



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Efecto de la fertilización fosfórica sobre la re-movilización del herbicida glifosato en suelos y riesgo asociado a la interacción con el cultivo del arroz

Mónica Yadira Dotor Robayo

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

Efecto de la fertilización fosfórica sobre la re-movilización del herbicida glifosato en suelos y riesgo asociado a la interacción con el cultivo del arroz

Mónica Yadira Dotor Robayo

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Doctora en Ciencias Agrarias-Línea de investigación en Malherbología

Directora:

María José Martínez Cerdón Dra. Ciencias Químicas

Línea de Investigación:

Malherbología

Grupo de Investigación:

Residualidad y destino ambiental de plaguicidas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

*A mi familia, Vicky, Julio, Angela y Juan, mis
sobrinos Pao, Santi, Susi y a mi hija Sara.*

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Mónica Yadira Dotor Robayo

Fecha 10/10/2021

Agradecimientos

A mi directora, la profesora Ph D. María José Martínez Córdón, quien estuvo durante todo el desarrollo del doctorado apoyándome en el proceso, a ella muchas gracias por el tiempo, la paciencia y dedicación prestada.

A la profesora Ph D. Cilia Fuentes y a Ph D. Douglas Laing, quienes estuvieron presentes desde el momento que se planteó la necesidad de esta investigación.

A la Dra. Elena Okada, por su invaluable apoyo para el análisis y la proyección de los resultados.

Al grupo de investigación en Residualidad y destino ambiental de plaguicidas en sistemas agrícolas, en especial a su director, el profesor Ph D. Jairo Guerrero.

A MinCiencias (Colciencias), organización que me permitió financiar mis estudios doctorales y a la Universidad Nacional de Colombia, quien me permitió el tiempo para culminar mis estudios.

Al equipo de trabajo del área de Malherbología de la facultad de Ciencias Agrarias sede Bogotá, en especial al señor Luis Romero.

A mis padres, sin duda no estaríamos acá sin ellos.

Resumen

Efecto de la fertilización fosfórica sobre la re-movilización del herbicida glifosato en suelos y riesgo asociado a la interacción con cultivo de arroz

Glifosato es el herbicida de mayor uso en zonas agrícolas en el mundo, es un herbicida no selectivo, que actúa en plantas inhibiendo la ruta del ácido shikímico en plantas. La molécula se adsorbe fuertemente a los sitios de intercambio en los coloides del suelo, donde persiste de modo variable, dependiendo del tipo de unión que forme con el adsorbato (los minerales y la materia orgánica del suelo), las condiciones ambientales y las posibilidades de degradación del herbicida. Diversos autores han demostrado que el proceso de adsorción del herbicida en suelos es reversible y fuertemente influenciado por incrementos de carga aniónica en el sistema, por lo que, en condiciones de producción agrícola, el uso de fertilizantes fosfatados favorecería la removilización del herbicida. Enmarcado en estas premisas se ejecutó el presente proyecto que evaluó en condiciones de laboratorio, el proceso de adsorción-desorción de glifosato en tres suelos agrícolas arroceros (CS1, CS2 y CS3), la influencia de la presencia de fosfato monoamónico (MAP) sobre la adsorción y desorción, el movimiento del herbicida a través del perfil del suelo y su mineralización. Finalmente se determinó en condiciones controladas de laboratorio e invernadero, mediante el uso del arroz como planta bio-indicadora, el efecto de las cantidades desorbidas del herbicida sobre el metabolismo y el crecimiento de esta especie, utilizando para esto técnicas radiológicas, espectrofotométricas y análisis de tejido vegetal. Con este proyecto de investigación, se buscó dimensionar el impacto no cuantificado que puede generar el uso del herbicida en condiciones específicas de producción, evaluando los efectos nocivos del xenobiótico influenciado por la presencia de fuentes fosfatadas en el sistema. Los resultados indican una alta adsorción del herbicida ajustada al modelo de Freundlich, proceso que varió con la adición de fertilizantes fosfatados al medio. En presencia de fosfatos tiene lugar una saturación parcial de los puntos de adsorción en el suelo que se refleja en la disminución de la adsorción y en la forma en la que esta se produce en los suelos, desarrollándose

procesos de competencia y difusión para acceder a sitios de adsorción menos expuestos. Se encuentra que el proceso de adsorción es reversible y en la mayoría de los escenarios evaluados la adición del fosfato favorece la reversibilidad, reiterando la alta afinidad por el fosfato de estos suelos y la similitud de los mecanismos de adsorción y desorción de las dos moléculas. Los ensayos de infiltración en columnas indican que, en las condiciones evaluadas, glifosato es fuertemente retenido en el suelo, sólo una fracción de este se mueve a través del perfil del suelo, en el flujo del agua y la adición del MAP en el sistema favorece el movimiento. La exposición radical directa de soluciones del herbicida en las plantas indicadoras señala que se produce el ingreso del herbicida en la planta y la llegada al sitio de acción, en donde genera la modificación temporal del metabolismo, provocando alteración del crecimiento y desarrollo. La adición de MAP junto con glifosato en suelos indica que este incrementa la respuesta de la planta al herbicida, en comparación a cuando se adiciona sólo glifosato. Al aplicar el herbicida en los suelos estudiados, se observa la interacción de este con las plantas, dando como resultado cambios en las concentraciones de ácido shikímico y la modificación en la producción de biomasa. La dosis aplicada produce un diferencial frente al efecto en la planta, puesto que, a mayor dosis, mayor alteración de los parámetros evaluados. Los resultados indican que la adición de fosfato favorece la acumulación del ácido shikímico y la disminución en la producción potencial de biomasa de las plantas expuestas. En relación con proceso de transferencia desde el suelo, es evidente la limitada biodisponibilidad del herbicida, siendo esta la razón para que los resultados no impliquen efectos letales en las plantas.

Palabras clave: Inceptisol, removilización, interacción glifosato-fosfato, transporte de plaguicidas, *Oryza sativa*.

Abstract

Effect of phosphoric fertilization on the re-mobilization of glyphosate in soils and risk associated with interaction with rice cultivation

Glyphosate is the most widely used herbicide in agricultural areas in the world. It is a non-selective herbicide that acts by inhibiting the shikimic acid pathway in plants. The molecule is strongly adsorbed to exchange sites in soil colloids with variable persistence depending on the type of bond it forms with the adsorbate (minerals and soil organic matter), the environmental conditions, and the possibilities for herbicide degradation. Various authors have shown that the adsorption process of the herbicide in soils is reversible and strongly influenced by increases in the anionic load in the system. Therefore, under agricultural production conditions, the use of phosphate fertilizers would favor the remobilization of this herbicide. Under these premises, this project was carried out to evaluate, under laboratory conditions, the adsorption-desorption processes of glyphosate in three rice agricultural soils (CS1, CS2, and CS3), the influence of the presence of monoammonium phosphate (MAP) on the adsorption and desorption, the movement of the herbicide through the soil profile and its mineralization. Finally, the effect of the desorbed amounts of the herbicide on the metabolism and growth of rice plants was determined under controlled laboratory and greenhouse conditions using this species as a bio-indicator plant and applying radiological, spectrophotometric, and vegetable tissue analysis techniques. With this research project, we sought to measure the unquantified impact that the use of the herbicide can generate under specific production conditions, evaluating the harmful effects of the xenobiotic that are influenced by the presence of phosphate sources in the system. The results indicate high herbicide adsorption adjusted to the Freundlich model, a process that varied with the addition of phosphate fertilizers to the medium. A partial saturation of the adsorption points in the soil takes place in the presence of phosphates, which is reflected in decreased adsorption and how it occurs in soils, developing processes of competition and diffusion to access

less exposed adsorption sites. It was found that the adsorption process is reversible and, in most of the evaluated scenarios, the addition of phosphate favors reversibility. This reiterates the high affinity of these soils for phosphate and the similarity of the adsorption and desorption mechanisms of both molecules. Column infiltration tests indicate that, under the evaluated conditions, glyphosate is strongly retained in the soil. Only a fraction of the herbicide moves through the soil profile with the water flow, and the addition of MAP in the system favors movement. Direct exposure of the roots to herbicide solutions in bio-indicator plants shows that the herbicide enters the plant and reaches the site of action where it generates a temporary modification of metabolism, causing growth and development alterations. The addition to soils of MAP together with glyphosate increases the plant's response to the herbicide, compared to glyphosate applied alone. The interaction between the herbicide and the plants is observed when it is applied to the studied soils, resulting in changes in shikimic acid concentrations and modifications in biomass production. The dose applied produces a differential effect on the plant since a greater alteration of the evaluated parameters is observed at higher doses. The results indicate that the addition of phosphate favors the accumulation of shikimic acid and the decrease in the potential biomass production of the plants exposed. Regarding the process of transfer from the soil, the limited bioavailability of the herbicide is evident, and this is the reason why the results do not imply lethal effects on plants.

Keywords: Inceptisol, remobilization, glyphosate-phosphate interaction, pesticide transport, *Oryza sativa*.

Contenido

Pág.	
Resumen	VII
Lista de figuras.....	XIV
Lista de tablas	XVII
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVIII
Introducción	1
Objetivos.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4
Metodología general.....	5
Bibliografía	7
1. Capítulo 1. Efecto del Fosfato Mono Amónico (MAP) sobre la adsorción y desorción de glifosato en suelo.....	8
Resumen	8
1.1 Introducción.....	9
1.1.1 Adsorción en suelo	9
1.1.2 Desorción en suelos	13
1.1.3 Evaluación de las características de adsorción-desorción	14
1.2 Justificación.....	16
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo general.....	17
1.3.2 Objetivos específicos.....	17
1.4 Materiales y métodos	18
1.4.1 Suelos	18
1.4.2 Reactivos.....	20
1.4.3 Ensayos de adsorción-desorción en suelos	20
1.4.4 Tratamiento de datos y Análisis estadístico	22
1.5 Resultados y discusión.....	23
1.5.1 Ensayos de Adsorción	23
1.5.2 Desorción	35
1.6 Conclusiones.....	42
1.7 Bibliografía	44

2. Capítulo 2. Mineralización y movimiento de glifosato en suelos arroceros	50
Resumen.....	50
2.1 Introducción	51
2.2 Justificación	55
2.3 Objetivos.....	56
2.3.1 Objetivo general	56
2.3.2 Objetivos específicos.....	56
2.4 Materiales y métodos.....	57
2.4.1 Suelos	57
2.4.2 Reactivos	57
2.4.3 Ensayo de infiltración	57
2.4.4 Cuantificación de bromuro (Br).....	60
2.4.5 Cuantificación de glifosato en agua.....	61
2.4.6 Cuantificación Residuos Ligados.....	61
2.4.7 Cuantificación de glifosato mineralizado.....	61
2.4.8 Curvas de elución (Breakthrough Curves - BTC).....	62
2.4.9 Estimación de parámetros de transporte.....	62
2.4.9.2 Modelo de no equilibrio de origen físico (NEF).....	64
2.4.9.4 Condiciones de la modelación del transporte en las columnas.....	67
2.5 Resultados y discusión	69
2.5.1 Caracterización de la lixiviación de Bromuro (Br-).....	69
2.5.2 Modelación Matemática de Br- en las columnas.....	71
2.5.3 Caracterización de la lixiviación de glifosato.....	76
2.5.4 Modelación Matemática del movimiento de glifosato en las columnas	79
2.5.5 Residuos ligados de glifosato en las columnas de suelo	84
2.5.6 Mineralización.....	87
2.5.7 Balance de Glifosato.....	90
2.6 Conclusiones	91
2.7 Bibliografía.....	93
3. Capítulo 3. Efecto de los fertilizantes fosforados sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de arroz expuestas vía radicular a glifosato.....	99
Resumen.....	99
3.1 Introducción	99
3.2 Justificación	101
3.3 Objetivo	102
3.3.1 Objetivo general	102
3.3.2 Objetivos específicos.....	102
3.4 Metodología	102
3.4.1 Reactivos	102
3.4.2 Material vegetal.....	103
3.4.3 Localización	103
3.4.4 Diseño experimental.....	103
3.4.5 Condiciones de crecimiento de las plantas.....	104
3.4.6 Exposición al herbicida.....	104
3.4.7 Toma de datos	104
3.4.8 Biomasa	105
3.4.9 Área foliar y altura de planta.....	105
3.4.10 Extracción y cuantificación de Ácido shikímico.....	105
3.4.11 Modelo dosis respuesta.....	106

3.4.12	Análisis estadístico	107
3.5	Resultados	107
3.5.1	Ácido shikímico	107
3.5.2	Área foliar y producción de biomasa	115
3.5.3	Modelo dosis respuesta	118
3.6	Conclusión	122
3.7	Bibliografía	122
4.	Capítulo 4. Efecto de la adición de fosfato en la desorción de glifosato y la traslocación vía radical a plantas.....	127
	Resumen	127
4.1	Introducción.....	128
4.2	Justificación.....	129
4.3	Objetivo.....	130
4.3.1	Objetivo general.....	130
4.3.2	Objetivos específicos	130
4.4	Materiales y Métodos	130
4.4.1	Suelos	130
4.4.2	Reactivos.....	131
4.4.3	Material vegetal	131
4.4.4	Condiciones del crecimiento de plantas y aplicación de glifosato.	131
4.4.5	Variables evaluadas	132
4.4.6	Análisis estadístico	133
4.5	Resultados	133
4.5.1	Ácido shikímico.....	133
4.5.2	Biomasa	143
4.6	Conclusiones.....	150
4.7	Bibliografía	151
5.	Conclusiones generales	155
	Anexos	159
A.	Anexo a: Anexos capítulo 1.....	159
	Anexo A1 Estadística capítulo 1	159
	Anexo A2. Correlaciones capítulo 1	177
	Anexo B: Anexos capítulo 2	178
	Anexo B1. Estadística capítulo 2.....	178
	Anexo B2. capítulo 2. Valores promedio de los lixiviados de las columnas 2	190
	Anexo B2. Ajuste de mineralización a cinéticas de 1 ^{er} y 2 ^o orden	190
B.	Anexo C: Anexos capítulo 3	191
	Anexo C1. Estadística capítulo 3	191
	Anexo D: Anexos capítulo 4	197
	Anexo D1. Tabla de ED ₅₀ para Ácido shikimico	197
	Anexo D2. Producción de Biomasa.....	199
	Anexo D3. Estadística capítulo 4	200
	Anexo D4. Altura de las plantas.....	219
	Anexo D5. área foliar	220

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1: Estructura química de glifosato	10
Figura 1-2: Equilibrios de las diferentes especies de glifosato en función del pH Tomado de Franz <i>et al.</i> (1997).....	10
Figura 1-3: Cinética de adsorción del herbicida en suelos. —CS2; --- CS3; -- CS1	24
Figura 1-4: Isotermas de adsorción de Freundlich para los suelos en estudio a. glifosato analítico b. glifosato técnico. Para los suelos CS2; CS2 y CS3	30
Figura 1-5: Relación adsorción- desorción en porcentaje por suelo, discriminado por formulación y tratamiento, las barras negras corresponden a promedios totales de los porcentajes de adsorción de las 5 dosis evaluadas en cada tratamiento. Las barras grises corresponden a la sumatoria total de los 5 ciclos de desorción, para cada dosis	37
Figura 2-1: Ruta de degradación glifosato en suelo. Proceso de transformación de la molécula de glifosato por vía biológica. Adaptado de Okada <i>et al.</i> 2017	54
Figura 2-2: a. Esquema de la estructura de las columnas empacadas de suelo y tratamientos ejecutados. Tamaño de columnas: longitud: 30 cm; diámetro interno: 9 cm. Trampa de CO ₂ : vial de 50 mL. b. esquema del arreglo experimental, 6 columnas empacadas para cada suelo, distribuidas en dos tratamientos P0 (sin fósforo) y P1 (con fósforo).....	58
Figura 2-3: Curva de calibración para Bromuro de potasio.....	60
Figura 2-4: BTCs para Br ⁻ en los suelos CS1, columnas de 1 a 6, CS2 columnas de 7 a 12 y CS3 columnas de 13 a 18.	70
Figura 2-5: Curvas de elución estimadas para glifosato en las columnas de suelo a partir de NEF (-) y NEQ "Two sites" (-) CS1P0 corresponden a los estimados de las columnas Col 1, 2, 3, del tratamiento sin adición de fosfato. CS1P1 los estimados de las columnas 4, 5, 6, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato. Estimados de CS2P0 corresponden a las columnas Col 7,8,9, del tratamiento sin adición de fosfato y estimados de CS2P1 a las columnas 10,11,12, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato. Estimados de CS3P0 corresponden a las columnas Col 13, 14, 15, del tratamiento sin adición de fosfato y estimados de CS3P1 Columnas 16, 17, 18, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato.	81
Figura 3-1: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 1. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP (P0). (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).....	108

Figura 3-2: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 2. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP (P0).; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).....	109
Figura 3-3: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 3. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP(P0).; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).	110
Figura 3-4: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 4. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.	110
Figura 3-5: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 5. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.	111
Figura 3-6: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, muestreo 6. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.....	112
Figura 3-7: AF en relación con la dosis expuesta de glifosato. P0. tratamientos sin fosfato. P1. Tratamientos con fosfato.	116
Figura 3-8: P0 y P1 biomasa en relación con la dosis expuesta de glifosato. P0. tratamientos sin fosfato. P1. tratamientos con fosfato.....	117
Figura 3-9: Curvas de ajuste al modelo de dosis respuesta para los parámetros área foliar y biomasa, discriminados para P0 y P1. P0. tratamientos sin fosfato. P1. tratamientos con fosfato	112
Figura 4-1: Valor promedio del ácido shikímico en las dosis de cada tratamiento (T1, T2, T3 y T4), a lo largo de los muestreos del ensayo. ■ barra del promedio de las dosis por tratamiento ■ barra del testigo del tratamiento.	134
Figura 4-2: Curvas de dosis respuesta para T1 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.	135
Figura 4-3: Dosis respuesta para T2 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.....	137
Figura 4-4: Dosis respuesta para T3 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.....	138
Figura 4-5: Dosis respuesta para T4 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.....	140
Figura 4-6: Valores ponderados de biomasa radicular discriminados por suelo y tratamiento en relación con la dosis. ■ Producción relativa de biomasa. ■ valor relativo no producido de biomasa en relación con el testigo.	145
Figura 4-7: Valores ponderados de biomasa aérea discriminados por suelo y tratamiento en relación con la dosis. ■ Producción relativa de biomasa. ■ valor relativo no producido de biomasa en relación con el testigo.	146

Figura 4-8: Relación ácido shikímico – producción relativa de biomasa tratamientos evaluados. 149

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1: Interacciones del grupo fosfónico de glifosato con óxidos de hierro en suelo.	11
Tabla 1-2: Valores de coeficientes de adsorción reportados por algunos autores.	12
Tabla 1-3: Reacción de desplazamiento de glifosato en goetita, debido a la adición de fosfato. Tomado de Waiman <i>et al.</i> , 2013.	14
Tabla 1-4: Clasificación de la movilidad de compuestos en suelos con relación a Log K_{oc} según FAO (2000).	16
Tabla 1-5: Propiedades fisicoquímicas y mineralógicas de los suelos.	19
Tabla 1-6: Porcentajes promedio para A-GLY y F-GLY de adsorción y desorción de todas las concentraciones, discriminado por tratamiento y suelo	24
Tabla 1-7: Parámetros de las isotermas de adsorción de Freundlich para glifosato.	29
Tabla 1-8: Valores de K_d reportados en la dosis D de glifosato	33
Tabla 1-9: Log K_{oc} por suelo y tratamiento para la dosis D y clasificación con la tabla 1 de movilidad de compuestos de la FAO.	35
Tabla 1-10: Constantes de desorción de para el herbicida y los suelos estudiados	40
Tabla 2-1: Esquema del diseño experimental de infiltración.	59
Tabla 2-2: valores promedio de los parámetros de transporte experimentales para las curvas de lixiviación de Glifosato. Valores promedio discriminados por suelo.	71
Tabla 2-3: Parámetros estimados en el modelamiento de Br valores promedio de las seis columnas evaluadas en cada suelo. Discriminados en para los modelos NEF y CDE.	73
Tabla 2-4: Correlaciones entre las propiedades estimadas de bromuro y I características físicas del suelo.	76
Tabla 3-1: Tratamientos de exposición vía radicular con glifosato a de plantas de arroz	103
Tabla 3-2: Valores de ecuación de calibración usadas en la determinación del ácido shikímico según muestreo.	106

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura Término

¹⁴C-GLY	¹⁴ C -Glifosato
A-GLY	Glifosato estándar analítico
AMPA	Acido Amino metil fosfónico
Br-	Bromuro
BTC	Breakthrough curves
C.O.	Carbono orgánico
CDE	Modelo de transporte en condiciones de equilibrio
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
CS	Suelo arcilloso
D	Dispersión
F-Gly	Glifosato en formulación comercial Roundup®
KBr	Bromuro de potasio
MAP	Fosfato mono amónico
NEF	Modelo de transporte en condiciones de No equilibrio físico
NEQ	Modelo de transporte en condiciones de No equilibrio químico
POEA	Amina polietoxilada
R	Retardo
β	En NEF: porcentaje de la fracción móvil con respecto a la fracción total. En NEQ: β muestra la relación de dos tipos de sitios en el suelo, en donde ocurren procesos de adsorción de tipo instantánea y no instantánea
V	Velocidad
Λ	Dispersividad

Abreviatura Término

Θ	Contenido volumétrico de agua
Ω	Coeficiente de transferencia

Introducción

Glifosato es una molécula herbicida de uso frecuente en las zonas agrícolas, empleada para el control no selectivo de malezas (Khan *et al.*, 2020). Al ser un herbicida no selectivo, de acción sistémica, el herbicida puede intervenir sobre el desarrollo de las especies vegetales con las cuales entra en contacto, independientemente si estas son o no cultivadas (Saunders y Pezeshki, 2015). Las formulaciones herbicidas con base en esta molécula se han incrementado con la introducción de cultivos genéticamente modificados (Rizzaldi y Silva, 2014).

En Colombia, glifosato es utilizado en diversos cultivos, entre los cuales se encuentra el arroz, uno de los principales productos agrícolas del país, que se produce principalmente en los departamentos de Tolima, Meta y Casanare (Fedearroz, 2020). Desde la competitividad ejercida por las malezas, este es un cultivo de baja habilidad competitiva, lo que implica mayor susceptibilidad a pérdidas por presencia de plantas indeseadas (Zimdahl *et al.*, 2007), que interfieren debido al desarrollo de procesos de competencia, alelopatía, modificaciones de nicho, entre otros (Radosevic *et al.*, 2007). Como consecuencia el manejo de malezas se convierte en una actividad clave para el proceso de producción, y es frecuentemente enfocada hacia la implementación de prácticas agrícolas que involucran el uso de herbicidas de síntesis química en fases de presembrado, preemergencia y postemergencia del cultivo.

En el manejo previo al establecimiento del cultivo es frecuente la ejecución del proceso de falsa siembra; práctica que implica la inducción de la germinación de los bancos de semillas mediante preparación del terreno y la inundación temporal del mismo. Posterior a esto, se realizan aplicaciones de herbicidas no selectivos como glifosato, cuya dosis más frecuente es de 1920 g de ingrediente activo en formulación comercial ó el equivalente 4L de producto formulado por ha⁻¹. Esta última práctica suele replicarse, dependiendo de la infestación de las poblaciones de malezas, por lo que es posible

encontrar casos en los cuales se han descargado hasta 12 L del herbicida por ciclo de cultivo en un lote. Después de la aplicación del herbicida, se realiza la siembra del cultivo de arroz, la cual suele hacerse al voleo o con sembradora. Luego de realizada la siembra, se mantiene el suelo saturado de agua, favoreciendo la germinación de la semilla y el establecimiento del cultivo. Los riegos se realizan según la costumbre de producción en la zona, pudiendo ser por inundación, aplicando riegos por gravedad o mojes (Degiovanni *et al.*, 2010; Bustos, 2010).

Glifosato es una molécula que presenta una alta afinidad con los componentes del suelo, matriz en la que tiende a adherirse con rapidez, para posteriormente disiparse. Sin embargo, en esta matriz, el herbicida presenta un comportamiento variable, dependiendo de sus interacciones con las partículas (que a su vez dependen de sus características fisicoquímicas), las condiciones climáticas (humedad y temperatura) y el uso del suelo, parámetros que definirán la dirección y magnitud de los procesos asociados al destino ambiental de la molécula (Bott *et al.*, 2011; Cobb y Reade, 2010). Adicionalmente, la interacción con diversos agentes bióticos y abióticos incide en su biodisponibilidad y relación con especies vegetales no objetivo, debido a la posibilidad de re-movilización del herbicida, proceso influenciado por su capacidad de adsorción del suelo, la carga aniónica en el sistema y la presencia de agua circulante (Gomes *et al.*, 2015; Bott *et al.*, 2011; Borggaard *et al.*, 2012).

Las condiciones de producción del cultivo de arroz, que incluyen el uso de fertilizantes fosfatados y de agua sobresaturando el suelo, son consideradas apropiadas para fomentar la removilización del herbicida, por lo que surge el interés de identificar la biodisponibilidad de la molécula en la fase soluble del suelo y en la zona de rizosfera, y así evaluar el impacto no cuantificado, hasta el momento, en el sistema del cultivo.

En Colombia, se han desarrollado investigaciones acerca de la dinámica ambiental del glifosato enfocada a la degradación de este en presencia de microorganismos (Figuerola del Castillo *et al.*, 2010; Cuervo y Fuentes 2014), y la persistencia del herbicida, investigaciones realizadas por Cuervo (2007) y Bustos (2012) quienes señalan la persistencia de la molécula en predios arroceros, particularmente Bustos (2012) reporta el aumento de glifosato y AMPA en agua y suelos de cultivos de arroz, en días posteriores a la fertilización fosfórica. Sin embargo, se desconocen los mecanismos en

los que se produce esta biodisponibilidad, el papel del fosfato sobre el proceso y el efecto de sobre el desarrollo del cultivo.

Enmarcado en estos antecedentes, se planteó ejecutar un proyecto, en el cual se caracterizara la capacidad de adsorción-desorción, lixiviación y mineralización de glifosato en tres suelos agrícolas arroceros (provenientes de los departamentos del Tolima en los municipios de Saldaña y Espinal y Meta en el municipio de Villavicencio), en presencia y ausencia de fosfatos, y se evaluó, en condiciones controladas, considerando el arroz como planta bio-indicadora, el efecto de las cantidades desorbidas del herbicida sobre el desarrollo fisiológico de esta especie, utilizando para estos estudios técnicas radiológicas, espectrofotométricas y de evaluación fisiológica.

Esta disertación doctoral está estructurada en cuatro capítulos. El primero muestra los resultados asociados al estudio de los procesos de adsorción y desorción del herbicida en los suelos arroceros seleccionados, así como el efecto de la adición y orden de adición de fertilizantes fosforados. El segundo, expone el estudio del movimiento vertical y sobre la mineralización del herbicida empleando columnas de suelo empacadas, así como el efecto de la adición de fertilizantes fosforados. El tercero presenta los resultados del efecto de la exposición vía radicular a subdosis del herbicida glifosato sobre el metabolismo de la planta, en condiciones de hidroponía. El cuarto se centra en el efecto de la aplicación de glifosato al suelo sobre el crecimiento y metabolismo de plantas de arroz, y por quinto, se presentan las conclusiones generales del documento.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar el efecto de la fertilización fosfórica sobre la biodisponibilidad del herbicida glifosato en suelos de cultivo de arroz y el riesgo asociado a la interacción con plantas cultivadas.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la adición y orden de adición de Fosfato Mono Amónico (MAP) sobre la adsorción y desorción de glifosato técnico y formulado en tres suelos arroceros de Colombia (inceptisoles).
- Determinar el efecto del MAP sobre el movimiento, mineralización, formación de Residuos ligados de glifosato en columnas empacadas de suelos inceptisoles procedentes de cultivo de arroz.
- Caracterizar el efecto de la exposición radicular a glifosato y de fosfato-glifosato sobre el crecimiento, desarrollo y metabolismo de plantas de arroz.
- Evaluar los efectos de adicionar glifosato y MAP sobre el desarrollo del cultivo en tres suelos arroceros.

Metodología general

El trabajo se desarrolló en los laboratorios de Malherbología, Química Agrícola e invernadero del Departamento de Química de la Universidad nacional de Colombia, sede Bogotá.

Suelos: Para la ejecución de este se utilizaron muestras de tres suelos provenientes de predios arroceros, a los cuales se les realizaron las determinaciones de propiedades fisicoquímicas y mineralógicas. Las localidades a las que pertenecen las muestras de suelos fueron de los municipios de Saldaña ($3^{\circ}54'47''\text{N}$ y $75^{\circ}0'19''\text{W}$) y Espinal ($4^{\circ}11'03''\text{N}$ y $74^{\circ}57'06''\text{W}$) en el departamento del Tolima y de Villavicencio ($4^{\circ}03'42''\text{N}$ y $73^{\circ}27'27''\text{W}$) en el departamento del Meta. En el capítulo 1 del presente documento se profundiza en las características fisicoquímicas y mineralógicas de estos suelos.

Glifosato: Durante el estudio se utilizó ^{14}C -glifosato y glifosato grado analítico ambos comercializados por Sigma Aldrich, y glifosato en formulación comercial 363 g L⁻¹ de ácido de glifosato, equivalente a 446g L⁻¹ de sal potásica de glifosato, nombre comercial Round up® activo.

Bioindicador: Semillas, plántulas y plantas de arroz n.c. *Oryza sativa*. Var. Fedearroz 80.

Cuantificación de glifosato: La cuantificación se realizó por métodos espectrofotométricos, requiriéndose el uso de sustancias analíticas como tetraborato de sodio, 9-fluoroenyl methoxycarbomoil cloro (FMOC-Cl), acetronitrilo y diclorometano (grado HPLC), KCl, HCl, KOH, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, NaOH, y un buffer borato (pH=9). El fundamento de la cuantificación fue la derivatización de glifosato con FMOC-Cl siguiendo el protocolo implementado por Waiman *et al.*, (2012) y la determinación por UV-VIS.

Cuantificación de ^{14}C -glifosato: Esta se realizó a partir de la medida de la actividad del radiomarcado presente en la solución. Utilizando para esto coctel de centelleo y un equipo Contador de centelleo Líquido. La exposición de radiación ionizante sobre la

molécula radioactiva produce la excitación y relajación de la molécula, dando origen a una fluorescencia cuantificable.

Cuantificación de ^{14}C -glifosato del suelo: Se realizó mediante combustión en Oxidador Biológico marca Harvey Corporation 0X-600®. El $^{14}\text{CO}_2$ desprendido se capturó en viales que contenían 20 mL de Carbosorb® y se llevó a cuantificación previa adición de 20 mL de coctel de centelleo líquido (Ultima Gold®).

Cuantificación de Ácido shikímico: La extracción se realizó mediante la inmersión de las muestras en nitrógeno líquido y ácido sulfúrico 0.25 N, posteriormente se indujo la oxidación del compuesto mediante la aplicación de ácido periódico, metaperiodato de sodio, hidróxido de sodio y sulfito de sodio, de acuerdo con la metodología propuesta por Gómez (2009).

Bibliografía

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Kania, A.; Eman, B.; Aslan, N.; Romheld, V.; Neumann, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilization. *Plant Soil* 342:249-263

Bustos, M. 2012. Destino ambiental del glifosato en una zona arrocera del Tolima, Colombia. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Cobb, A.; Reade, J. 2010. *Herbicides and plant physiology*. United Kingdom: John Wiley and Sons. 296p.

Cuervo, J. 2007. Interacción del glifosato (Roundup®) con la biota microbiana del suelo y comportamiento de este. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Cuervo, J. L., & Fuentes, C. L. (2014). Mineralización y adsorción del ¹⁴C-glifosato en muestras de tres tipos de suelo provenientes de El Espinal, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, 38(148), 287–297. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.129>

Gomes, M.; Maccario, S.; Lucotte, M.; Labrecque, M.; Juneau, P. 2015. Consequences of phosphate application on glyphosate uptake by roots: impacts for environmental management practices. *Science of The Total Environment* 537: 115–19.

Rizzaldi, M.; Silva, L. 2014. Manejo de plantas daninhas eudicotiledóneas na cultura da soja Round up Ready. *Planta Daninha*, 32(4) 683-697.

Waiman, C.; Macelo, J.; Mariano, G.; Fernández, B.; Zanini, G. 2012. A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media. Application to adsorption isotherms on soils and goethite. *Geoderma* 170:154-158.

Zimdahl, R. 2007. *Fundamentals of Weed Science*. Estados Unidos: Elsevier. 556p.

1. Capítulo 1. Efecto del Fosfato Mono Amónico (MAP) sobre la adsorción y desorción de glifosato en suelo

Resumen

Glifosato es una molécula de alta afinidad con el suelo que posee un grupo fosfónico, al igual que los fertilizantes fosforados, por lo que existe una gran similitud en como el herbicida y estos fertilizantes se pueden unir a las partículas del suelo y por tanto compiten por la unión a los sitios activos. El presente estudio se desarrolló para evaluar el efecto del orden de las adiciones de glifosato y Fosfato Mono Amónico (MAP) sobre la adsorción-desorción de glifosato utilizando muestras de tres suelos pertenecientes al orden inceptisol recolectados de campos de arroz colombianos, empleando dos tipos de soluciones de glifosato en 5 dosis y cuatro tipos diferentes de tratamientos. Las isotermas de adsorción y desorción de glifosato se evaluaron mediante el método de “batch equilibrium” y se modelaron utilizando la ecuación de Freundlich. La evaluación del K_d indica que la presencia del fosfato reduce la adsorción del herbicida en los suelos excepto en el T3 de A-GLYCS2 y F-GLYCS3. También se encuentra que el fosfato modifica la forma en la que se produce la adsorción en los suelos, desarrollándose procesos de competencia y difusión para acceder a sitios de adsorción menos expuestos. La histéresis evidencia que el proceso de adsorción es reversible y en la mayoría de los escenarios evaluados la adición del fosfato lo favorece, reiterando la alta afinidad por el fosfato en los suelos evaluados y la similitud de los mecanismos de adsorción y desorción de las dos moléculas. Para este estudio la movilidad del herbicida fue catalogada de escasa a ligeramente móvil. Por último, el orden de adsorción indica que la saturación previa de los puntos de intercambio con MAP favorece la posterior desorción del herbicida.

Abstract

Glyphosate is a molecule of high affinity with the soil that has a phosphonic group, like phosphorous fertilizers, so there is a great similarity in how the herbicide and these fertilizers can bind to soil particles and therefore compete for binding to active sites. The present study was developed to evaluate the effect of the order of the additions of glyphosate and Mono Ammonium Phosphate (MAP) on the adsorption-desorption of glyphosate using three inceptisols collected from Colombian rice fields, using two types of glyphosate solutions in 5 doses. and four different types of treatments. The adsorption and desorption isotherms of glyphosate were evaluated by the "batch equilibrium" method and modeled using the Freundlich equation. The presence of phosphate produces decreases in the adsorption percentages and in the way it occurs in soils, developing processes of competition and diffusion to access less exposed adsorption sites. The hysteresis shows that the adsorption process is reversible and in most of the evaluated scenarios the addition of phosphate favors it, reiterating the high affinity for phosphate in the evaluated soils and the similarity of the adsorption and desorption mechanisms of the two molecules. For this study the mobility of the herbicide was classified from low to slightly mobile. Finally, the order of adsorption indicates that the previous MAP saturation of the exchange points favors the subsequent desorption of the herbicide.

1.1 Introducción

1.1.1 Adsorción en suelo

Glifosato es una molécula zwitteriónica, que presenta grupos ácidos y básicos en su estructura química, los cuales corresponden a un grupo fosfónico, un grupo carboxilo y un grupo amino (Figura 1-1). Cuenta con cuatro constantes de disociación (Figura 1-2.) pK_{a1} : 0.78; pK_{a2} : 2.29; pK_{a3} : 5.96 y pK_{a4} : 10.98 (Franz *et al.*, 1997; Peixoto *et al.*, 2015). Estas propiedades le permiten interactuar con sustancias polares y coloides (Sánchez *et al.*, 2005). Según Roberts *et al.* (2007) la presencia de estos grupos funcionales permite al herbicida adsorberse fuertemente en los sitios activos del suelo, donde tendrían lugar procesos de intercambio iónico (Glass, 1987).

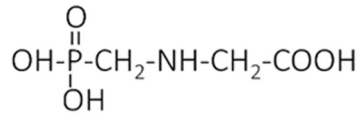


Figura 1-1: Estructura química de glifosato

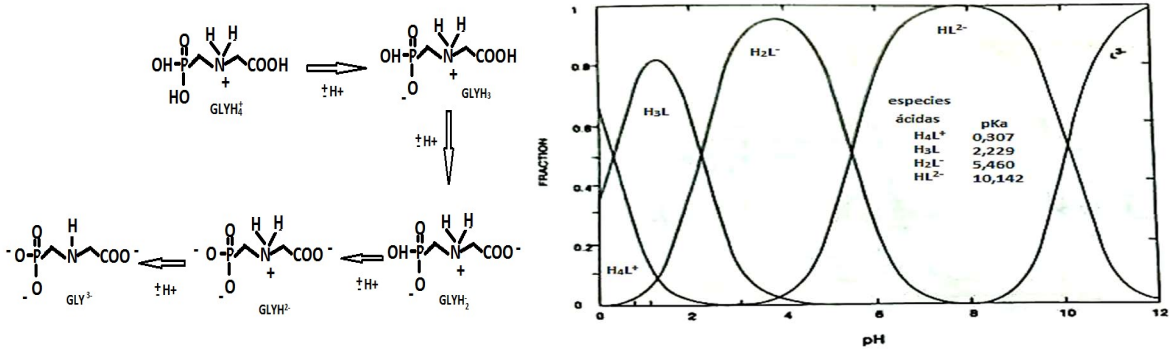


Figura 1-2: Equilibrios de las diferentes especies de glifosato en función del pH Tomado de Franz *et al.* (1997).

El proceso de adsorción en suelos varía dependiendo de su composición mineralógica (Sidoli *et al.*, 2016; Rivoira *et al.*, 2016). Borggaard *et al.* (2011) reportan que el grupo fosfónico del herbicida (H_2PO_4^-) forma enlaces con goetita, caolinita, illita y montmorillonita mediante el establecimiento de enlaces con los sitios activos superficiales externos de las arcillas. Waiman *et al.* (2016) describieron la formación de ligandos y complejos de esfera interna entre glifosato asociado a óxidos de Fe^{3+} y Al^{3+} , proceso en el cual el herbicida puede formar hasta tres enlaces O-P mediante el grupo fosfónico y uno O-C mediante el grupo amino. Estos enlaces O-P pueden ser enlaces monodentados ó bidentados (Tabla 1-1). Además, el herbicida puede formar complejos con cationes divalentes (Borggaard *et al.*, 2011), entre los cuales se han reportado manganeso (Huber, 2013), zinc, calcio, magnesio, cobre, cobalto, hierro, cromo y aluminio (Caetano *et al.*, 2012).

