo una capa endurecida, aunque el valor obtenido de densidad aparente, espacio poroso tota y conductividad hidráulica son considerados normales para la clase textural reportada en el análisis, los valores de macro y microporos, que oscilaron entre 9,3 y 9,5 en macroporos y entre 38,70 y 41,89 % para los microporos., indican que el suelo no presenta un comportamiento físico del suelo adecuado, ya que esta relación macro/microporos indica que los suelos pueden presentar excesiva retención de humedad, poca aireación y llevar a problemas como déficit de aire, escorrentía y erosión. Esta relación puede ser causada por la mecanización o el efecto de las lluvias intensas ante un suelo desprotegido lo cual ha conllevado a un deterioro de los macroagregados y por ende predominio de los microagregados, obviamente todo esto se traduce en peores condiciones para el desarrollo de los microorganismos.

Los problemas físico de suelo a su vez se traducen en una reducción de la actividad biológica del suelo, producto de un incremento en la microporosidad, menor macroporosidad, por lo tanto existen condiciones de anaerobiosis que reducen la disponibilidad de oxígeno, traduciéndose en una menor actividad de los microorganismos, esta situación se evidenció luego de los 10 cm de profundidad en todos los sistemas evaluados donde se observó un incremento de la densidad aparente, menor EPT y menor macroporosidad.

En tal sentido Isha *et al.*, (2001), quienes encontraron que los sistemas convencionales caracterizados por el alto uso de insumos agrícolas y labranza convencional genera condiciones físicas del suelo, poco apropiadas para el desarrollo de los

microorganismos, observándose un incremento de la densidad aparente, resistencia a la penetración y exceso de humedad, lo que disminuye la porosidad llena de aire, lo cual se traduce en una menor actividad biológica obteniéndose menores valores de deshidrogenasa y menores valores de biomasa microbiana.

Con respecto a los niveles de materia orgánica los valores reportados para la zona son moderados a altos, lo cual favorece el desarrollo de los microorganismos. La materia orgánica va a contrarrestar los efectos nocivos de la salinidad e incrementa la actividad de los microorganismos. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Diez *et al.*, 1996; O'Brien *et al.*, 2002; Gallardo *et al.*, 2007 y Zhang *et al.*, 2004, quienes señalan que los altos contenidos de materia orgánica junto a otros parámetros químicos como pH, suma de bases mejoran la disponibilidad de los nutrientes presentes en el suelo y en consecuencia el potencial de desarrollo de los microorganismos.

En relación a la conductividad eléctrica los valores reportados fueron bajos, por lo cual esta no debió afectar el desarrollo de los microorganismos, cabe destacar que el área donde se tomaron los suelos para el ensayo, es una zona con precipitaciones por encima de los 1000 mm donde es frecuente encontrar procesos de lixiviación, en este orden de ideas autores como Gili *et al.*, 2004 señalan que en suelos donde las condiciones ambientales fueron de baja CE en superficie (1,5 dS m<sup>-1</sup>) y elevado contenido de materia orgánica (44,5 g kg<sup>-1</sup>), se favoreció el crecimiento microbiano y su metabolismo, influyendo sobre la velocidad de descomposición de la materia orgánica y en consecuencia sobre la liberación de CO<sub>2</sub>.

#### **Comportamiento de la respiración edáfica durante la incubación**

Los resultados observados evidencian que los herbicidas tuvieron un efecto significativo sobre la actividad biológica del suelo al observarse

incrementos de la respiración edáfica y la biomasa microbiana una vez aplicado los mismos. En el caso de los herbicidas Pendimentalin y Oxifluorfen, esto obedece a la residualidad de los mismos en el suelo y a que los microorganismos utilizan los mismos como fuente energética, este comportamiento se observó aproximadamente hasta los 30 días de incubación. A continuación se describen los resultados obtenidos durante la prueba

