



Fitotoxicidad de un formulado comercial de glifosato sobre *Lemna gibba* L.-Comentario

SILVINA PORTELA

Estación Experimental Agropecuaria Pergamino, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

El artículo de Sione et al. (2018) plantea un tema muy importante y que preocupa a diversos sectores de nuestra sociedad: La presencia de glifosato en los cuerpos de agua como consecuencia del uso del herbicida y su potencial efecto sobre la flora acuática. Los autores proponen evaluar la fitotoxicidad de un formulado comercial de glifosato utilizando *Lemna gibba* como bioindicador a partir de un bioensayo en laboratorio y un estudio observacional a campo. El objetivo de los bioensayos es evaluar la sensibilidad de una especie indicadora (o especie diagnóstico) a dosis subterapéuticas de un fitosanitario, esperables de encontrar en ambientes acuáticos cercanos a sitios que reciben la aplicación del producto, u otro compuesto tóxico (ej. metales pesados). Los resultados de los bioensayos pueden ser luego utilizados para el monitoreo ambiental.

En este sentido, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), el Servicio de Protección Ambiental del Gobierno de Canadá, la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) prescriben detallados protocolos para el desarrollo de los bioensayos sustentados en criterios que vale la pena detenerse (EPS 1/RM/37; ISO 20079; OCSPP 850.4400; OECD Test No. 221). A modo de ejemplo, sugieren ensayos axénicos (con culturas estériles de un sólo organismo) en solución nutritiva sintética con reposición cada 2 o 3 días, utilizando colonias precultivadas en las mismas condiciones en las que se desarrollarán los ensayos, que deberán tener una duración de 7 días en condiciones de temperatura e iluminación controladas.

Estos protocolos se basan en que, a diferencia de lo que citan los autores, las lemnas no son dominantes en condiciones adversas. Estas pequeñas plantas acuáticas flotantes crecen y

se reproducen extremadamente rápido (Ziegler et al. 2015) en condiciones ambientales muy acotadas. La concentración y forma química del fósforo y del nitrógeno en el medio de cultivo, el pH y la conductividad eléctrica, el ecotipo (genotipo adaptado a un determinado ambiente) y la densidad de plantas afectan la tasa de crecimiento de las lemnas (Caicedo et al. 2000; Frédéric et al. 2006; Lasfar et al. 2007). Tal es así, que Scherr et al. (2008) investigaron la estabilidad de los bioensayos, teniendo en cuenta la variabilidad natural del crecimiento de las lemnas y resaltaron que "la calidad metodológica depende de la uniformidad de las condiciones experimentales y de la inclusión de un número suficiente de controles adecuados". En este sentido, el protocolo de la EPA establece que los controles deberán presentar un tiempo de duplicación del número de frondas cercano a 2,5 días, y que el rendimiento y la tasa de crecimiento de los mismos deberán presentar un coeficiente de variación menor al 20%.

Sione et al. condujeron un ensayo de laboratorio para evaluar la fitotoxicidad del glifosato. Evaluaron la tasa de multiplicación, longitud de raíces y contenido de clorofila de lemnas cultivadas en agua del embalse donde se realizó el estudio de campo (sin reposición y sin agregado de nutrientes) con concentraciones crecientes de glifosato (de 0 a 15 mg/L) a lo largo de 15 días. La tasa de multiplicación del control luego de 7 días fue el 20% del valor mínimo fijado por la EPA, es decir que aun sin agregado de glifosato las lemnas no se reprodujeron satisfactoriamente. La tasa de multiplicación de los tratamientos con glifosato durante la primera semana de ensayo fue similar, superior o inferior a la del control. Sobrero et al. (2007) ya habían realizado este ensayo pero ajustándose a los protocolos vigentes, y concluyeron que la tasa de multiplicación de las lemnas se inhibe

a partir de 1 mg/L de principio activo y el contenido de clorofila a 7.5 mg/L. De manera que el verdadero aporte del trabajo de Sione et al. fue utilizar esta especie como bioindicador de campo en un embalse de Entre Ríos. En este caso, observaron una reducción de biomasa vegetal y de su contenido de clorofila luego de una aplicación de glifosato en lotes que drenan hacia el embalse donde se realizaron las mediciones. Considerando que no se detectó glifosato en el agua del embalse ni antes ni después de la aplicación, es posible plantearse que la reducción de crecimiento pudo estar asociada a variables ajenas al herbicida.