La adsorción del herbicida puede representarse a través de los valores del coeficiente de partición (K_d) y la constante de adsorción de Freundlich (K_{fa}), los cuales se encuentran en un amplio rango, puesto que dependen de condiciones específicas de evaluación, como por ejemplo el tipo de suelo y su composición mineralógica (Cáceres-Jansen *et al.*,

2019), la presencia de cationes divalentes en las superficies de las arcillas (Franz et al., 1997, Caetano *et al.*, 2012), del valor de pH (de Jonge *et al.*, 2001), o de condiciones de evaluación en las cuales se adicionan o no electrolitos como CaCl_2 en los ensayos (Mamy y Barriuso 2005). Para K_{fa} el rango se encuentra entre 0.015 y 1667 $\text{mg}^{1-na} \text{L}^{na} \text{kg}^{-1}$ como se presentan en la Tabla 1-2.

Tabla 1-1: Interacciones del grupo fosfónico de glifosato con óxidos de hierro en suelo. Tomado de Barja *et al.*, 2005.

Reacción de sorción/competencia
$\equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_6 + \text{PO}_3\text{H}^-\text{CH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{COO}^- \leftrightarrow \equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_5\text{PO}_3\text{HCN}_2\text{NH}_2+\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{OH}^-$
$\equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_6 + \text{H}_2\text{PO}_4^- \leftrightarrow \equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_5\text{PO}_4\text{H} + \text{OH}^-$
$\equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_6 + \text{PO}_3^{2-}\text{CH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{COO}^- \leftrightarrow \equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_4\text{PO}_3\text{CH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{OH}^-$
$\equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_6 + \text{HPO}_4^{2-} \leftrightarrow \equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_4\text{PO}_4\text{H} + 2\text{OH}^-$
$\equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_4\text{PO}_3\text{CH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{HPO}_4^{2-} \leftrightarrow \equiv\text{Fe}_2(\text{OH})_4\text{PO}_4\text{H} + \text{PO}_3^{2-}\text{CH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{COO}^-$

Estudios anteriores muestran que algunos compuestos pueden interferir en el proceso de adsorción del herbicida en el suelo, por ejemplo, el agua presente en la solución del suelo reduce la adsorción de glifosato debido a su alta afinidad con las partículas del suelo y a que glifosato es una molécula relativamente soluble (Franz *et al.*, 1997). Otro interferente en el proceso de adsorción son los compuestos fosfatados, los cuales compiten con el grupo fosfónico de glifosato por la unión a los sitios activos del suelo (Barja *et al.*, 2005; Borggaard *et al.*, 2011). Esta interferencia incrementa de manera proporcional con la carga iónica en el sistema, produciendo mayor saturación y menor disponibilidad de los puntos de intercambio para retener el herbicida (Munira *et al.*, 2018). Además de esta competencia también se ha probado la posibilidad de formación de complejos en los cuales coexisten glifosato y el MAP en los sitios de intercambio del suelo (Prata *et al.*, 2003; Waiman *et al.*, 2013), con la formación de complejos bidentados como se muestra en la Tabla 1-1 (Barja *et al.*, 2005).

El impacto de fosfato sobre la adsorción del glifosato también ha sido investigado por autores como Dion *et al.* (2001), quienes concluyen que los minerales predominantes en las arcillas son un factor fundamental para predecir la sorción de glifosato/fosfato en sistemas de bajos contenidos de carbono orgánico. Diversos experimentos de laboratorio

han demostrado que la capacidad de adsorción del glifosato en suelos disminuye cuando se aplica junto con fosfato (Gimsing *et al.*, 2007; Gimsing y Borggaard, 2007; Kanissery *et al.*, 2015). Gimsing *et al.* (2004) indican que la adsorción se puede ver afectada por el orden de adición del sorbato al suelo, pudiéndose también generar efectos en la cinética de adsorción debidos a las cantidades de glifosato y fosfato adsorbido y la competencia por los sitios activos del suelo.

Tabla 1-2: Valores de coeficientes de adsorción reportados por algunos autores.

Tipo de suelo	$K_{fa} \text{ mg}^{1-na} \text{ L}^{na} \text{ kg}^{-1}$	Autor
Franco limoso arcilloso	50.3	Yu <i>et al.</i> , 2005
Franco limoso	42.1	
Arcillo limoso calcáreo	32.9	Mamy y Barriuso, 2005
Franco arenoso	41.9	
Franco arenoso	60.5	
Franco arenoso	276	
Franco arenoso	78.9	De Jonge <i>et al.</i> , 2001
Arenoso	59	
Arenoso	93	Candela <i>et al.</i> , 2007
Arenoso	40	Bergstrom <i>et al.</i> , 2011
Arcilloso	118	
Arcilloso	839	Kogan <i>et al.</i> , 2003
Franco limoso	0.015	
Franco limoso arcilloso	1667	
Franco	93.99	Liu <i>et al.</i> , 2010
Arcilloso	89.31	
Arenoso	61.05	
Franco arenoso	34	Sidoli <i>et al.</i> , 2005
Franco arenoso	540	
Franco arenoso	143	
Arcillo limoso	9.4	Caceres Jansen <i>et al.</i> , 2019
Franco arcillo limoso	22.9	

1.1.2 Desorción en suelos

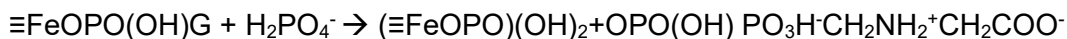
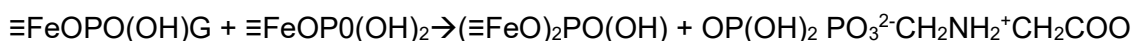
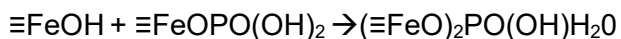
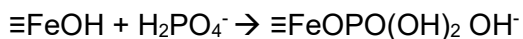
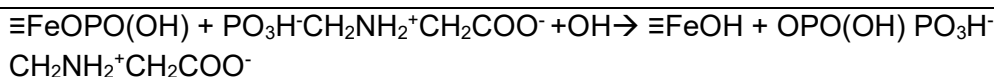
A pesar de la alta afinidad del herbicida por las partículas del suelo, investigaciones desarrolladas por autores como Strange-Hansen *et al.* (2004) y Gimsing *et al.* (2007) indican que la adsorción de la molécula glifosato es reversible, lo que significa la posibilidad de una nueva disponibilidad del herbicida en la fase soluble del suelo (Vereecken *et al.*, 2005). Maqueda *et al.* (2017) indican que los valores de desorción del herbicida son variables y dependientes de las condiciones específicas del sistema en el cual se halla inmerso. La desorción estaría ligada a: a) los cambios de pH en el medio, ya que al aumentar el pH ocurre progresivamente una desprotonación de la molécula (figura 1-2; Tabla 1-3) (Waiman *et al.*, 2012); b) incrementos de agua en el suelo, proceso que se asocia a la alta afinidad del herbicida por el agua (Franz *et al.*, 1997), a la posibilidad de formación de una malla de líquido alrededor de las moléculas de glifosato y al desarrollo de interacciones polares que favorecen la desorción desde el suelo (García-Colin *et al.*, 2008) y c) el aumento de cargas aniónicas (Barja *et al.*, 2005), fenómeno que en la producción agrícola ocurre cuando se agregan fertilizantes fosfatados (Navarro, 2010) y los cuales tienen un menor tamaño molecular que el herbicida y una mayor afinidad por algunos de los coloides del suelo, formando hasta 4 enlaces O-P, lo que le confiere una mayor estabilidad y fuerza de adsorción en relación con el adsorbente (Borggaard *et al.*, 2011). De ahí que esta adición induzca un desplazamiento del glifosato previamente adsorbido debido a un remplazo molecular (Bott *et al.*, 2011).

Gimsing y Borggaard (2007) reportan que la adición de glifosato a suelos y posteriores adiciones de fosfato generan la desorción de pequeñas cantidades del herbicida (del orden de 10 mmol kg⁻¹). Igualmente, Waiman *et al.* (2016), empleando goetita sintética, para evaluar la adsorción del glifosato y la relación de la adición de iones fosfato (PO₄³⁻), reportan que en este mineral se producen desorciones altas o bajas de glifosato, dependientes de la saturación previa del adsorbato. Estos mismos autores reportan desorción inducida por el fosfato, cuantificando pequeñas cantidades desorbidas cuando no hay una saturación de los puntos de intercambio iónico, mientras que en dosis altas que saturan el suelo, se pueden generar las desorciones de mayores cantidades debido a la adición del fosfato. El desplazamiento del herbicida estaría asociado a la formación de complejos monodentados, que evolucionan a complejos bidentados en el caso del

compuesto de fosfato-goethita, según las reacciones planteadas en la Tabla 1-3 (Waiman *et al.*, 2013).

Tabla 1-3: Reacción de desplazamiento de glifosato en goetita, debido a la adición de fosfato. Tomado de Waiman *et al.*, 2013.

Reacción de sorción/competencia



1.1.3 Evaluación de las características de adsorción-desorción

La transferencia de una sustancia desde una fase móvil a una fase sólida es un fenómeno que puede ser estudiado mediante la obtención de curvas de retención ó isothermas de adsorción, puesto que estas describen la retención de una sustancia en un medio (Limousin *et al.*, 2007). El método habitual para evaluar la retención de moléculas en condiciones de laboratorio y la obtención de las isothermas implica el uso de la técnica de ensayos en "Batch equilibrium" (OECD, 2000), por lo anterior se puede determinar la concentración adsorbida/desorbida de un soluto, con relación a una concentración inicial y los coeficientes de distribución del soluto.

Giles *et al.* (1974) proponen que en el modelado de las isothermas es posible que se presenten cuatro formas de adsorción denominadas isothermas C, L, H y S. Las isothermas tipo C relacionan un proceso de adsorción lineal, descrito mediante el coeficiente de partición K_d definido por la Ecuación 1-1.

$$K_d = Q_s / C_e$$

(1-1)

Donde, Q_s es la concentración de sustancia adsorbida en el suelo, en el tiempo de equilibrio (mg kg^{-1}); C_e es la concentración en equilibrio (mg L^{-1}) y K_d es el coeficiente de distribución de Herbicida suelo/agua (L Kg^{-1}).

Las isothermas tipo L son de forma cóncava y corresponden a un proceso en el cual la relación entre la concentración en solución y la concentración adsorbida decrece en la medida que aumenta la concentración inicial, indicando una saturación progresiva de la fase sólida. Las isothermas tipo H reflejan una alta afinidad del analito por la fase sólida, de modo que la pendiente presenta valores altos. En las isothermas tipo S se forman curvas sigmoidales con punto de inflexión, donde la adsorción tiene lugar por capas, produciéndose la saturación de la primera, con posibilidad de formación de una segunda capa de adsorción (Damonte *et al.*, 2007; Giles *et al.*, 1974). En el caso de los plaguicidas, el modelo que tiende a ser más utilizado es el de Freundlich, el cual está representado por la ecuación (Ecuación 1-2),

$$Q = K_{fa} C_e^{1/n} \quad (1-2)$$

En donde, Q es la concentración de sustancia adsorbida en el suelo, en el tiempo de equilibrio (mg kg^{-1}), C_e es la concentración en equilibrio (mg L^{-1}), K_{fa} es el coeficiente de adsorción de Freundlich ($\text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$), $1/n$ es el exponente empírico de Freundlich relacionado con la linealidad de la isoterma.

Partiendo de la ecuación del modelo de Freundlich es posible determinar el índice de histéresis (Ecuación 1-3), el cual relaciona la reversibilidad del proceso de adsorción en el sistema y que es definido como:

$$H = nd/na \quad (1-3)$$

En donde, nd es $1/n$, el exponente empírico de Freundlich (Ecuación 1-4), para la desorción y na es $1/n$ exponente empírico de Freundlich (Ecuación 1-4), para la adsorción. En la práctica, los valores de $H < 0.7$ presentan histéresis (Barriuso *et al.*, 1994).

A su vez, partiendo de los valores de K_d es posible determinar los valores de Log de Koc, (OECD, 2000):

$$\text{Log } K_{oc} = \log(kd * (100 / \%CO)) \quad (1-4)$$

Donde K_{oc} es el coeficiente de distribución suelo-agua ó K_d normalizado a carbono organico (mL g^{-1} ó L kg^{-1}) y $\%CO$ es el porcentaje de Carbono Orgánico del suelo ($\text{g CO } 100 \text{ g}^{-1}$ de suelo).

A partir de **Log K_{oc}** es posible estimar la movilidad de cualquier molécula en un suelo y su impacto como contaminante FAO (2000) (Tabla 1-4).

Tabla 1-4: Clasificación de la movilidad de compuestos en suelos con relación a Log K_{oc} según FAO (2000).

Log K_{oc}	Clasificación
< 1	Sumamente móvil
1–2	Móvil
2–3	Moderadamente móvil
3–4	Ligeramente móvil
4–5	Escasamente móvil
> 5	No es móvil

1.2 Justificación

El impacto de los fertilizantes fosforados sobre la adsorción y desorción de glifosato en condiciones de trópico no ha sido lo suficientemente investigado, puesto que la gran mayoría de estudios sobre esta interacción de glifosato con el ambiente se han realizado en zonas templadas, y estos datos, no son extrapolables ya que la diferencia entre las condiciones tropicales y las de la región templada dan origen a diferentes tipos de suelos y sus propiedades, y por tanto, interacciones diferentes entre los solutos presentes en el medio. Algunos de estos trabajos en suelos tropicales se han desarrollado en Brasil (Prata *et al.*, 2003; da Cruz *et al.*, 2007) y Tanzania (Gimnsig *et al.*, 2007), pero la mayor parte de la información se relaciona a oxisoles y con respecto a inceptisoles la información es muy limitada. Existe por tanto un vacío de información en los suelos colombianos utilizados en el cultivo de arroz, los cuales generalmente son inceptisoles y donde la

aplicación de glifosato y fertilizantes fosforados es habitual. Por otra parte, la gran mayoría de los estudios se realizan con glifosato técnico sin tener en cuenta los aditivos de las formulaciones, de ser considerados estos componentes sería posible acercarse más a las condiciones reales de campo. Estudios realizados con diferentes formulaciones comerciales de glifosato indican modificaciones en la adsorción del herbicida (Langaro *et al.*, 2020) puesto que estas contienen aditivos que cuentan con sus propios mecanismos y dinámicas de adsorción, como es el caso del POEA (Franz *et al.*, 1997; Tush *et al.*, 2013), ocasionando alteraciones en las interacciones del herbicida con el suelo, hecho que se ha reportado también para otras sustancias como el Triticonazol (Beigel y Barriuso, 2000).

Por lo expuesto anteriormente, esta investigación pretende generar nueva información acerca de la evaluación de la adsorción y desorción del glifosato en tres suelos tropicales arroceros (todos inceptisoles), en presencia o ausencia de MAP, así como evaluar el efecto del orden de adición de sorbatos en cuatro diferentes escenarios (tratamientos) y la influencia de la presencia de aditivos de una formulación (Roundup®).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la adición de MAP sobre la adsorción y desorción de glifosato técnico y formulado en tres suelos arroceros de Colombia (inceptisoles).

1.3.2 Objetivos específicos

- Comparar la adsorción-desorción de glifosato técnico y formulado en tres suelos de cultivos de arroz en Colombia.
- Evaluar el efecto del orden de adición de glifosato y fertilizantes fosforados (MAP) sobre la adsorción-desorción del herbicida técnico y formulado en tres suelos de cultivo de arroz.

1.4 Materiales y métodos

1.4.1 Suelos

Para el desarrollo de este trabajo de investigación se emplearon tres muestras compuestas, constituidas por 20 submuestras provenientes de la capa arable de cada predio, las cuales provenían de dos departamentos colombianos, que fueron clasificadas de acuerdo con la USDA taxonomic norms (Soil Survey Staff, 2010). El primer suelo corresponde a la región del Espinal (Tolima), con coordenadas 4° 11' 29.28" N y 74° 57' 36.30" W N clasificado como Typic Ustorthept (CS1), el segundo proveniente de la región de Saldaña (Tolima), con coordenadas 3° 55' 36.88"N y 74 ° 1' 3.49"W, también clasificado como Typic Ustropept (CS2) y el último suelo, proveniente de la región de Villavicencio en el Meta, con coordenadas 3' 28.4"N y 73° 28' 1.52" W, clasificado como Umbric Tropept (CS3). Las muestras de suelos fueron secadas al ambiente, tamizadas en criba de 2mm y homogeneizadas.

A todas las muestras de suelos se les realizó análisis mineralógico y de propiedades fisicoquímicas, los resultados están consignados en la Tabla 1-5. Las metodologías utilizadas en el análisis fueron: Textura de acuerdo con método de Bouyoucos (Bouyoucos, 1962); pH en relación suelo-agua 1:2; contenido de carbono orgánico (C.O.) mediante el método de Walkley-Black (Walkley y Black, 1934); fósforo disponible en el suelo (P) por Bray II (Bray y Kurtz, 1945). Capacidad de Intercambio Catiónico (C.I.C.), mediante el método de acetato de amonio 1M a pH = 7 (Chapman, 1965). Ca, K y Mg mediante extracción de bases con acetato de amonio 1M a pH = 7 y cuantificación por Absorción Atómica-llama (AA); Fe y Mn mediante extracción con DTPA (ácido dietilentriaminopenta acético) y cuantificación por (AA). Para el análisis mineralógico se empleó difracción de rayos X e interpretación por difractor (modelo EMPYREAN, PANalytical).

Se analizaron también los posibles contenidos iniciales de glifosato en cada suelo, mediante método espectrofotométrico en medio acuoso (espectrofotómetro Thermo Genesys 10™), desarrollado por Waiman *et al.* (2013), el cual indicó cantidades No Detectables (N.D.) del herbicida en los suelos.

Tabla 1-5: Propiedades fisicoquímicas y mineralógicas de los suelos

	CS1	CS2	CS3
pH	5.9	5.7	4.6
ρ_d (g/cm³)	1.24	1.4	1.21
C.I.C. (cmol⁺kg⁻¹)	12.1	12.2	13.2
C.O. (%)	1.1	1.1	0.08
Aluminio intercambiable (cmol⁺kg⁻¹)	0.2	0.2	1.15
P (mg Kg⁻¹)	24.07	5.35	18.64
Ca (meq 100 g⁻¹)	3.6	2.58	1.96
Mg (meq 100 g⁻¹)	0.63	0.68	0.16
K (meq 100 g⁻¹)	0.18	0.61	0.85
Fe (mg Kg⁻¹)	71.7	144	61.5
Mn (mg Kg⁻¹)	17.5	18.7	2.40
Arena (%)	30.5	31.6	20
Limo (%)	19.6	19.5	31.9
Arcilla (%)	49.9	48.9	48.1
Clorita (%)	14.5	23.1	19.2
Mica (%)	9.6	28	-
Anfiboles (%)	10.2	-	-
Caolinita (%)	43.2	30.6	54.3
Lepidocrita	<1	-	-
(Óxidos de Fe) (%)			
Cristobalita (%)	2.2	2.2	9.2
Cuarzo (%)	11.6	10.8	6
Feldespatos (%)	2.1	4.5	4.3
Halita (%)	5.2	-	-
Hematita (%)	<1	-	-
Dolomita (%)	-	<1	-
Pirofilita (%)	-	-	4.4
Calcita (%)	-	-	2.6

1.4.2 Reactivos

Se emplearon tres fuentes ó formulaciones de glifosato: 1) N-fosfonometil glicina grado analítico 99% (A-GLY) de Sigma®aldrich; 2) RoundUp® (F-GLY) en formulación de sal potásica de N-fosfonometil glicina en concentración de 480g L⁻¹ equivalentes a 363g de N-fosfonometil glicina y 3) ¹⁴C- N-fosfonometil glicina (¹⁴C-GLY) con una actividad 1.8mCi mmol Sigma®aldrich. La fuente de fertilizante utilizada fue fosfato mono amónico (MAP) al 99.3% de J.T. Baker. Otros reactivos utilizados en las diferentes fases analíticas fueron Borato sódico Merck, F-moc Cl al 97% de Sigma Aldrich, acetonitrilo 99.9% y diclorometano de Merck millipore 99.8% y Coctel de centelleo líquido Ultima Gold®.

1.4.3 Ensayos de adsorción-desorción en suelos

Cinética. Inicialmente fueron evaluadas las cinéticas de adsorción del herbicida, que permiten calcular el tiempo de equilibrio de glifosato entre la fase sólida y líquida. Para ello se tomaron por triplicado 2 g de cada suelo a estudiar y se colocaron en tubos de centrifuga Nalgene® de 50 mL a los cuales se les añadió 10mL de solución de glifosato en grado analítico y glifosato radiomarcado. La concentración final en suelo fue de 3.6583 mg de glifosato kg⁻¹ y 167Bq kg⁻¹. Esta dosis de herbicida fue calculada con base en la dosis de campo (D), la cual equivale a 4 L ha⁻¹ de Roundup ha⁻¹, teniendo en cuenta una profundidad de suelo de 15 cm y los valores de densidad aparente. Las muestras se agitaron a 20±1°C y la adsorción de glifosato fue evaluada a 3, 6, 12, 24 y 48 horas. Para cada tiempo de muestreo, las muestras fueron centrifugadas por 30 min a 1100 g, y posteriormente se tomaron alícuotas de 20 µL del sobrenadante que se mezclaron con 5 mL de coctel de centelleo líquido en viales de Picoglass® y se agitaron durante 1 min en vortex. La actividad del ¹⁴C-GLY fue determinada en un Contador de Centelleo Líquido (CCL) Perkin Elmer modelo Tri Carb 2910TR.

Isotermas de adsorción. Para la obtención de las isotermas de adsorción del herbicida (que muestra la cantidad de sustancia adsorbida, frente a la concentración en equilibrio en el líquido a diferentes concentraciones) se utilizó la técnica de "Batch equilibrium" (OECD, 2000) en condiciones de oscuridad y a 20±1°C. No se utilizaron electrolitos de fondo debido a que estudios previos indican que glifosato puede generar enlaces adicionales

con elementos como el calcio (de Jonge *et al.*, 2001; Kogan *et al.*, 2003; Mamy & Barriuso 2007). El tiempo de agitación fue de 24 h, de acuerdo con los resultados de los ensayos de cinética.

En cada isoterma se emplearon cinco concentraciones del herbicida A-GLY: D/4; D/2; D; 2D; 3D, siendo D la dosis equivalente a 4 L ha⁻¹ de Roundup, como se explicó anteriormente, la cual es una de las dosis recomendadas para el control de malezas.

Los ensayos de adsorción fueron realizados para los tres tipos de suelo y se utilizaron diferentes combinaciones de A-GLY, ¹⁴C-GLY y MAP. Estas combinaciones fueron: i) T1: 2 g de suelo en mezcla con 10 mL de solución de A-GLY de las 5 diferentes concentraciones arriba mencionadas, cada una conteniendo 333 Bq mL⁻¹ ¹⁴C-GLY; ii) T2: 2 g de suelo con 0.183 mg de MAP (previamente homogeneizados e incubados por tres días) que se pusieron en contacto con 10 mL de las 5 diferentes concentraciones arriba mencionadas, cada una conteniendo 333Bq mL⁻¹ ¹⁴C-GLY + A-GLY ; iii) T3: 2 g de suelo fueron mezclados con 10 mL de A-GLY en las 5 diferentes mencionadas, cada una conteniendo 333Bq mL⁻¹ ¹⁴C-GLY más 18.3 mg MAP L⁻¹. La dosis por adicionar de MAP se determinó a partir de la dosis de fertilizante usada en el cultivo (60 kg ha⁻¹) teniendo en cuenta una profundidad de suelo de 15 cm y los valores de densidad aparente. Estos mismos tratamientos se replicaron, cambiando la formulación de A-GLY a la comercial, para la cual se utilizó el herbicida Roundup active® (F-GLY), de modo que este segundo grupo de tratamientos se realizó igualmente con la combinación F-GLY, ¹⁴C-GLY y MAP.

Los tratamientos simulaban diferentes escenarios, T1: cuando GLY es aplicado en el suelo sin adición de fertilizante; T2 cuando el fosfato es aplicado en el suelo antes que GLY y T3: cuando GLY es aplicado junto con fosfato. Este último escenario menos probable en campo, pero se plantea para entender mejor las interacciones entre ambos solutos en el suelo.

Después de la agitación se procedió a la cuantificación, para eso se tomó 1 mL de extracto acuoso y se mezcló, en viales de 20 mL picoglass®, con 5 mL de líquido de centelleo Ultima Gold®. Posteriormente las muestras se agitaron durante 1 min en vortex y se llevaron al equipo CCL (Perkin Elmer Try carb 2910TR) para cuantificación.

Desorción. Las desorciones se realizaron inmediatamente terminados los ensayos de adsorción sobre todos los suelos. Se retiraron todos los sobrenadantes y el residuo sólido remanente de la adsorción se puso en contacto con 10 mL de agua desionizada libre de herbicida en los tratamientos T1, T2, T3 y se planteó un tratamiento adicional en la desorción, T4, en el cual partiendo de una condición similar a la adsorción desarrollada para T1, se adicionó MAP en el primer ciclo de desorción. La dosis de MAP utilizada fue la equivalente a 60kg de MAP ha⁻¹ en una solución de 10mL de agua. Este último tratamiento o escenario correspondería a un escenario en el cual se aplica el GLY y posteriormente se aplica fosfato en el suelo. Estas muestras se llevaron nuevamente a agitación constante durante 24 h a temperatura de 20±1°C y posteriormente se centrifugaron durante 30 minutos a 10000 rpm. Las desorciones se repitieron en cinco ocasiones consecutivas. Las muestras fueron cuantificadas en CCL, como se explicó en las isotermas de adsorción.

Para la determinación de la cinética, como para la cantidad de herbicida adsorbido y desorbido en el suelo se calcularon las cantidades de herbicida a partir de la diferencia entre la concentración inicial y en equilibrio en solución y a partir de estos resultados se construyeron las isotermas de adsorción.

1.4.4 Tratamiento de datos y Análisis estadístico

Para la elaboración de las gráficas de las isotermas y los ajustes al modelo de Freundlich se empleó el programa Sigmaplot versión 12.5. El diseño estadístico para el tratamiento de los datos fue de tipo factorial con dos fuentes de glifosato (A-GLY y F- GLY), tres tipos de suelo (CS1, CS2 y CS3), cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4), cinco dosis por tratamiento (3D, 2D, D, D/2 y D/4) y tres repeticiones por tratamiento, lo que permitió la reducción de dimensiones y el reconocimiento de diferencias a distintos niveles (Casella *et al.*, 2008). De este modo se evaluaron diferencias: entre suelos, entre tratamientos y entre fuente de glifosato utilizada, así como la interacción entre suelos por tratamientos, suelos por fuente de glifosato y tratamiento por fuente de glifosato. Los datos que soportan estadísticamente los resultados, como son las salidas del ANOVA de las pruebas de comparación múltiple, se encuentran en mayor detalle en el Anexo A1.

Estos análisis estadísticos se desarrollaron para los datos obtenidos experimentalmente, los cuales corresponden al porcentaje de adsorción, porcentaje de desorción y a los valores estimados de los coeficientes n_a ; n_d y K_{fa} de Freundlich, K_d para la dosis D, $\text{Log } K_{oc}$ para la dosis D y la Histéresis del proceso (H), previa aplicación de las pruebas de homogeneidad de varianzas, normalidad y ANOVA acordes con el diseño factorial. Para la diferencia de medias se utilizó la prueba de Tukey y en el caso de las correlaciones, se utilizó la prueba de Pearson y el programa estadístico Statistix 8.0.

1.5 Resultados y discusión

1.5.1 Ensayos de Adsorción

Cinética. Previamente a la construcción de las isotermas de adsorción se calcularon los tiempos de equilibrio mediante la cinética del herbicida. Los resultados muestran que en las primeras 3 horas se produce la mayor adsorción del herbicida, la cual fue superior al 63% para CS2 y CS1 y al 80% para CS3. A las 24 horas posteriores al inicio de los ensayos los porcentajes de adsorción fueron de 76.48, 78.3 y 93.5% en CS1, CS2 y CS3 respectivamente. A las 48 h, las cantidades adsorbidas incrementaron en 0.74% para CS2, 0.55% en CS1 y 0.43% en CS3. El análisis estadístico indicó que no se presenta diferencia significativa entre los porcentajes cuantificados en los tiempos de 24 y 48 horas. A las 24 horas el análisis de desviación de los valores cuantificados entre las repeticiones son las más bajas en relación con los tiempos anteriores; por lo que se definió 24 horas como tiempo de equilibrio para las experiencias en “Batch equilibrium” (figura 1-3).

Las cinéticas de adsorción indican una rápida afinidad de glifosato con los minerales del suelo, este comportamiento ha sido previamente descrito por otros autores como De Geronimo *et al.* (2018) y Borggaard *et al.* (2005). Los procesos rápidos de sorción se asocian principalmente al desarrollo de interacciones superficiales con los minerales y la quelación del herbicida (Damonte *et al.*, 2007). En otros estudios los tiempos de equilibrio en la adsorción se reportan relativamente más rápidos, es el caso de Arroyave *et al.* (2016) quienes los sitúan en 6 horas o Maitre (2007) en 3 horas.

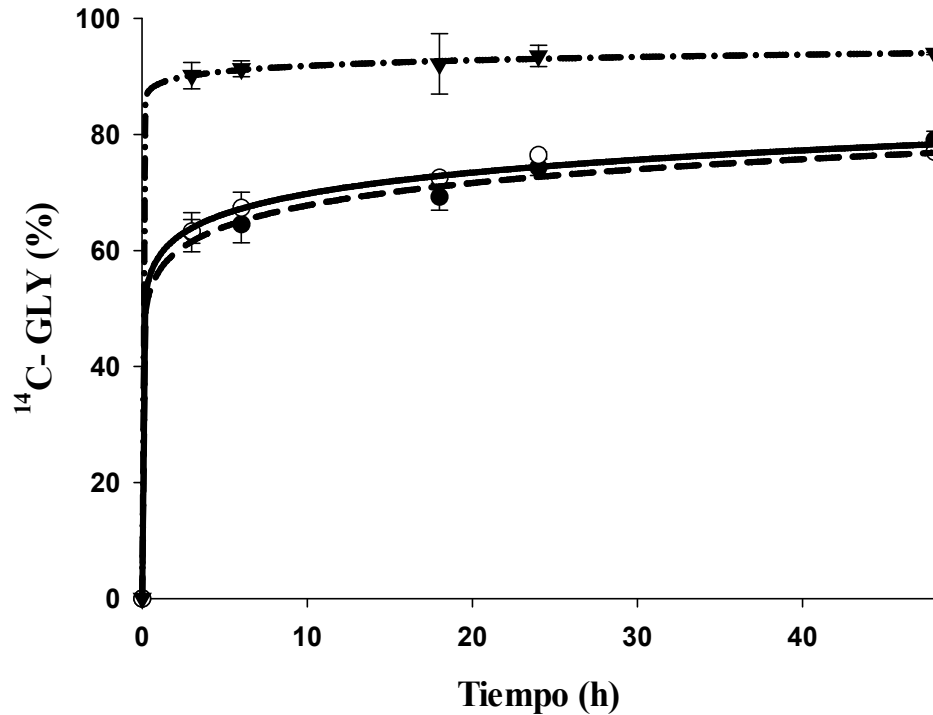


Figura 1-3: Cinética de adsorción del herbicida en suelos. —CS2; --- CS3; -- CS1

Adsorción. Una vez inducida la adsorción del herbicida para los suelos en estudio, se encontró que la adsorción estuvo en un rango entre el 86.53 y 99.37% en las condiciones evaluadas, indicando alta capacidad de adsorción de glifosato (Tabla 1-6). La mayor adsorción se cuantificó en A-GLYCS3T1 y la menor adsorción en A-GLYCS2T2. Los análisis estadísticos del promedio de los porcentajes de adsorción indican significancia en relación con la interacción suelo* formulación * tratamiento, encontrándose resultados estadísticamente diferentes con relación a la fuente utilizada en los tratamientos CS1T2, CS1T3 y CS3T2 en los cuales fue mayor la adsorción al utilizar A-GLY+ $^{14}\text{C-GLY}$ frente a F-GLY+ $^{14}\text{C-GLY}$ en los demás tratamientos los resultados fueron estadísticamente iguales (Tabla 1-6). Los resultados también muestran los mayores porcentajes de adsorción en CS3 en los tres tratamientos en los cuales se trabajó A-GLY (T1^a, T2^a y T3^a) y los menores porcentajes se cuantifican en F-GLYCS1T1^b, A-GLY y -FGLYCS2T2. Con relación a la tendencia en la adsorción se encuentra que esta presenta correlación negativa con relación al pH en los tres tratamientos evaluados (anexo A2).

Tabla 1-6: Porcentajes promedio para A-GLY y F-GLY de adsorción y desorción de todas las concentraciones, discriminado por tratamiento y suelo

Suelo	Tratamiento	A- GLY		F- GLY	
		Adsorción (%)	Desorción (%)	Adsorción (%)	Desorción (%)
CS1	T1	93.19 ± 4.09 ^{a A b}	19.16 ± 11.62 ^{b A b}	90.90 ± 1.76 ^{a B b}	15.37 ± 2.03 ^{c A a}
	T2	93.31 ± 3.92 ^{a A a}	25.75 ± 11.52 ^{b A a}	72.21 ± 1.36 ^{c B b}	27.13 ± 5.45 ^{b A a}
	T3	94.67 ± 3.41 ^{a A ab}	13.07 ± 13.48 ^{b A ab}	81.16 ± 1.52 ^{b B c}	17.40 ± 2.64 ^{cb A a}
	T4		40.14 ^{a A b}		50.512 ^{a A a}
CS2	T1	96.86 ± 1.94 ^{a A ab}	43.29 ± 3.90 ^{b A a}	92.32 ± 1.67 ^{a B a}	19.33 ± 2.54 ^{b B a}
	T2	86.53 ± 1.79 ^{b A b}	26.14 ± 8.69 ^{c A a}	87.22 ± 1.80 ^{b A a}	31.03 ± 5.51 ^{a A a}
	T3	90.71 ± 1.75 ^{b A b}	22.98 ± 3.14 ^{c A a}	88.96 ± 1.83 ^{ab A b}	12.08 ± 3.35 ^{c B ab}
	T4		56.01 ^{a A a}		24.134 ^{ab B a}
CS3	T1	99.37 ± 1.99 ^{a A a}	17.30 ± 0.32 ^{b A b}	94.77 ± 1.90 ^{a B a}	19.21 ± 9.22 ^{ab A a}
	T2	98.88 ± 1.94 ^{a A a}	7.39 ± 2.30 ^{c B b}	90.13 ± 1.56 ^{b B a}	21.35 ± 3.44 ^{a B a}
	T3	99.04 ± 1.94 ^{a A a}	7.37 ± 3.00 ^{c A a}	97.54 ± 1.92 ^{a A a}	12.08 ± 2.26 ^{b A b}
			40.144 ^{a A b}		24.134 ^{b B b}

^{1,2,3} 1^a letra corresponde a la correlación entre tratamientos para cada suelo, 2^a letra corresponde a la correlación entre tratamientos por formulación. 3^a letra (cursiva) corresponde a la correlación entre tratamientos para cada formulación.

Los resultados evidencian la alta afinidad del herbicida con los suelos evaluados en todos los tratamientos. Resultados concordantes por lo reportado por Bustos (2012) quien estudió la adsorción del herbicida en suelos arroceros, encontrando una alta afinidad de este con las arcillas presentes en los suelos. Los porcentajes de adsorción son consistentes con los reportados por Okada *et al.* (2016), quienes, en experimentos de laboratorio, utilizando una metodología similar a la empleada en este estudio, obtienen valores de adsorción de glifosato analítico entre el 72.4% y el 100%.

Los menores porcentajes de adsorción en la formulación comercial son asociables a la presencia de adyuvantes u otro tipo de sustancias inertes, puesto que modifican algunas de las características del proceso, por ejemplo, la formulación de sal potásica presenta un mayor tamaño molecular, lo que no favorece la asequibilidad a algunos puntos de intercambio del suelo (Langaro *et al.*, 2020). Los mayores porcentajes de adsorción observados en CS3, pueden estar asociados a las propiedades de este suelo y su composición mineralógica, puesto que tiene los mayores porcentajes de caolinita, las cuales han sido catalogadas como afines al proceso de adsorción con el glifosato (Munira *et al.*, 2018), además de que su valor de pH (Tabla 1-5) le permite mayor posibilidad de protonación de los minerales del suelo, lo cual favorece la formación y estabilidad de enlaces con el herbicida (Morillo *et al.*, 2000).

En el estudio (Tabla 1-6 y Anexo A1) se encuentra que estadísticamente la adsorción de MAP previa a la de glifosato disminuye las cantidades adsorbidas ($T2^b$) en relación con las observadas para CS1 y CS3 en FGLY y en CS2 en ambas formulaciones (Tabla 1-6). Resultados concordantes con lo reportado por investigadores como Dion *et al.* (2001), Barja *et al.* (2005), Laitinen *et al.* (2008) y Prata *et al.* (2003), los cuales muestran como la aplicación previa de fosfato produce la saturación parcial de los puntos de intercambio, en especial de aquellos puntos de más fácil acceso, lo que reduce el proceso de adsorción posterior del herbicida (Cáceres Hansen *et al.*, 2019).

Wang *et al.* (2005) estudiaron el efecto de los órdenes de adición del glifosato y fosfato sobre la adsorción del herbicida en suelos de carga variable y reportan como se desarrollan procesos de adsorción competitiva, los cuales afectan principalmente la adsorción del glifosato, debido a la alta afinidad del fosfato con los minerales del suelo. Sin embargo, estos autores reportan disminuciones significativas en la adsorción cuando

glifosato y fosfato son agregados simultáneamente, proceso que no se observa en este estudio, puesto que para el tratamiento T3, ambas moléculas se unen a los sitios de adsorción en el suelo y a pesar de que en algunos de los tratamientos es menor la adsorción del herbicida, no se observa diferencia estadística de este tratamiento en relación con T1, exceptuando a FGLYCS1T3. Este resultado señala la disminución en la adsorción del herbicida solo en algunos de los tratamientos evaluados, haciendo que el resultado no sea generalizable en este ensayo, e indica la coexistencia de glifosato y fosfato adsorbido en los suelos. Coexistencia que ha sido también reportada por autores como Waiman *et al.* (2012).