Para el día 7 se observó que solamente el Oxifluorfen presentó un incremento significativo ( $p \leq 0,05$ ) en los valores de respiración edáfica en los tratamientos OA y OB respectivamente, en comparación a los tratamientos PB, PA, FPB y FPA, estos valores fueron similares a los reportados para el testigo (Cuadro 3). Estos resultados indican que el aumento de la respiración es producto de una mayor actividad biológica dado que los microorganismos pueden estar degradando los herbicidas presentes en el suelo, coincidiendo con los datos reportados por Voos y Grofaan (1997), Vischetti *et al.*, (2002) y Chowhury (2008) quienes han encontrado una correlación positiva entre los incrementos en los valores de biomasa microbiana, respiración edáfica y la tasa de degradación de algunos herbicidas como el metribuzin, linuron, glifosato, alachlor y dicamba, encontrando que esta relación puede ser útil para desarrollar herramientas de evaluación y predicción de la descomposición de los herbicidas.

En el caso de Pendimentalin y Fluaxifop donde los valores de respiración fueron similares al testigo, es probable que los herbicidas no se degraden tan rápidamente, dado al efecto inhibitorio de estos herbicidas sobre las poblaciones microbianas lo cual se traduce en una menor actividad biológica. Diversas investigaciones han demostrado que a pesar

de que el Fluaxifop tiene un efecto menos tóxico sobre la microbiota del suelo, cuando este es aplicado en altas dosis es un potente inhibidor de la síntesis de la acetil coenzima A Carboxilasa (ACCasa) la cual está presente en el metabolismo microbiano (Hess, 1995). En tal sentido Santos *et al.*, (2005), encontraron una disminución del 11 % en los valores de biomasa microbiana, cuando se aplicó el fluzifop en una dosis de 3,75  $\mu\text{g/g}$ . Con respecto al Pendimentalin, el efecto inhibitorio es causado por que el mismo afecta la fosforilación oxidativa que ocurren en la mitocondria, lo cual obviamente afecta los procesos metabólicos de los microorganismos (Četkauskaitė, *et al.*, 2006)

Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Baruah *et al.*, (1986) y Amal *et al.*, (2003), quienes encontraron que la cantidad de  $\text{CO}_2$  liberado se incrementa cuando el suelo fue tratado con el herbicida Oxifluorfen, dado que la actividad biológica fue estimulada por la presencia del mismo en el suelo, observándose una disminución en los valores de respiración edáfica luego del día 15, posiblemente por que gran parte de este herbicida fue degradado, este resultado coincidiendo con lo reportado en la literatura, donde se señala que la vida útil del herbicida Oxifluorfen es de 9 días en el suelo. Con respecto a los resultados encontrados cuando se aplicó el herbicida Fluaxifop estos coinciden a los reportados por Santos *et al.*, (2006), quienes encontraron que la respiración edáfica fue menor cuando se aplicó el herbicida Fluaxifop en comparación cuando se aplicó el herbicida Fomosen, tal como se reportó en la presente investigación

Para el día 15 donde se aplicó el tratamiento el Oxifluorfen ocurrió una mayor tasa de respiración en comparación a los tratamientos PA PB FPB, FPA

Cuadro 3. Efectos de tres herbicidas sobre la respiración basal ( $\text{mgCO}_2/\text{kg}$  suelo) de un suelo del sector “La Sabanita” , Municipio Federación, estado Falcón, Venezuela.

Tratamientos	7 días		15 días		30 días		45 días	
T	86,66	a	62,00	a	45,83	a	22,00	a
FPB	94,50	a	63,66	a	49,83	a	32,83	b
FPA	94,33	a	53,16	a	42,00	a	27,16	b
OB	143,00	b	106,83	b	89,00	b	67,66	c
OA	138,66	b	107,16	b	42,00	a	60,83	c
PB	84,83	a	62,83	a	43,66	a	29,66	b
PA	95,66	a	74,00	a	55,50	a	34,66	b

Letras distintas indican diferencias significativa entre los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ), según prueba de comparación de medias de Tukey.