Sin poner en duda la fitotoxicidad de dosis subterapéuticas de glifosato plausibles de ser detectadas en ambientes acuáticos sobre *Lemna gibba* (Sobrero et al. 2007), ni

la presencia de concentraciones superiores al límite de protección de la biota acuática establecido por la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación en 2003 (240 µg/L) en algunos cuerpos de agua de Entre Ríos y en algunos momentos del año (Sasal et al. 2017), ningún resultado del trabajo de Sione et al. es vinculante con sus conclusiones: "estos resultados contribuyen con el diagnóstico de riesgo de contaminación por herbicidas en agroecosistemas". Según Fernández (2014), el uso selectivo de la información constituye uno de los diez principales obstáculos para un mejor planteo de la situación ambiental. Una discusión confusa basada en resultados obtenidos a partir un abordaje metodológico inapropiado, desinforma, da lugar a especulaciones y agudiza la sensibilidad social sobre este tema.

REFERENCIAS

- Caicedo, J.R., N.P. van der Steen, O. Arce and H.J. Gijzen. 2000. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Water Research* **34**(15):3829-3835.
- Fernández, R.J. 2014. Decálogo del ambientalismo estéril. *Ecología Austral* **24**(3):356-364.
- Frédéric, M., L. Samir, M. Louise and A. Abdelkrim. 2006. Comprehensive modeling of mat density effect on duckweed (*Lemna minor*) growth under controlled eutrophication. *Water Research* **40**(15):2901-2910.
- ISO 20079. Water quality – determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20079:ed-1:v1:en>
- Lasfar, S., F. Monette, L. Millette and A. Azzouz. 2007. Intrinsic growth rate: A new approach to evaluate the effects of temperature, photoperiod and phosphorus–nitrogen concentrations on duckweed growth under controlled eutrophication. *Water Research* **41**(11):2333-2340.
- OCSPP 850.4400. Ecological effects test guidelines. Aquatic plant toxicity test using *Lemna* spp.
- EPA (Environmental Protection Agency), Office of Chemical Safety and Pollution Prevention. Pp. 22. June 2012. <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0027>
- EPS 1/RM/37. Biological test method: Test for measuring the inhibition of growth using the freshwater macrophyte *Lemna minor*. EPS (Environmental Protection Series) 1/RM/37. Environmental Canada, Environmental Technology Centre, Ottawa. Pp. 112. January 2007 http://publications.gc.ca/collections/collection_2014/ec/En49-7-1-56-eng.pdf
- OECD Test No. 221. *Lemna* sp. growth inhibition test. OECD Publishing, Paris. Pp.22. July 2006. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264016194-en>
- Sasal, M.C., M.G. Wilson, S.M. Sione, S.M. Beghetto, E.A. Gabioud et al. 2017. Monitoreo de glifosato en agua superficial en Entre Ríos: La investigación acción participativa como metodología de abordaje. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)* **43**(2):195-205.
- Scherr, C., M. Simon, J. Spranger and S. Baumgartner. 2008. Test system stability and natural variability of a *Lemna* *Gibba* L. bioassay. *PLoS ONE* **3**(9):e3133.
- Sobrero, C., M.L. Martin and A. Ronco. 2007. Fitotoxicidad del herbicida Roundup® Max sobre la especie no blanco *Lemna gibba* en estudios de campo y laboratorio *Hidrobiológica* **17**(1 Suplemento):31-39.
- Ziegler, P., K. Adelman, S. Zimmer, C. Schmidt and K.J. Appenroth. 2015. Relative in vitro growth rates of duckweeds (*Lemnaceae*) – the most rapidly growing higher plants. *Plant Biology* **17**(s1):33-41.