Los porcentajes de adsorción se correlacionan negativamente con el valor de pH (Anexo A2) en todos los tratamientos estudiados, resultado asociado a la posibilidad de protonación de los constituyentes del suelo a pH más bajos, favoreciendo la adsorción del herbicida debido a la carga iónica del mismo, relación reportada por diversos autores como de Jonge *et al.* (2001) ó Dollinger *et al.* (2015), los cuales indican que al aumentar el pH la adsorción disminuye en minerales como montmorillonita, bentonita y caolinita. Para caolinita se reportan cantidades adsorbidas del orden de $6.5 \pm 0.21 \mu\text{mol}$ de glifosato en pH 4; $5.13 \pm 0.09 \mu\text{mol}$ en pH 5; $5.109 \pm 0.3 \mu\text{mol}$ en pH 6 y $5.088 \pm 0.152 \mu\text{mol}$ a pH 7 (da Cruz *et al.*, 2007), esto indica que la protonación del suelo favorece la existencia de puntos a los cuales se puede adherir el herbicida y, por tanto, disminuye el desarrollo de procesos de competencia. Además, en pH inferior a 5.5 la presencia de Aluminio intercambiable (Tabla 1-5) también influye aumentando la adsorción de glifosato, proceso observable en CS3, relación que ha sido reportada por Caetano *et al.* (2012).

Es necesario mencionar que el valor de pH de los suelos estudiados está situado entre los valores de pK_{a2} y pK_{a3} de glifosato por lo cual, las diferencias de pH entre los suelos podrían afectar a los constituyentes del suelo y, aunque no significativamente, a la especiación del herbicida.

Isoterma de Freundlich. Las isotermas indican un buen ajuste al modelo de Freundlich ($R^2 > 0.87$) (Tabla 1-7 y Figura 1-4) con valores promedio para el ensayo de $1/n > 1$ en CS2^a (1.277 ± 0.16) y $1/n < 1$ en CS3^b (0.90 ± 0.19) y CS1^b (0.68 ± 0.05). Los valores de $1/n$ indican diferencias en la forma en la cual ocurre la adsorción del herbicida en los suelos. Cuando $1/n < 1$ la adsorción es tipo L, indicando un decrecimiento del fenómeno a medida

que aumenta la concentración inicial, señalando la saturación del adsorbato (Giles *et al.*, 1974).

Valores de $1/n > 1$ corresponden a isothermas tipo **S**; en este tipo de isoterma se desarrollaría el proceso de “adsorción cooperativa”, que muestra un punto de inflexión, el cual señala el momento en el que se genera el aumento en la capacidad de la adsorción (Limousin *et al.*, 2007) de modo que a dosis bajas del analito la adsorción ocurriría en un primer tipo de sitio y a medida que aumenta la concentración del herbicida, la saturación da paso a la adsorción en nuevos sitios. Cada tipo de sitios de las diferentes capas poseen diferentes niveles energéticos. Los niveles energéticos más bajos, son los primeros en ser ocupados. La existencia de estos diferentes niveles o capas permiten mayores cantidades adsorbidas y explican la forma de la isoterma (Pessagno *et al.*, 2008).

Los valores de K_{fa} obtenidos están comprendidos entre 4.84 ± 0.40 y 639.86 ± 30.01 ($\text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$) (Tabla 1-7), lo cual evidencia una alta variabilidad del parámetro. Los valores se encuentran en el rango de los obtenidos en estudios similares de diversos suelos entre los que sobresalen en orden cronológico: de Jonge *et al.*, 2001; Mamy y Barriuso, 2005; Candela *et al.*, 2007; Ghafoor *et al.*, 2012; Rampoldi *et al.*, 2014; Gomez-Ortiz *et al.*, 2017; Zhelezova *et al.*, 2017; Padilla y Selim, 2019; Gros *et al.*, 2017, De Geronimo *et al.*, 2018.

La interacción formulación por suelo por tratamiento, los valores de K_{fa} se presentan para A-GLY en CS1 en el orden $T3^a > T1^a > T2^a$, en CS2 en el orden $T1^a > T2^b > T3^b$ y en CS3 en el orden $T1^a > T2^{ab} > T3^b$; en F-GLY para CS1 en el orden $T1^a > T3^b > T2^b$, en CS2 en el orden $T3^a > T2^b > T1^c$ y en CS3 en el orden $T3^a > T1^b > T2^b$.

En relación con la formulación se encuentra que en T1, T2 y T3 de CS1 y en CS3T3 la formulación utilizada no genera diferencia estadística. En los demás suelos y tratamientos se observan diferencias estadísticas en donde A-GLY es mayor en CS2T1 y CS3T1 y T2, mientras que F-GLY se observa mayor en CS2T2 y CS2T3 (Anexo A1).

Tabla 1-7: Parámetros de las isotermas de adsorción de Freundlich para glifosato.

Suelo	Tratamiento	A- GLY			F- GLY		
		K_{fa} ($\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n}\text{kg}^{-1}$)	$1/n$	R^2	K_{fa} ($\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n}\text{kg}^{-1}$)	$1/n$	R^2
CS1	T1	14.39±1.37 ^{a B c}	0.54±0.03 ^{a A b}	0.99	45.77±8.22 ^{a A b}	0.53±0.07 ^{a A a}	0.99
	T2	13.53±1.88 ^{a A c}	0.53±0.05 ^{a B b}	0.98	4.84±0.40 ^{c B c}	1.11±0.05 ^{b A b}	0.99
	T3	23.27±4.93 ^{a A c}	0.69±0.08 ^{a A b}	0.99	10.61±2.45 ^{b B c}	0.70±0.12 ^{ab A b}	0.95
CS2	T1	639.86±30.01 ^{a A a}	1.00±0.12 ^{a A a}	0.97	29.9±3.41 ^{c B c}	0.79±0.04 ^{b A a}	0.99
	T2	55.58±14.1 ^{b B b}	1.25±0.11 ^{a A a}	0.99	179.19±79.46 ^{b A a}	1.55±0.17 ^{a A a}	0.98
	T3	45.79±28.6 ^{b B b}	1.02±0.24 ^{a A a}	0.97	468.48±41.6 ^{a A a}	1.72±0.33 ^{a A a}	0.96
CS3	T1	234.08±13.78 ^{a A b}	1.02±0.24 ^{a A a}	0.97	62.25±6.31 ^{b B a}	0.88±0.30 ^{a A a}	0.87
	T2	206.05±41.1 ^{ab A a}	0.79±0.11 ^{a A b}	0.89	16.72±0.92 ^{b B b}	0.69±0.02 ^{a A c}	0.99
	T3	188.73±3.18 ^{b A a}	1.12±0.36 ^{a A a}	0.92	149.32±6.35 ^{a A b}	0.88±0.10 ^{a A b}	0.98

^{1,2,3} 1era letra corresponde a la interacción entre tratamientos para cada suelo, 2ª letra corresponde a la interacción entre tratamientos por formulación. 3ª letra (cursiva) corresponde a la interacción entre tratamientos para cada formulación

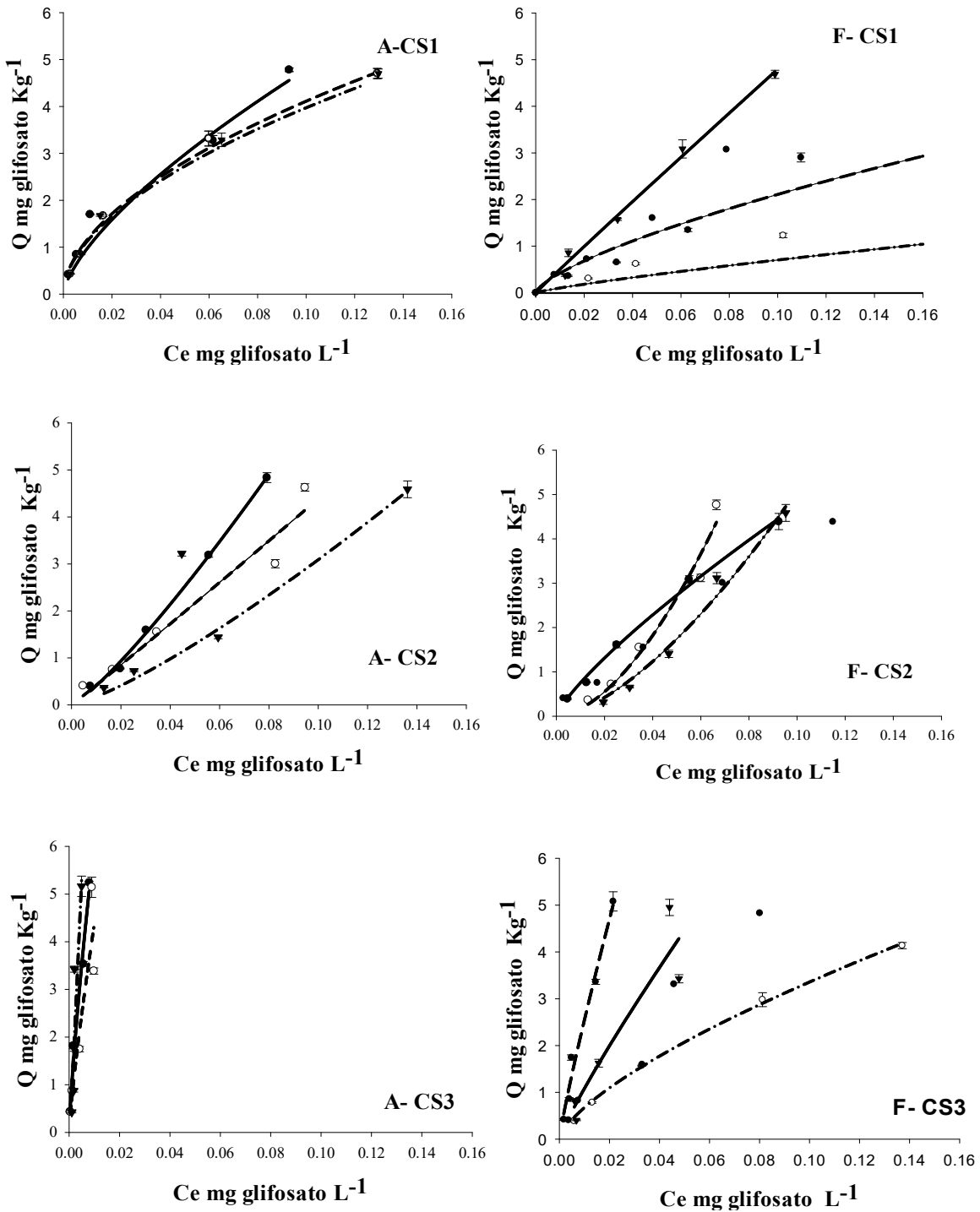


Figura 1-4: Isothermas de adsorción de Freundlich para los suelos en estudio A- corresponde a glifosato analítico y F- glifosato formulado. Para los suelos CS2; CS2 y CS3.

Estas diferencias observadas en los valores de K_{fa} indican que la presencia de sustancias disímiles al glifosato modifican la adsorción, presentándose variaciones estadísticas en relación a cuando se induce la adsorción del herbicida sin coadyuvantes o sustancias acompañantes -T1A-GLY^a-, si bien con mayor frecuencia la tendencia indica que el uso de sustancias acompañantes a la molécula no favorecen la fuerza de adsorción de la misma, este resultado no sería generalizable, puesto que se observan variaciones que relacionan la importancia de la mineralogía del suelo en el proceso de adsorción. Al respecto Franz *et al.* (1997), señala que la adsorción de glifosato puede verse afectada por la presencia de otras moléculas. Langaro *et al.* (2020) en un estudio de la adsorción y desorción de diferentes formulaciones de glifosato (R ready -sal de isoproil amina de glifosato-, R. ultra -glifosato amonio- y Zapp Qi -sal potásica de glifosato-) en mezcla con el herbicida Sulfentrazone, reportan modificaciones en los valores de K_{fa} de sulfentrazone, según la formulación del glifosato (K_{fa} sulfentrazone= 1.3; K_{fa} sulfentrazone + R Ready =2.1; K_{fa} sulfentrazone + RUltra=2.3 y K_{fa} sulfentrazone + Zapp Qi= 1.9). Estos autores relacionan dicha variación con las propiedades de los dos herbicidas y en el caso del glifosato, además con la presencia de los adyuvantes presentes en la formulación. Asimismo, se ha reportado interferencia negativa debido al tamaño molecular del formulado, el cual es mayor al del técnico, lo que dificulta el acceso a los puntos de intercambio que se encuentren menos expuestos en los minerales del suelo. Otra posibilidad de modificación en la adsorción del herbicida es la planteada por Beigel y Barriuso (2000), en donde los surfactantes acompañantes de las formulaciones de plaguicidas pueden afectar la adsorción indirectamente, debido a que favorecen la dispersión de los coloides del suelo y por tanto alteran sus propiedades físicas.

Al evaluar la interacción formulación por tratamiento por suelo, los valores de K_{fa} se presentan en A-GLY para T1 CS2^a>CS3^b>CS1^c, en T2 y T3 en el orden CS3^a>CS2^b>CS1^c; en el caso de F-GLY los resultados se observan para T1 de la forma CS3^a> CS1^b>CS2^c y para T2 Y T3 de la forma CS2^a>CS3^b>CS1^c. Indicando que el momento de adición del glifosato y el fosfato generan diferencias en los valores de K_{fa} del herbicida, las cuales se asociarían a las propiedades de cada suelo y la posibilidad de generar procesos de adsorción con las dos moléculas. Estas diferencias en los valores de K_{fa} están en concordancia con las encontradas por Dion *et al.* (2001), quienes señalan la

composición y propiedades del suelo como uno de los factores fundamentales en la modificación del valor de la fuerza de adsorción.

Los resultados muestran que, en la aplicación del fosfato junto con el herbicida (T3), se presenta la adsorción de este último, lo que señala el desarrollo de procesos de adsorción competitiva, implicando la ocupación de más sitios de adsorción de modo que no se producen disminuciones significativas en la adsorción. Al respecto, autores como Gimsing *et al.*, (2004) muestran que glifosato y el fosfato desarrollan procesos de adsorción independientes para las dos especies en los sitios del suelo, adicionalmente Waiman *et al.* (2012), reportan que en el desarrollo del proceso de adsorción es posible la formación de estructuras bidentadas en las cuales coexistan el glifosato y fosfato, las cuales pueden ser de poca estabilidad, debido a la mayor afinidad de los coloides del suelo por el fosfato (Borggaard *et al.*, 2011).

Los menores valores de K_{fa} observados en los tratamientos en los cuales se induce la adsorción preliminar del fosfato -T2-, (exceptuando F-GLYCS2T2) concuerdan con los obtenidos por de Jonge *et al.* (2001), quienes señalan que la aplicación del fosfato reduce significativamente la adsorción del herbicida, hasta en un 50% en un suelo que contiene predominantemente arcillas tipo 2:1. También se ha reportado que la adición de MAP puede disminuir la adsorción del herbicida en suelos de carga variable (Gimsing y Borggaard, 2007). Dion *et al.* (2001) y Cáceres Hansen *et al.* (2021) manifiestan que este proceso se debe a la asociación del MAP a los puntos de intercambio más asequibles en el suelo, ocasionando que glifosato tenga que reaccionar con puntos de más difícil acceso lo que puede llevar mayor tiempo para las cinéticas de adsorción del herbicida, que en nuestro estudio no fueron evaluadas en presencia de MAP.

Por otra parte, las diferencias marcadas entre los suelos se presentan en los valores de pH, los contenidos preexistentes de P y la composición de las arcillas. En el caso de CS1, los menores valores de K_{fa} se pueden relacionar con el mayor valor de pH, menores valores de Al^{3+} , y la influencia de los mayores contenidos de fósforo preexistente en el suelo, puesto que otros autores han encontrado que esta preexistencia genera disminuciones en la adsorción del herbicida (de Jonge *et al.*, 2001; Gimsing y Borggaard, 2002; Munira *et al.*, 2016).

Coefficiente de distribución K_d . Los coeficientes de distribución (ecuación 1.1) se determinaron únicamente para la dosis D en cada uno de los tratamientos evaluados, esto debido a que la no linealidad de la todas las isotermas ($1/n \neq 1$) impide comparar promedios de todo el rango de concentraciones. El valor de K_d dosis D, para cada tratamiento se observa en la tabla 1-8. Estos valores se encuentran un rango entre 12.05 ± 1.09 y 1192.74 ± 64.63 L kg⁻¹.

Tabla 1-8: Valores de K_d reportados en la dosis D de glifosato

Suelo	Tratamiento	A-GLY	F-GLY
CS1	T1	149.35±18.38 ^{a A b}	52.96±4.23 ^{a B b}
	T2	24.37±2.71 ^{c B c}	42.17±0.99 ^{b A a}
	T3	45.11± 2.24 ^{b A c}	12.05± 1.09 ^{c B c}
CS2	T1	111.09±4.62 ^{b A b}	64.09±1.00 ^{a B b}
	T2	102.18±10.24 ^{b A b}	30.09±2.12 ^{c B a}
	T3	137.95± 2.85 ^{a A b}	45.60±2.53 ^{b B b}
CS3	T1	1192.74±64.63 ^{a A a}	118.41± 5.77 ^{b B c}
	T2	463.70±55.15 ^{b A a}	48.30±7.03 ^{c B a}
	T3	429.83±13.10 ^{b A a}	242.42±6.76 ^{a B a}

^{1,2,3} 1^a letra corresponde a la correlación entre tratamientos para cada suelo, 2^a letra corresponde a la correlación entre tratamientos por formulación. 3^a letra (cursiva) corresponde a la correlación entre tratamientos para cada formulación

La revisión de las interacciones estadísticas indica modificaciones específicas en la interacción suelo*formulación*tratamiento, presentándose para A-GLY mayores valores de la partición en todos los suelos y tratamientos excepto en CS1T2, señalando los mayores valores de la partición cuando no se adiciona el fosfato ni los aditivos o adyuvantes de la formulación. La interacción formulación*suelo indican que las características de CS3 favorecen la adsorción del herbicida, en especial cuando este se adiciona como estándar analítico. La interacción suelo por tratamiento indica diferencias relacionadas con el orden de adición del MAP, las cuales producen modificaciones en el K_d del suelo al tomar como referencia los T1 de cada tratamiento, tendencia a mostrar menores valores de K_d , exceptuando a CS3 en donde se observa un aumento en la partición en el T3.

Con respecto a los suelos se observa en CS3 que las propiedades como los mayores contenidos de caolinitas, presencia de aluminio intercambiable y menores valores de pH le permiten mayor adsorción del herbicida, resultado que se asocia a la mayor posibilidad del suelo de formar enlaces con sustancias como MAP y GLY, un comportamiento ya identificado en los valores de K_{fa} , lo cual permite afirmar que la capacidad de adsorción de este suelo parece no verse afectada por los órdenes de adición de los sustratos y la formulación del herbicida y reitera la importancia de la heterogeneidad de los suelos en el desarrollo del proceso de adsorción.

La no coincidencia entre los valores de K_d y K_{fa} en el orden de adsorción de los suelos muestra la no linealidad de las isothermas en los suelos y las diferencias de la adsorción de estas en función de la concentración.

Log K_{oc} (Ecuación 1-4) es un parámetro que permite normalizar los valores de K_d en relación con los contenidos de C.O. del suelo, ya que el C.O. es considerado por muchos autores como el principal responsable de la adsorción de moléculas orgánicas en el suelo. Los valores calculados de **Log K_{oc}** para los datos evaluados se pueden observar en la tabla 1-9, los cuales mantienen las tendencias observadas en el K_d , en relación con la formulación (**Log K_{oc}** : A-GLY^a > F-GLY^b), en los suelos (**Log K_{oc}** : CS3^a>CS2^b>CS1^c) y en tratamientos (**Log K_{oc}** : T1^a>T3^b>T2^b). La tendencia similar entre el K_d y los valores del **Log K_{oc}** implican que para los suelos estudiados el C.O. no afecta el proceso de adsorción, y no es el principal responsable de la adsorción en estos inceptisoles, ya que los valores son diferentes. Esta misma tendencia se ha reportado por otros autores como Mamy y Barriuso (2005) acerca de cómo en suelos con bajos contenidos de C.O., las arcillas juegan el papel más relevante en los procesos de adsorción.

El **Log K_{oc}** también permite predecir movimiento del herbicida a través del perfil del suelo (McCall *et al.*, 1980; FAO, 2021). Los resultados obtenidos para los valores de **Log K_{oc}** muestran que la presencia de aditivos de la formulación y otros compuestos como MAP afectan la movilidad en una misma matriz. De modo que en los tres suelos con FGLYT1 se observa un aumento de la movilidad en comparación con AGLYT1, pasando en CS3 de no móvil en AGLY a escasamente móvil en FGLY, y en CS2 y CS1 de escasamente

móvil a ligeramente móvil. En CS2 y CS3 esta misma tendencia se observa en T3AGLY pasando de escasamente móvil a ligeramente móvil y en CS3 AGLYT2 de escasamente móvil a ligeramente móvil en comparación con el formulado.

Tabla 1-9: Log K_{oc} por suelo y tratamiento para la dosis D y clasificación acorde con la clasificación de movilidad de compuestos de la FAO.

Suelo	Tratamiento	Log K_{oc}	Movilidad según FAO	Log K_{oc}	Movilidad según FAO
		A-GLY		F-GLY	
CS1 ^a	T1	4.13 ± 0.05	Escasamente móvil	3.69 ± 0.03	Ligeramente móvil
	T2	3.33 ± 0.05	Ligeramente móvil	3.59 ± 0.01	Ligeramente móvil
	T3	3.62 ± 0.02	Ligeramente móvil	3.09 ± 0.04	Ligeramente móvil
CS2 ^b	T1	4.01 ± 0.02	Escasamente móvil	3.77 ± 0.01	Ligeramente móvil
	T2	3.97 ± 0.01	Ligeramente móvil	3.44 ± 0.03	Ligeramente móvil
	T3	4.15 ± 0.03	Escasamente móvil	3.62 ± 0.02	Ligeramente móvil
CS3 ^b	T1	5.03 ± 0.02	No es móvil	4.03 ± 0.02	Escasamente móvil
	T2	4.62 ± 0.05	Escasamente móvil	3.64 ± 0.06	Ligeramente móvil
	T3	4.59 ± 0.01	Escasamente móvil	4.34 ± 0.01	Escasamente móvil

1.5.2 Desorción

Los porcentajes acumulados de la adsorción y la suma de las cinco desorciones consecutivas realizadas en intervalos de 24 horas se presentan en la Tabla 1-6 y en la Figura 1-5, donde es evidente que en las condiciones evaluadas se produce la desorción del herbicida. Arroyave *et al.* (2016), realizaron un estudio similar de sorción del herbicida en el cual reportan la reversibilidad de la adsorción e indican que el proceso puede asociarse de un lado al desprendimiento de glifosato directamente de la superficie adsorbente como parte de las dinámicas del herbicida en los suelos y por otra parte a la pérdida de la unión debido a reemplazo molecular ocurriendo un intercambio de ligandos,

el cual en este caso se genera por la adición de un compuesto diferente en el sistema que desestabiliza la adsorción.

Estadísticamente los resultados señalan diferencias a nivel de la interacción formulación *suelo*tratamiento, mostrando diferencias sin que se genere una respuesta homogénea en los suelos evaluados. De modo que en el caso de A-GLY, la desorción fue mayor y estadísticamente diferente en CS2 T1, T3 y T4 y en CS3 en T4 frente a F-GLY. En el caso de F-GLY los resultados fueron estadísticamente mayores en CS3 T2 y T3 con respecto a A-GLY. Los demás tratamientos fueron estadísticamente iguales. La menor desorción del glifosato fue observada en CS1T3 y CS3T3 de las dos formulaciones. La menor desorción en F-GLY se asocia a la estabilidad de la unión adsorbato-adsorbente puesto que los compuestos presentes en la formulación comercial pueden desarrollar mecanismos adicionales de adsorción, siendo el caso del POEA, molécula catiónica que se adhiere al suelo al formar enlaces estables con sitios de intercambio catiónico a través del grupo amino de esta molécula (Franz *et al.*, 1997; Tush y Meyer, 2016; Langaro *et al.*, 2020); este resultado también indica que la saturación del adsorbente afecta directamente el proceso, puesto que se encuentra correlación positiva entre las cantidades desorbidas y las adsorbidas ($r=0.84$). También se observa correlación positiva entre el pH y los valores de fósforo preexistentes en el suelo (0.85 y 0.7251 respectivamente). Estas correlaciones indican factores que se han mencionado como reguladores del proceso de adsorción y desorción, puesto que la pérdida de la unión con el adsorbente aumenta con el valor de pH y la saturación de los puntos de intercambio (Wang *et al.*, 2005).

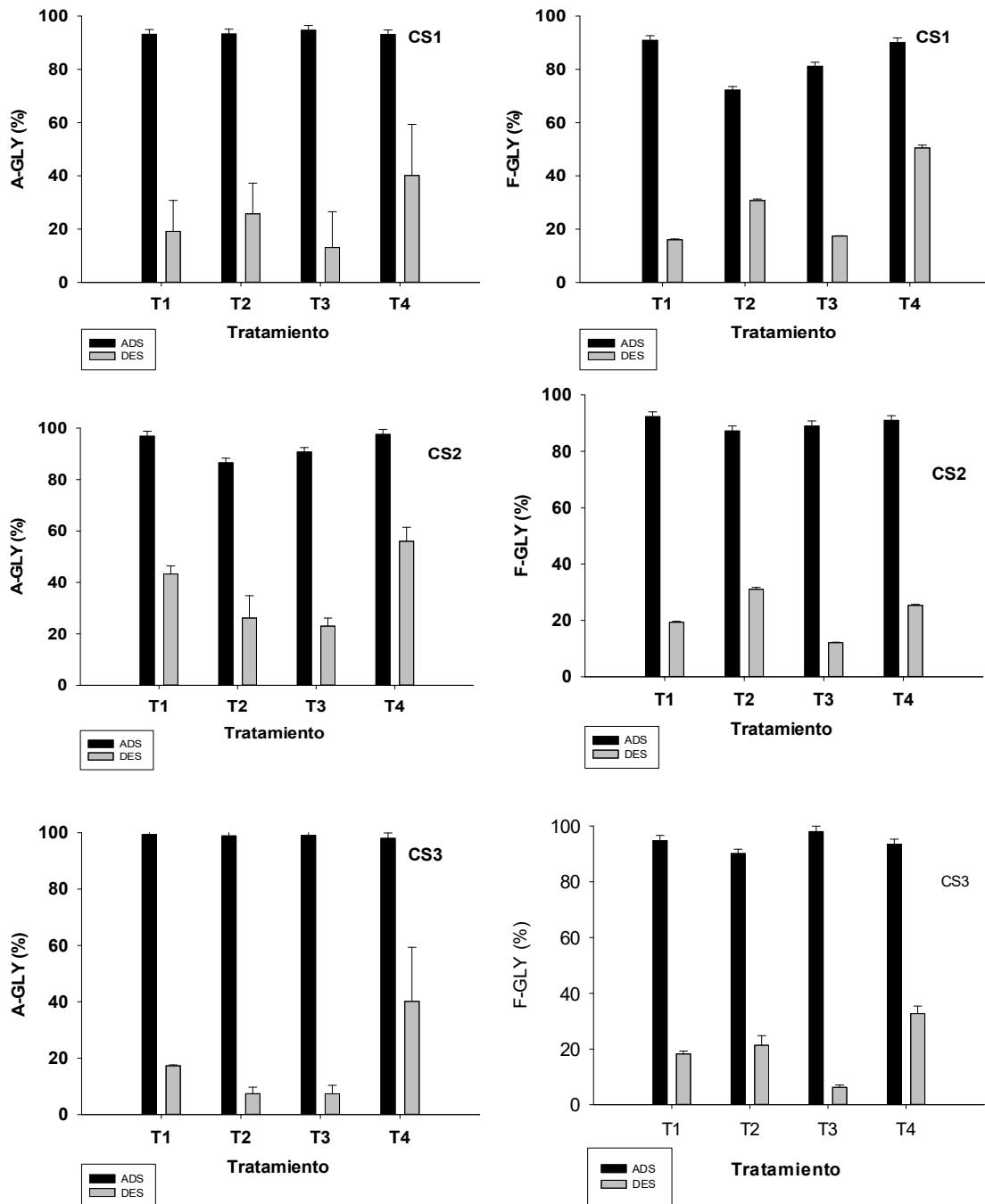


Figura 1-5: Relación adsorción-desorción en porcentaje por suelo, discriminado por formulación y tratamiento, las barras negras corresponden a promedios totales de los porcentajes de adsorción de las 5 dosis evaluadas en cada tratamiento. Las barras grises corresponden a la sumatoria total de los 5 ciclos de desorción, para cada dosis.

Los resultados señalan que si bien los suelos presentan una gran capacidad de adsorción del herbicida, la interacción de este con los sitios activos del glifosato es débil y reversible,

especialmente en CS2 y CS1. En suelos europeos Piccolo *et al.* (1994) indican porcentajes de desorción entre el 15 al 80% del herbicida adsorbido, dependiendo de las características del suelo. Sin embargo, otros estudios han demostrado la limitada desorción del herbicida en suelos, por ejemplo, Gómez-Ortiz *et al.* (2017) reportan valores en un rango entre 1.9 -12% en suelos no fertilizados con fósforo. Padilla y Selim (2019) reportan en suelos de Luisiana, desorciones entre el 1.9 al 3.4%. Maqueda *et al.* (2017), en suelos del sur de España, reportan valores de recuperación del herbicida entre 0.4 al 1.22%, después de 3 procesos de desorción consecutivos de la molécula. La variabilidad que se observa en los resultados se asocia también a las condiciones de evaluación, las cuales incluyen diferentes concentraciones de glifosato, ratios de solución- suelo y el uso de electrolitos de fondo en la obtención de las isothermas que pueden modificar la afinidad (Padilla y Selim, 2019). Mamy y Barriuso (2007) en condiciones similares a las presentadas en este estudio reportan concentraciones de glifosato desorbidas entre 28 al 40% en agua desionizada y entre el 6 al 30% cuando se utilizó CaCl₂ en solución.

Los resultados señalan que si bien los suelos presentan una gran capacidad de adsorción del herbicida, la interacción de este con los sitios activos del glifosato es débil y reversible (Tabla 1-10). En suelos europeos Piccolo *et al.* (1994) indican porcentajes de desorción entre el 15 al 80% del herbicida adsorbido, dependiendo de las características del suelo. Sin embargo, otros estudios han demostrado la limitada desorción del herbicida en suelos, por ejemplo, Gómez-Ortiz *et al.* (2017) reportan valores en un rango entre 1.9 - 12% en suelos no fertilizados con fósforo. Padilla y Selim (2019) reportan en suelos de Luisiana, desorciones entre el 1.9 al 3.4%. Maqueda *et al.* (2017), en suelos del sur de España, reportan valores de recuperación del herbicida entre 0.4 al 1.22%, después de 3 procesos de desorción consecutivos de la molécula. La variabilidad que se observa en los resultados se asocia también a las condiciones de evaluación, las cuales incluyen diferentes concentraciones de glifosato, ratios de solución- suelo y el uso de electrolitos de fondo en la obtención de las isothermas que pueden modificar la afinidad (Padilla y Selim, 2019). Mamy y Barriuso (2007) en condiciones similares a las presentadas en este estudio reportan concentraciones de glifosato desorbidas entre 28 al 40% en agua desionizada y entre el 6 al 30% cuando se utilizó CaCl₂ en solución.

A pesar de que se esperaría que la saturación previa a la inducción de la adsorción de glifosato (T2) favoreciera la desorción del herbicida, este resultado solo se observó en

CS1T2. Este resultado observado se relacionaría con la formación de uniones bidentadas entre el coloide, el fertilizante y el herbicida los cuales permiten la coexistencia de las dos moléculas, pero que son susceptibles de perder estabilidad en el tiempo (Waiman *et al.*, 2013). También se observa que aun sin la adición de fosfato, se presenta la desorción del glifosato (T1), lo que implica que la presencia del agua favorece este proceso debido a la alta afinidad del herbicida por esta molécula polar (Dollinger *et al.*, 2015).

Los resultados observados en T3 (Tabla 1-10) sugieren que cuando ambas moléculas se ponen simultáneamente en contacto con el suelo, glifosato tiene más acceso a sitios de mayor afinidad o termodinámicamente más estables en el suelo comparado con T2, lo que reduce la desorción del herbicida con respecto a los demás tratamientos. Esto podría también ser explicado por la posibilidad de transporte difusional del glifosato al interior de las estructuras de las arcillas de tipo 2:1 de los suelos, obligado por la presencia simultánea de MAP, dando como resultado un entrapamiento entre las láminas y un menor grado de desorción cuando MAP está presente. La evaluación del efecto competitivo de fosfato-glifosato en algunas arcillas como illita, caolinita y montmorillonita sugiere que los fosfatos añadidos junto con glifosato pueden bloquear hasta el 50 % de los sitios activos el suelo de las capas de las arcillas (Borggaard, 2011).

La adición del fosfato como parte de la sustancia inductora de la desorción (T4) incrementa la desorción del AGLY en los suelos con relación a la desorción presentada en T1, resultado indicador del desplazamiento del herbicida y la mayor afinidad del fosfato con los minerales de estos suelos y que son concordantes con los recopilados por Borggaard *et al.* (2011) para algunos minerales del suelo y Wang *et al.* (2005) quienes afirman que, en el proceso de adsorción competitiva, la adición del fosfato modifica la adsorción del glifosato, tendencia observada en las dos formulaciones evaluadas.

Tabla 1-10: Constantes de desorción de para el herbicida y los suelos estudiados. ^{1,2,3} 1ª letra corresponde a la interacción entre tratamientos para cada suelo, 2ª letra corresponde a la interacción entre tratamientos por formulación. 3ª letra (cursiva) corresponde a la interacción entre tratamientos para cada formulación

Suelo	Tratamiento	K_{fd}	$1/n_d$	R^2	H	K_{fd}	$1/n_d$	R^2	H
		($mg^{1-1/n}L^{1/n} kg^{-1}$)				($mg^{1-1/n}L^{1/n} kg^{-1}$)			
		A-GLY				F-GLY			
CS1	T1	17.45±1.29 ^{ab B c}	0.56±0.02 ^{a B a}	0.99	0.96±0.05 ^{a A a}	46.83±3.4a A a	0.91±0.02 ^{a A a}	0.87	1.07±0.04 ^{a A b}
	T2	14.54±1.14 ^{ab A b}	0.57±0.02 ^{a B a}	0.99	0.93±0.06 ^{a A a}	14.95±6.28c A b	0.95±0.17 ^{a A a}	0.95	0.88±0.04 ^{b A b}
	T3	21.26±7.06 ^{a A c}	0.64±0.01 ^{a A a}	0.92	1.08±0.02 ^{a A a}	24.5±1.78b A c	0.77±0.15 ^{a A b}	0.93	0.99±0.04 ^{a A b}
	T4	9.42±3.46 ^{b A c}	0.53±0.15 ^{a B a}	0.89	1.02±0.05 ^{a A a}	12.04±3.4c A b	0.83±0.05 ^{a A a}	0.82	1.17±0.04 ^{a A a}
CS2	T1	537.01±3.24 ^{a A a}	1.23±0.01 ^{a A a}	0.99	1.08±0.04 ^{ab A ab}	51.47±4.89 ^{c B a}	0.82±0.08 ^{b B a}	0.98	0.96±0.04 ^{b A b}
	T2	20.89±1.27 ^{c B b}	0.72±0.02 ^{b B b}	0.99	1.07±0.10 ^{ab A a}	154.49±28.55 ^{a A a}	1.37±0.06 ^{a A a}	0.83	1.13±0.10 ^{b A ab}
	T3	108.18±0.97 ^{b A a}	1.23±0.03 ^{a A a}	0.94	0.83±0.15 ^{b B b}	105.1±1.98 ^{b A b}	1.00±0.05 ^{b A a}	0.72	1.72±0.15 ^{a A}
	T4	51.25±1.61 ^{c A b}	1.03±0.03 ^{a A a}	0.94	1.29±0.20 ^{a A a}	31.94±8.03 ^{c A a}	0.88±0.09 ^{b B a}	0.98	0.89±0.20 ^{b A ab}
CS3	T1	280.67±24.82 ^{b A c}	0.80±0.02 ^{b A b}	0.93	1.28±0.04 ^{a A a}	27.74±22.10 ^{b B b}	0.61±0.32 ^{a B a}	0.67	1.44±0.04 ^{a A a}
	T2	595.79±88.6 ^{a A a}	1.04±0.05 ^{a A a}	0.92	0.75±0.08 ^{b B b}	22.97±15.13 ^{b B b}	0.56±0.18 ^{a B b}	0.86	1.23±0.08 ^{b A a}
	T3	45.82±6.05 ^{c B b}	0.52±0.02 ^{c A c}	0.73	1.15±0.06 ^{a A a}	260.00±40.05 ^{a A a}	0.79±0.05 ^{a A b}	0.99	1.11±0.06 ^{b A b}
	T4	258.79±14.05 ^{b A a}	0.98±0.01 ^{a A a}	0.98	1.04±0.05 ^{a A a}	37.28±6.41 ^{b B a}	0.87±0.06 ^{a A a}	0.84	1.01±0.05 ^{b A ab}

En relación con los constituyentes del suelo, el contenido de caolinitas, el aluminio, manganeso, calcio y magnesio se correlacionan negativamente con el proceso de desorción (-0.664; -0.795; -0.721; -0.737; -0.681 respectivamente -Anexo A2), implicando que este sea mayor en la medida que estos factores son menores en el suelo. Estos resultados concuerdan con autores como Caetano *et al.* (2012) y Huber *et al.* (2013) acerca de la formación de complejos estables de glifosato con cationes divalentes y la presencia de la fracción coloidal como principal aportante de puntos de adsorción para el herbicida. Las caolinitas (arcillas tipo 1:1) presentan la posibilidad de formación de uniones menos reversibles e incluso irreversibles con el glifosato en comparación con arcillas tipo 2:1. Cáceres–Jensen *et al.* (2019) señalan la marcada irreversibilidad de la adsorción, predominante en las arcillas tipo 1:1 con valores de desorción entre 12 a 16%, los cuales son atribuidos a fuertes uniones entre metales las cuales que no se ven afectadas por la adición de sustancias iónicas.