T: testigo. FPB: Fluaxifop dosis baja; FPA: Fluaxifop dosis alta; OB Oxifluorfen dosis Baja; OA: Oxifluorfen dosis alta; PB: Pendimentalin dosis baja y PA: pendimentlin dosis alta

y control (Cuadro 3), sin embargo los valores de respiración fueron menores a los reportados para el día 7, esta disminución en la tasa de respiración para el caso del Oxifluorfen, puede atribuirse a una disminución en la concentración del herbicida en el suelo, ya que parte del mismo fue degradado por la acción de los microorganismos, durante los primeros 7 días, esto coincide con lo reportado por Santiago-Mora *et al.*, (2005), al evaluar la degradación del herbicida Simazina, el cual fue degradado por completo en un periodo de tiempo inferior a 15 días, estos autores atribuyen esto a una selección y potenciación del crecimiento de microorganismos capaces de degradar simazina.

A los 30 días se observó que las concentraciones de Oxifluorfen aunque son inferiores a los reportados durante los primeros 15 días de la incubación siguen siendo superiores a los valores reportados para los tratamientos PB, PA, FPB, FPA respectivamente, así como el testigo (Cuadro 3), Este comportamiento puede ser atribuido, a que la concentración del Oxifluorfen en el suelo disminuyó considerablemente, producto de la intensa actividad biológica observada durante los primeros 15 días, lo que permitió su degradación, por lo tanto al reducirse las fuentes carbonadas aportadas por el herbicida, se redujo su respiración a valores similares a los reportados para los herbicidas Pendimetalin y Fluaxifop, donde la actividad biológica, siempre fue menor producto de la no degradación de los herbicidas.

Anderson (1984), señaló que la descomposición microbiana es la forma más importante como se degradan los herbicidas en el suelo, ya que los microorganismos al buscar fuentes de energía, utilizan los herbicidas como recurso, es por eso que al aplicarse los agroquímicos los organismos del suelo, actúan sobre estos degradando esta molécula, esta degradación ocurre rápidamente en los primeros días de incubación y cesa una vez se han agotado las fuentes carbonadas. Es por ello que Vischetti *et al.*, (2002), sugieren que una ecuación cuadrática sería útil para explicar la relación entre la actividad biológica y la concentración de los plaguicidas. Ya que en esta se observa que la biomasa microbiana y la respiración edáfica disminuyen con el paso del tiempo y puede estar asociada al agotamiento de fuentes carbonadas, esta relación podría ayudar a explicar el comportamiento de la actividad biológica del suelo después de la aplicación de los herbicidas.

No obstante, así como existen herbicidas que estimulan la actividad biológica del suelo, existen otro que inhiben la misma, en tal sentido Chowdhury *et al.*, (2008), señalan que existe factores abióticos como la concentración del plaguicida o elementos químicos del tipo de herbicida aplicado que afectan la acción de los microorganismos, limitando su biodegradación, en este caso al afectar el metabolismo de los microorganismos, obviamente disminuye la actividad biológica en el suelo.

En relación a los resultados observados a los 45 días de incubación, se mantiene la misma tendencia observada durante las primeras evaluaciones, es decir una disminución de la respiración edáfica en los tratamientos donde se aplicó el herbicida Oxifluorfen al suelo, lo que indica que la concentración del herbicida disminuyó considerablemente con respecto a las mediciones anteriores, sin embargo los valores reportados siguen siendo estadísticamente superiores a los reportados en los tratamientos PA, PB, FPB FPA y el testigo respectivamente (Cuadro 3).

Estos resultados llevan a la conclusión, que a pesar de la elevada actividad biológica en el suelo donde se aplico Oxifluorfen, luego de 45 días la degradación del producto no ha sido del 100 %, al observarse valores de respiración mas altos en comparación al testigo, mientras que en el caso de los herbicidas Pendimetalin y Fluaxifop, la menor tasa de respiración señala que los mismos son de difícil degradación en el suelo, lo que sugiere la presencia de los mismos en el suelo, probablemente en concentraciones superiores al Oxifluorfen. Estos resultados fueron similares a los estudios presentados por El-Metwally *et al.*, (2007), quienes señalan que herbicidas como el Fluaxifop presenta una baja degradación en los primeros días de 22 % en suelo sin inocular e inclusive 25 % cuando el suelo es inoculado con microorganismos.