Histéresis. Los resultados de los primeros puntos de la desorción de cada concentración (glifosato analítico y formulado) fueron utilizados para construir una isoterma de desorción, que también se ajustó al modelo de Freundlich, para obtener las constantes K_{fd} y $1/n_d$ (Tabla 1-10) y a partir de este último, calcular la histéresis del proceso ($H=1/n_a/1/n_d$). La histéresis relacionada a la brecha entre las curvas de adsorción y desorción, y aporta información sobre la irreversibilidad del proceso ($H<0.7$) o su reversibilidad ($H>1$), por ejemplo, en la práctica cuando $0.7<H<1$, se considera que no hay Histéresis (Bariuso *et al.*, 1994). Al evaluar estadísticamente los valores de histéresis, los resultados muestran que en la interacción formulación *suelo *tratamiento, la fuente solo se diferencia estadísticamente en CS3T2 donde $FGLY^a>AGLY^b$; los resultados que indican la reversibilidad del proceso de adsorción, y para el caso de este estudio, también se observa la mayor variabilidad a nivel de tratamiento se presenta en el suelo CS3 entre T3^a y T4^b, indicando que para este suelo, la adición del fosfato junto con el glifosato va a favorecer la reversibilidad del proceso en mayor medida, resultado estadísticamente diferente a cuando se induce la desorción de la molécula adicionando el fosfato, independientemente de la fuente de glifosato utilizada. La reversibilidad del proceso también fue reportada por Bustos (2012) evaluando el proceso de sorción de glifosato en suelos y sedimentos de cultivos de arroz, proceso que también se ha reportado por autores Zhou *et al.* (2010) quienes indican que la reversibilidad de la

adsorción del glifosato influye en la persistencia y movimiento de este en columnas de suelos.

1.6 Conclusiones

A partir de los resultados se concluye que existe un alto porcentaje de adsorción del herbicida en los suelos evaluados ($CS3 > CS2 > CS1$), al cual, en relación con la dosis evidencia buen ajuste al modelo de Freundlich en los tres suelos. El mayor porcentaje de adsorción se observa en CS3, suelo cuyas características se asocian a mayor superficie de adsorción debida a la presencia de arcillas tipo 1:1, 2:1, aluminio intercambiable y un menor valor de pH (4.6), el cual le permite mayor protonación.

En la evaluación del herbicida en formulación analítica y comercial, para T1 - sin adición de fosfato- se observa la tendencia a menor adsorción en la formulación comercial, sin embargo, esta no en todas las ocasiones generó diferencia estadística frente al formulado analítico, por lo que si bien algunos de estos resultados estarían siendo indicadores de que presencia de sustancias acompañantes al glifosato afectan negativamente el proceso de adsorción, debido a que este puede desarrollar interacciones propias con el medio redundando en menores cantidades adsorbidas y cambios en la forma que se presenta la adsorción del herbicida, este no es un resultado generalizable en este ensayo.

En relación con la adición del fosfato, los resultados indican que esta produce la saturación parcial de los puntos de adsorción, ocasiona disminuciones en las cantidades adsorbidas del herbicida y modifica la forma de las isothermas, resultados asociables al surgimiento de procesos de competencia por los puntos de intercambio y de desarrollo de procesos de difusión, los cuales le permiten acceder a sitios de adsorción menos expuestos, efecto que se reflejó en la forma de las isothermas.

Los valores de la desorción y el análisis de H en los mismos indican que el proceso es reversible, y en la mayoría de los escenarios evaluados la adición del fosfato favorece la desorción del herbicida. En relación con el orden de adición, el resultado resalta la alta afinidad por el fosfato en los suelos evaluados, la similitud de los mecanismos de adsorción y desorción de las dos moléculas y la reversibilidad del proceso de adsorción,

la cual se incrementa significativamente cuando este es adicionado posterior a la adsorción del glifosato, resultados congruentes con la movilidad de la molécula, la cual, se catalogó como de escasa a ligeramente móvil en los suelos evaluados.

1.7 Bibliografía

Arroyave, J., Waiman, C., Zanini, G., Avena, M., 2016. Effect of humic acid on the adsorption/desorption behavior of glyphosate on goethite. Isotherms and kinetics. *Chemosphere* 145:34-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.0820045-6535/>.

Barja, B.C., Dos Santos Afonso, M. 2005. Aminomethylphosphonic acid and glyphosate sorption onto goethite: A comparative study. *Environ. Sci. Technol.* 39,585–592.<http://dx.doi.org/10.1021/es035055q>.

Beigel, C., Barriuso, E. 2000. Influence of formulation on triticonazole solubilization and sorption in a soil-water system. *Pest Management Science.* 56:271-276. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200003\)56:3<271::AID-PS134>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200003)56:3<271::AID-PS134>3.0.CO;2-2)

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agron. J.* 54,464–465. doi:10.2134/agronj1962.00021962005400050028x

Bray, R. H. y Kurtz, L. T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45.

Bustos, M. 2012. Destino ambiental del glifosato en una zona arrocera del Tolima, Colombia. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Casella, G., Fienberg, S., Olkin, I. 2008. *Statistical Design*. Springer. DOI: 10.1007/978-0-387-75965-4

Chapman, H. 1965. Cation exchange capacity. In Black CA, ed, *Methods of Soil Analysis*, 9 American Society of Agronomy, Madison, WI. pp 891-900

Dollinger, J.; Dages, C.; Volz, M. 2015. Glyphosate sorption to soils and sediments predicted by pedotransfer functions. *Environment Chem.* 13:293–307. DOI 10.1007/s10311-015-0515-5

Borggaard O.K. Raben-Lange, B., Gimsing, A.L., Strobel, B.W. 2005. Influence of humic substances on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides. *Geoderma*, 127,270–279. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.011>

Borggaard, O.K. 2011. Does phosphate affect soil sorption and degradation of glyphosate? A review. *Trends Soil Sci. Plant Nutr.* 2,16–27.

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Kania, A.; Eman, B.; Aslan, N.; Romheld, V.; Neumann, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilization. *Plant Soil* 342:249-263

Caceres-Jansen, L., Rodriguez-Becerra, J., Sierra-Rosales, P., Escudey, M., Valdebenito, J., Neira-Albornoz, A., Dominguez-Vera, V., Villagra, C. 2019. Electrochemical method to study the environmental behavior of glyphosate on volcanic soils: proposal of adsorption-

desorption and transport mechanisms. *Journal of Hazardous Materials*. 379:120746. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120746>

Caetano, M.; Ramalho, T.; Botrel, D; DaCunha, E.; Carvalho, W. 2012; Understanding the inactivation process of organophosphorus herbicides: A DFT study of glyphosate metallic complexes with Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , and Al^{3+} . *Quantum Chemistry*, 112:2752-2762.

Damonte, M., Torres-Sánchez, R.M., dos Santos Afonso, M. 2007. Some aspects of the glyphosate adsorption on montmorillonite and its calcined form. *Appl. Clay Sci.* 36, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2006.04.015>

Dgiovanni, V.; Martínez, C. 2010. Producción ecoeficiente del arroz en América latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Tomo I. Cali, Colombia.

Da Cruz, L.H., De Santana, H., Zaia, C.T.B.V., Zaia, D.A.M. 2007. Adsorption of glyphosate on clays and soils from Paraná State: effect of pH and competitive adsorption of phosphate. *Braz.Arch. Biol.Technol.* 50, 385–394. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132007000300004>

De Geronimo, E., Virginia, C., Aparicio, J., Costa, L. 2018. Glyphosate sorption to soils of Argentina. Estimation of affinity coefficient by pedotransfer function. *Geoderma* 322, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.037>

De Jonge, H., De Jonge, L.W., Jacobsen, O.H., Yamaguchi, T., Moldrup, P. 2001. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. *Soil. Sci.* 166, 230–238. <http://dx.doi.org/10.1097/00010694-200104000-00002>

Dion, H.M., Harsh, J.B., Hill, H.H. 2001. Competitive sorption between glyphosate and inorganic phosphate on clay minerals and low organic matter soils. *J. http://www.fao.org/3/X2570E/X2570E06.htm*

Franz, J.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A. 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. ACS Monograph 189. American Chemical Society. Washington DC, USA.

Ghafoor, A., Jarvis, N., Stendström J. 2012. Modelling pesticide sorption in the surface and subsurface soils of an agricultural catchment. *Pest Management Science*. 69:919-929. <https://doi.org/10.1002/ps.3453>.

Gimsing, A.L., Borggaard, O.K., Bang, M. 2004. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish surface soils. *Eur. J. Soil. Sci.* 55, 183–191. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2003.00585.x>

Gimsing, A.L., Borggaard, O.K. 2007. Phosphate and glyphosate adsorption by hematite and ferrihydrite and comparison with other variable-charge minerals. *Clay Clay Miner.* 55, 108–114. <http://dx.doi.org/10.1346/CCMN.2007.0550109>

Gimsing, A.L., Szilas, C., Borggaard, O.K. 2007. Sorption of glyphosate and phosphate by variable-charge tropical soils from Tanzania. *Geoderma* 138, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.11.001>

Glass, L. 1987. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35 (4) 497-500.

- Giles, C.H., Smith, D., Huitson, A. 1974. A general treatment and classification of the solute sorption isotherm. *J. Colloid. Interf. Sci.* 47, 755–765. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(74\)90252-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(74)90252-5)
- Gómez-Ortiz, A.M., Okada, E., Costa, J.L., Bedmar, F. 2017. Sorption and desorption of glyphosate in Mollisols and Ultisols soils of Argentina. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 2587–2592. <https://doi.org/10.1002/etc.3851>.
- Guo, F., Zhou, M., Xu, J., Fein, J., Yu, Q., Wang, Y. 2021. Glyphosate adsorption on to Kaolinite and Kaolinite-humic acid composites: experimental and molecular dynamics studies. *Chemosphere.* 263:127979. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127979>
- Huber, D, Jones, J. 2013. The role of magnesium in plant disease. *Plant soil* 368,73–85. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1476-0>
- Kanissery, R.G., Welsh, A., Sims, G.K., 2015. Effect of soil aeration and phosphate addition on the microbial bioavailability of carbon-14-glyphosate. *J. Environ. Qual.* 44, 137. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2014.08.0331>
- Langaro, A. C., De Freias Souza M., Mendes, G.A., Ambrosio, J., da Siva., A., Valadao, D., Rocha de Jesus, A. B., Mendoça V. 2020. Influence of Glyphosate formulations on the behavior of sulfentrazone in soil in mixed applications. *Toxics.* 8:123. doi:10.3390/toxics8040123
- Laitinen, P., Siimes, K., Rämö, S., Jauhiainen, L., Eronen, L., Oinonen, S., Hartikainen, H., 2008. Effects of soil phosphorus status on environmental risk assessment of glyphosate and glufosinate-ammonium. *J. Environ. Qual.* 37, 830–838. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2007.0256>
- Limousin, G., Gaudet, J-P., Charlet, L., Szenknect, S., Barthes, V., Krimissa, M. 2007. Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement. *Applied Geochemistry.* 22:249-275. doi:10.1016/j.apgeochem.2006.09.010
- Maitre, M.; Lorenzatti, E.; Lenardón, A.; Enrrique, S. 2008. Adsorción y desorción de glifosato en dos suelos argentinos. *Natura Neotropicalis*, 39(2):19-31.
- Mamy, L., Bariuso, E. 2005. Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops. *Chemosphere.* 61, 844–855. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.051>
- Maqueda, C., Undabeytia, T., Villaverde, J., y Morillo, E. (2017). Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 593–594, 787–795. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.202
- McCall, P.J., Swann, R.L., Laskowski, D.A. et al. Estimation of chemical mobility in soil from liquid chromatographic retention times. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 190–195 (1980). <https://doi.org/10.1007/BF01608096>
- Morillo, E., Undabeytia, T., Maqueda, C., Ramos, A., 2000. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics. Influence of copper addition. *Chemosphere* 40, 103–107. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00255-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00255-6)

- Munira, S., Farenhorst, A., Akinremi, W. 2018. Phosphate and glyphosate sorption in soils following long-term phosphate applications. *Geoderma* 313, 146–153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.030>
- Navarro, G. 2010. *Química agrícola*. Mundi Prensa libros. España. 487p.
- Padilla, J.T., and H.M. Selim. 2019. Time-dependent sorption and desorption of glyphosate in soils: Multi-reaction modeling. *Vadose Zone J.* 18:180214. doi:10.2136/vzj2018.12.0214
- Petersen, L.W., Moldrup, P., Jacobsen, O.H., Rolston, D.E. 1996. Relations between specific surface area and soil physical and chemical properties. *Soil Sci.* 161:9-21. DOI: 10.1097/00010694-199601000-00003
- Pessagno, R., Torres-Sánchez R, dos Santos Alfonso M. 2008. Glyphosate behavior at soil and mineral-water interfaces. *Environ. Pollut.* 153, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.12.025>
- Prata, F., do Brasil Cardinali, V., Lavorenti, A., Tornisielo, L., Regitano, J. 2003. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. *Sci. Agri.* 6, 175-180. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162003000100026>
- Okada, H., Costa, J., Bedmar, F. 2016. Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. *Geoderma.* 263:78-85.
- Organization for Economic Co-operation and Development. 2000. Test No. 106: Adsorption-desorption using a batch equilibrium method. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Paris, France.
- Rampoldi EA, Hang S, Barriuso E. 2014. Carbon-14-glyphosate behavior in relationship to pedoclimatic conditions and crop sequence. *J Environ Qual* 43,558–56
- Rivoira, L., Appendini, M., Fiorilli, S., Onida, B., Del Bubba, M., Bruzzoniti, M.C. 2016. Functionalized iron oxide/SBA-15 sorbent: investigation of adsorption performance towards glyphosate herbicide. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 21682–21691. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7384-8>
- Roberts, T.; Croucher, L.; Hutson, D.; Nicholls, P. 2007. *Metabolic pathways of agrochemicals herbicides and plant growth regulators*. United Kingdom. The Royal Society of Chemistry. 850p.
- Sánchez, J.; Ettiene, G.; Rivas, Z. 2005. Determinación de glifosato en muestras de agua en la cuenca del río catatumbo determination of glyphosate in water samples in the Catatumbo River. *Ciencia* 13(2): 211–17.
- Sidoli, P., Bran, N., Angulo-Jaramillo, R. 2016. Glyphosate and AMPA adsorption in soils: laboratory experiments and pedotransfer rules. *Environ Sci Pollut Res.* 23:5733-5742. DOI 10.1007/s11356-015-5796-5
- Strange-Hansen, R., Holm, P.E., Jacobsen, O.S. 2004. Sorption, mineralization, and mobility of N-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate) in five different types of gravel. *Pest Manag. Sci.* 60, 570–578. <https://doi.org/10.1002/ps.842>

Vereecken, H. 2005. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Manag. Sci.* 61, 1139–1151. <https://doi.org/10.1002/ps.1122>.

Tush, D., Loftin, K. A., Meyer, M. T., 2013. Characterization of polyoxyethylene tallow amine surfactants in technical mixtures and glyphosate formulations using ultra-high performance liquid chromatography and triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 1319:80-87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.032>

Tush D., Meyer, M. T. 2016. Polyoxyethylene Tallow Amine, a Glyphosate Formulation Adjuvant: soil adsorption characteristics, Degradation profile, and occurrence on selected soils from agricultural fields in Iowa, Illinois, Indiana, Kansas, Mississippi, and Missouri. *Environmental Science and technology.* 50:5781-5789. Doi: 10.1021/acs.est.6b00965

Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil.Sci. Soc. Am. J.* 37, 29–37.

Wang, Y., Zhou, D., Sun., R. 2005. Effects of phosphate on the adsorption of glyphosate on three different types of Chinese soils. *Journal of Environmental Sciences.* 17(5): 711-715. Id:1001-0742(2005)05-0711-05.

Waiman, C., Avena, M., Garrido, M., Fernandez, B., Zanini, G. 2012. A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media. Application to adsorption isotherms on soils and goethite. *Geoderma* 170, 154-158. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.11.027>

Waiman, C., Avena, M., Regazzoni, A., Zanini, G. 2013. A real time in situ ATR-FTIR spectroscopic study of glyphosate desorption from goethite as induced by phosphate adsorption: effect of surface coverage. *Journal of Colloid and Interface Science.* 394:485-489. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2012.12.063>

Waiman C., Arroyave, J., Chen, H., Tan, W., Avena, M., Zanini, G. 2016. The simultaneous presence of glyphosate and phosphate at the goethite surface as seen by XPS, ATR-FTIR and competitive adsorption isotherms. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 408:121-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.03.049>

Wainippee, W., Cuadros, J., Sephton, M., Unsworth, C., Gill, M., Strekoptov, S., Dominik J. Weiss. 2013. The effects of oil on As (V) adsorption on illite, kaolinite, montmorillonite and chlorite. *Geochimica et Cosmochimica acta.* 121:487-502. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.07.018>

Yu, Y.; Zhou, Q.-X., 2005. Adsorption characteristics of pesticides methamidophos and glyphosate by two soils. *Chemosphere* 58:811–6. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.08.064 Zhao, B., Zhang, J., Gong, J., Zhang, H., Zhang, C., 2009. Glyphosate mobility in soils by phosphate application: laboratory column experiments. *Geoderma.* 149 (3–4), 290–297.

Zhelezova, A.; Cederlund, H.; Senstrom, J. Effect of Biochar Amendment and Ageing on Adsorption and Degradation of Two Herbicides. *Water Air Soil Pollut.* 2017, 228, 216–229

Zhou, Y., Wang, Y., Hunkeler, D., Zwahlen, F., Boillat, J., 2010. Differential transport of atrazine and glyphosate in undisturbed sandy soil column. *Soil and Sediment Contamination: An international Journal*. 19:365-377.

2. Capítulo 2. Mineralización y movimiento de glifosato en suelos arroceros

Resumen

Glifosato es un herbicida utilizado ampliamente en los sistemas agrícolas arroceros, siendo necesario estudiar las interacciones de este con el medio para reconocer los impactos que puede generar sobre cultivos y el ambiente. Con el objetivo estudiar el efecto de la adición de fosfato monoamónico (MAP) sobre la mineralización y lixiviación del herbicida se realizó un ensayo de transporte en columnas con suelos de textura arcillosa tomados de Espinal (CS1), Saldaña (CS2) y Villavicencio (CS3) en Colombia (los detalles de los suelos fueron presentados en el capítulo 1), estos se reempaquetaron en columnas de 30 cm de largo y 8.9 cm de diámetro interno (n=6 para cada suelo). A cada columna se le adicionó la dosis equivalente a 4 L ha⁻¹ de glifosato y 11224 Bq de C¹⁴glifosato. Pasadas 24 horas, se tomaron 3 columnas por suelo y se les adicionó MAP en dosis equivalente a 60 kg ha⁻¹. La lixiviación se indujo agregando 100 mL de agua día⁻¹ durante 64 días y en cada columna se colocó una trampa de NaOH, para coleccionar el ¹⁴CO₂ liberado de la mineralización, la cual se cambió cada 24 horas. Diariamente se coleccionó el lixiviado y alícuotas de 1.5 mL de este y de las trampas de NaOH se llevaron a cuantificación de ¹⁴C en Contador de Centelleo Líquido. Una vez finalizado el ensayo de transporte, las columnas se dividieron en 6 secciones de horizontales que se homogeneizaron y 1.5 mg de suelo seco se llevaron al Oxidador Biológico para posteriormente cuantificar ¹⁴CO₂ procedente de los Residuos ligados (RL) de glifosato a suelo. Con la concentración de los lixiviados se construyeron las BTC (Breakthrough curves) de glifosato. Estas sitúan el pico máximo de lixiviación para CS1 3.38±0.28, CS2 en 2.28±0.069 y CS3 en 1.99±0.09 V/V_p. Los porcentajes de glifosato lixiviado al final del ensayo fueron para CS1= 5.05±0.12, CS2= 4.40±0.23 y CS3= 4.00±0.12%; la mineralización fue en CS1= 19.14±0.88%, CS2= 24.45±1.47% y CS3= 10.93±2.54%. Al

término del ensayo el herbicida residente en suelos indico valores de 67.87 ± 4.73 , 64.7 ± 0.58 y $73.36 \pm 1.89\%$ en CS1, CS2 y CS3 respectivamente, diferencias en los porcentajes de mineralización en los suelos (CS1= $16.76 \pm 0.43\%$, CS2= $23.12 \pm 0.63\%$ y CS3= $10.72 \pm 1.11\%$) y cambios en las cantidades de herbicida residente en suelos, pasando a $70.75 \pm 6.16\%$ en CS1, $62.02 \pm 3.90\%$ en CS2 y $68.73 \pm 2.12\%$ en CS3. En los resultados se observó que en los suelos CS1 y CS2 la adición de MAP provocó un desplazamiento más rápido en el pico de glifosato respecto a las columnas sin fertilizante. Al finalizar el experimento, menos del 6% del glifosato inicialmente aplicado fue recuperado en el lixiviado y la adición de MAP aumentó significativamente este valor ($P < 0.001$) en todas las columnas. Los resultados muestran que, en las condiciones evaluadas, glifosato fue fuertemente retenido en el suelo en todas las columnas, una parte de este se mueve a través del perfil del suelo, en el flujo del agua y la adición del MAP en el sistema favorece el movimiento, con mayor efecto en el suelo de menor valor de pH. Los resultados indican que esta molécula es un potencial contaminante suelos y aguas subterráneas especialmente después de una fertilización con MAP.

Con las concentraciones de los lixiviados se modeló el movimiento del agua en las columnas utilizando como trazador a Br⁻. Los resultados sugieren movimiento del agua en condiciones de No Equilibrio Físico. Para glifosato con y sin adición de MAP, el movimiento se ajustó al modelo de No Equilibrio Químico con transferencia de masa y degradación independientes en las fases móvil e inmóvil en donde los fenómenos de dispersión y difusión son parte de los procesos que intervienen en el movimiento del herbicida a través del perfil del suelo y la adsorción se produce de manera no instantánea. En relación con la adición del MAP se estima que este disminuye el retardo en el movimiento y los valores de Kd en los tres suelos evaluados.

2.1 Introducción

El uso de plaguicidas en los sistemas agrícolas puede constituirse en una de las causas de degradación de la calidad de aguas subterráneas, debido a la posibilidad de transporte vertical de agroquímicos (Sinkevich *et al.*, 2005). La evaluación del destino ambiental de los plaguicidas es compleja, puesto que depende de diversos factores interactuantes, como son el tipo de molécula, las propiedades fisicoquímicas e hidrológicas del suelo, la topografía del área y las condiciones ambientales entre otras

(Holland, 2004). En el caso de los herbicidas, como glifosato, un porcentaje de este alcanzará el suelo (Mamy *et al.*, 2016) y dependiendo de las condiciones del medio, puede sufrir transformaciones de naturaleza física, química y biológica (Mc Bride, 1994).

Glifosato actualmente es considerado potencial contaminante de aguas superficiales y subterráneas, categorización soportada en investigaciones recientes. Por ejemplo, en Argentina se ha detectado molécula en aguas subterráneas y superficiales en concentraciones entre 0.1 a 8.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 0.1 a 8.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente (Okada *et al.*, 2018). En Dinamarca, Strange- Hansen *et al.* (2004) lo encontraron en concentraciones de 1.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ en aguas subterráneas; en Austria Vereecken (2005) reporta 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ en algunas muestras de provenientes de cuerpos de agua subterránea y en México, Ruiz *et al.* (2014) reportaron en aguas superficiales de áreas naturales protegidas y áreas de uso agrícola cantidades que oscilan entre los 0.097 y 12 $\mu\text{g L}^{-1}$. Resultados que indican que la molécula es móvil a través del perfil del suelo, a pesar de su alta afinidad con los suelos. El herbicida, químicamente es un zwitterión constituido por un grupo amino, un grupo carboxilo y un grupo fosfónico, que puede unirse con puntos de intercambio del suelo, presentes en los óxidos e hidróxidos (Roberts *et al.*, 2007), arcillas (Wang *et al.*, 2005) y en sustancias húmicas y fúlvicas (Alberts *et al.*, 2009), pero también puede lixiviarse (Vereecken, 2005).

Los estudios previos de elución de glifosato en columnas de suelo indican una baja tasa lixiviación, debido a su alta capacidad de adsorción y afinidad a las partículas del suelo (Strange Hansen *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2009; Padilla y Selim *et al.*, 2018, entre otros). Padilla y Selim (2018), utilizando columnas de suelo empaquetado provenientes de la zona agrícola de Luisiana (E.E.U.U.), reportan cantidades lixiviadas equivalentes al 3% para un suelo franco limoso y 2% en un suelo arcilloso con respecto al total aplicado. Calderón *et al.* (2005) en columnas empacadas de suelos de Extremadura (España), dedicados a labranza cero (con cobertura de 8 años) y convencional, con pH de 5.3 y 5.2 respectivamente y aplicando dosis del herbicida equivalentes a 2.24 Kg ha^{-1} , reportan cantidades lixiviadas cercanas al 4% para ambos suelos. Adicionalmente, en un estudio de columnas no disturbadas, utilizando 3 diferentes tipos de suelos, provenientes de Paraná, Manfredi y Pergamino (Argentina), uno franco arcillo arenoso y dos franco arenosos, se reportan cantidades lixiviadas del herbicida inferiores al 0.24% de la cantidad inicial aplicada (Okada *et al.*, 2015). Estos resultados en columnas indican la

baja reversibilidad del proceso de adsorción (Wei y Weiping, 2008; Alberts *et al.*, 2009; Waiman *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2014; Aslam *et al.*, 2015).

La persistencia de glifosato en el ambiente depende no solo de su movilidad, sino también de sus tasas de degradación. La evaluación conjunta de la degradación y movimiento de la molécula es fundamental para comprender la contaminación del suelo y/o el agua (Rashmi *et al.*, 2018). En el caso de glifosato, este se adsorbe fuertemente quedando poco biodisponible en el suelo, pero al tiempo que aumenta su persistencia y el riesgo de movimiento a través del perfil de suelo o por escurrimiento hacia cuerpos de aguas superficiales o subterráneas respectivamente (Okada *et al.*, 2018). La degradación de glifosato es un proceso que puede presentarse vía química y/o la vía biológica (Roberts *et al.*, 2007) y el metabolito principal generado es el ácido amino metil fosfónico-AMPA (Sun *et al.*, 2019).

La vía química ocurre a través de procesos hidrolíticos y fotolíticos, los cuales son considerados procesos iniciales y poco eficientes (Roberts *et al.*, 2007). No obstante, se ha reportado la degradación del herbicida por esta última vía en medio acuoso, en presencia de Ca^{2+} , junto con la exposición radiación solar entre 350-450nm. En estas condiciones los valores de vida media (DT_{50}) oscilan entre 4 y 14 días (Roberts *et al.*, 2007). Herdfordshire (2015) encontró un valor de DT_{50} por fotólisis de 69 días.

La vía biológica, tanto en condiciones anaerobias como aerobias, se considera la principal forma de degradación de la molécula (Franz *et al.*, 1997; Roberts., 2007). Se han encontrado varios microorganismos degradadores del herbicida como *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Burkholderia gladioli* y *Flavimonas oryzihabitans* (Martínez *et al.*, 2012) y como *Arthrobacter*, *Achromobacter* y *Streptomyces* (Sviridov *et al.*, 2015). Además de la formación de AMPA, es posible la degradación del herbicida con el rompimiento de la unión carbono-fósforo, formándose sarcosina y a partir de esta glicina, formaldehído y posteriormente la mineralización de la molécula (Sviridov *et al.*, 2015) (Figura 2-1), proceso en el cual queda reducida a sus componentes inorgánicos: fósforo, amonio y dióxido de carbono (Franz *et al.*, 1997).

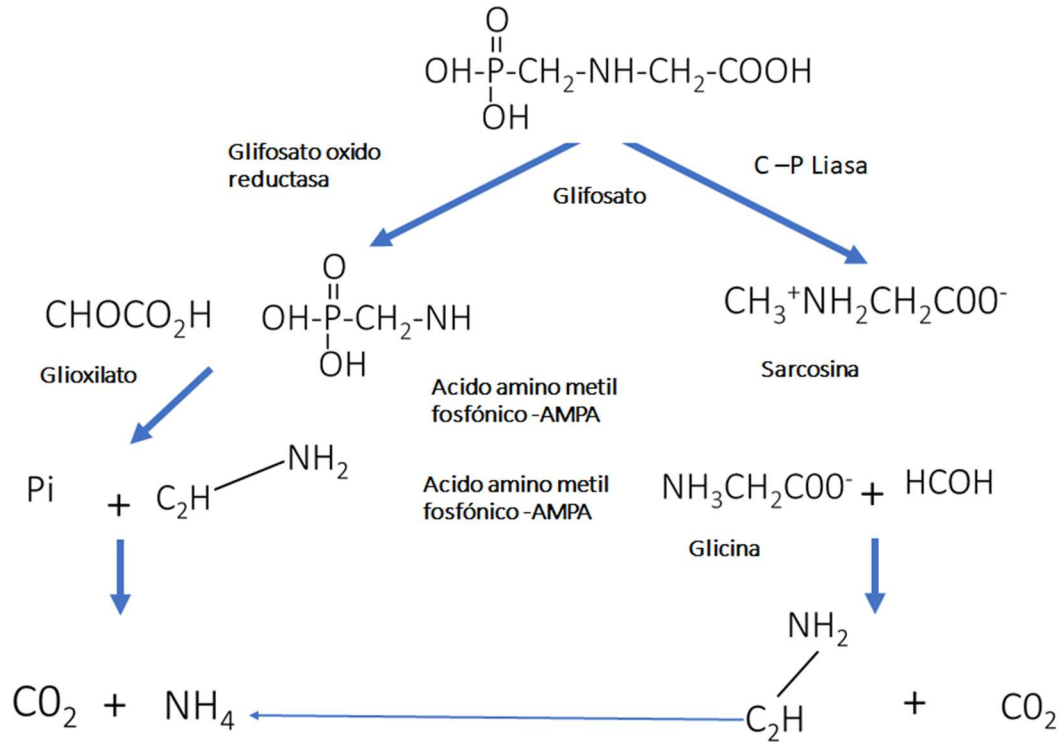


Figura 2-1: Ruta de degradación glifosato en suelo. Proceso de transformación de la molécula de glifosato por vía biológica. Adaptado de Okada *et al.* 2017.

El movimiento del agua a través del perfil se afecta por el grado de estructuración y porosidad del suelo (Strange-Hansen *et al.*, 2004). Cuando un soluto sigue el movimiento del flujo del agua se habla de transporte convectivo y en este influyen múltiples mecanismos, cuya forma simplificada se asocia al desarrollo de procesos de dispersión y difusión (Costa *et al.*, 1994). El movimiento de un plaguicida puede darse con el flujo del agua, cambiando su velocidad debido a la variación interna de la velocidad del líquido en los poros (dispersión) o moverse entre regiones que participan o no del movimiento (difusión). El transporte también se ve afectado por pérdidas del soluto, por interacciones reactivas, procesos de volatilización y degradación que en ocasiones son dependientes de la cinética de adsorción (Candela *et al.*, 2007).

En el movimiento de solutos las sustancias reactivas pueden establecer uniones con los diversos constituyentes del suelo presentando diferentes niveles de estabilidad (Rashmi *et al.*, 2018). Las interacciones estables se asocian con la presencia de residuos ligados

(RL) en el suelo y la difusión favorece en muchas ocasiones este tipo de interacciones, puesto que permite el transporte de solutos a lugares en principio inaccesibles (Al Rajab *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009). El movimiento de los solutos también se puede ver influenciado por otras sustancias presentes en el medio. En el caso de glifosato, el movimiento puede responder a la adición de fertilizantes fosforados, los cuales compiten por los sitios de adsorción, ocasionando el desplazamiento del herbicida (Wang *et al.*, 2005), favoreciendo la movilidad y con esta la difusión de la molécula (Al Rajab *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009; Kanissery *et al.*, 2019). Al respecto Al Rajab *et al.* (2008), indican además del desplazamiento producido por la adición de KH_2PO_4 sobre glifosato tiene lugar la translocación por difusión del herbicida a sitios de difícil acceso, donde desarrolla uniones estables asociadas a residuos no extractables.

La predicción del movimiento del agua y solutos a través del perfil resulta fundamental para evaluar la contaminación en suelos y aguas subterráneas (Larsson y Jarvis, 2000). Normalmente el movimiento los plaguicidas a través del suelo se estudia en columnas de suelo (disturbadas y no disturbadas) y se sabe que la movilidad varía según condiciones como el sistema de labranza, el historial de siembra, el tipo de suelo y las condiciones climáticas que generan cambios en la estructura de los suelos, las cuales afectan a los agregados y la porosidad (Lipiec *et al.*, 2006).

El estudio de la elución de solutos en columnas de suelo y la aplicación de modelos de transporte permite estimar parámetros como la dispersividad (λ) y el retardo (R), para sustancias reactivas y no reactivas con el suelo. Evaluar el transporte de sustancias no reactivas (trazadores) permite caracterizar el movimiento del agua a través del suelo, el flujo (Akhtar *et al.*, 2011) y se toma con referente para calcular los R de las sustancias permitiendo por tanto estimar su potencial contaminante.

2.2 Justificación

En Colombia, glifosato es el herbicida más usado y la información sobre el movimiento del herbicida en suelos es limitada, especialmente en zonas tropicales. Actualmente, en el país, se reportan estudios que indican alta adsorción y persistencia del herbicida en suelos (Bustos, 2012; Cuervo, 2014) y la posibilidad de mineralización en suelos con

diferentes contenidos de materia orgánica (Cuervo, 2014). Existe, por tanto, escasa información acerca de la lixiviación, mineralización y el efecto de la fertilización fosfórica en los suelos del país. Por ello, el presente estudio tiene como objetivos, caracterizar el movimiento de glifosato junto con un elemento traza (no reactivo) y la mineralización en columnas empacadas de suelos arroceros. Adicionalmente se evaluará el efecto de la adición de MAP sobre estos fenómenos (lixiviación y mineralización).

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto del MAP sobre el movimiento, mineralización y formación de Residuos ligados de glifosato en columnas empacadas de suelos inceptisoles procedentes de cultivo de arroz.

2.3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar el movimiento del agua en columnas empacadas de suelo mediante el empleo de Bromuro, un elemento traza, no reactivo.
- Caracterizar el movimiento de glifosato (solute reactivo) en columnas empacadas de suelos arroceros con y sin adición de MAP.
- Caracterizar la mineralización de glifosato en columnas empacadas de suelos solo y en presencia de MAP
- Caracterizar formación de residuos ligados de glifosato en columnas empacadas de suelos solo y en presencia de MAP
- Aplicar modelos matemáticos de transporte para obtener los parámetros que rigen el movimiento de glifosato en los suelos en presencia y ausencia de MAP

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Suelos

Los suelos utilizados fueron los mismos descritos en el capítulo 1 de esta memoria: **suelo 1** (CS1) proveniente del municipio del Espinal en el departamento del Tolima; **suelo 2**. (CS2) proveniente del municipio de Saldaña en el departamento del Tolima y **suelo 3** (CS3) proveniente de la ciudad de Villavicencio en el departamento del Meta. Todos los suelos provienen de fincas de producción del cultivo de arroz. Las propiedades fisicoquímicas se encuentran recopiladas en la tabla 1-5 del capítulo 1.

2.4.2 Reactivos

Para el estudio se utilizaron dos fuentes de glifosato: 1). RoundUp® en formulación de sal potásica de N-fosfometil glicina en concentración de 480g L⁻¹ equivalentes a 363 g de N-fosfometil glicina (F-GLY) y 2). N-fosfometil-¹⁴C glicina con una actividad 1.8 mCi mmol Sigma®aldrich (¹⁴C-GLY). La fuente fertilizante utilizada fue fosfato monoamónico al 99.3% de J.T. Baker (MAP). La fuente de bromuro fue KBr del 99.5% de J.T. Baker. Otros reactivos utilizados en las diferentes fases analíticas fueron Borato sódico Merck, F-moc Cl 97% Sigma Aldrich, acetonitrilo 99.9%, diclorometano Merck millipore 84.93 g mol⁻¹ y coctel de centelleo líquido Ultima Gold®, Hidróxido de sodio anhidrido (NaOH), bicarbonato de sodio (NaHCO₃) al 99.7% y carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 99.5% de J.T. Baker.

2.4.3 Ensayo de infiltración

Para el ensayo se empacaron manualmente columnas de los tres suelos, teniendo en cuenta la densidad aparente de cada uno de ellos. Las dimensiones de las columnas de PVC (opacas) fueron 30 cm de alto y 8.9 cm de diámetro interno.

Las columnas fueron humedecidas por capilaridad utilizando una solución acuosa de CaCl₂ 0.01 M y se colocaron en soportes que permitían el libre drenaje y colecta de lixiviados (Figura 2-2). El volumen de poro de cada columna se determinó a partir de la diferencia entre la masa de la columna previamente saturada, después de 24 h de drenaje y la masa seca inicial de suelo al interior de la columna.

Para el ensayo se planteó la ejecución de un diseño factorial con tres tipos de suelos a los cuales se les aplicó una dosis de herbicida (F-GLY+ ^{14}C -GLY), junto con KBr como elemento trazador, dos tratamientos, con fósforo y sin fósforo y tres replicas para cada uno, de modo que se contó con 6 columnas por suelo, para un total de 18 columnas (Tabla 2-1). En las columnas con fósforo se agregó la cantidad equivalente a 60 kg ha^{-1} de fósforo presentado en la forma de fósforo monoamónico.

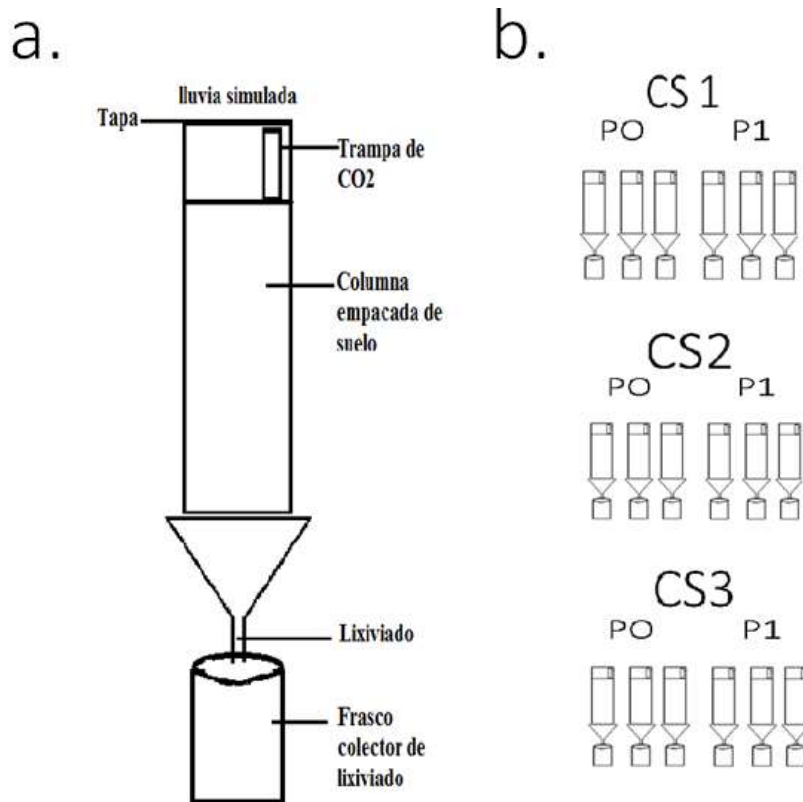


Figura 2-2: **a.** Esquema de la estructura de las columnas empacadas de suelo y tratamientos ejecutados. Tamaño de columnas: longitud: 30cm; diámetro interno: 9cm. Trampa de CO_2 : vial de 50mL. **b.** esquema del arreglo experimental, 6 columnas empacadas para cada suelo, distribuidas en dos tratamientos P0 (sin fósforo) y P1 (con fósforo).

Para la aplicación de los tratamientos se prepararon 250 mL de solución acuosa que contenía: 0.041 mL de Roundup® (equivalentes a 0.034 g de i.a), $5.631 \mu\text{Ci}$ de ^{14}C glifosato y 12.5 g de KBr, de la que se tomó una alícuota de $100 \mu\text{L}$ para cuantificación en el contador de centelleo líquido y así tener garantía del valor exacto del radiomarcado. A cada columna se le aplicaron manualmente 10 mL de esta solución,

haciendo un reparto homogéneo en toda la superficie, evitando tocar los bordes de la columna. Por cada columna se aplicó aproximadamente 0.58 g de KBr, (0.3356 g de Br-), 0.0016 mL de Roundup, (0.0007954 g de i.a. de glifosato) y 0.2252 μCi de ^{14}C glifosato. La dosis de glifosato agregada a cada columna fue equivalente a 4 L ha⁻¹ de Roundup. Después de la aplicación, se agregaron 90 mL de agua, para completar un volumen total de 100 mL añadidos a cada columna. A las 24 horas de esta aplicación, se añadió la dosis de MAP en dosis equivalente a 60 kg ha⁻¹ (0.07817 g de MAP por columna) en tres de las columnas de cada suelo (Figura 2-2) y se estableció un flujo de agua de 100 mL día⁻¹.

Tabla 2-1: Esquema del diseño experimental de infiltración

Suelo ¹	condición inicial en el suelo ²	Columnas ³	MAP ⁴	Nomenclatura ⁵
CS1	Glifosato en dosis equivalente a 4L ha ⁻¹	1,2,3	P0	CS1P0
		4,5,6	P1	CS1P1
CS2	de Roundup +	7,8,9	P0	CS2P0
		10,11,12	P1	CS2P1
CS3	KBr (0.580 mg mL ⁻¹)	13,14,15	P0	CS3P0
		16,17,18	P1	CS3P1

(¹) Suelos (²) condición inicial: adición de glifosato y KBr (³) número de columna en el tratamiento (⁴) MAP: indica la adición del fertilizante fosfato monoamónico en las columnas, donde P0: sin adición de fosfato; P1: con adición de fosfato. (⁵) referencia del tratamiento en relación con el suelo y la adición del fosfato

Cada 24 horas se recolectó y se pesó la masa del lixiviado, se determinó su valor de pH y se tomaron alícuotas de 1.5 mL para la cuantificación de Br y 1 mL para la cuantificación de ^{14}C -GLY. Con base en los volúmenes añadidos y los volúmenes de lixiviación en las columnas se calculó el promedio de flujo de agua en la columna (como la cantidad de agua adicionada sobre el tiempo de aplicación en mL h⁻¹), el contenido volumétrico de agua (θ) (volumen de agua en la columna entre el volumen de suelo en la columna por 100, en cm³ cm⁻³). El volumen diario de agua en columna se calculó teniendo en cuenta el volumen inicial de agua en columna más el volumen agregado menos el volumen lixiviado (cm³); la velocidad de poro (v) se calculó a partir de la

expresión q/θ (cm h^{-1}), siendo q la velocidad de Darcy, la cual se define como el flujo de agua en la columna entre π por el diámetro interno de la columna² (cm h^{-1}).

2.4.4 Cuantificación de bromuro (Br^-).

La cuantificación de Br^- presente en el lixiviado, se realizó por High Performance Liquid Chromatography (HPLC) con 1.5 mL de lixiviado, proveniente de cada una de las columnas y tiempo de medida, que se filtró y trasvasó a viales de 2 mL. Se empleó un HPLC, Agilent Technologies serie 1100 (Palo Alto, CA, EUA), equipado con bomba cuaternaria, inyector manual (20 μL Loop) y detector de arreglo de diodos (DAD). La columna analítica fue una Alltech Allsep (100 x 4.6 mm, 7 μm) y la fase móvil un buffer acuoso 100% $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ 2.8/2.2 mM, en modalidad isocrática, con un flujo 1.3 mL min^{-1} . Se realizó una curva de calibración, utilizando concentraciones conocidas de bromuro, las cuales contenían 0, 6.71, 13.42, 26.86, 33.59, 3357.25, 6714.69 y 10071.74 mg Br L^{-1} (figura 2-3). El tiempo de retención para bromuro fue de 4.3 min y la longitud de onda de la determinación de 199 nm. Los parámetros del proceso de cuantificación se realizaron de acuerdo con la metodología implementada por Martínez-Cordón *et al.*, (2015). El límite de detección se determinó en 0.046 mg L^{-1} y el de cuantificación en 0.15 mg L^{-1} .

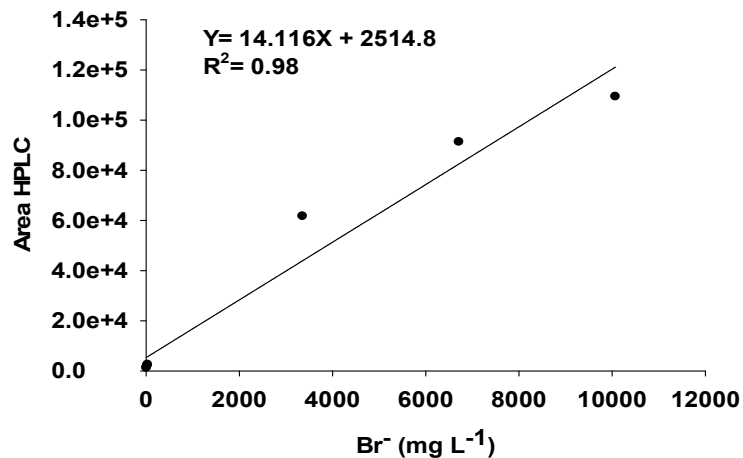


Figura 2-3: Curva de calibración para Bromuro de potasio.

Con los datos experimentales se obtuvieron las curvas de elución de Bromuro graficando la concentración Relativa C/C_0 , frente al volumen de poro Relativo V/V_0

2.4.5 Cuantificación de glifosato en agua

Los lixiviados colectados diariamente se llevaron a cuantificación para la determinación de ^{14}C -glifosato utilizando un Contador de Centelleo Líquido (CCL) Tri-Carb modelo Perkin Elmer 29010TR. La cuantificación se realizó con 1 mL de cada muestra, que se dispuso en viales de borosilicato Picoglass® de 10 mL y se mezclaron con 5 mL de coctel de centello líquido, Ultima Gold™.

2.4.6 Cuantificación Residuos Ligados

El último paso del ensayo consistió en seleccionar horizontalmente las columnas (6 fracciones). Cada fracción contenían un peso aproximado de suelo de 215 ± 15 g, que se homogeneizó. Después, se tomó una parte de suelo de cada fracción, se dejó secar al aire por 24 horas, se mezcló y se pesaron entre 150 y 200 mg de suelo que fueron llevados a combustión en un Oxidador Biológico marca Harvey Corporation 0X-600®. El $^{14}\text{CO}_2$ generado en el Oxidador Biológico se capturó en viales que contenían 20 mL de Carbosorb®. Una vez culminado el proceso de oxidación de la muestra, a cada trampa se le adicionaron 20 mL de coctel de centelleo líquido (Ultima Gold®) y posteriormente se llevaron a cuantificación en CCL. Con estos datos se establecieron las cantidades de radiomarcado remanente en el suelo y su distribución a través de las columnas.

2.4.7 Cuantificación de glifosato mineralizado.

Para cuantificar la mineralización de glifosato en las columnas se utilizaron viales con NaOH al 10%, los cuales actuaron como trampas de captura de $^{14}\text{CO}_2$, estas se dispusieron en la parte superior de la columna (Figura 2.1), posteriormente las columnas fueron selladas para que no hubiera pérdida de gases. Diariamente se colectó el vial de NaOH y se reemplazó por una nueva solución. Se tomó 1 mL de la solución de NaOH y se mezcló con 10 mL de coctel de centelleo líquido y se llevó a cuantificación de $^{14}\text{CO}_2$ en CCL para determinar la tasa de mineralización del glifosato radiomarcado.

Con las cantidades cuantificadas de $^{14}\text{CO}_2$ se obtuvieron las cinéticas de mineralización que se ajustaron a ecuación de primer orden (Ecuación 2-1):

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (2-1)$$

Donde, C es la cantidad mineralizada de herbicida (dosis inicial aplicada en %) en el tiempo, t (día); C_0 es la cantidad inicial aplicada, k es la constante de primer orden de la velocidad de mineralización (día^{-1}).

Partiendo de la ecuación 2-1 se determinó la velocidad de mineralización (k), y la vida media de mineralización del herbicida (DT_{50}) donde:

$$DT_{50} = \ln 2/k \quad (2-2)$$

2.4.8 Curvas de elución (Breakthrough Curves - BTC).

Las curvas de elución, BTC, se obtuvieron para bromuro y glifosato al graficar la concentración relativa del soluto (relación C/C_0 , donde C es la concentración en el tiempo y C_0 es la concentración inicial), vs el número de volúmenes de poro relativos (V/V_p), donde V es el volumen de lixiviado acumulado en el tiempo y V_p el volumen de poro en la columna) recolectados en el efluente. El V_p se determinó a partir de la ecuación 2-3:

$$V_p = V_T - V_s \quad (2-3)$$

Donde, V_T = el volumen total del cilindro; V_s = volumen ocupado por la masa de suelo.

2.4.9 Estimación de parámetros de transporte.

El modelo de libre acceso utilizado en esta investigación, STANMOD está basado en el código CXTFIT 2.1 y permite estimar los parámetros de transporte de los contaminantes tales como: K_d , k (tasa de degradación), velocidad de poro, coeficiente de dispersión hidrodinámica. El modelo puede emplearse en la resolución del problema inverso, en el cual, a partir de los datos experimentales (curvas BTC) se pueden ajustar diferentes ecuaciones para analizar y estimar los parámetros que rigen el transporte de una sustancia en el perfil del suelo. Las diferentes soluciones matemáticas del transporte de contaminantes solubles en medios porosos que contiene el código CXTFIT 2.1 se describen a continuación (Toride *et al.*, 1995)

2.4.9.1 Modelo de transporte en equilibrio CDE

Este modelo está gobernado por la ecuación de convección-dispersión (CDE), bajo la hipótesis de que las moléculas se transportan a través del flujo de agua en el suelo, por transporte convectivo, el cual plantea el movimiento de soluto en una dimensión y en una dirección X , ecuación dada por (ecuación 2-4) (Okada *et al.*, 2014):

$$R \frac{\partial C}{\partial T} = D \frac{\partial^2 C}{\partial X^2} - v \frac{\partial C}{\partial X} \quad (2-4)$$

Con ∂C : diferencial en la concentración del soluto (mg L^{-1}), ∂T : diferencial en el tiempo (días, d), D : coeficiente de dispersión del soluto ($\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$), ∂x : diferencial de la distancia (cm) y v : velocidad promedio del agua en los poros del suelo (cm d^{-1}).

Al estimar la degradación del soluto, con ocurrencia únicamente en la fase líquida, este proceso estaría dado por la expresión (ecuación 2-5):

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - v \frac{\partial C}{\partial x} - \mu_{liq} C \quad (2-5)$$

Donde t es el tiempo (d), X es la profundidad (cm), ρ es la densidad del suelo (g cm^{-3}), θ el contenido volumétrico en agua, C es la concentración de la fase líquida (mg L^{-1}), S la concentración en la fase sólida (mg Kg^{-1}), V la velocidad media de poro (cm h^{-1}), D el coeficiente de dispersión ($\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$) y μ_{liq} el coeficiente de degradación de primer orden para la fase líquida (h^{-1}).

Este modelo asume equilibrio local para la adsorción del soluto de modo que la adsorción puede ser descrita por una isoterma lineal (ecuación 2-6):

$$Seq = K_d Ceq \quad (2-6)$$

Donde Seq y Ceq son las concentraciones en equilibrio adsorbida y en la fase líquida y K_d el coeficiente de partición ($\text{L}^{-1} \text{Kg}$).

Teniendo en cuenta esta relación la Ecuación (2-5) se escribiría:

$$R \frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - v \frac{\partial C}{\partial x} - \mu_{liq} C \quad (2-7)$$

Donde R (ecuación 2-8) es el factor de retardo (adimensional) igual a:

$$R = 1 + \frac{\rho K_d}{\theta} \quad (2-8)$$

2.4.9.2 Modelo de no equilibrio de origen físico (NEF)

La ecuación (2-7) de CDE se utiliza en condiciones de transporte en equilibrio, pero es posible que el transporte se presente en condiciones de no equilibrio físico (NEF) en el cual, el agua del suelo estaría dividido en dos regiones una inmóvil que no participa del movimiento transversal y otra móvil.

$$\theta = \theta_m + \theta_{im} \quad (2-9)$$

donde θ es el contenido volumétrico del agua, θ_m es el contenido volumétrico del agua de la fase móvil y θ_{im} contenido volumétrico del agua en la fase inmóvil (Martínez-Cordón, 2005).

En este modelo la transferencia de soluto entre las dos regiones puede ocurrir por difusión, mediante proceso cinético de primer orden. El modelo se basa en las ecuaciones 2-10 y 2-11:

$$\theta_m R_m \frac{\partial C_m}{\partial t} = \theta_m D_m \frac{\partial^2 C_m}{\partial x^2} - \theta_m v_m \frac{\partial C_m}{\partial x} - \mu_{liq} \theta_m C_m - \alpha (C_m - C_{im}) \quad (2-10)$$

$$\theta_{im} R_{im} \frac{\partial C_{im}}{\partial t} = \alpha (C_m - C_{im}) - \mu_{liq} \theta_{im} C_{im} \quad (2-11)$$

donde C_m y C_{im} son las concentraciones de soluto para la región móvil e inmóvil (mg cm^{-3}), R_m y R_{im} los coeficientes de retardo para la fase móvil e inmóvil, y α el coeficiente de transferencia de masa entre la fase móvil e inmóvil (T^{-1}).

Estas ecuaciones se pueden escribir en una forma adimensional (Ecuaciones 2-12 y 2-13):

$$\beta R \frac{\partial C_1}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C_1}{\partial Z^2} - \frac{\partial C_1}{\partial Z} - \omega(C_1 - C_2) - \mu_1 C_1 \quad (2-12)$$

y

$$(1 - \beta)R \frac{\partial C_2}{\partial T} = \omega(C_1 - C_2) \quad (2-13)$$

Donde $C_1=C_m/C_0$ y $C_2=C_{im}/C_0$ son las concentraciones relativas en la fase móvil e inmóvil, $T= vt/L$ (tiempo en relación con tiempo medio de la columna, $Z= x/L$ siendo, L , la longitud de columna, (Martínez Cordón *et al.*, 2005; Mao *et al.*, 2007).

β relaciona el porcentaje de la fracción móvil con respecto a la fracción total (ecuación 2-14):

$$\beta = \frac{\theta_m + f\rho}{\theta + \rho K} \quad (2-14)$$

Donde f representa la fracción de sitios de adsorción en contacto con la región móvil. Con $0 < \beta < 1$, si $\beta=1$, este indicaría que el movimiento corresponde a una condición de CDE.

ω (ecuación 2-14) indica el coeficiente de transferencia de masa, el cual señala la difusión entre la fase móvil e inmóvil:

$$\omega = \alpha L / \theta v \quad (2-14)$$

Donde α es coeficiente de transferencia de masa entre la fase móvil e inmóvil (h^{-1}).

$0 < \omega < 100$, donde, ω alto, señala que no se presentarían diferencias entre las fases móviles e inmóviles y por tanto el transporte de soluto se presenta en condiciones de equilibrio CDE.

Por último, μ_1 relaciona la degradación en la fase móvil, dada por (ecuación 2-15):

$$\mu_1 = \frac{L\mu_{liq}}{\nu} \quad (2-15)$$

2.4.9.3 Modelo de no equilibrio de origen químico (NEQ) “two-site”.

Este modelo, asume la adsorción de la molécula puede ocurrir en dos tipos de sitios, los tipos I, donde ocurriría el proceso de manera instantánea y los tipos II, en donde la adsorción es dependiente del tiempo, siguiendo procesos de cinética de primer orden. Algunos parámetros adimensionales de este modelo tienen la misma ecuación que los parámetros del modelo de no equilibrio físico, pero no tienen el mismo significado. En este modelo, el parámetro adimensional β internamente está determinado por la ecuación 2-16 (Mao *et al.*, 2004):

$$\beta = \frac{\theta + f\rho K_d}{\theta + \rho K_d} \quad (2-16)$$

Donde f es la fracción de sitios tipo I, que vienen dada por la ecuación 2-17, este valor varía entre 0 y 1, cuando $f=1$ indica todos los sitios de adsorción tipo I (adsorción instantánea)

$$f = \frac{\beta(\theta + \rho K_d)}{\rho K_d} \quad (2-17)$$

Y omega por la ecuación 2-18:

$$\omega = \frac{\alpha(1 - \beta)RL}{\nu} \quad (2-18)$$

Donde α es el coeficiente de primer orden de la cinética de adsorción en los sitios tipo II (ecuación 2-19)

$$\alpha = \frac{\omega v}{(1-\beta)RL} \quad (2-19)$$

El modelo "Two sites", también tiene en cuenta la degradación, con tasas independientes en la fase líquida y en la fase adsorbida. Esta degradación adimensional estaría dada para la fase líquida (μ_1) por la ecuación 2-20:

$$\mu_1 = \beta R \frac{L\mu_{liq}}{v} \quad (2-20)$$

Mientras que para la fase adsorbida (μ_2), esta se representa por la ecuación 2-21

$$\mu_2 = (1 - \beta) R \frac{L\mu_{liq}}{v} \quad (2-21)$$

Donde μ_{liq} indica la degradación en la fase líquida

2.4.9.4 Condiciones de la modelación del transporte en las columnas

Las BTC de bromuro y glifosato se modelaron utilizando el software STANMOD ver 2.1, que emplea el código CXTFIT (problema inverso) fijando como tiempo y concentración adimensionales. El bromuro se modeló con CDE y NEF, asumiendo que no se presenta degradación en ninguna de las fases ($\mu=0$) y un valor fijado de $R=1$, ya que el trazador se considera no reactivo en el suelo (Dousset *et al.*, 2007). De este modo se estimaron los parámetros de transporte D (en caso de CDE) y D , β y ω (en caso de NEF). Los datos ingresados en el modelo fueron la velocidad (calculada a partir del flujo en la columna), y los datos experimentales de las BTCs. La dispersividad (λ) se determinó mediante la ecuación (Perfect *et al.*, 2002):

$$\lambda = \frac{D}{v} \quad (2-22)$$

Una vez determinado el movimiento del agua (mediante la modelación de bromuro) el modelo que mejor se ajuste (los parámetros arrojados por el mismo) será el escogido para modelar el movimiento de glifosato en el perfil del suelo. Además, para glifosato se modeló también NEQ "Two sites". Todos estos modelos se probaron teniendo en cuenta la posibilidad de degradación tanto en la fase móvil como en la adsorbida, ya que se supone que esta molécula es reactiva en suelo. Los parámetros iniciales para la modelación del herbicida son la velocidad de flujo de la columna (v) la cual fue calculada experimentalmente, los valores las BTCs de glifosato, la dispersión (D) estimada con el movimiento del trazador (Br) mediante CDE o D , β y ω mediante NEF (los que arroje el modelo que mejor se ajuste a bromuro). De esta forma se podrán calcular los parámetros β , ω , R y μ para glifosato.

Tanto para bromuro como para glifosato, la mejor solución al problema inverso se determinó mediante la minimización de la función objetivo (SSQ), la cual representa la suma de los cuadrados de las diferencias entre la concentración real y la ajustada al modelo, ecuación 2-23 representada por (Martínez-Cordón, 2005):

$$SSQ(b) = \sum_{i=1}^N [C(x_i) - C_f(x_i; b)]^2 \quad (2-23)$$

Donde b representa un vector desconocido que contiene M parámetros ajustables j b ($j = 1, \dots, M$), C y C_f son las concentraciones observadas y calculadas o "fijadas" para los i puntos obtenidos de la variable independiente x ($i = 1, \dots, N$).

El coeficiente de determinación r^2 (ecuación 2-24) indica la bondad de ajuste de la regresión entre la concentración observada y la calculada, determinado por Martínez-Cordón (2005):

$$r^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (C_i - C_{fi})}{\sum_{i=1}^N (C_i - \bar{C})^2} = 1 - \frac{SSQ}{\sum_{i=1}^N (C_i - \bar{C})^2} \quad (2-24)$$

Donde \bar{C} es la media de las N concentraciones observadas. Un valor de r^2 próximo a la unidad indica un buen ajuste al modelo.

La varianza MSE (ecuación 2-25) se estimó por aproximación del valor medio del error al cuadrado (Martínez-Cordón, 2005)

$$MSE = \frac{SSQ}{N-M} \quad (2-25)$$

En el manual del programa CXTFIT 2.1, se encuentra más detalladamente la forma de controlar los parámetros iniciales para obtener las soluciones analíticas del problema planteado (Toride *et al.*, 1995).

2.5 Resultados y discusión

2.5.1 Caracterización de la lixiviación de Bromuro (Br⁻)

El Br⁻ es utilizado habitualmente en estudios de transporte de plaguicidas en suelos como trazador debido que es un elemento considerado escaso en esta matriz y no reactivo con en el suelo por lo que describir su movimiento permite describir el movimiento del agua en las columnas (Dousset *et al.*, 2007). Los valores de área de Br⁻ resultante de la cuantificación del lixiviado en HPLC, fueron remplazados según la ecuación de calibración de bromuro (Figura 2-4), para determinar la concentración recuperada del analito en mg L⁻¹ en cada tiempo y a partir de estos valores se construyeron las BTC, en las cuales se representa la concentración relativa del soluto C/C₀ frente al Volumen de poro Relativo (V/V_p). Las BTC para Br⁻ se encuentran representadas en la Figura 2-4.

Los parámetros evaluados asociados al movimiento del Br⁻ a través de las columnas incluyeron el porcentaje de recuperación, tiempo de pico, velocidad de poro y tiempo de aplicación están recopilados en la Tabla 2-2. El porcentaje de recuperación de bromuro fue diferente para cada suelo y columna evaluada. Por suelo, este se presentó en el orden CS2^a<CS3^a<CS1^a con rango entre 87.78±2.78 y 90.25±0.68% (Tabla 2-2). El análisis estadístico no mostró diferencia debida a la adición del fosfato, por lo que se presentan únicamente los valores promedio diferenciados por suelo.

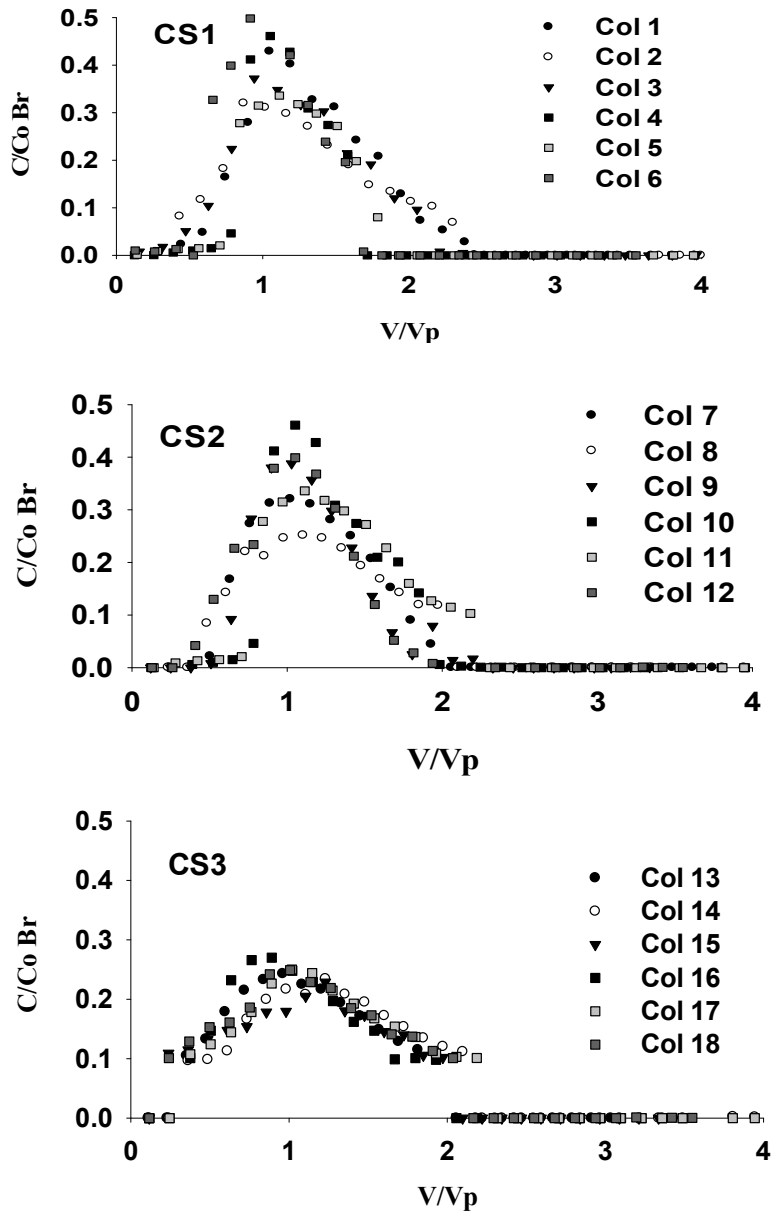


Figura 2-4: BTCs para Br⁻ en los suelos CS1, columnas de 1 a 6, CS2 columnas de 7 a 12 y CS3 columnas de 13 a 18.

El pico de bromuro fue registrado en valores cercanos a un volumen de poro (Tabla 2-2), presentándose diferencias estadísticas entre los suelos (CS3^a; CS2^a; CS1^b). La ausencia de diferencia estadística debida a la adición fosfato sobre el transporte del bromuro para los suelos empaquetados en las columnas permitió promediar los valores de las seis

columnas de cada suelo (Figura 2-4; Tabla 2-2). Los resultados encontrados indican que este soluto atraviesa las columnas junto con el flujo diario de agua, lo que implica que el pico del Br^- llega a la base de la columna en alrededor 1 volumen relativo de poro, valor mayor en CS1, suelo que presenta mayores contenidos de arcillas y mayor densidad, lo que puede ocasionar mayor tiempo en el movimiento del soluto (Bromly *et al.*, 2007). Los resultados se encuentran acordes con lo reportado por autores como Dousset *et al.* (2007) o Masipan *et al.*, (2016). Las BTC, no son simétricas y presentan “*tailing*”, coleo o desplazamiento del pico hacia la derecha, sugiriendo que el transporte no ocurre en condiciones de equilibrio físico.

Tabla 2-2: Valores promedio discriminados por suelo para los parámetros de transporte experimentales para las curvas de lixiviación de Bromuro.

Suelo	Flujo de agua en la columna (q) (cm h^{-1})	Contenido volumétrico de agua (θ) ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$)	Tiempo pico Br^- (V/ V_p)	Velocidad de poro (cm h^{-1})	Recuperación de Br^- (%)
CS1	0.087	$0.34^b \pm 0.01$	$1.11^a \pm 0.09$	$0.26^a \pm 0.01$	$88.72^a \pm 3.49$
CS2	0.087	$0.34^b \pm 0.01$	$0.89^b \pm 0.04$	$0.26^a \pm 0.01$	$90.23^a \pm 0.68$
CS3	0.087	$0.39^a \pm 0.01$	$0.86^b \pm 0.03$	$0.23^b \pm 0.01$	$87.78^a \pm 2.78$

2.5.2 Modelación Matemática de Br^- en las columnas.

El ajuste de los datos obtenidos en las BTC se realizó para los modelos **CDE** y **NEF**; encontrándose un ajuste al segundo, el cual, describió adecuadamente el desplazamiento de las **BTCs** hacia la derecha, y el movimiento asimétrico del agua en las columnas, ajustándose al “*tailing*” o coleo y al pico de glifosato (Figura 2-5; Tabla 2.3). El modelo de NEF, señala que el movimiento del soluto se produce en dos regiones e indica que una parte del agua se estanca y no participa del transporte del trazador ni del flujo del agua. Resultado acorde con Dousset *et al.* (2007) quienes indican como, aun

cuando el empaquetamiento de las columnas produce la pérdida de características macroestructurales, es posible que estas conserven microestructuras, representadas en los agregados del suelo, las cuales pueden generar movimiento en condiciones de no equilibrio. Los datos arrojados indican correlación positiva entre la región móvil (β) y el contenido volumétrico de agua θ_m ($r=1.000$) (Tabla 2-4). Los valores de β indican que el porcentaje de la fracción móvil participante del movimiento del Br^- es mayor en CS3, aunque estadísticamente igual con los demás suelos empacados en las columnas (Tabla 2-3), mientras que los valores de ω permiten afirmar que la difusión participa del movimiento del trazador en las columnas, encontrándose en el orden $\text{CS1}>\text{CS2}>\text{CS3}$ (Tabla 2-3), indicando que la difusión es mayor en CS1.

Los valores de dispersividad ($\lambda=\mathbf{D}/\mathbf{v}$), señalan la relación del coeficiente de dispersión y la velocidad de movimiento del soluto, la correlación entre estos indica que el incremento conjunto de los valores de \mathbf{D} y \mathbf{v} aumenta el desarrollo de procesos de dispersión mecánica, lo que a su vez se asocia a mayor heterogeneidad en el medio poroso (Perfect *et al.*, 2002; Bromly *et al.*, 2007). El orden creciente para los valores de la dispersividad fue $\text{CS2}^a>\text{CS3}^a>\text{CS1}^a$, no observándose diferencia significativa entre suelos, indicando la similitud en la estructura y porosidad de estos. Los estimados de \mathbf{D} , mayores en CS3 y más bajos en CS1 (Figura 2-6) presentan una correlación positiva con \mathbf{v} , la densidad del suelo, los porcentajes de arcillas y la λ con \mathbf{D} ($r=0.86$; 0.516 ; 0.517 y 0.874 respectivamente) (Figura 2-6; Tabla 2-4), estos resultados coinciden con los obtenidos por Perfect *et al.* (2002) y Bromly *et al.* (2007) quienes indican que estas correlaciones se presentan en suelos con altos contenidos de arcillas, y que esta fracción textural favorece mayores dispersividades.

Tabla 2-3: Parámetros estimados en el modelamiento de Br valores promedio de las seis columnas evaluadas en cada suelo. Discriminados en para los modelos NEF y CDE.

	NEF			CDE		
	CS1	CS2	CS3	CS1	CS2	CS3
R²	0.8035± 0.1045	0.893± 0.068	0.896± 0.019	0.252± 0.12	0.403±0.096	0.418±0.166
D(cm²h⁻¹)	1.39 ⁻⁰⁷ ± 2.57 ⁻⁰⁸	1.43 ⁻⁰⁷ ± 1.59 ⁻⁰⁸	1.18 ⁻⁰⁷ ± 5.61 ⁻⁰⁹	0.247± 0.155	0.353±0.133	0.365±0.149
V(cm h⁻¹)*	2.57 ⁻⁰¹ ± 1.20 ⁻⁰²	2.63 ⁻⁰¹ ± 1.06 ⁻⁰²	2.24 ⁻⁰¹ ± 1.34 ⁻⁰²	2.57 ⁻⁰¹ ± 1.20 ⁻⁰²	2.63 ⁻⁰¹ ± 1.06 ⁻⁰²	2.24 ⁻⁰¹ ±1.34 ⁻⁰²
ω	19.34± 10.010	13.08± 6.53	6.41± 3.51	-	-	-
β	5.56 ⁻⁰² ± 9.55 ⁻⁰²	2.68± 4.63 ⁻⁰²	1.35± 1.29 ⁻⁰¹	-	-	-
λ (cm)	4.59 ⁻⁰⁷ ± 2.14 ⁻⁰⁷	5.43 ⁻⁰⁷ ± 5.58 ⁻⁰⁸	5.25 ⁻⁰⁷ ± 2.66 ⁻⁰⁸	1.055± 0.667	1.497± 0.528	1.640±0.65
θ_m	2.14 ⁻⁰² ± 3.70 ⁻⁰²	1.04 ⁻⁰² ± 3.58 ⁻⁰²	5.20 ⁻⁰² ± 4.99 ⁻⁰²	-	-	-
SSQ	0.96± 0.054	0.016± 0.017	0.008± 0.013	0.494± 0.217	0.200± 0.047	0.167±0.020
MSE	0.004± 0.002	0.001± 0.001	0.001± 0.000	0.014± 0.004	0.007± 0.001	0.114±0.266

*parámetro calculado, no estimado por el modelo; R²= ajuste al modelo; D= coeficiente de dispersión; v= velocidad de poro; ω=difusión entre la fase móvil e inmóvil; β= fracción móvil con respecto al total; λ= dispersividad; θ_m= Contenido volumétrico de agua en la región móvil.

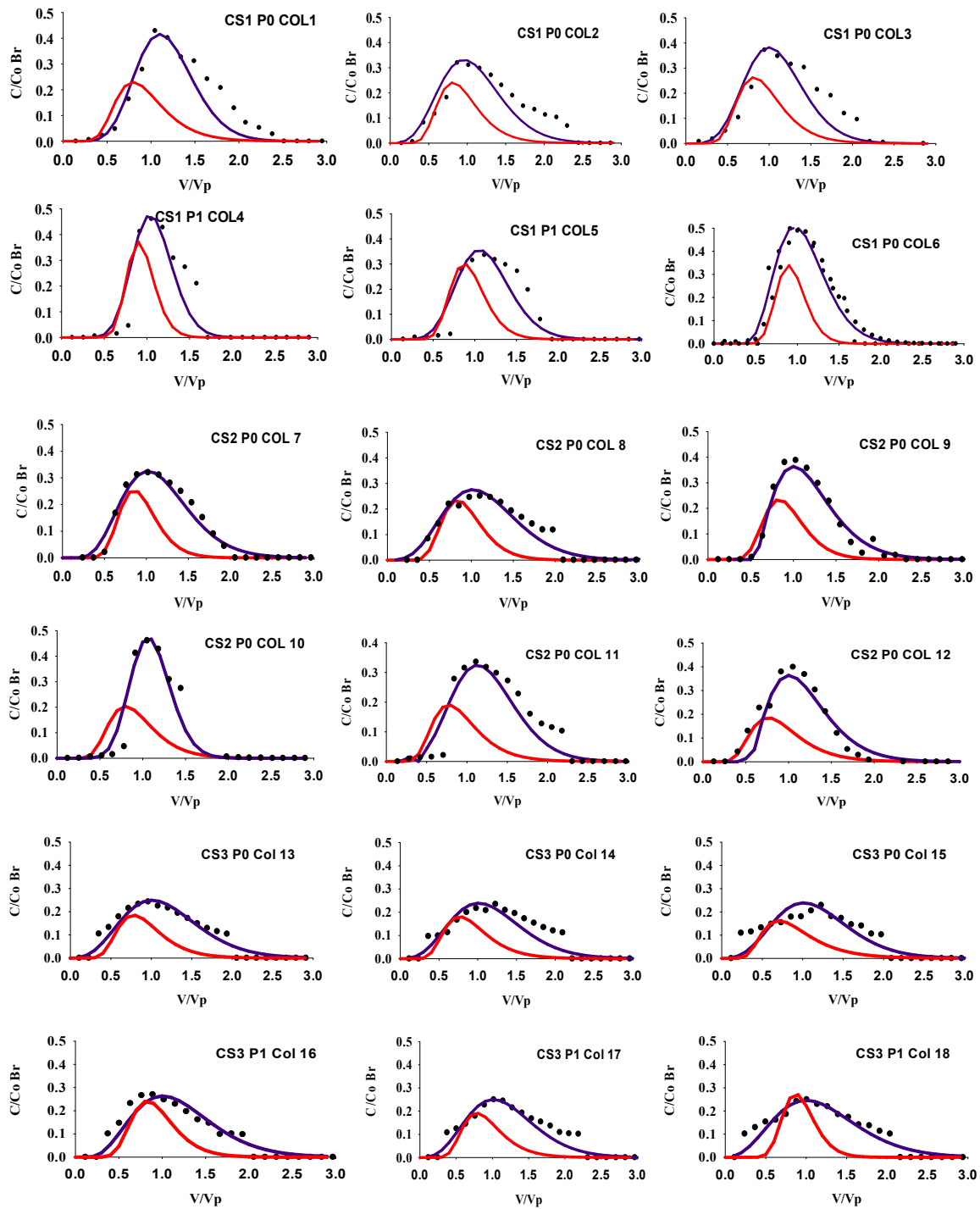


Figura 2-5: valores BTCs y ajustes del modelo CDE (-) y NEF(-) para Br en los suelos CS1, columnas de 1 a 6, CS2 columnas de 7 a 12 y CS3 columnas de 13 a 18.