### **Comportamiento de la biomasa microbiana durante la prueba de incubación**

En el cuadro 4, se presentan los cambios producidos en la biomasa microbiana durante los 45 días de incubación de la prueba, observándose que los resultados de biomasa microbiana luego de 7 días de incubación muestran que el herbicida Fluaxifop presentó los valores más altos de biomasa microbiana en comparación a los tratamientos PA, OA y FA Estos resultados evidenciaron que la aplicación del

Fluaxifop, estimuló la actividad biológica, no obstante la aplicación de dosis altas del herbicida produjo un efecto inhibitorio sobre la biomasa microbiana del suelo con valores inclusive inferiores a los observados en el control, para el caso del Oxifluorfen hubo un efecto adverso de la dosis alta sobre la actividad biológica, al presentar valores más bajos de biomasa microbiana. Perucci *et al.*, (2000) y Dubey *et al.*, (2006), señalan que la respuesta de los microorganismos pueden ser usadas como un indicador de toxicidad, estos autores al igual que este trabajo encontraron un efecto inhibitorio de los herbicidas sobre la respiración edáfica, la biomasa microbiana y la actividad enzimática a los 11, 16 y 21 días luego de la incubación. Prakash y Devi (2000), señalan que la disminución en la actividad biológica, cuando se aplican herbicidas en dosis altas, puede ser atribuido a una limitación en los sitios de reacción en el suelo y al efecto tóxico sobre algunas enzimas que intervienen en los procesos metabólicos de los microorganismos.

Para el día 15, se observó una disminución significativa de los valores de biomasa microbiana para los tratamientos OB y FB, así como un incremento en los valores de biomasa microbiana en los tratamientos donde se aplicaron dosis altas del herbicida FPA y OA FPA, los cuales fueron valores estadísticamente superiores ( $P > 0,05$ ) a los reportados para el día 7. Estos resultados permiten afirmar, que el efecto inhibitorio causado por la aplicación de dosis alta en estos herbicidas ha sido superado y que una vez los microorganismos se adaptaron a la presencia de los herbicidas, estos proceden a su degradación. En el caso del Pendimentalin se mantiene un comportamiento similar, aunque con un ligero incremento en los valores de biomasa microbiana, notándose una mayor estabilidad en la

degradación de este compuesto. Los valores altos de biomasa microbiana en el herbicida Oxifluorfen sugieren que aun no se ha degradado el 100 % del herbicida coincidiendo con Guang-Go y Williamns (2000), quienes encontraron que la degradación del Oxifluorfen en viñedos de Sudáfrica fue sumamente rápida al compararse con los herbicidas Norflurazon y Oxadiazon, cuyo promedio de persistencia fue superior a un mes.

Para el día 30 de la incubación se observó una reducción en los valores de biomasa microbiana en los tratamientos tratamiento OB el cual bajo de 220,9  $\mu\text{gCO}_2$  a 145, 4  $\mu\text{gCO}_2/\text{kg}$  de suelo y en el tratamiento FB, el cual bajo de de 98,9  $\mu\text{gCO}_2/\text{kg}$  suelo a 81,4  $\mu\text{gCO}_2/\text{kg}$  de suelo. Así mismo se observó un incremento en los valores de biomasa microbiana para el caso de los tratamientos OA y FPA con respecto a los reportados para el día 15 a valores de 172,7 y 78  $\mu\text{gCO}_2/\text{kg}$  de suelo, todos los valores reportados para el día 30 de evaluación superaron estadísticamente al testigo ( $P < 0,05$ ), el cual presento un valor de 17,4  $\mu\text{g CO}_2/\text{kg}$  de suelo, lo que parece indicar que aun gran parte del herbicida permanece en el suelo, la mayor eficiencia en la degradación, sigue siendo observada en el caso del herbicida Oxifluorfen en su dosis baja, aunque se mantiene la tendencia a un incremento constante de la degradación del Fluaxifop y del Oxifluorfen en las dosis alta, por otra parte los valores de biomasa microbiana en el caso del Pendimentalin siguen siendo constante, no se observa efecto adverso de la aplicación de la dosis alta y existió un ligero incremento en la actividad biológica con respecto al día 15.