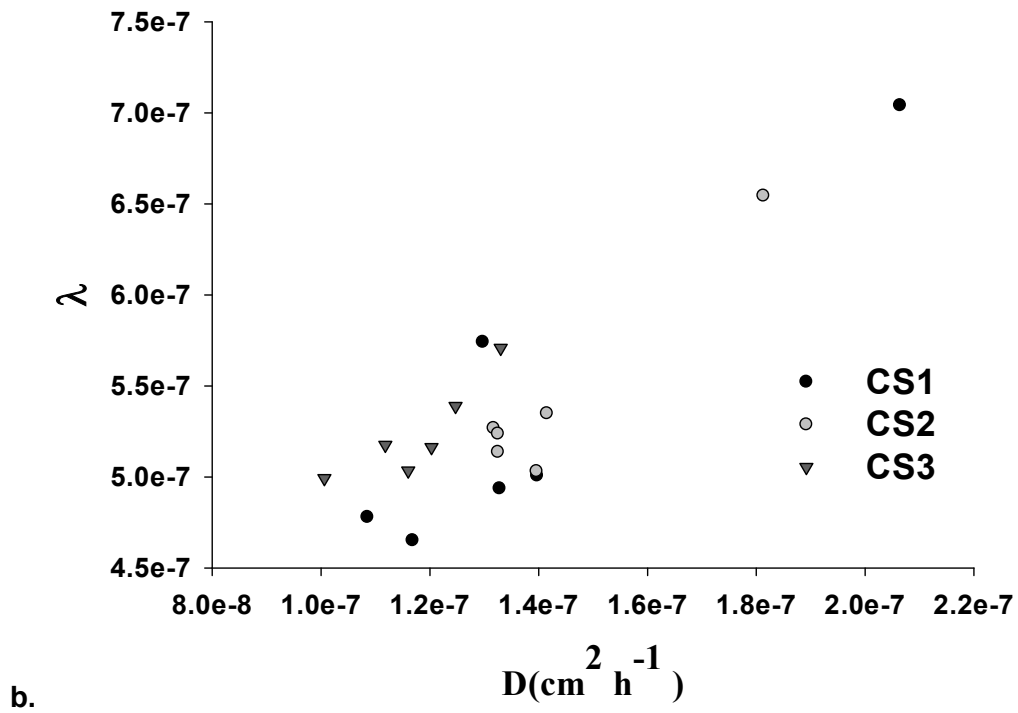
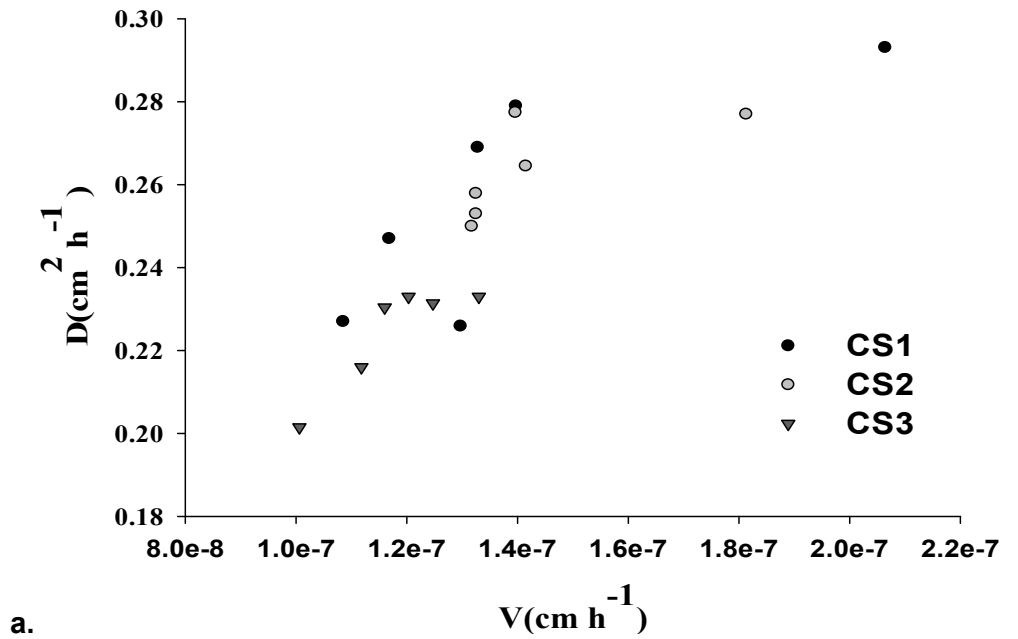


Figura 2-6: (a) correlación entre el $v \cdot D$ de las columnas, discriminado por suelo (b) Relación $D \cdot \lambda$ en los suelos evaluados.

Tabla 2-4: Correlaciones entre las propiedades estimadas de bromuro y las características físicas del suelo

	D	β
Arcilla	0.517*	0.640**
Densidad	0.516*	
D		
V	0.806**	
λ	0.874**	
θ_m		1.000**

**La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral). *. La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral). λ =Dispersividad; D= coeficiente de dispersión; v= velocidad; θ_m= contenido volumétrico de agua

2.5.3 Caracterización de la lixiviación de glifosato

Con los valores resultantes de la cuantificación de glifosato en el lixiviado, se obtuvieron las BTCs (C/C_0 versus V/V_p) (Figura 2-7) y los parámetros asociados al movimiento del herbicida a través de las columnas (Tabla 2-5). En este estudio, glifosato fue detectado desde las primeras fracciones en los lixiviados (Figura 2-7), resultado que se asocian a la parte del herbicida que no es adsorbido y llega a la base de las columnas disuelto en el agua (Okada *et al.*, 2018).

El momento de pico de lixiviación del herbicida presenta diferencias estadísticas en la interacción de suelo por tratamiento (Tabla 2-5), en donde se observa que fue mayor en CS1P0 frente a los demás. En todos los casos, el momento de pico presenta retardo del movimiento del glifosato en relación con pico del bromuro relacionado en la Tabla 2-2 con la adición del fosfato los picos máximos del herbicida se presentaron en menores volúmenes de poro estadísticamente diferentes con $P0^a > P1^b$ exceptuando de CS3 (Figura 2-7).

Tabla 2-5: Parámetros de transporte experimentales para las curvas de lixiviación de Glifosato

	CS1		CS2		CS3	
	P0	P1	P0	P1	P0	P1
Momento a pico (V/Vp)	3.38 ^{a A} ±0.28	1.77 ^{b A} ±0.113	2.28 ^{a B} ±0.07	1.62 ^{b B} ±0.19	1.99 ^{a B} ±0.09	1.90 ^{a B} ±0.09
Concentración en pico de lixiviado (C/Co)	2.31 ^{-4b A} ±0.29 ⁻⁴	4.94 ^{-4a A} ±0.402 ⁻⁴	1.29 ^{-4a B} ±0.359 ⁻⁴	1.50 ^{-4a B} ±0.419 ⁻⁵	1.04 ^{-4a B} ±0.26 ⁻⁵	1.20 ^{-4a B} ±0.37 ⁻⁵
Lixiviado total (%)	5.05 ±0.12	6.24 ±0.49	4.40 ±0.23	4.89 ±0.13	4.00 ±0.12	4.19±0.17

La concentración de glifosato en el pico del lixiviado, entre suelos se presenta en el orden CS1^a>CS2^b>CS3^b, observándose P1>P0 valor diferenciado estadísticamente únicamente en CS1 (Tabla 2.5).

En el caso de la lixiviación total, se encuentra que estadísticamente existen diferencias entre tratamientos con P1(5.106^a)>P0(4.48^b) y mayores porcentajes de lixiviación por suelo con CS1(5.65^a)>CS2(4.65^b)>CS3(4.09^b), en este caso, la interacción suelo por tratamiento no mostró diferencia estadística.

Estos resultados muestran que las cantidades lixiviadas son pequeñas y las características fisicoquímicas del suelo influyen en el movimiento del herbicida y reiteran el efecto que produce la adición del fertilizante, aumentado las cantidades de herbicida lixiviadas durante los ensayos. Los resultados, en relación con la composición y propiedades de los suelos, son acordes a los encontrados en el Capítulo 1 donde se determinaron altos porcentajes de adsorción (%**ads** en T1 CS1= 90.9±1.76%; CS2=92.32±1.67%; CS3=94.77±1.90%).

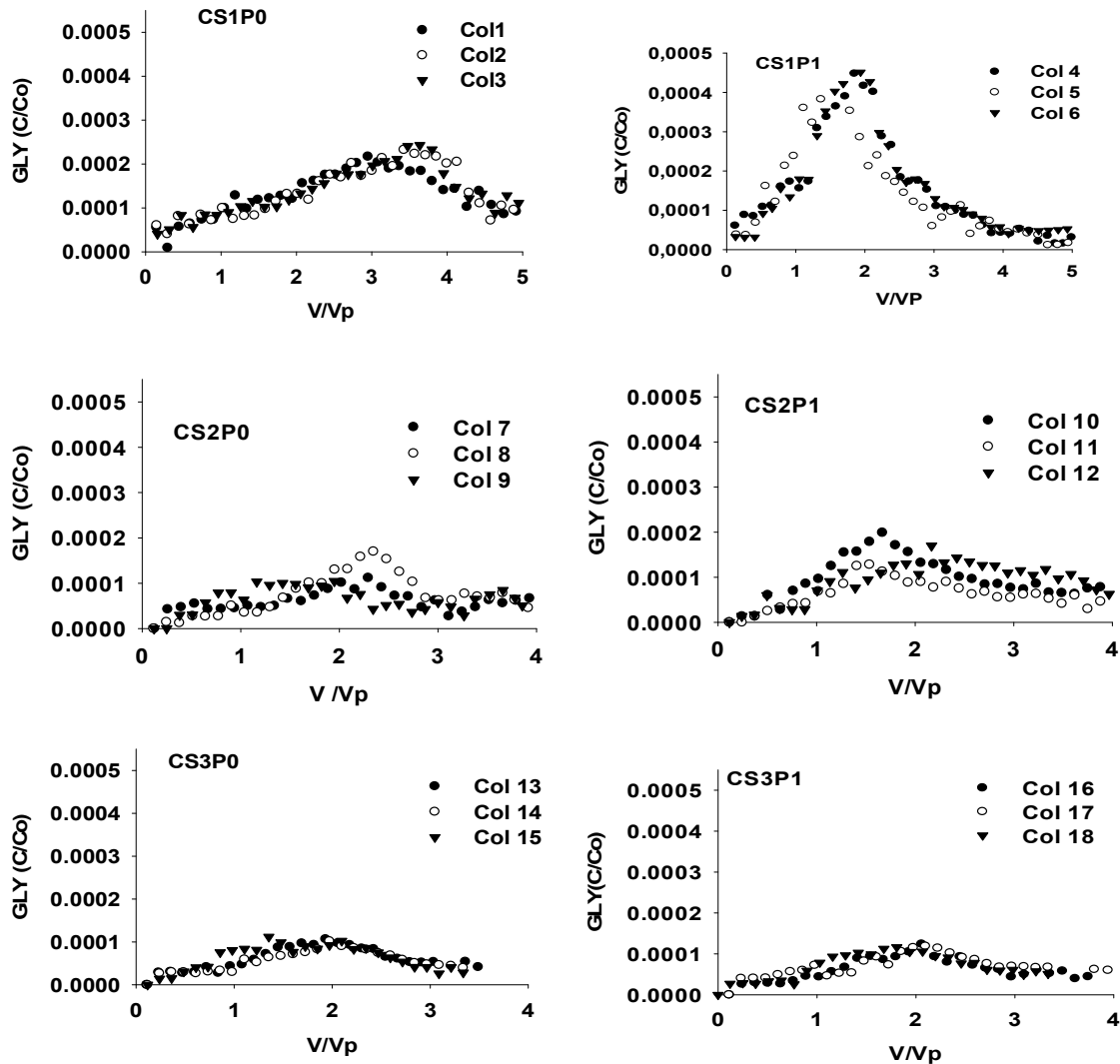


Figura 2-7: BTCs de glifosato en las columnas de suelo para: CS1P0: BTCs de las Col 1, 2, 3, del tratamiento sin adición de fosfato; CS1P1: BTCs de las Col 4, 5, 6, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato; CS2P0: BTCs de corresponden a las Col 7,8,9, del tratamiento sin adición de fosfato. CS2P1: BTCs de Col 10,11,12, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato; CS3P0: BTCs de Col 13, 14, 15, del tratamiento sin adición de fosfato y CS3P1: BTCs de Col 16, 17, 18, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato.

También se observó un aumento estadísticamente diferente de las cantidades totales lixiviadas cuando se adiciona fosfato en cada suelo de ($P1^a(5.11) > P0^b(4.48)$) (Tabla 2-5)- proceso que se asocia al desplazamiento molecular en los puntos de intercambio del suelo. Resultados previos en columnas de suelos han mostrado que los fertilizantes fosforados pueden aumentar la lixiviación de glifosato dependiendo de la capacidad de retención debida a la composición de los suelos (Lu et al., 2005; Barret and Mc Bride, 2007; Zhao et al., 2009). Zhao *et al.* (2009), indican que la adición de fosfato produce modificaciones en la velocidad del movimiento del herbicida, y que estas dependen también del tipo y propiedades de los suelos. En el caso de un suelo franco arenoso (Alluvic Primosols) a dosis de 220 mg de herbicida en columna, registran pico máximo de lixiviación a 5.44 V/Vp cuando no se aplica fosfato y 4.33 V/Vp cuando se aplica, mientras que en un suelo arenoso Sandic Primosols, con la misma dosis de glifosato, la adición del fosfato no genera cambios en los valores de pico siendo 3.39 V/Vp sin adición de fósforo y 3.62 V/Vp con adición de fósforo. Estos autores resaltan que la adición del fosfato puede aumentar la velocidad en el movimiento del herbicida, pero no es un resultado generalizable en los suelos. Al respecto Wang *et al.* (2005) indican que, si bien el fosfato puede alterar la adsorción de glifosato, el efecto depende de la capacidad de carga del suelo, entre otros factores. Para este estudio, los resultados son concordantes a los presentados por (Padilla y Selim, 2019) quienes muestran como la adición de fosfatos a columnas de suelo que ya contienen glifosato aumenta la lixiviación del herbicida, aunque en el caso de estos autores, reportan aumentos aproximados en un 50% en dos suelos que contienen óxidos de hierro y aluminio (thermic Fluvaquentic Endoaquept y Chromic Epiaquet). Los porcentajes de lixiviación cuantificados en las columnas correlacionaron positivamente con el pH ($r= 6.99$) del suelo. En relación con el pH de los lixiviados, a lo largo del ensayo se mantuvo en un rango de 6.88 ± 0.21 , sin presentar diferencias significativas debidas al tipo de suelo ó la adición del MAP. Al respecto Sidoli *et al.* (2016) han reportado que aumentos en este parámetro favorecen cambios en la protonación del sustrato, lo que redundo en mayor frecuencia en la repulsión de la molécula del suelo y la biodisponibilidad.

2.5.4 Modelación Matemática del movimiento de glifosato en las columnas

La estimación del movimiento del herbicida en las columnas se realizó para condiciones de NEF y de NEQ en “Two sites”. El ajuste al modelo se obtuvo introduciendo los valores

de v , D (estimado a través del movimiento del bromuro en la columna por NEF) los datos experimentales de las BTC. Los modelos se probaron teniendo en cuenta la degradación en las diferentes fases (sólida y líquida).

El mejor ajuste se obtuvo con el Modelo NEQ “two sites”, observándose que el modelo describe adecuadamente el ascenso y descenso de las BTC de todas las columnas (Figura 2-8) y teniendo en cuenta los menores valores de R^2 , SSQ y MSE (Tabla 2-7) lo que sugiere que glifosato se mueve en condiciones de no equilibrio químico. Estos resultados están en concordancia a los encontrados por otros autores como Magga *et al.* (2008) y Zhou *et al.* (2010). Los datos arrojados por el modelo permiten obtener los valores de f y α (eq. 2-13 y 2-14), la degradación en sitios μ_1 y μ_2 y el retardo R que presenta el movimiento del herbicida a través de la columna de suelo.

El retardo (R) observado indica que el herbicida es reactivo con el suelo, lo que ralentiza el desplazamiento respecto al bromuro, sin que en los parámetros estimados se observe diferencia debida a la adición del fosfato.

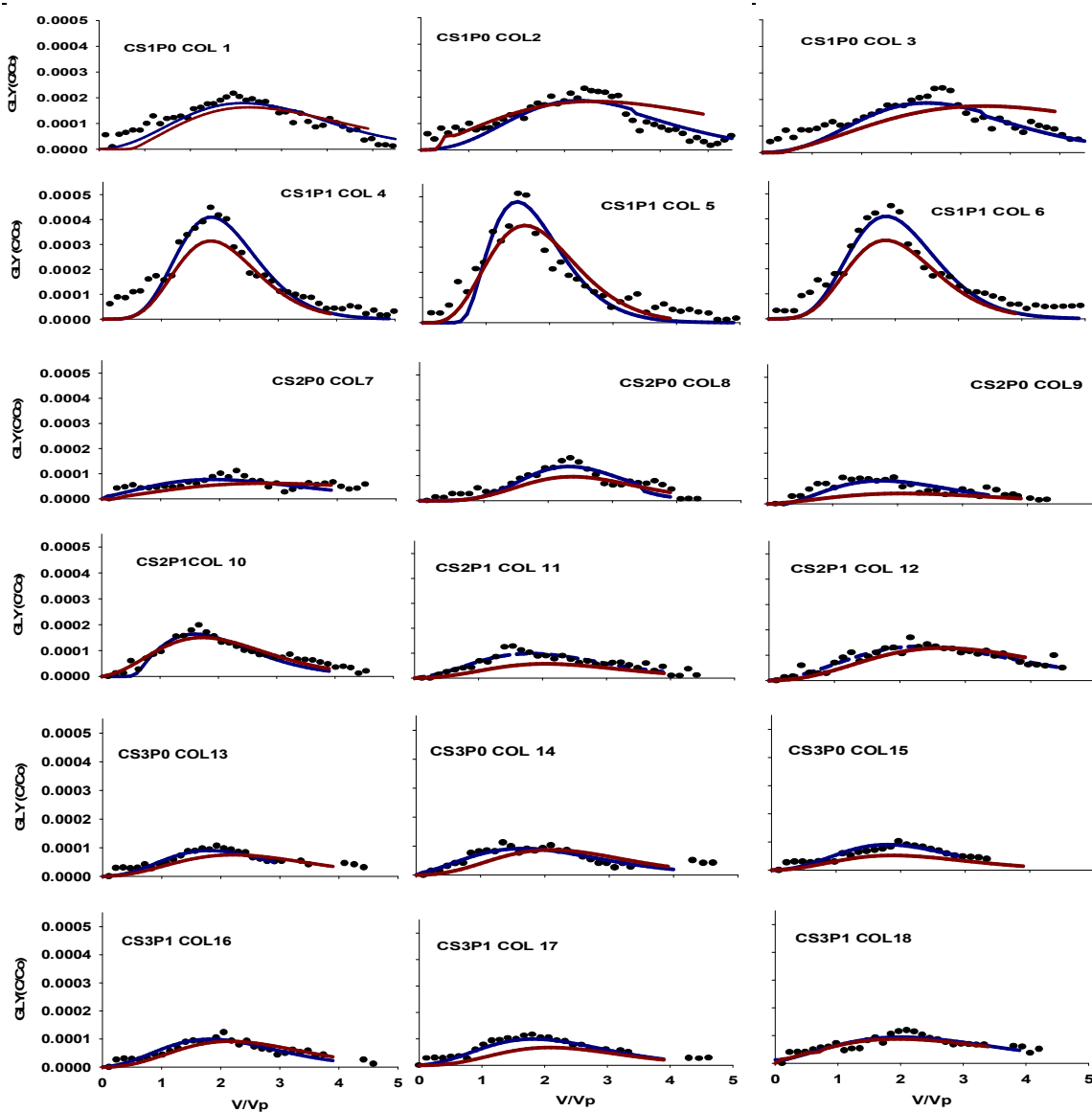


Figura 2-5: BTCs estimadas para glifosato en las columnas de suelo a partir de NEF (-) y NEQ "Two sites"(-): CS1P0 corresponden a los estimados de las Col 1, 2, 3, del tratamiento sin adición de fosfato; CS1P1 a los estimados de las Col 4, 5, 6, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato; CS2P0 a los estimados de las Col 7,8,9, del tratamiento sin adición de fosfato; CS2P1 a los estimados de las Col 10,11,12, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato; CS3P0 a los estimados de las Col 13, 14, 15, del tratamiento sin adición de fosfato y CS3P1 a los estimados de las Col 16, 17, 18, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato.

Tabla 2-7: Parámetros estimados del movimiento del glifosato con el modelo NEQ y NEF, con estimación de la degradación en la fase sólida y líquida, valores promedio de las tres columnas desarrolladas para cada tratamiento con relación al suelo.

	NEQ "two sites"					
	CS1		CS2		CS3	
	P0	P1	P0	P1	P0	P1
R²	0.71± 0.05	0.84± 0.04	0.72± 0.18	0.86± 0.03	0.83± 0.01	0.81± 0.08
SSQ	3.00 ⁻⁸ ±2.00 ⁻⁸	8.00 ⁻⁸ ±3.00 ⁻⁸	7.00 ⁻⁹ ±5.00 ⁻⁹	7.00 ⁻⁹ ±2.00 ⁻⁹	4.00 ⁻⁹ ±1.00 ⁻⁹	1.00 ⁻⁶ ±2.00 ⁻⁶
MSE	7.00 ⁻¹⁰ ±2.00 ⁻¹⁰	3.00 ⁻⁹ ±6.00 ⁻¹⁰	3.00 ⁻¹⁰ ±2.00 ⁻¹⁰	3.00 ⁻¹⁰ ±1.00 ⁻¹⁰	4.00 ⁻² ±8.00 ⁻²	2.00 ⁻¹⁰ ±5.00 ⁻¹¹
R	4.04± 0.08 ^a A**	2.26± 0.28 ^b B	3.94± 0.85 ^a A	3.50± 0.15 ^a A	3.76± 0.27 ^a A	3.19±0.43 ^{ab} B
Kd (L Kg⁻¹)	12.89±0.48 ^a A	4.14± 0.74 ^b B	12.17±3.42 ^a AB	10.34±1.09 ^a A	8.47±0.86 ^a B	7.05±1.64 ^a A
β	0.00± 0.00 ^a A	0.00± 0.00 ^a A	0.00± 0.00 ^a A	0.00± 0.00 ^a A	0.00± 0.00 ^a A	0.00± 0.00 ^a A
ω	10.52 ± 0.97 ^a	11.80 ± 5.30 ^a	9.74 ± 2.24 ^a	12.52 ± 1.06 ^a	11.84 ± 3.53 ^a	10.89± 2.00 ^a
α (h⁻¹)	0.02± 0.00 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.00 ^a
F	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
μ1	5.82 ± 0.03 ^a	5.84 ± 0.11 ^a	4.40 ± 2.16 ^a	4.39 ± 1.8 ^a	7.06 ± 0.07 ^a	6.63 ± 0.05 ^a
μ2	0.00 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.11 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.28 ^b ± 0.13 ^b
	NEF					
R²	0.71±0.05	0.86±0.00	0.61±0.20	0.85±0.0	0.59±0.5	0.78±0.09
SSQ	2.61 ⁻⁸ ±3.00 ⁻⁹	6.51 ⁻⁸ ±4.00 ⁻⁹	9.86 ⁻⁹ ±3.00 ⁻⁹	13.06±20.01	7.901±10.00	1.50 ⁻⁷ ±2.00 ⁻⁷
MSE	1.01 ⁻⁹ ±1.00 ⁻¹⁰	1.04 ⁻⁸ ±1.00 ⁸	3.79 ⁻¹⁰ ±1.00 ⁻¹⁰	2.99 ⁻¹⁰ ±1.00 ⁻¹⁰	9.76 ⁻¹⁰ ±1.00 ⁻⁹	4.63 ⁻⁸ ±8.00 ⁻⁸
R	5.69±0.91 ^a A	3.17±1.00 ^b A	8.1607±4.00 ^a A	6.605±2.00 ^a A	2.481±1.00 ^a B	8.183±6.00 ^a A
Kd (L Kg⁻¹)	45.81±6.00 ^a B	7.12±4.00 ^a A	29.93±200 ^a A	23.26±11.01 ^a A	4.11±3.00 ^a A	1.74±0.00 ^a B
β	0.12±0.01 ^a A	0.01±5.00 ^{-3a} A	0.01±0.00 ^a A	0.001±0.00 ^a A	0.132±0.20 ^a A	0.001±0.00 ^b A
ω	7.34±0.8 ^b A	23.69±11.00 ^a A	18.56±11.10 ^a A	18.67±5.00 ^a A	8.83±8.00 ^a A	27.77±20.00 ^a A
μ1	6.53±0.3 ^a A	4.49±4.00 ^a A	2.465±4.00 ^a A	2.383±4.00 ^a A	5.6143±5.00 ^a A	11.774±6.00 ^a A
μ	1.00 ⁻⁰⁵ ±0.00 ^a A	29.72±50.01 ^a A	8.98±8.00 ^a A	8.47±7.00 ^a A	1.25 ⁻⁵ ±2.00 ⁻⁵ a A	0.033±0.06 ^a A

*letra minúscula corresponde a la respuesta estadística entre tratamiento para el mismo suelo. **letra mayúscula corresponde a la diferencia estadística entre suelos.

Los valores de R reportados en este estudio (Tabla 2-7) son menores a los presentados por Zhou *et al.*, (2010) quienes han encontrado valores de $R=17.5$ para glifosato en suelos arenosos, también Magga *et al.*, (2008) obtuvieron mayores valores del parámetro en suelos arenosos ($R= 25.69$). Las diferencias en los valores de R pueden estar relacionadas con las diferentes condiciones de las columnas de suelos, flujo y diferentes concentraciones iniciales de glifosato en los experimentos.

El parámetro β muestra la relación de dos tipos de sitios en el suelo, en donde ocurren procesos de adsorción de tipo instantánea y no instantánea (Jodeh *et al.*, 2014). A partir de los valores de β se puede calcular f (fracción de sitios adsorción en equilibrio instantáneo). En la Tabla 2-7, f se observa prácticamente inexistente en las columnas indicando que son escasos los sitios de adsorción instantánea en la columna y por tanto para el modelo de adsorción, esta se desarrollaría principalmente a través de sitios de adsorción tipo II (adsorción no instantánea). Este tipo de adsorción puede atribuirse a la prevalencia de procesos de difusión (relacionados con adsorciones no lineales de las isothermas), a reacciones limitadas de adsorción y a formación de residuos ligados al suelo (Al Rajab *et al.*, 2008; Cáceres Hansen *et al.*, 2019). Los valores de α fueron inferiores en los tratamientos sin P. Estos resultados, junto con los valores de K_d sugieren que, a mayor retención del herbicida en el suelo, más lenta será la adsorción. Esta relación inversa ha sido encontrada para otros herbicidas (triazínicos) por otros autores (Gamerdinger *et al.*, 1991; Martínez-Cordón, 2005). Los valores estimados de K_d (a partir de la Ecuación 2-17) indican ausencia de diferencia estadística entre suelos, tratamientos ó la interacción entre los mismos (Tabla 2-7). Estos valores de K_d son menores a los encontrados para la dosis D en el capítulo 1, probablemente debido a que los ensayos de desplazamiento en suelos simulan mejor las condiciones en campo con relación a la lixiviación de glifosato que los ensayos en “Bach equilibrium”, los cuales pueden sobre estimar la retención al no existir condiciones de flujo y estar sometidos a una fuerte agitación (Weber & Whitacre, 1982; Zhao *et al.*, 2009). El análisis estadístico indica ausencia de diferencia de estos valores de K_d entre suelos o tratamientos debido a la adición del fósforo, exceptuando en CS1. El efecto del fósforo sobre el proceso de adsorción ya se había discutido en el capítulo 1, en ese caso se observó que es posible la coexistencia del fósforo y glifosato durante la adsorción del herbicida, y también el posible desplazamiento de este debido a la mayor afinidad del suelo por el fósforo,

proceso que resulta en el desplazamiento del glifosato previamente adsorbido en el suelo (Waiman *et al.*, 2012).

En relación con la mineralización, el modelo estimó valores de degradación independientes en las fases líquidas y adsorbida (μ_1 y μ_2), con diferencias estadísticas a nivel de suelos ($\mu_1 = CS3^a(6.84) > CS1^{ab}(5.82) > CS2^b(4.39)$ y $\mu_2 = CS3^a(0.14) > CS1^{ab}(0.04) > CS2^b(0.04)$). Los valores estimados indican mayor degradación en fase líquida μ_1 , frente a fase adsorbida μ_2 , lo que permite considerar que se produce degradación independiente y mayor en la fase líquida; tendencia que reitera la relevancia de la biodisponibilidad del herbicida para su degradación (Zhou *et al.*, 2010). A nivel de tratamiento se presentó diferencia estadística únicamente en μ_2 ($P1^a(0.12) > P0^b(0.00)$) lo que permite afirmar que la adición del fosfato favorece el proceso de degradación en la fase sólida, proceso que se asociaría al desplazamiento que genera el fosfato sobre el herbicida en esta fase (Wang *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2009).

El ajuste al modelo "Two sites", permite profundizar en el efecto del movimiento del fosfato sobre el glifosato, señalando que este interfiere los procesos de adsorción del herbicida con los puntos de intercambio del suelo, favorece la traslocación y biodisponibilidad de este, lo que unido al desarrollo de procesos como la difusión permite el movimiento de la molécula hacia sitios menos accesibles del suelo, como son los microporos (Cáceres Hansen *et al.*, 2019).

2.5.5 Residuos ligados de glifosato en las columnas de suelo

Como proceso final del ensayo, se tomaron las columnas y se dejaron drenar, posteriormente estas se segmentaron en 6 fracciones horizontales. El suelo de cada segmento se secó y homogeneizó y se tomaron muestras de suelo (entre 150 y 200 mg) que fueron llevadas a combustión y posterior cuantificación de $^{14}CO_2$, procedente de ^{14}C -GLY, de acuerdo con la metodología descrita en el apartado 2.4.6. De este modo es posible conocer la distribución y cantidad de herbicida en las columnas de suelos. Los resultados muestran que cantidades superiores al $62 \pm 3.90\%$ son retenidas en los suelos

evaluados, valores que indican la alta participación de esta matriz en la retención del herbicida.

La distribución del herbicida en las columnas (Figura 2-9), muestra el movimiento vertical decreciente del analito, en la medida que aumenta la distancia a la superficie en donde fue aplicado, presentando diferentes niveles de significancia. Los mayores valores cuantificados se observaron en los primeros 5 cm para CS1 y CS3, mientras que en CS2 se dieron en el segmento ubicado entre los 5 y 10 cm (Figura 2-7).

Los resultados indican que se produce un desplazamiento similar en las columnas, el cual no se diferencia estadísticamente por la adición de fosfato, evidenciándose mayor retención en los primeros 10 cm de suelo y un desplazamiento decreciente en el perfil. Los porcentajes de RL en los suelos fueron para CS1 de $67.87 \pm 4.73\%$ y $70.75 \pm 6.16\%$ para P0 y P1 respectivamente, para CS2 con $P0=64.70 \pm 0.58\%$ y $P1=62.02 \pm 3.90\%$; y en CS3 con $P0=73.36 \pm 1.89\%$ y $P1=68.73 \pm 2.12\%$; valores que correlacionaron positivamente con los contenidos de caolinita ($r=0.85$), Al intercambiable (0.59) y negativamente con el pH del suelo (-0.50).

Los hallazgos concuerdan con los presentados por Strange Hansen *et al.* (2016) quienes reportan la misma tendencia en el desplazamiento del herbicida a través del perfil en columnas de suelo. Los resultados indican que este no se disipa rápidamente, puesto que un alto porcentaje (>67%) se mantiene en los suelos formando residuos ligados. Los porcentajes de RL son mayores a los presentados con otros estudios. Al Rajab *et al.*, (2008) reportan residuos del herbicida entre el 46 al 15%, en un ensayo de infiltración de glifosato en columnas de suelos. Otros estudios han mostrado como aumenta el porcentaje de residuos ligados en el suelo a medida que aumenta el tiempo de contacto suelo -herbicida (Al Rajab *et al.*, 2014).

La distribución del herbicida en relación con la profundidad señala que en CS2 se observó una diferencia en la cantidad cuantificada del herbicida en los primeros 5 cm del suelo y un aumento de estas cantidades en la profundidad de 5 a 10 cm (Figura 2-7). Este resultado sugiere que en este suelo hay mayor disponibilidad del herbicida presente en la capa superior para la mineralización, ya que el porcentaje final de los lixiviados no es mayor y tampoco la formación de residuos ligados (la menor de los tres suelos), lo que concuerda con el bajo valor de K_{fa} (capítulo 1, T1 para F-GLY) que

presenta el herbicida en este suelo ($CS2=29.9\pm 3.41(\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1})$) frente a CS1 ($45.77\pm 8.22(\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1})$) y CS3 ($62.25\pm 6.31(\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1})$).

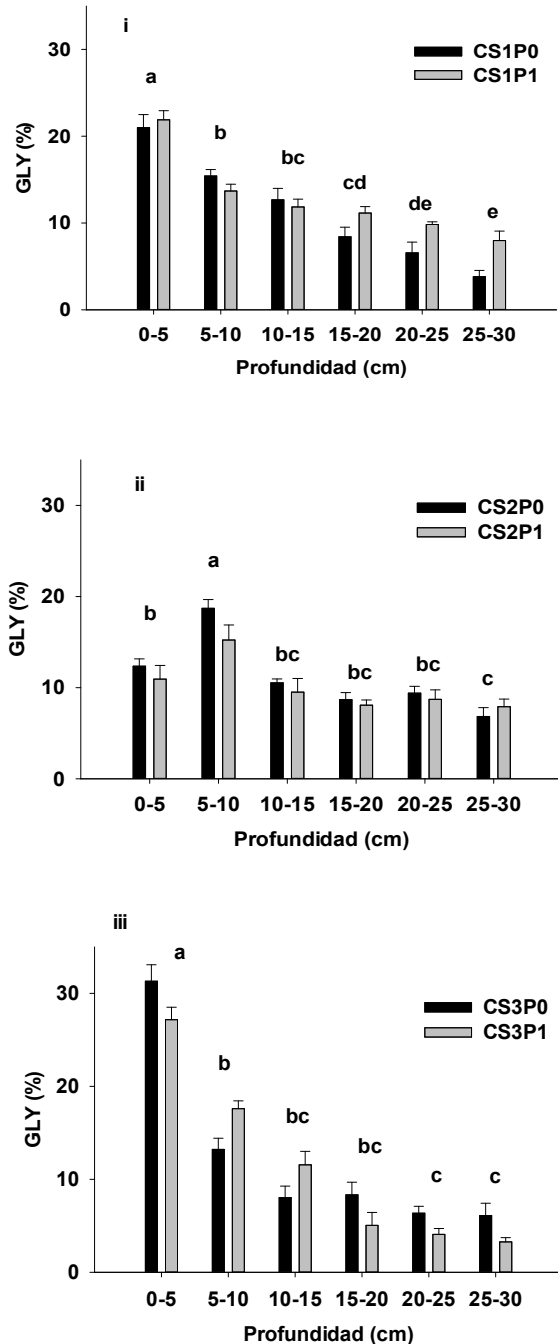


Figura 2-9: Residuos ligados de glifosato. i. CS1P0 y CS1P1. ii. CS2P0 y CS2P1 iii. CS3P0 y CS3P1. Letras diferentes señalan diferencias estadísticas a nivel de profundidad..

2.5.6 Mineralización.

Al igual que en los procesos anteriores, la mineralización fue diferente en cada tratamiento y suelo. En general, fue decreciente con relación al tiempo, cuantificándose los mayores porcentajes de glifosato mineralizado en el primer volumen relativo de poro, aproximadamente 7 días (figura 2-10), resultado que se asemeja al reportado por Strange-Hansen *et al.*, (2004) quienes indican los mayores porcentajes de mineralización en los 4 primeros días después de aplicado el herbicida en columnas de suelos.

El orden de la mineralización promedio de los dos tratamientos por suelo fue CS2^a (22.65%) <CS1^b (17.95%) <CS3^c (11.05%) y la adición del fosfato no causó diferencia estadística significativa entre tratamientos (P0=17.40%; P1=17.04%) (Figura 2-10). Además, se observó correlación negativa entre los RL en el suelo y las cantidades mineralizadas ($r=-0.61$). Estos resultados indican que la adsorción del herbicida interfiere negativamente en la mineralización, debido a una menor disponibilidad del herbicida para la degradación (Strange Hansen *et al.*, 2004; Kulikova *et al.*, 2020), aspecto que explica en parte los menores valores de producción de ¹⁴CO₂ en CS3.

Teniendo en cuenta otros estudios, los valores de ¹⁴CO₂ reportados en este ensayo son bajos, probablemente por los pequeños porcentajes de C.O. (CS1=1.1%; CS2=1.1%; CS3=0.08%) lo cual no permite un mayor desarrollo de las poblaciones microbianas que utilizan la M.O. como fuente de alimentación y pueden co-metabolizar el herbicida (Kanissery *et al.*, 2015). Landry *et al.*, (2005), evaluaron el movimiento del herbicida en columnas en un suelo Calcosol desnudo (3.6%C.O.) y con cubierta vegetal (3.5%C.O.) y registran, después de 42 días del ensayo, valores de mineralización de 43.5 y 46.5% respectivamente. En otro tipo de ensayos de mineralización en suelo (1.63%C.O.) en condiciones de laboratorio Mamy *et al.*, (2016), reportan valores entre el 59 y el 82% 80 días después de realizada la aplicación del herbicida en plantas. En Colombia, Cuervo (2014), encontró en suelos de bosque (3.97% C.O.), pasto (7.41% C.O.) y de cultivo de arroz (1.3% C.O.), en condiciones de laboratorio, valores de 53, 38 y 23% respectivamente 106 días después de la aplicación, siendo los valores del cultivo de arroz más próximos a los observados en este estudio.

Las cantidades mineralizadas se ajustaron a cinéticas de primer y segundo orden (Anexo B2), evidenciando mejor ajuste la de primer orden. Los resultados señalan los DT_{50} (Tabla 2-8) de mineralización del herbicida se encuentran en el orden CS2 (267.30 ± 51.23 d)^b < CS1 (475.88 ± 42.54 d)^a < CS3 (480.06 ± 89.71 d)^a.

Tabla 2-8: Parámetros de mineralización del herbicida en las condiciones evaluadas. Concentración inicial (C_0), % total mineralizado, velocidad de mineralización (k) y tiempo de vida media de mineralización (DT_{50})

Tratamiento	CS1		CS1		CS3	
	P0	P1	P0	P1	P0	P1
Total mineralizado(%)	19.14 ^{a*} B** ±0.88	16.76 ^{aB} ±0.43	24.45 ^{aA} ±1.47	23.12 ^{aA} ±0.63	10.93 ^{aC} ±2.54	10.72 ^{aC} ±1.11
C₀(%)	0.0030 ^b ±0.0002	0.0055 ^a ±0.0006	0.0042 ^a ±0.0004	0.0051 ^a ±0.0005	0.0016 ^a ±0.0002	0.0015 ^a ±0.0003
K(glifosato mineralizado dia-1)	1.12 ^{bA} ±0.10	3.22 ^{aA} ±0.37	1.91 ^{aA} ±0.29	2.96 ^{aA} ±0.36	2.66 ^{aA} ±0.42	2.66 ^{aA} ±0.54
R²	0.62	0.66	0.81	0.87	0.95	0.96
DT₅₀ (día)	236.3 ^{aB} ±37.13	161.13 ^a B ±83.49	174.83 ^a B ±38.08	139.55 ^a B ±18.78	447.43 ^{aA} ±46.09	452.47 ^{aA} ±13.61

*letra minúscula corresponde a la respuesta estadística entre tratamiento para el mismo suelo.