Para el día 45 días se observó un incremento significativo de los valores de biomasa para los

Cuadro 4. Efectos de tres herbicidas sobre la biomasa microbiana de un suelo del sector del sector "La Sabanita" , Municipio Federación, estado Falcón, Venezuela.

Tratamientos	7 días		14 días		30 días		45 días	
PB	177,5	b	186,1	c	186,0	c	227,4	c
PA	168,7	b	185,6	c	193,3	c	186,1	c
OB	349,0	c	220,9	c	145,4	c	90,2	b
OA	117,2	b	136,6	b	172,7	c	223,9	c
FPB	209,4	b	98,9	b	81,4	b	58,0	b
FPA	5,5	a	70,0	b	78,0	b	78,5	b
T	17,4	a	17,4	a	17,4	a	17,4	a

Letras distintas indican diferencias significativa entre los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ), según prueba de comparación de medias de Tukey.

T: testigo. FPB: Fluaxifop dosis baja; FPA: Fluaxifop dosis alta; OB Oxifluorfen dosis Baja; OA: Oxifluorfen dosis alta; PB: Pendimentalin dosis baja y PA: Pendimentlin dosis alta.

tratamientos OA y PA con respecto a las mediciones anteriores. Para el caso de los tratamientos PB y FPA a pesar de observarse un incremento en los valores de biomasa los días 15 y 30 con respecto al día 7, estos valores siguen siendo significativamente menores al resto de los tratamientos, lo que lleva a la conclusión de que la degradación de este herbicida es sumamente lenta cuando se aplican en dosis altas y su efecto residual, será prolongado, inclusive tiene a existir una disminución con respecto a los valores de biomasa de los días anteriores. En tal sentido Gaur (1977), señala que las bajas no afectan a actividad biológica en el suelo, y que el efecto inhibitorio es producido en altas concentraciones, el cual es marcado durante las tres primeras semanas, restaurándose los valores de biomasa y respiración edáfica partir de esta fecha. Los tratamientos OB y FB presentaron una severa disminución con valores de 90,2 y 58  $\mu\text{gCO}_2/\text{kg}$  suelo respectivamente, esto posiblemente debido a que gran parte de estos herbicidas fueron degradados durante los primeros 30 días, sin embargo los valores de biomasa siguen siendo mayores a los del testigo por lo que no se ha logrado el 100 % de su degradación.

### Pruebas de germinación

Los resultados obtenidos en esta prueba, señalan que el porcentaje de germinación siempre fue mayor en el suelo donde no se aplicó herbicida en comparación con aquellos tratamientos donde se aplicaron los herbicidas, observándose, que el porcentaje de germinación fue mayor en aquellos tratamientos donde la dosis aplicada fue la mas baja (Cuadro 5).

Para los 7 días, se observa que el testigo presenta un porcentaje de germinación superior al resto de los tratamientos, con un porcentaje de

germinación del 68 %, seguido del tratamiento OB con 50 % y OA de 47%, lo que indica que aquellos tratamientos donde se aplico el herbicida Oxifluorfen, presentaron, un porcentaje de germinación cercano al testigo, lo que indica que la concentración de este herbicida en el suelo disminuye producto de la degradación microbiana. El porcentaje de germinación mas bajo fue observado en los tratamientos PB y PA con valores de 42 y 40 % respectivamente y de FPB y FPA con 37 y 38 % respectivamente, coincidentemente estos tratamientos presentaron los valores mas bajos de respiración. Los resultados concuerdan con los reportados por Aksoy *et al.*, 2007 quienes encontraron que el porcentaje de germinación disminuye cuando se aplica el herbicida Fluaxifop, esto es debido según estos autores a una reducción en el proceso de división celular y a la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa que es la encargada de degradar el almidón presente en los cotiledones de las semillas,

Para los 15 días, se observa un incremento de los porcentajes de germinación en todos los tratamientos donde se aplicaron los herbicidas con respecto a los porcentajes observados para el día 7 de incubación. siendo los valores mal altos los correspondiente a los tratamientos OB y OA con 62 y 60 % respectivamente, seguido de PB y PA con 52 y 50 % y de FPB y FPA con 49 y 50 % respectivamente. Estos resultados indican una disminución en la concentración de los herbicidas en el suelo, ratificando lo observado en los resultados de respiración edáfica observados para el tratamiento donde se aplico Oxifluorfen, el cual presentó una tasa de respiración edáfica más alta al resto de los tratamientos, lo cual es un indicativo de que los microorganismos poseen una mayor capacidad para la degradación de este herbicida, donde se aplicaron

Cuadro 5. Efectos de tres herbicidas sobre el porcentaje de germinación de la cebolla (*Allium cepa*) en un suelo del sector "La Sabanita", Municipio Federación, estado Falcón, Venezuela.

Tratamiento	7 días	15 días	30 días
T	68 c	66 c	72 b
PB	42 b	53 b	58 a
PA	40 b	52 b	55 a
OB	50 b	62 bc	67 b
OA	47 b	60 bc	61 a
FPB	37 a	49 a	55 a
FPA	38 a	50 a	57 a

Letras distintas indican diferencias significativa entre los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ), según prueba de comparación de medias de Tukey.

T: testigo. FPB: Fluaxifop dosis baja; FPB: Fluaxifop dosis alta; OB Oxifluorfen dosis Baja; OA: Oxifluorfen dosis alta; PB: Pendimentalin dosis baja y PA: Pendimentlin dosis alta



Pendimentalin y Fluaxifop, la tasa de respiración fue menor, debido a que estos herbicidas no pudieron ser degradados eficientemente por los microorganismos del suelo, por lo tanto su presencia en el suelo, se tradujo en un menor porcentaje de germinación, dado que estos herbicidas son fitotóxicos para el cultivo de la cebolla.

Para el día 30, se observó que el porcentaje de germinación fue más alto en el testigo con 75 %, seguido de los tratamientos OB y OA con 67 y 61 % respectivamente y de FPB y FPA con 55 y 57 % , mientras que los porcentajes de germinación más bajos fueron encontrados en los tratamientos PB y PA con un 58 y 55 % respectivamente, el incremento del porcentaje de germinación a valores similares a los del testigo. Los resultados obtenidos para el porcentaje de germinación a los 30 días, refleja un incremento en el porcentaje de germinación en todos los tratamientos, lo cual puede ser atribuido a una disminución del efecto del ingrediente activo de los herbicidas en el suelo, producto de la degradación microbiana.

#### Relación germinación actividad biológica

Durante los primeros días de la prueba de incubación se observa una alta correlación entre los valores de germinación y los valores de biomasa microbiana y respiración edáfica con valores de 0,98 y 0,91 respectivamente, esto debido a que los microorganismos actúan rápidamente sobre los herbicidas y lo degradan por lo cual el aumento de la germinación de la cebolla es producto de la reducción de los herbicidas presentes en el suelo (Cuadro 6).

Luego para el día 15, esta correlación disminuye, debido a que parte de los herbicidas han sido degradados y el aumento de la germinación es debido quizás a una disminución de la concentración de los herbicidas en el suelo, sin embargo todavía existió cierta actividad biológica producto de la degradación del Fluaxifop sobre todo en dosis altas, ya para el día 30, dado que la mayoría de los herbicidas han sido degradados, se observó el incremento en el porcentaje de germinación, debido a

la ausencia o baja concentración de los herbicidas y no a la actividad biológica de los microorganismos del suelo, por lo tanto el coeficiente de correlación para esta medición fue mucho más bajo.