**letra mayúscula corresponde a la diferencia estadística entre suelos.

En este aspecto, Mamy *et al.* (2016), reportan valores de DT_{50} de mineralización en suelos de 7.1 a 26.2 días, después de aplicar el herbicida en plantas tolerantes y no tolerantes a glifosato. Por lo que los valores de DT_{50} reportados en este estudio serian mucho más altos comparados con los reportados por estos autores.

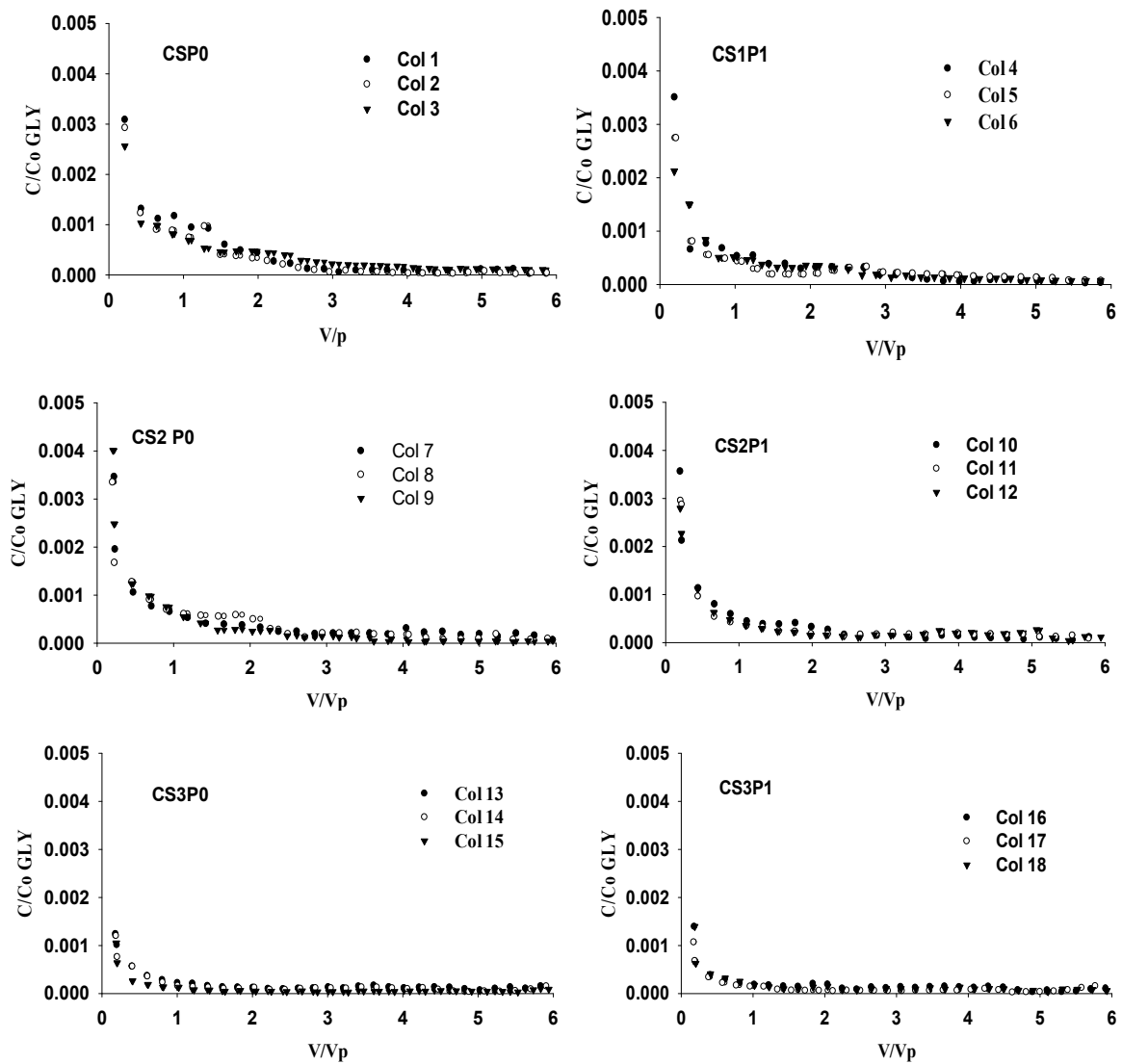


Figura 2-10: Curvas de mineralización de glifosato en las columnas de suelo para CS1. (a). CS1P0 corresponden a las Col 1, 2, 3, del tratamiento sin adición de fosfato y (b). CS1P1 Columnas 4, 5, 6, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato. CS2. (c) CS2P0 corresponden a las Col 7, 8, 9, del tratamiento sin adición de fosfato y (d) CS2P1 Col 10, 11, 12, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato. (e). CS3P0 corresponden a las Col 13, 14, 15, del tratamiento sin adición de fosfato y (f). CS3P1 Col16, 17, 18, correspondientes a los tratamientos con adición de fosfato

2.5.7 Balance de Glifosato.

Este se determinó a partir de los resultados obtenidos en la lixiviación, mineralización y en suelo. El balance de masa en relación con las cantidades inicialmente aplicadas fue diverso en las columnas. Para suelo, este porcentaje de radioactividad total recuperada se presentó en el orden CS2^a>CS1^a>CS3^a. Por tratamiento, el mayor porcentaje cuantificado fue constituido por CSP1 con un valor correspondiente al 93.86±5.92%, seguido de CS2P0; CS1P0 y CS2P1 con 93.55±1.36%; 92.23±5.37% y 90.04±4.38% respectivamente. CS3P0 y CS3P1 presentaron los valores más bajos de cuantificación, con 88.29±3.75% y 84.29±1.01% respectivamente (Tabla 2-9). Los resultados indican que la técnica utilizada permite evaluar de manera adecuada la distribución del herbicida a través del perfil de suelos y su destino en los diferentes compartimentos evaluados (OECD, 2002). En donde el mayor porcentaje fue cuantificado en el suelo, seguido del porcentaje de mineralización y finalmente el de lixiviación.

Los resultados del estudio evidencian que la adición del agua en las columnas genera desplazamiento del herbicida. Movimiento que se cuantifica en el lixiviado colectado, en la distribución del herbicida a través de las columnas y en la mineralización.

Tabla 2-9: Distribución de ¹⁴C glifosato en columnas, discriminado por glifosato mineralizado, lixiviado y en suelo.

Suelo	CS1		CS2		CS3	
	P0	P1	P0	P1	P0	P1
Recuperado total (%)	92.23 ^a A ±5.37	93.86 ^a A ±5.92	93.55 ^a A ±1.36	90.04 ^a AB ±4.38	88.29 ^a A ±4.21	84.29 ^a B ±1.01
Mineralizado (%)	19.14 ^a B ±0.88	16.76 ^b B ±0.43	24.45 ^a A ±1.47	23.12 ^a A ±0.63	10.93 ^a C ±2.54	11.21 ^a C ±1.63
Lixiviado (%)	5.05 ^a A ±0.11	6.24 ^a A ±0.41	4.40 ^a AB ±0.23	4.89 ^a B ±0.42	4.00 ^a B ±0.12	4.19 ^a B ±0.33
En suelo (%)	67.87±4.7 3	70.75±6.16	64.70±0.58	62.02±3.90	73.36±1.89	68.73±2.12

La adición del fosfato mostró diferencia estadística significativa únicamente en la lixiviación del herbicida (P1^a>P0^b) en CS1. En relación con la mineralización, se encuentra que esta correlaciona negativamente con cantidad de RL de herbicida presente en columna, donde mayores cantidades retenidas en el suelo van a generar menor posibilidad de mineralización de la molécula. En el caso de CS2, se puede relacionar una mayor tasa de mineralización con la presencia de menor cantidad de RL

en los primeros 5 cm del suelo. En general la molécula, bajo las condiciones evaluadas, tiende a mantenerse en el suelo, mostrando baja lixiviación y mineralización ratificando su denominación de pseudo persistente en el ambiente (Pimost *et al.*, 2017). Sin embargo, importante resaltar que, aunque lento, el movimiento de la molécula en pequeñas cantidades ocurre y puede llegar a propiciar la presencia del herbicida en otros compartimentos ambientales (Vereecken, 2005), como son aguas freáticas y acuíferos.

2.6 Conclusiones

Los resultados muestran que en el ensayo se producen bajas tasas de lixiviación de glifosato, e indica que este movimiento se desarrolla a través de diferentes procesos en las columnas empacadas de suelo.

En relación con el Br⁻ los resultados de las curvas de elución muestran desplazamiento a la derecha o *tailing* y porcentajes de recuperación superiores al 87% del elemento traza. La estimación de los parámetros de transporte para Br⁻ (que permiten caracterizar en movimiento de agua en perfil del suelo), mostraron que el movimiento se produce en condiciones de no equilibrio físico en los tres suelos, como resultado de la presencia de agua no móvil o estancada en las columnas. La presencia de MAP, no afecta el movimiento del trazador en el suelo. La descripción del transporte de agua por NEF y los valores de λ se asocian con las características físicas de los suelos, entre las cuales sobresalen los altos contenidos de arcillas.

Los ensayos de infiltración del herbicida presentan el lixiviado de pequeñas cantidades del herbicida en las columnas (%CS1=5.65±0.11%, CS2=4.64±0.23% y CS3=4.09±0.12%). La BTCs indican retardo de glifosato en todas las columnas con respecto al elemento traza, la adición del fosfato produjo aumentos en las concentraciones cuantificadas del herbicida en el pico de lixiviación y tiempos de pico estadísticamente inferiores en CS1, valores que disminuyen el Retardo con relación al trazador.

El modelamiento del movimiento de la molécula indicó ajuste a NEQ "two sites", implicando que este herbicida se mueve en condiciones de no equilibrio químico, presentándose principalmente adsorción tipo II ó no instantánea. El ajuste del movimiento de la molécula señala que la adición del fosfato aumenta los coeficientes de primer orden de la cinética de adsorción en los sitios Tipo II y reduce los valores de Kd en CS1, sugiriendo que este es capaz de desplazar los enlaces suelo-herbicida. En presencia de fósforo, la molécula puede desplazarse hacia otros sitios de adsorción, de difícil acceso, permitiéndole generar nuevas interacciones en el suelo.

El modelamiento señala el desarrollo de procesos de difusión y de adsorción no instantánea en el movimiento del herbicida. Características importantes en la caracterización del desplazamiento de la molécula, puesto que estos procesos estarían indicando que se produce el movimiento, pero que este no necesariamente es de tipo horizontal, de modo que se producen interacciones que permiten el movimiento de la molécula hacia sitios de difícil acceso y con este movimiento la existencia de uniones más estables, los cuales van a favorecer la persistencia del herbicida como contaminante en la matriz suelo.

En todos los casos evaluados, se cuantifican residuos ligados en el suelo, señalando la estabilidad de la interacción entre el herbicida y el suelo, hallazgo que supone mayor permanencia del herbicida en el medio y que estaría acorde con los valores estimados en la DT₅₀ de mineralización del herbicida.

En relación con la mineralización, los resultados indican que esta se produce principalmente durante los primeros días de contacto suelo-glifosato, e indica que la retención del suelo en los primeros momentos no es lo suficientemente estable, permitiendo la mineralización de la molécula. Posteriormente el proceso decrece progresivamente a medida que se forman enlaces más estables y el herbicida baja en profundidad. Este efecto se produciría independientemente de la adición o no del fosfato, pero varía según el tipo de suelo, presentando en este caso el orden CS2>CS1>CS3.

2.7 Bibliografía

Abdullah M., Daud, J., Hong, K., Yew. Ch. 1995. Improved method for the determination of glyphosate in water. *J chromatogr A*. 697:363-369. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)01161-7](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)01161-7).

Alberts, C., Banta, G., Hansen, P., Jacobsen, O., 2009. The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil – Comparing different soils and humic substances. *Environmental Pollution*. 157(10):2865-2870. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.04.004>

Al Rajab, A.J., Amellal, S., Shiavon, M. 2008. Sorption and leaching of 14 C-glyphosate in agricultural soils. *Agronomy of sustainable development*. 28:419-428. DOI: 10.1051/agro:2008014.

Al Rajab, A.J., Hakami, O.M. 2014. Behavior of the non-selective herbicide glyphosate in agricultural soil. *American Journal of Environmental Science*. 10(2):94-101. doi:10.3844/ajessp.2014.94.101 P

Arroyave, J., Waiman, C., Zanini, G., Avena, M., 2016. Effect of humic acid on the adsorption/desorption behavior of glyphosate on goethite. Isotherms and kinetics. *Chemosphere* 145:34-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.0820045-6535/>.

Aslam, S.; Iqbal, A.; Deschamps, M. R.; Garnier, P.; Benoit, P. 2015. Effect of rainfall regimes and much decomposition on the dissipation and leaching of S-metolachor and glyphosate: a soil column experiment. *Pest Management Science*, 71 (2):278-291.

Barrett, K.A., and M.B. McBride. 2007. Phosphate and glyphosate mobility in soil columns amended with Roundup. *Soil Sci*. 172:17–26. doi:10.1097/01. ss.0000240549.44551.3d

Bott, S.; Tesfamariam, T.; Kania, A.; Eman, B.; Aslan, N.; Romheld, V.; Neumann, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilization. *Plant Soil* 342:249-263

Bozzo, M. 2010. Persistencia de glifosato y efecto de sucesivas aplicaciones en el cultivo de soja en agricultura continúa en siembra directa sobre parámetros biológicos del suelo. Montevideo: Universidad de la República de Uruguay.

Bromly, M., Hinz, C., Aylmore, L. A. G. 2007. Relation of dispersivity to properties of homogeneous saturated repacked soil columns. *European Journal of Soil Science*, 58(1), 293–301. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00839.x

Caceres-Hansen, L., Rodriguez-Becerra, J., Sierra-Rosales, P., Escudey, M., Valdebenito, J., Neira-Albornoz, A., Domínguez-Vera, V., Villagra, C. 2019. Electrochemical method to study the environmental behavior of Glyphosate on volcanic soils: Proposal of adsorption-desorption and transport mechanisms. *Journal of Hazardous Materials*. 379:120746. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120746>

Caetano, M.; Ramalho, T.; Botrel, D; DaCunha, E.; Carvalho, W. 2012; Understanding the inactivation process of organophosphorus herbicides: A DFT study of glyphosate metallic

complexes with Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , and Al^{3+} . *Quantum Chemistry*, 112:2752-2762.

Calderón, M.J., Quintana, M.A., López-Piñeiro, A., Hermosis, M.C., Cornejo, J. 2005. Estudio preliminar sobre el comportamiento del herbicida glifosato en suelos de Extremadura. *Estudios de la zona no saturada del suelo*. 7:23-28.

Costa, J., Knighton, R., Prunty, L. 1994. Model comparison of unsaturated steady-state solute transport in a field plot. *Soil Science Society of America*. 58:1277-1287

Cuervo, J. 2007. Interacción del glifosato (Roundup®) con la biota microbiana del suelo y comportamiento de este. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Dousset, S., Thevenot, M., Pot, V., Šimunek, J., Andreux, F. 2007. Evaluating equilibrium and non-equilibrium transport of bromide and isoproturon in disturbed and undisturbed soil columns. *Journal of Contaminant Hydrology*. 94, (3–4):261-276. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2007.07.002>.

FAO. 2000. Evaluación de la contaminación del suelo, Manual de referencia. FAO. Disponible en <http://www.fao.org/3/x2570s/X2570S00.htm#TOC>.

Franz, J.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A. 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. ACS Monograph 189. American Chemical Society. Washington DC, USA.

Gamerding, A. P., Lemley, A. T. y Wagenet, R. J. (1991). Nonequilibrium sorption and degradation of three 2-cloro-triazine herbicides in soil-water systems. *J. Environ. Qual.* **20**: 815-822

Gimsing, A.L., Szilas, C., Borggaard, O.K. 2007. Sorption of glyphosate and phosphate by variable-charge tropical soils from Tanzania. *Geoderma* 138, 127 –132. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.11.001>

Glass, L. 1987. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*35(4):497-500.

Hertfordshire, U. PPDB, 2015. Pesticide Properties Data Base. Develop agriculture y environment research unit (AERU). Hertfordshire, Unit Kingdom, Unit Kingdom. Data base.

Holland, J.M. 2004. The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103:1–25

Huber, D, Jones, J. 2013. The role of magnesium in plant disease. *Plant soil* 368,73–85. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1476-0>.

Jodeh, S., Attallah¹, M., Haddad¹, m., Hadda, T., Salghi, R., Jodeh, D., Warad., D.2014.Fate and Mobility of Glyphosate Leachate in Palestinian Soil Using Soil Column. *Mater. Environ. Sci.* 5 (6):2008-2016.

Kanissery, R.G., Welsh, A., Sims, G.K., 2015. Effect of soil aeration and phosphate addition on the microbial bioavailability of carbon-14-glyphosate. *J. Environ. Qual.* 44, 137. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2014.08.0331>.

Laitinen, P., Siimes, K., Rämö, S., Jauhainen, L., Eronen, L., Oinonen, S., Hartikainen, H., 2008. Effects of soil phosphorus status on environmental risk assessment of glyphosate and glufosinate-ammonium. *J. Environ. Qual.* 37, 830–838. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2007.0256>

Landry, D., Dousset, S., Fournier, J., Andreux, F. 2005. Leaching of glyphosate and AMPA under two soil management practices in Burgundy vineyards (Vosne-Romane´ e, 21-France). *Environmental Pollution.* 138:191-200

Larsson, M.H.; Jarvis, N.J. 2000. Quantifying interactions between compound properties and macropore flow effects on pesticide leaching. *Pest Manag. Sci.* 56:133–141

Lipiec, J., Kuś J., Słowińska-Jurkiewicz A., Nosalewicz A. 2006. Soil porosity and water infiltration as influenced by tillage methods, *Soil Till. Res.* 89:210-220

Maitre, M.; Lorenzatti, E.; Lenardón, A.; Enrrique, S. 2008. Adsorción y desorción de glifosato en dos suelos argentinos. *Natura Neotropicalis*, 39(2):19-31.

Magga, Z., Tzovolou, D.N., Theodoropoulou, M.A., Dalkarani, T., Pikios, K., and Tsakiroglou, C.D. 2008. Soil column experiments used as a means to assess the transport, sorption, and biodegradation of pesticides in groundwater. *J. Environ. Sci. and Health.* 43, 732–741.

Masipan, T., Chotpantarat, S., Boonkaewwan, S. 2016. Experimental and modelling investigations of tracer transport in variably saturated agricultural soil of Thailand: Column study. *Sustainable Environment Research.* 26(2):97-101.

Mamy, L., Barriuso, E., Gabrielle, B., 2016. Glyphosate fate in soils when arriving in plant residues. *Chemosphere.* 154: 425-433.

Martínez-Cordón., M. (2005). Comportamiento de herbicidas en suelos de Olivar: Simazina y Terbutilazina. Universidad de Córdoba. Departamento de Química Agrícola y Edafología. Ph. D. tesis.

McBride, M. B. 1994. *Environmental chemistry of soils.* Oxford Uni. Press, New York.

Morell, I.; Candela, L. 1998. *Plaguicidas: aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos.* Castello de la Plana: Universitat Jaume I.

Navarro, G. 2010. *Química agrícola.* Mundi Prensa libros. España. 487p.

OECD, 2002. *OECD 307 Guideline for the Testing of Chemicals. Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil.*

Okada, E., Costa, J., Bedmar, F. 2016. Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. *Geoderma.* 263:78-85.

Padilla, J.T. and Selim, H.M. (2019), Interactions among Glyphosate and Phosphate in Soils: Laboratory Retention and Transport Studies. *J. Environ. Qual.*, 48: 156-163. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.06.0252>

Piexoto, M., Bauerfeldt, G., Herbs, M., Pereira, M., da Silva, O. 2015. Study of the stepwise deprotonation reactions of glyphosate and the corresponding pKa values in aqueous solution. *The journal of physical chemistry.* 119: 5241-5249. Doi:10.1021/jp5099552.

Primost, J. E., Marino, D. J. G., Aparicio, V. C., Costa, J. L., y Carriquiriborde, P. 2017. Glyphosate and AMPA, "pseudo-persistent" pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution*, 229, 771–779. doi:10.1016/j.envpol.2017.06.006

Rampoldi, A. Hang, S. Barriuso, E. 2008. Glyphosate mineralization: effect of temperature and soybean and corn crop residues. *Chilean J. Agric. Res.* Volumen 68, Número 1.

Rashmi, I., Biswas., A.K., Kartika, K.S., Kala, S. 2018. Phosphorus leaching through column study to evaluate P movement and vertical distribution in black, red and alluvial soils of India. *Journal of the Saudi Society if Agricultural Sciences.* 19(3):241-248. <https://doi.org/10.1016/j.jissas.2018.11.002>

Ruíz, J.; Castro, R.; Bello, R.; Sánchez, D. 2014. Occurrence of glyphosate in water bodies derived from intensive agriculture in a tropical region of southern Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination y Toxicology* 93(3) 289-293.

Singh, S., Kumar, V., Datta, S. et al. 2020. Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review. *Environ Chem Lett* 18, 663–702. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00969-z>

Roberts, T.; Croucher, L.; Hutson, D.; Nicholls, P. 2007. *Metabolic pathways of agrochemicals herbicides and plant growth regulators.* United Kingdom. The Royal Society of Chemistry. 850p.

Safadoust, A., Khaboushan, E., Mahboubi, E., Gharabaghi, B., Mosaddeghi, M., Ahrens., S. 2015. Comparison of three models describing bromide transport affected by different soil structure types. *Archives of Agronomy and Soil Science.* 62:674-687. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1074184>

Sinkevich, M.G., Walter, M.T., Lembo, A.j., Richards, B.K., Peranginangin, N., Aburime, S.A., Steenhuis, T.S. 2005. A GIS-Based Ground Water Contamination Risk Assessment Tool for Pesticides. *Ground Water Monit. R.* 25:82-91

Strange-Hansen,R., Holm, P.E., Jacobsen, O.S. 2004. Sorption, mineralization and mobility of N-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate) in five different types of gravel. *Pest Manag. Sci.* 60, 570–578. <https://doi.org/10.1002/ps.842>

Sviridov, A.; Shushkova, T.; Ermakova, E.; Epiktetov, D.; Leontiesvky, A. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review). *Applied Biochemistry and Microbiology.* 51(2)188-195.

Toride, N., Leji, F.J., va Genuchten. Th. 1995. The CXTFIT code for estimating transport parameters from laboratory or field tracer experiments. US Salinity laboratory, Agricultural research service, U.S. Department of agriculture. Riverside, California.

Vereecken, H. 2005. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Manag. Sci.* 61, 1139–1151. <https://doi.org/10.1002/ps.1122>

Wang, Y., Zhou, D., Sun., R. 2005. Effects of phosphate on the adsorption of glyphosate on three different types of Chinese soils. *Journal of Environmental Sciences.* 17(5): 711-715. Id:1001-0742(2005)05-0711-05.

Waiman, C.; Macelo, J.; Mariano, G.; Fernández, B.; Zanini, G. 2012. A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media. Application to adsorption isotherms on soils and goethite. *Geoderma* 170:154-158.

Waiman C., Arroyave, J., Chen, H., Tan, W., Avena, M., Zanini, G. 2016. The simultaneous presence of glyphosate and phosphate at the goethite surface as seen by XPS, ATR-FTIR and competitive adsorption isotherms. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 408:121-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.03.049>

Weber, J.B., Whitacre, D.M., 1982. Mobility of herbicides in soil columns under saturated and unsaturated flow conditions. *Weed Sci.* 30, 579–584.

Wei, Z.; Weiping, L. 1998. Adsorption, desorption and photolysis of the herbicide imazethapyr in soil-Water environment. *China Environment Science*, 18:476-480.

Zhao, B., Zhang, J., Gong, J., Zhang, H., Zhang, C., 2009. Glyphosate mobility in soils by phosphate application: laboratory column experiments. *Geoderma.* 149 (3–4), 290–297.

Zhou, Y., Wang, Y., Hunkeler, D., Zwahlen, F., Boillat, J., 2010. Differential transport of atrazine and glyphosate in undisturbed sandy soil column. *Soil and Sediment Contamination: An international Journal.* 19:365-377.

3. Capítulo 3. Efecto de los fertilizantes fosforados sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de arroz expuestas vía radicular a glifosato.

Resumen

Glifosato es un herbicida utilizado en aplicaciones foliares postemergentes, el cual se adsorbe a los diferentes constituyentes del suelo, por lo que se considera nula su actividad una vez entra en contacto con el mismo. Debido a esto, el efecto de la exposición vía radical al herbicida en plantas ha sido poco estudiado. A pesar de la alta afinidad de la molécula con el suelo, es posible la desorción del herbicida hacia la zona de rizosfera de las plantas, proceso que se ve favorecido con la adición de fuentes fertilizantes fosfatados. Con el objetivo de reconocer el efecto de la exposición radicular al herbicida sobre el crecimiento y desarrollo de plantas con y sin adición de fertilizante fosfórico, se planteó un ensayo en condiciones de hidroponía, exponiendo plantas de arroz a dos tipos de soluciones con fosfato monoamónico y glifosato en sub-dosis. Los resultados muestran aumentos en la concentración de ácido shikímico de las plantas, disminución en la producción de biomasa y de área foliar. En la exposición radicular se produce el ingreso del herbicida en la planta y este llega hasta su sitio de acción, en donde provoca la alteración temporal del metabolismo, redundando en la alteración del crecimiento y desarrollo. La adición de MAP junto con glifosato indica que este incrementa la respuesta de la planta al herbicida, con relación a la adición de glifosato solo.

3.1 Introducción

Glifosato es un herbicida de uso post-emergente, el cual, al ser aplicado al follaje, se transloca vía floema hacia los tejidos meristemáticos de la planta, puntos de crecimiento

en raíces, tallos y zonas de almacenamiento (Grzesiuk *et al.*, 2018). Una vez que el herbicida se pone en contacto con las plantas, altera el metabolismo, al actuar en la ruta del shikimato, la cual se desarrolla en los cloroplastos de la célula vegetal. El herbicida impide la unión de la 5-enolpiruvatoshikimato 3-fosfato sintasa (EPSPS) con la fosfoenol piruvato (PEP), lo que genera el bloqueo en esta ruta del metabolismo secundario, afectando la síntesis de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano (Steinrucken y Amrhein, 1980; Vered *et al.*, 2012; Malalgoda *et al.*, 2020). Además, inhibe la síntesis de corismato y porfirina, disminuye la disponibilidad de la PEP (Franz *et al.*, 1997) y afecta la síntesis de hormonas como el ácido indolacético (Grzesiuk *et al.*, 2018), lo que contribuye a que se produzca una alteración de la síntesis de clorofilas y la inhibición de síntesis de compuestos de defensa y de ligninas, entre otras (Gomes *et al.*, 2014; Malalgoda *et al.*, 2020). La ruta del ácido shikímico es autocatalítica, de modo que la ausencia de aminoácidos producto de la ruta, favorece la acumulación de ácido shikímico, ocasionando la desviación de la eritrosa-4-fostato (proveniente del ciclo de Calvin), lo que limita la regeneración de la RuBisCO (Yannicari *et al.*, 2012). Picoli *et al.* (2017) exponen que el herbicida afecta negativamente la asimilación y metabolismo del carbono.

En dosis agronómicas, el herbicida produce alteraciones graves en el metabolismo, las cuales conllevan a la muerte de la planta, en un periodo aproximado de 20 días después de realizada la aplicación (dda). Sin embargo, posterior a su aplicación, cuando la molécula alcanza el suelo, se inactiva rápidamente, debido a la alta afinidad con los constituyentes minerales y orgánicos (Franz *et al.*, 1997; De Gerónimo *et al.*, 2018). A pesar de ello, el herbicida ha sido cuantificado en diversas ocasiones en la fase acuosa de los suelos de diferentes sistemas agrícolas (Vereecken *et al.*, 2005; Bustos, 2012), evidenciando la posibilidad de re-movilización (Bott *et al.*, 2011) y la nueva disponibilidad del glifosato en la zona de rizosfera de las plantas (Kogan y Alister 2013; Saunders y Pezeshki, 2014), y la posible toma del herbicida por la planta, la cual ha sido reportada para cultivos de Cebada *Hordeum vulgare* L. (Lynch *et al.*, 1982); soja (Bott *et al.*, 2011), tomate *Solanum lycopersicum* L. (Cornish *et al.*, 1992), sauce (Gomes *et al.*, 2016); maíz *Zea maíz* L. (Wagner *et al.*, 2003; Alister *et al.*, 2005) y algodón (Pline *et al.*, 2002).

Desde la fisiología de las plantas, es posible el ingreso vía radical de la molécula herbicida, en un proceso que incluye a los transportadores fosfato como parte de los

facilitadores del mismo (Gomes *et al.*, 2015). También es posible la traslocación del herbicida por vía xilema, puesto que, los valores de pKa del herbicida (0.8, 2.3, 6.0 y 11.0) (Peixoto *et al.*, 2015), de Log Kow (3.2 a 1.0) (Matozzo, 2020) y de pH de 5.6 a 6.3 de la xilema (Mitani, 2005 y Feng *et al.*, 2017), permiten su movilidad en el apoplasto (Barbosa *et al.*, 2020). Sin embargo, no es claro el efecto cuando el herbicida ingresa por esta ruta, puesto que la vía xilemática también es ruta de ingreso de iones libres como Ca^{2+} y Mg^{2+} , los cuales pueden formar complejos con el herbicida y como consecuencia disminuir la actividad de glifosato sobre la ruta del ácido shikímico en comparación a cuando este es aplicado foliarmente (Kogan y Alister, 2013).

Algunos efectos de la interacción vía radical entre plantas y el glifosato en suelos, han sido reportados por diversos autores. Siendo el caso de Bott *et al.* (2011) quienes reportan la re-movilización y toma radicular del herbicida por plantas de soja (*Glycine max* L.), proceso influenciado por la adición de fosfato, dando como resultado alteraciones a nivel la biomasa, modificaciones en la concentración intracelular de ácido shikímico y la expresión de síntomas asociados al daño generado en el follaje por el herbicida. En plantas de Sauce (*Salix miyabeana*), Gomes *et al.* (2015), observan que la aplicación de PO_4^{3-} aumentó la absorción de glifosato por las raíces. Gomes *et al.*, (2016), también reportaron, la acumulación de shikimato en las hojas de plantas tratadas con glifosato tras 2, 3 y 7 días de exposición al glifosato por vía radicular, en una concentración creciente en la medida que aumento la dosis del herbicida aplicada. Resultados que señalan efectos concordantes con reportes realizados tras aplicaciones foliares de subdosis del herbicida. Por ejemplo, Koger *et al.* (2005) muestran alteración en los niveles de ácido shikímico, durante 28 días después de exponer las plantas a glifosato por deriva, cuantificando modificaciones en los niveles de shikimato entre 3 y 7 dda, las cuales posteriormente regresaron a niveles similares a los observados en plantas no tratadas.

3.2 Justificación

Actualmente se reporta que el herbicida se presenta en la rizosfera de múltiples zonas de producción agrícola (Vereecken *et al.*, 2005; Okada *et al.*, 2018), por lo que es posible el contacto entre el herbicida y las plantas vía radicular (Bott *et al.*, 2011). A pesar de los

múltiples estudios sobre el efecto del herbicida en plantas, son limitados los estudios del efecto de la exposición radicular al herbicida en plantas de arroz y el rol del ion fosfato en este proceso, por lo que el objeto del presente capítulo es evaluar el efecto de la exposición radicular a glifosato en plantas de arroz, empleando soluciones hidropónicas, que permiten eliminar la interferencia de la molécula con la matriz suelo.

3.3 Objetivo

3.3.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la exposición radicular a glifosato y de fosfato-glifosato sobre el crecimiento, desarrollo y metabolismo de plantas de arroz.

3.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la exposición radicular a soluciones de glifosato y glifosato-fosfato sobre el metabolismo de plantas de arroz.
- Evaluar el efecto de la exposición radicular a soluciones de glifosato y glifosato-fosfato sobre el crecimiento de plantas de arroz.

3.4 Metodología

3.4.1 Reactivos

Para el estudio se utilizó Roundup® en formulación de sal potásica de N-fosfonometil glicina en concentración de 480 g L⁻¹ equivalentes a 363 g de N-fosfonometil glicina (F-GLY). La fuente fertilizante utilizada fue fosfato mono amónico al 99.3% de J.T. Baker (MAP), ácido sulfúrico 95-97% J.T. Baker; hielo seco; ácido peryódico a 99% MERCK® y metaperiodato de sodio 99% MERCK®; hidróxido de sodio 98% J.T. Baker y sulfito de sodio 98% J.T. Baker.

3.4.2 Material vegetal

Se utilizaron semillas de arroz (*O. sativa*) de la variedad Fedearroz 80.

3.4.3 Localización

El trabajo se ejecutó en las instalaciones del Laboratorio de Malherbología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá

3.4.4 Diseño experimental

Para el ensayo se planteó un diseño factorial con dos tratamientos de fertilización (P0= sin fosfato P1= con fosfato en dosis equivalente a 60 kg de MAP ha⁻¹), cinco dosis de herbicida: D1= 0.3448; D2= 0.172; D3= 0.086; D4=0.043 y D0= 0.000 mg glifosato L⁻¹ y cinco repeticiones por tratamiento. En total se establecieron 50 unidades experimentales (Tabla 3-1). La dosis más alta utilizada para este ensayo fue la D1 (= 0.3448 mg glifosato L⁻¹), que es equivalente a la aplicación de 1 L ha⁻¹de glifosato, entonces, D2= 0.5; D3=0.25; D4=0.125 L ha⁻¹ en formulación comercial Roundup®.

Tabla 3-1: Tratamientos de exposición vía radicular con glifosato a de plantas de arroz

Solución nutritiva	Tratamiento	Dosis de glifosato por unidad experimental (mg L ⁻¹)	Repeticiones por tratamiento
P1 (con fosfato)	D1	0.345	5
	D2	0.117	5
	D3	0.082	5
	D4	0.042	5
	D0	0.000	5
P0 (sin fosfato)	D1	0.345	5
	D2	0.117	5
	D3	0.082	5
	D4	0.042	5
	D0	0.000	5

3.4.5 Condiciones de crecimiento de las plantas

Cada una de las plantas se mantuvo en viales de vidrio de 10 cm de alto y una superficie de 23.5 cm². En cada vial se colocaron 20 mL de solución nutritiva correspondiente al tratamiento (Solución 1 ó Solución 2) y esta se renovó cada siete días. Como material para permitir la flotación de la planta se utilizó una fibra de polietileno no tejida. Los viales se mantuvieron en cámara de crecimiento durante el tiempo de duración del ensayo. La temperatura de crecimiento fue de 25 ± 1°C, con ocho horas de oscuridad. La exposición al herbicida se realizó 15 días después de germinadas las semillas. Se utilizaron dos tipos de solución nutritiva para las plantas, la solución 1 contenía NPK a partir de nitrato de potasio (224 mg L⁻¹) y fosfato mono potásico (235 mg L⁻¹) y la solución 2 únicamente nitrato de potasio (450 mg L⁻¹). Como fuente de elementos menores se utilizó el fertilizante Nutriponic® Menores en concentración de 1 mL L⁻¹.

3.4.6 Exposición al herbicida

Los experimentos consistieron en exponer plantas vía radicular a diversas sub-dosis de glifosato, utilizando concentraciones de D1; D2; D3; D4 y D0 cada tratamiento contó con cinco repeticiones. Las cantidades de herbicida fueron adicionadas en cada unidad experimental, colocándolas en el líquido de la solución nutritiva, la exposición al herbicida se mantuvo durante 72 horas, al término del tiempo se retiraron las plantas de la solución y se renovó la solución nutritiva, según el tratamiento correspondiente.

3.4.7 Toma de datos

Durante la ejecución del experimento se monitoreo la concentración de ácido shikímico y el desarrolló fenológico de las plantas a través de área foliar (AF) y producción de biomasa, y se tomaron las muestras para determinación en diferentes tiempos. Los muestreos se realizaron el día 2 (muestreo 1, M1), 7 (muestreo 2, M2), 14 (muestreo 3, M3), 21 (muestreo 4, M4), 28 (muestreo 5, M5) y 35 (muestreo 6, M6) después de la exposición radicular de las plantas a la solución de glifosato.

3.4.8 Biomasa

Se determinó la biomasa al final del ensayo en cada unidad experimental, tomándose las plantas completas, posteriormente se pesaron y se llevaron a mufla marca Binder® durante 72 horas a 70°C, al término de este tiempo se determinó la biomasa seca de cada parte de las plantas.

3.4.9 Área foliar y altura de planta

Este parámetro se calculó para cada muestreo. El área foliar se determinó a mediante imagen digital, utilizando la aplicación Canopeo®, la cual determina en porcentaje el área que ocupan los folíolos en una superficie específica, metodología que ha sido aplicada en el análisis de áreas foliar por investigadores como Chung *et al.* (2017).

3.4.10 Extracción y cuantificación de Ácido shikímico

Las muestras destructivas para la extracción de ácido shikímico, se tomaron del tercer foliolo ubicado de la parte central de la planta hacia abajo, muestra a la cual se le registro la altura, área foliar, biomasa y se llevó a almacenamiento a 20°C. Para la extracción de la molécula, se tomó el tejido foliar, este se colocó en 3 mL de ácido sulfúrico 0.25 N y se adicionó hielo seco, de modo que el tejido quedó completamente congelado. Durante el proceso de descongelado se agitaron las muestras en un vortex durante un minuto. Este proceso se repitió en dos ocasiones consecutivas. Al descongelarse la muestra, se tomó una alícuota del líquido de 200 µL, la cual se depositó en tubos de 2 mL, a las cuales se les añadió 800 µL de una solución de ácido peryódico y metaperiodato de sodio al 0.5%.

Las muestras se incubaron en un horno Binder® durante 45 minutos, a 37°C. Posteriormente se añadieron 800 µL de una solución de hidróxido de sodio 1.2 N y sulfito de sodio 0.44 M en proporción 1:1, procediéndose a la lectura en espectrofotómetro marca Thermo Genesys 10™ a longitud de onda de 380 nm, de acuerdo con la metodología descrita por Gómez (2009).

Se realizaron curvas de calibración utilizando como estándar analítico ácido Shikímico 99% Sigma aldrich®, en concentraciones 100, 50, 20, 10, 1 y 0 µg L⁻¹. El Límite de detección de la metodología fue determinado en 3.51±0.04 µg L⁻¹ y el límite de cuantificación en 7.94±0.07 µg L⁻¹. En la Tabla 3-2 se muestran las ecuaciones de las

curvas de calibración utilizadas cada de muestreo para calcular la concentración de ácido Shikímico.

Tabla 3-2: Valores de las ecuaciones de calibración usadas en la determinación del ácido shikímico según muestreo.