#### CONCLUSIONES

La aplicación de dosis altas del herbicida Fluaxifop, produjo un efecto inhibitorio sobre los microorganismos del suelo, durante los primeros 15 días de incubación, observándose un aumento progresivo de los valores de respiración edáfica y biomasa microbiana una vez que los microorganismos se adaptaron a la presencia de este herbicida en el suelo. Por el contrario La mayor actividad biológica fue promovida por el herbicida Oxifluorfen, el cual presentó los valores más altos de respiración basal y biomasa microbiana durante los primeros 15 días de incubación.

Los tratamiento donde se aplicó Oxifluorfen, presentó una tasa de germinación mayor al Fluaxifop y Pendimentalin respectivamente y esto estuvo asociado a tasa de respiración edáfica más alta, lo cual es un indicativo de que los microorganismos poseen una mayor capacidad para la degradación de este herbicida, mientras que la aplicación de los herbicidas Pendimentalin y Fluaxifop, presentaron un menor porcentaje de germinación, dada a que la alta residualidad de los mismos en el suelo, así como su demostrada fitotoxicidad para el cultivo de la cebolla.

#### LITERATURA CITADA

- Aksoy, P. y A. Tulin. 2008. Effects of herbicides butachlor, 2,4-D and oxyfluorfen on enzyme activities and CO<sub>2</sub> evolution in submerged paddy field soil. *Plant and Soil* 96 (2): 287-291.
- Alvear M.; R. López, A. Rosas y N. Espinoza. 2006 Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre algunas actividades biológicas. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 6 (1): 64-76.

Cuadro 6. Coeficiente de correlación entre la germinación con las variables biológicas evaluadas durante la prueba de incubación.

Coeficiente de correlación	Día 7		Día 15		Día 30	
	Respiración	Biomasa	Respiración	Biomasa	Respiración	Biomasa
Germinación	0,91	0,98	0,90	0,46	0,27	0,32

- Amal C. D.; A. Debnath and D. Mukherjee. 2003. Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. *Chemosphere* 53 (3): 217-221.
- Četkauskaitė, A.; A. Zimkus and J. Borovik. 2006. Effects of the herbicide pendimethalin on mitochondrial functions. *Biologia* (3): 25-29.
- Chowdhury, A.; S. Pradhan, M. Saha and N. Sanyal. 2008. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian J. Microbiol.* 48: 114-127.
- Dick, R. P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. *In: Defining soil quality for sustainable environment. Special Pub. 35.* J. W. Doran, D. C. Coleman, D. F. Bezdicek and B. A. Stewart (eds.) Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI. USA. pp. 107-124.
- Diez, M. C.; M. I. Concha and F. Gallardo. 1996. Acid soil supplementation with sewage sludge for cereal growth. IV International Symposium on Plant-Soil Interactions at low pH. Belo Horizonte, Brazil.
- Dumonet, S.; P. Perucci, A. Scopa and A. Ricciardi. 1993. Sulfonylureas: preliminary study on the effect on selected microbial strains and soil respiration. *Soil Science* 1: 193-198.
- El-Metwally, I. M. and E. M. Shalby. 2007. Bioremediation of fluazifop-p-butyl herbicide contaminated soil with special Reference to efficacy of some weed control treatments in faba bean plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3 (3): 157-165.
- Florentino, A. 1997. Guía sobre índices físicos de suelos, Valores críticos, Facultad de Agronomía, Post grado en Ciencias del Suelo, UCV-Maracay, Venezuela, 10 p.
- Gaur, A. C and K. C. Misra. 1977. Effect of simazine, lindane and cerasan on soil respiration and nitrification rates. *Plant and Soil* 46 (1): 5-15
- Gallardo, F.; M. L. Mora and M. C. Diez. 2007. Kraft mill sludge to improve vegetal production in Chilean Andisol. *Water Science and Technology* 55 (6): 31-37.
- Gili, P.; G. Marando y J. Irisarri. 2004. Actividad biológica y enzimática en suelos afectados por sales del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. *Rev. Argent. Microbiol.*, 36 (4): 187-192.
- Guango, Y and B. Willians. 2000. Dissipation of herbicides in soil and grapes in a south Australian Vineyard. pp. 22-24.
- Hess, F. D. 1995 Mode of action of lipid biosynthesis inhibitors (Graminicides - Accase Inhibitors). *In: Herbicide action course.* West Laffeyte: Purdue University, 787 p.
- Klodka, D. and J. Nowak. 2004. Influence of combined fungicides and adjuvants application on enzymatic activity and ATP content in soil. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities.*
- Islam, K. R. and R. R. Weil. 1998. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biol. Fertil. Soils.* 27: 408-416.
- Isha Q.; M. Ahasaam, M. Seed, M. Ibrahim and R. Lal. 2001. Subsoil compactation effects on crops in Punjab, Pakistan: Soil Physical properties and crop yield. *Soil and Tillage Research* 59: 57-65.
- Moorman, T. B.; J. K. Cowan, E. L. Arthur and J. R. Coats. 2001. Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils* 33: 541-545.
- Nannipieri P.; S. Gregos and B. Ceccanti. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *In: Soil Biochemistry.* Vol. 6. J. L. Smith and E. A. Paul (eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, USA. pp. 293-354.
- O'Brien, T. A.; S. J Herbert and A. V. Barker. 2002. Growth of corn in varying mixtures of paper mill sludge and soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33 (3/4): 635-646.
- Paul, E. A and R. A. Voroney. 1989. Field interpretation of microbial biomass activity and measurements *In: Current perspective in microbial ecology.* M. J. Klug and C. A. Reddy (eds.). American Society of Microbiology. Washington, D. C., USA.

- Perucci, P.; S. Dumontet, S. Bufo and A. Mazzatura, 2000. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 33: 17- 23.
- Prakash N. B. and S. Devi. 2000. Persistence of butachlor in soils under different moisture regime. *Journal Indian Society Soil Science* 48:249-256.
- Sannino, F. and L. Gianfreda. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere* 45: 417-425.
- Santiago Mora, R.; F. Martin Laurent, R Prado and A. R de Franco. 2005. Degradation of simazine by microorganisms isolated from soils of Spanish olive fields. *Pest Management Science* 61 (9): 917-921.
- Santos J. B.; A. Jakelaitis, A. Silva, M. D Costa, A. Manabe and C. S. Silva. 2006. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. *Weed Research* 46: 284-289.
- Vischetti, C.; P. Perucci and C. Scarponi, 1997. Rimsulfuron in soil: Effect of persistence on growth and activity of microbial biomass at varying environmental conditions. *Biogeochemistry* 39: 165-176.
- Vischetti C.; C. Casucci and P. Perucci. 2002 Relationship between changes of soil microbial biomass content and benfluralin degradation. *Biol Fertil Soils* 35: 13-17.
- Voos G. and P. M. Groffman. 1997. Relationship between microbial biomass and dissipation of 2, 4-D and Dicamba in soil. *Biol Fertil Soils* 24: 106-110.
- Walkley, A. and A. Black. 1934. An examination of the method for determination soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science Journal* 37: 29-38.
- Zhang, S.; S. Wang, X. Shang and H. Mu. 2004. Influences of lignin from paper mill sludge on soil properties and metal accumulation in wheat. *Biology and Fertility of Soils* 40: 237-242.
- Zamora, F. 2003. Identificación de indicadores de sostenibilidad en los sistemas de producción hortícolas de Barrio Nuevo Municipio Federación del Edo. Falcón. Trabajo Especial de Grado. Programa de Ingeniería Agronómica UNEFM. p. 49-50.
- Zamora, F. y D. Tua. 2000. Insectos plaga en Churuguara, Municipio Federación, Estado Falcón. *Fonaiap Divulga* 68:38.
- Zucconi, F.; M. Fort, A. Monaco and M. De Bertoldi. 1981. Biological evaluation of compost maturity. *Biocycle* 22: 54-57.