Ecuación ^a	Blanco ^b	R ^{2c}	Muestreo ^d
(1) Y = 0.0141 X + 0.0749	0.062	0.99	M1 y M2
(2) Y = 0.0139 X + 0.6043	0.198	0.99	M3 y M4
(3) Y = 0.0085 X + 0.4032	0.088	0.93	M5 y M6

Datos base para la determinación de concentraciones de ácido shikímico en plantas. ^aEcuación lineal resultante de la curva de calibración. ^bAbsorbancia del Blanco. ^cValor de ajuste de la ecuación. ^d muestreo relacionado.

3.4.11 Modelo dosis respuesta

Los resultados evaluados se ajustaron al modelo de dosis – respuesta, el cual se utiliza para comprender la eficacia de un herbicida y su modo de acción. Este modelo busca evaluar la sensibilidad de una planta a un herbicida (Seefeldt *et al.*, 1995), permitiendo reconocer el efecto de una dosis del herbicida sobre las plantas en las diferentes variables evaluadas.

El modelo Log logistic está representado por la ecuación 3-1 (Seefeldt *et al.*, 1995):

$$Y = C_{min} + (D_{max} - C_{min}) \frac{C_{min} + (D_{max} + C_{min})}{(1 + (X/ED_{50})^{-b})} \quad (3-1)$$

Donde,

Y es el efecto de la dosis (en relación AF (cm²) o producción de biomasa (g), según el caso); C_{min} es la respuesta de la planta a dosis muy altas del herbicida en relación con

AF (cm²) o Biomasa (g) según el caso ; D_{max} es la respuesta de la planta a dosis muy bajas (en relación con AF (cm²) o Biomasa (g), según el caso); X es la dosis del herbicida (L ha⁻¹); ED_{50} es la dosis efectiva a la cual se obtiene el 50% del valor de la respuesta observada (L ha⁻¹) y b es el valor de la pendiente en el momento de la ED_{50}

3.4.12 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se planteó la evaluación de un diseño en medidas repetidas, para las variables dosis y tratamiento, con relación al momento de muestreo. Este análisis se realizó para las variables biomasa seca, área foliar y ácido shikímico, los resultados estadísticos se observan en el Anexo C1.

3.5 Resultados

3.5.1 Ácido shikímico.

Los análisis de la concentración de ácido shikímico muestran que estos fueron variables, según el tratamiento y momento de toma de la muestra.

Para M1, el análisis estadístico no indica diferencias en la concentración entre tratamientos o debidas a la adición del fertilizante fosforado, la concentración de ácido shikímico (mg g⁻¹) se presentó para P0 (Figura 3-1a), en el orden D1^a (0.14±0.08mg g⁻¹) > D2^a (0.13±0.074 mg g⁻¹) > D3^a (0.09±0.03 mg g⁻¹) > D0^a (0.09± 0.05 mg g⁻¹) y D4^a (0.08± 0.05 mg g⁻¹) Figura 3-1a). En P1, los resultados se presentaron en el orden D1^a (0.28±0.04 mg g⁻¹) >D3^a (0.12±0.06 mg g⁻¹)>D2^a (0.11±0.05 mg g⁻¹) >D4^a (0.06±0.04 mg g⁻¹) >D0^a (0.05±0.02 mg g⁻¹) (Figura 3-1b).

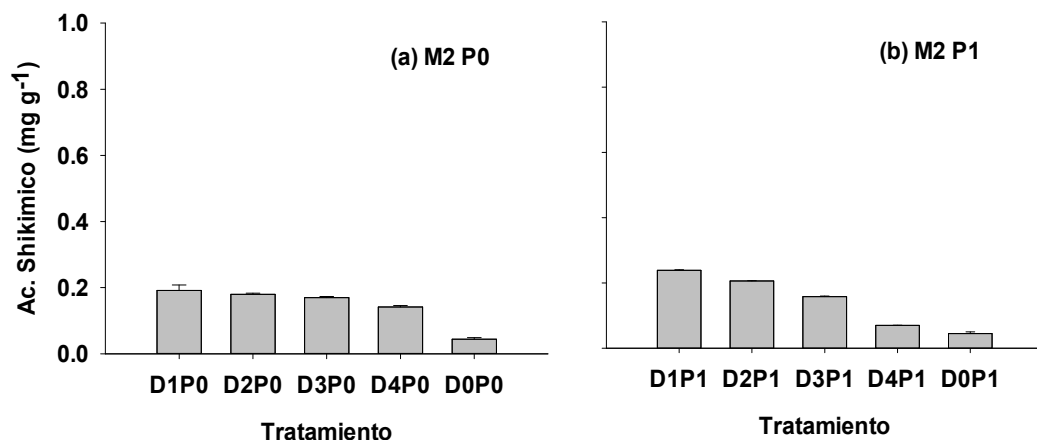


Figura 3-1: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 1: (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP (P0). (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).

En el M2 (Figura 3-2), se observa un aumento en las cantidades cuantificadas de ácido shikímico, siendo mayores en los tratamientos que fueron expuestos a las dosis más altas, presentándose una tendencia creciente entre el ácido shikímico cuantificado en la planta y la dosis del herbicida. En P0, los resultados se presentaron en el orden $D1^a(0.19 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}) > D2^{ab}(0.19 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}) > D3^{ab}(0.17 \pm 0.04 \text{ mg g}^{-1}) > D4^{ab}(0.14 \pm 0.04 \text{ mg g}^{-1}) > D0^b(0.05 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1})$, mientras que en los P1 fue: $D1^a(0.24 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}) > D2^{ab}(0.21 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1}) > D3^{ab}(0.16 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}) > D4^{ab}(0.07 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1}) > D0^b(0.05 \pm 0.001 \text{ mg g}^{-1})$. Estadísticamente, no se encontró diferencia debida a la adición del fosfato.

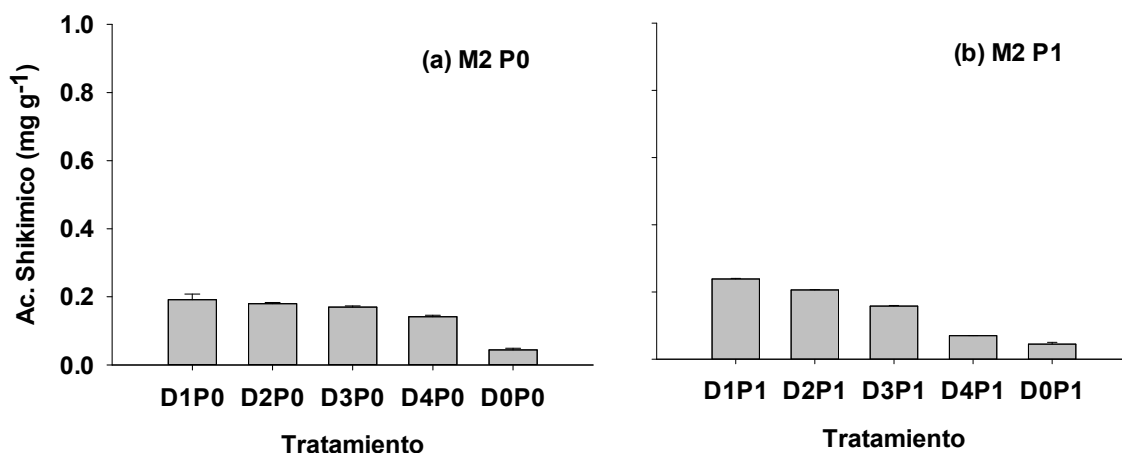


Figura 3-2: Ácido shikímico cuantificado en los foliolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 2: (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP (P0).; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).

Para M3, se encuentra un aumento en las diferencias entre tratamientos, marcándose una mayor acumulación del ácido shikímico en relación con la dosis de glifosato. Para el grupo de tratamientos en los cuales no se adicionó fosfato, se reportan valores del analito en el orden D0^a (0.052±0.00 mg g⁻¹) <D4^a (0.13±0.00 mg g⁻¹) <D3^b (0.26±0.01 mg g⁻¹) <D2^b (0.31±0.00 mg g⁻¹) < D1^b (0.36±0.00 mg g⁻¹) (Figura 3-3a). Esta tendencia creciente también se observó en el grupo de tratamientos en los cuales se adicionó el fosfato (P1), encontrando en el orden de D0^a (0.05±0.00 mg g⁻¹) y D4^b(0.22±0.00 mg g⁻¹); D3^c (0.45±0.00 mg g⁻¹), D2^c(0.49±0.00 mg g⁻¹) y D1^d(0.61±0.00 mg g⁻¹) tratamiento en el que se cuantifico el valor más alto de ácido shikímico (Figura 3-3b).

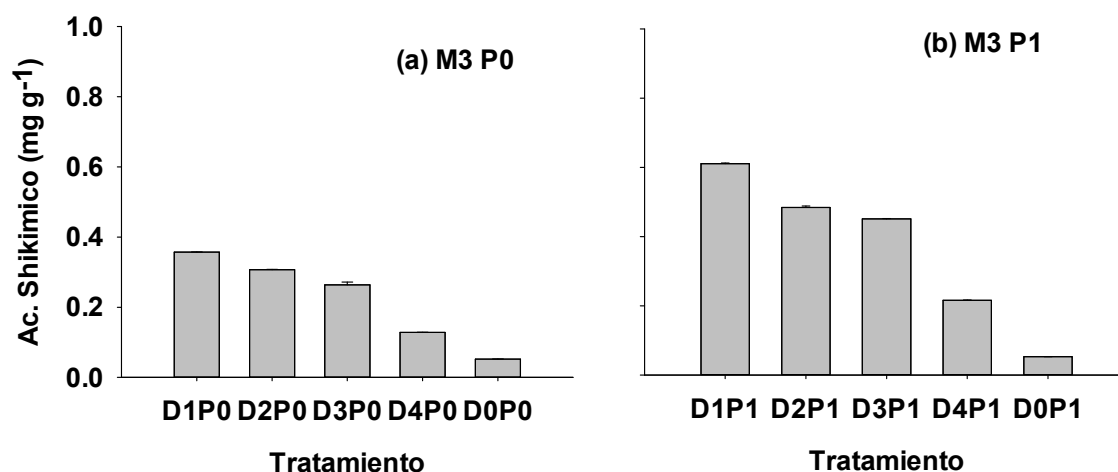


Figura 3-3: Ácido shikímico cuantificado en los foliolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 3. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP(P0); (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP (P1).

En el M4 (Figura 3-4a), se encontró un aumento en la concentración de ácido shikímico en los tratamientos P0, el análisis estadístico indica cinco niveles de significancia entre los tratamientos, los mayores valores se encontraron en las dosis más altas, presentándose en el orden; D1^a(0.49±0.00 mg g⁻¹)> D2^b(0.43±0.01 mg g⁻¹)> D3^c(0.18±0.00 mg g⁻¹)> D4^d(0.12±0.01 mg g⁻¹)>D0^e(0.06±0.01 mg g⁻¹).

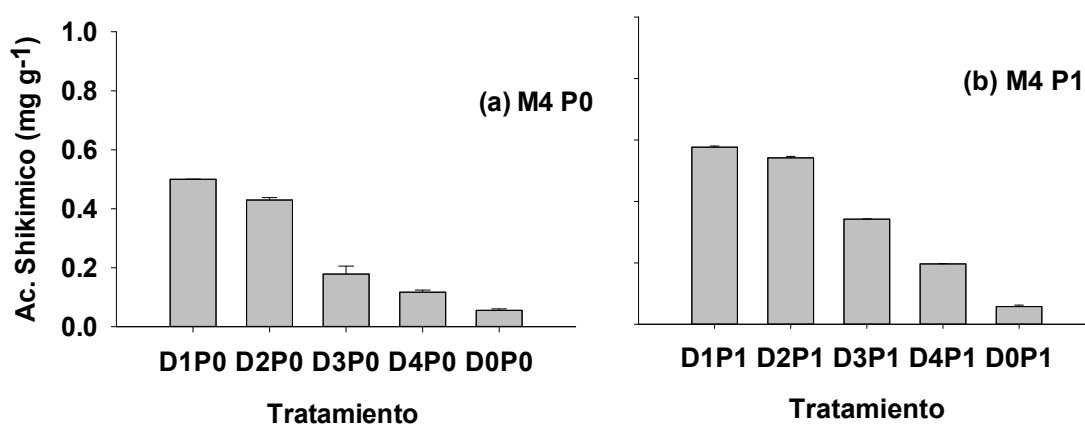


Figura 3-4: Ácido shikímico cuantificado en los foliolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 4. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.

En los tratamientos con adición de MAP, el análisis estadístico mostró cuatro niveles de significancia, sin embargo, no se encontró diferencia entre las dosis D1 y D2. Los cuales presentaron los mayores niveles de ácido shikímico. El orden del cuantificado fue: D1^a(0.58±0.00 mg g⁻¹)> D2^a(0.01±0.00 mg g⁻¹)> D3^b(0.34±0.00 mg g⁻¹)> D4^c(0.19±0.01 mg g⁻¹)> D0^d(0.06±0.00 mg g⁻¹), indicando que la presencia del herbicida genera una modificación la cual resulta estadísticamente diferente del testigo, aún en bajas dosis (Figura 3-4b).

En el M5 (Figura 3-5), para el grupo de tratamientos en los cuales no se aplicó fosfato, se encuentra una reducción en las diferencias estadísticas comparadas con el muestreo anterior. Sin embargo, se mantiene la diferencia entre el testigo y los demás tratamientos. Los resultados se presentaron en el orden D^a(0.31±0.02 mg g⁻¹)> D2^{ab}(0.28±0.06 mg g⁻¹)> D3^{ab}(0.22±0.06 mg g⁻¹)> D4^b(0.19±0.01 mg g⁻¹)> D0^c(0.06±0.01 mg g⁻¹). Los tratamientos en los cuales se adiciono MAP, las concentraciones de ácido shikímico se presentaron en el orden D1^a(0.37±0.04 mg g⁻¹)> D2^a(0.34±0.01 mg g⁻¹)> D3^a(0.31±0.04 mg g⁻¹)> D4^b (0.16±0.07 mg g⁻¹) > D0^b(0.06±0.00 mg g⁻¹).

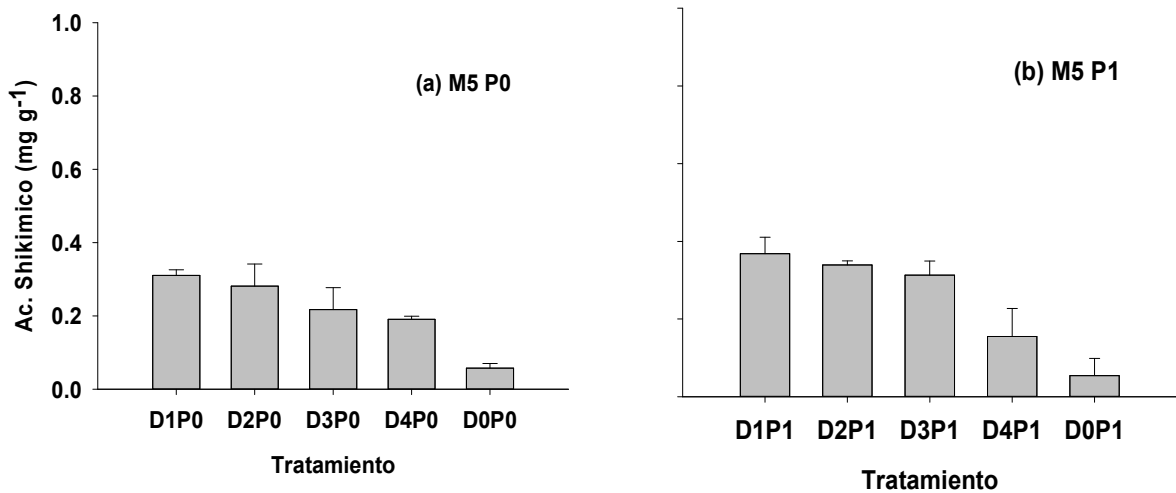


Figura 3-5: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, corresponden a las muestras colectadas en el muestreo 5. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.

En el M6 (Figura 3-6), hay una reducción en las cantidades de ácido shikímico cuantificadas en los diversos los tratamientos y no se encuentra diferencia estadística entre tratamientos debidos a la adición o no de MAP. Los resultados se observaron para P0 en el orden: D1^a(0.23±0.00 mg g⁻¹) >D2^a(0.22±0.01 mg g⁻¹) >D3^b(0.19±0.01 mg g⁻¹) >D4^b(0.18±0.02 mg g⁻¹) >D0^c(0.15±0.00 mg g⁻¹) y en P1 en el orden D1^a(0.29±0.00 mg g⁻¹) >D2^b(0.26±0.01 mg g⁻¹) >D3^c(0.17±0.01 mg g⁻¹) >D4^d(0.11±0.01 mg g⁻¹) >D0^d(0.09±0.00 mg g⁻¹).

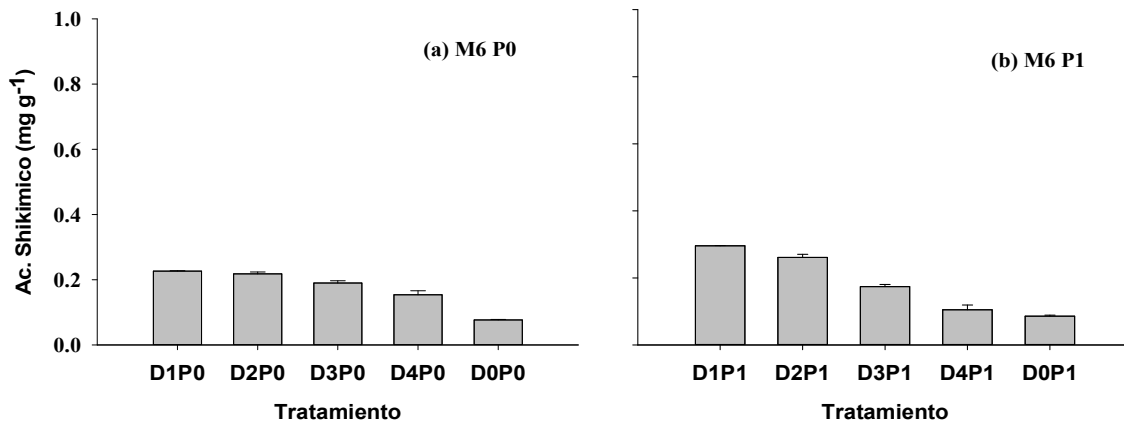


Figura 3-6: Ácido shikímico cuantificado en los folíolos, muestreo 6. (a) tratamientos expuestos al herbicida, sin adición de MAP; (b) tratamientos expuestos al herbicida junto con MAP.

En los resultados de la evaluación de las concentraciones del ácido shikímico, se identifica un aumento del compuesto en los tratamientos expuestos al herbicida, tendencia que se mantiene hasta M4. Posteriormente los resultados indican un decrecimiento en las concentraciones, de modo que al final del ensayo se observan las menores diferencias estadísticas en relación con el testigo (figura 3-6), resultados que muestran la acumulación temporal del ácido shikímico en la planta. La elevación temporal del ácido shikímico debido a la exposición a dosis subletales de glifosato ha sido reportada en aplicaciones foliares del herbicida. Koger *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la deriva de glifosato a diferentes dosis (0, 26, 106 y 420g ha⁻¹) sobre las variedades de arroz Priscilla y Cocodrie reportando acumulaciones, las cuales siguen una tendencia creciente hasta el día 21 dda en la variedad Cocodrie y hasta el día 28 dda en Priscilla,

Tabla 3-3: Incremento en la cantidad de ácido shikímico por tratamiento, tomando como unidad de referencia la concentración en el testigo, resultados discriminados por tratamiento. D1 representa la profundidad, P1 y P0 la adición o no del fosfato respectivamente y M1, M2, M3, M4, M5 y M6 refieren el momento del muestreo.

	D1		D2		D3		D4		D0	
	P0	P1	P0	P1	P0	P1	P0	P1	P0	P1
M2	4.35±1.90	5.33±2.31	4.09±1.77	4.59±1.99	3.86±1.67	3.53±1.52	3.22±1.39	1.55±0.67	1	1
M3	8.13±0.02	11.42±1.48	4.35±0.43	9.07±0.75	4.09±0.54	8.45±0.54	3.86±0.76	4.05±0.48	1	1
M4	8.97±0.85	10.70±0.95	7.72±0.23	10.00±1.21	3.21±0.32	6.33±0.65	2.10±0.65	3.63±0.23	1	1
M5	5.42±0.33	6.81±0.53	4.91±0.65	6.27±0.56	3.79±0.21	5.79±0.04	3.32±0.21	2.86±0.95	1	1
M6	2.96±0.51	3.44±0.23	2.85±0.83	3.04±0.11	2.48±0.01	2.03±0.21	2.01±0.34	1.94±0.49	1	1

las cantidades de ácido shikímico que reportan estos autores son de hasta 13 veces la cantidad reportada por el testigo.

Al evaluar la cantidad de veces que aumenta la concentración del ácido shikímico con relación al testigo (Tabla 3-3), se evidencia mayor la acumulación cuando se adiciona el fosfato en la solución de hidroponía ($p > 0.05$). En la interacción muestreo por tratamiento los resultados arrojan el orden $M1P0^{ef} > M1P1^g$; $M2P0^{de} > M2P1^e$; $M3P1^a > M3P0^{bcd}$; $M4P1^a > M4P0^b$; $M5P1^{bc} > M5P0^{cde}$; $M6P1^{fg} > M6P0^{fg}$ (Anexo C1), y en la interacción tratamiento por dosis el orden fue $D1P1^a > D1P0^a$; $D2P1^a > D2P0^b$; $D3P1^b > D3P0^c > D4P0^c > D4P1^c$; $D0P1^d > D0P0^d$. Lo anterior, señala un aumento en la concentración del ácido shikímico debido a la exposición a glifosato, el cual conserva correlación altamente significativa con la dosis, tendencia constante en los muestreos (tabla 3-3) implicando que la exposición radicular de las plantas al herbicida promueve la acumulación debida a la obstrucción de la ruta (Grzesiuk *et al.*, 2018) y que la adición del fosfato produce aumentos en la concentración acumulada. Resultados acordes con lo reportado por Gomes *et al.* (2015) acerca del rol del fosfato como facilitador del ingreso del herbicida en la planta vía radicular, relación que se favorece con el aumento de las concentraciones del glifosato en el medio (Tabla 3-3).

Los resultados son concordantes con diversos estudios acerca de la exposición a dosis subletales del herbicida y el consecuente aumento de los niveles de ácido shikímico, los cuales están en su mayoría relacionados a la aplicación directa del herbicida sobre el follaje, siendo el caso de Scrobers *et al.* (2014), en café, quienes señalan niveles altos del analito en hojas asperjadas y en hojas nuevas. Los estudios en avena de Malalgoda *et al.* (2020), y en Soja de Silva *et al.* (2014), indican también el incremento de los niveles de ácido shikímico. En arroz, Kogan y Alister (2013) reportan aumentos por exposición a deriva, cuantificando valores hasta 15 veces la concentración de ácido shikímico, al exponerse el tejido foliar de la planta a una dosis que sería equivalente a la dosis T2 del presente estudio, por lo que las cantidades de ácido shikímico cuantificadas en este trabajo serían menores a las que se mencionan cuando la aplicación se realiza al follaje. Esta diferencia puede explicarse por la diferente la ruta de ingreso del herbicida, ya que en la zona radicular esta puede ser vía simplástica y/o apoplástica (Denis y Delrot 1993; Gomes *et al.*, 2012). En la vía apoplástica se produce parcialmente la conjugación del

herbicida por cationes (Hall *et al.*, 2000), lo que reduce la actividad del herbicida al interior de la planta (Barbosa *et al.*, 2000).

Tabla 3-4: Correlaciones de Pearson para la dosis en relación con la cantidad de ácido shikímico cuantificada, discriminada por muestreo

	Muestreo				
	M1	M2	M3	M4	M5
Dosis	0.437*	0.665**	0.765**	0.836**	0.637**

**Correlación significativa al nivel 0.01.

Los resultados también muestran una temporalidad en el aumento del ácido shikímico, la cual se observa mayor entre los 14 a 21 dda (Tabla 3-4). Al término de este tiempo la tendencia es la reducción en los niveles del analito, comportamiento que concuerda con lo señalado por autores como Koger *et al.* (2005) quienes reportan picos temporales del analito después de la aplicación foliar del herbicida en plantas de arroz.

3.5.2 Área foliar y producción de biomasa

El efecto de la exposición al herbicida sobre el área foliar y la producción de biomasa, parámetros que se asocian al crecimiento de las plantas (Kimball *et al.*, 2004), se registró para cada muestreo.

Experimentalmente, en el AF los resultados indicaron que en los tratamientos en los cuales no se adicionó fósforo (P0) hay valores inferiores a los presentados por los P1. También se observa que el crecimiento es menor en la medida que aumenta la dosis de herbicida. Con respecto al momento de muestreo, la mayor diferencia se evidencia entre el testigo y las dosis de exposición se observa en M3, seguido de M4 (Figura 3-7), los cuales coinciden con el momento de mayor acumulación de ácido shikímico (Tabla 3-4). Posterior a este muestreo, la brecha se reduce y para el momento de finalización del ensayo persisten las diferencias entre el AF del testigo y los demás tratamientos (Figura 3-7). De modo que, tomando como referente el D0, las reducciones fueron equivalentes

en D1P0 al 40.48%, en D2P0 al 23.92%, en D3P0 al 26.24% y al D4P0 de 14.85% (Figura 3-8). En P1, la tendencia es similar, observándose menor AF en relación con el testigo (Figura 3-8), manteniendo la tendencia a ser menor el área foliar en la medida que aumenta la dosis de exposición al herbicida.

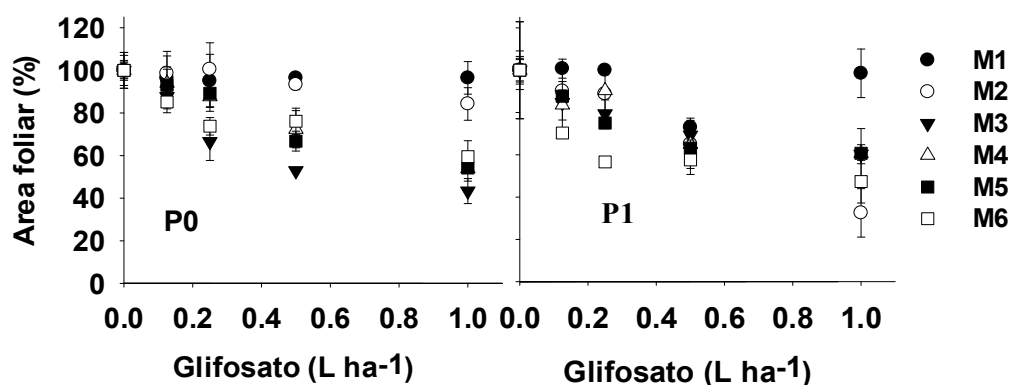


Figura 3-7: AF en relación con la dosis expuesta de glifosato. P0. tratamientos sin fosfato. P1. Tratamientos con fosfato.

Por tratamiento, el orden de reducción porcentual en AF, con relación al D0P1, fue D1(52.69%)> D2 (42.45%)> D3 (43.37%) >D4 (29.73%) (Figura 3-8), valores que indican mayor afectación en el área foliar con respecto a los tratamientos P0, mostrando que las dosis de exposición al herbicida generan efectos negativos en el AF de las plantas de arroz, con mayor detrimento en los tratamientos a los cuales se les adiciono el fosfato. También se observa que los menores valores de AF se presentan en las dosis más altas del herbicida, mostrando un efecto indirecto sobre el crecimiento y desarrollo de la especie. Resultados similares se han expuesto por autores como Bott *et al.* (2011) en cultivos de soja transgénica, los cuales luego de aplicar dosis foliares del herbicida (2 y 4 L ha⁻¹) hallan reducciones en diversos parámetros entre ellos el AF de la especie. Barbosa *et al.* (2020), reportan que la exposición vía radicular a dosis crecientes del herbicida generó disminuciones en el área foliar en plantas de café.

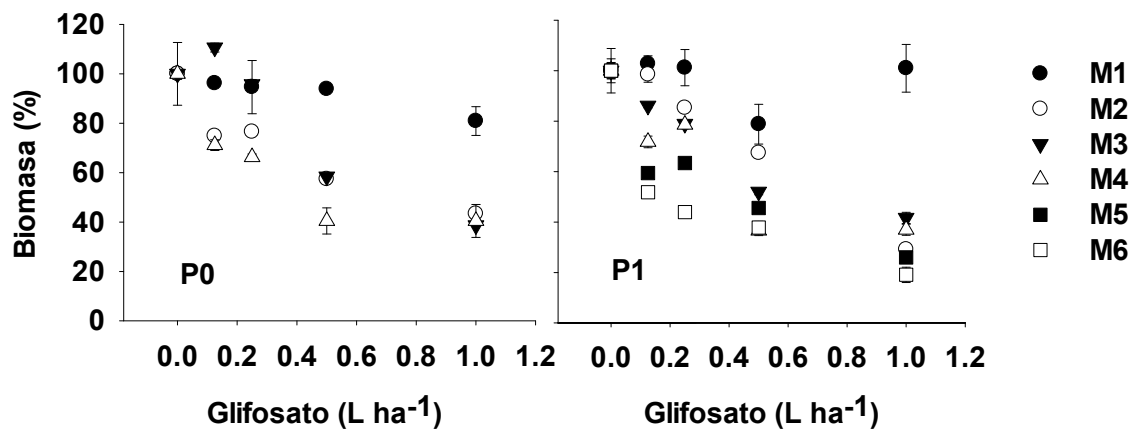


Figura 3-8: P0 y P1 biomasa en relación con la dosis expuesta de glifosato. P0. tratamientos sin fosfato. P1. tratamientos con fosfato.

En la producción de biomasa se evidencia en todos los muestreos realizados una reducción asociada a la presencia del herbicida (Figura 3-8), la cual implica una pérdida en la producción potencial. Para el momento del último muestreo en los tratamientos en los cuales no se adiciona fosfato, la diferencia en producción de biomasa en relación con el testigo fue de $59.52 \pm 6.67\%$ en D1, seguido del D2 ($59.53 \pm 5.23\%$), D3 ($33.69 \pm 1.22\%$) y D4 ($28.83 \pm 2.12\%$) (Figura 3-8). Al realizar la adición de fertilizante, la brecha entre los tratamientos fue mayor, de modo que en D1 la reducción en biomasa fue de $75.78 \pm 0.04\%$; seguido de D2 ($52.03 \pm 0.68\%$), D3 ($44.24 \pm 3.38\%$) y D4 ($34.22 \pm 2.84\%$) (Figura 3-8). Los resultados del último muestreo (M6) para las dosis de P0D1 y P1D1, en las cuales generaron reducciones de hasta el 54%, permiten afirmar que esta exposición puede afectar el rendimiento total. Otros estudios de campo, desarrollados por Kurtz y Street (2003), quienes evaluaron el efecto de la deriva del herbicida, señalan que independientemente de la edad fenológica del cultivo en el momento de la exposición al herbicida, este puede inducir la disminución en la producción, incluso si no se observan síntomas visuales de daño, estos autores llegaron a reportar disminuciones entre el 0 al 98 % en la producción, cantidades que también fueron variables en relación a la dosis de exposición.

En general, la exposición vía radicular al herbicida generó detrimento en el crecimiento de la planta. Resultados que son acordes con el mecanismo de acción del herbicida, el cual, además de la acumulación del ácido shikímico, genera un efecto ralentizador sobre

la RuBisCO, proteína que ocupa aproximadamente del 50% del total de las proteínas en hojas verdes de plantas C4 y es la responsable de la fijación del carbono en el ciclo de Calvin (Daya *et al.*, 2020), por lo que la acumulación va a influir en la reducción de las tasas de crecimiento en las plantas, debido a la pérdida de la eficiencia fotosintética. Estos valores son acordes a los expuestos por autores como Gomes *et al.* (2015) quienes reportan efectos negativos el desarrollo del proceso fotosintético en soja. Bott *et al.* (2011) también trabajaron en soja e indican disminuciones en la producción de biomasa, Tesfamariam *et al.* (2009) exponen menor producción en la biomasa de plantas de girasol y Belz *et al.* (2012) en semillas de Lechuga y concluyen que la exposición al herbicida afecta la producción de biomasa de las plántulas en un proceso que sigue el modelo dosis-respuesta.

3.5.3 Modelo dosis respuesta

Los datos obtenidos fueron utilizados para modelar el efecto de la dosis del herbicida sobre el resultado observado utilizando el modelo Log logistic de dosis respuesta, el cual, permite estimar el efecto de una molécula sobre un objetivo de control y con los valores obtenidos en la ecuación del modelado determinar los valores de ED₅₀, los cuales representan el valor de dosis causante del 50% de la respuesta observada (Leguizamón *et al.*, 2019; Seefeldt *et al.*, 1995). En el caso de malezas, este modelo ha sido utilizado en estudios de evaluación del efecto de dosis crecientes de glifosato sobre la producción de biomasa en malezas en barbecho (Puricelli y Faccini, 2009), en estudios de biotipos resistentes a herbicidas (Vargas *et al.*, 2013) y de evaluación de periodo crítico de competencia por malezas en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) (Tursun *et al.*, 2016) entre otros.

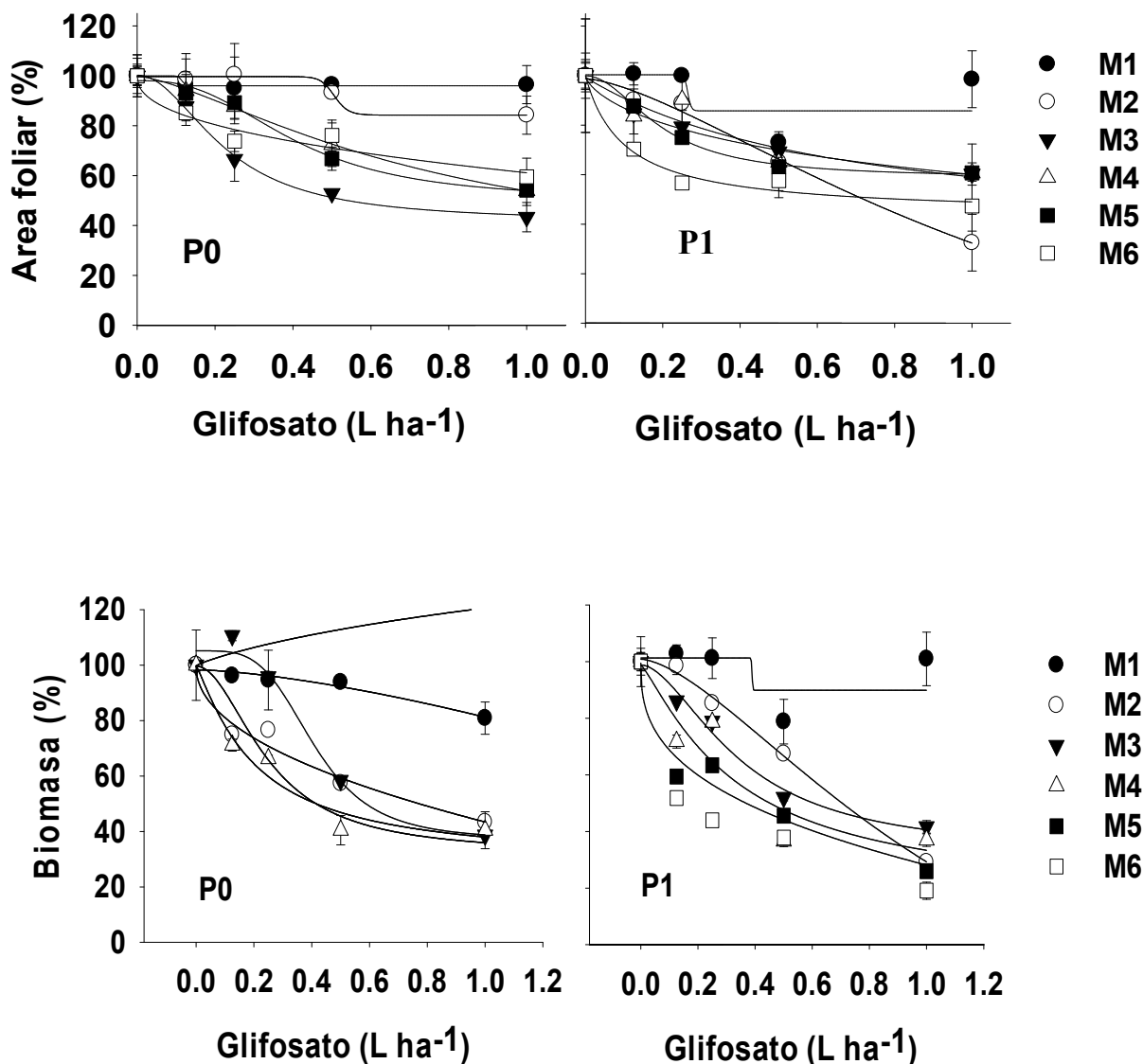


Figura 3-9: Curvas de ajuste al modelo de dosis respuesta para los parámetros área foliar y biomasa, discriminados para P0 y P1. P0. tratamientos sin fosfato. P1. tratamientos con fosfato

Como resultado, se observó ausencia de ajuste al modelo entre los valores experimentales y los estimados de algunos de los muestreos, por lo tanto, no fue posible determinar los valores de ED₅₀ en AF para M6P0 y M1P1 y M3P1 (Figura 3-9) y en biomasa total para M1P0, M2P0, M4P0, M2P1, M5P1 y M6P1 (Figura 3.9; Tabla 3-5), resultado que autores como Seefeldt *et al.* (1995) relacionan con la diferencia de tiempo entre los momentos de muestreo, factor que influiría como modificador de la respuesta en plantas cuando estas son expuestas a dosis sub letales, respuesta que se conjuga con

que factores como AF y biomasa son parámetros indicadores indirectos del efecto del herbicida en las plantas, por lo que al no producirse un efecto letal, estas van a desarrollar diversos procesos fisiológicos, los cuales le permiten superar la condición de estrés generada por el herbicida. Los procesos asociados a la desintoxicación son la conjugación, la síntesis de enzimas de degradación del herbicida y la síntesis de diversos compuestos con el fin de contener la respuesta que provoca el herbicida al interior de esta (Zhang *et al.*, 2021), que se suman a los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas (Orcaray *et al.*, 2017).

Tabla 3-5: Valores de Ajuste al modelo de dosis respuesta a. ácido shikímico. b. área foliar. C. peso fresco. ED₅₀: Dosis efectiva

Parámetro	Muestreo	P0		P1	
		ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²	ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²
Ácido shikímico	M1	0.314±0.07	0.97	0.161±0.07	0.98
	M2	0.108±0.01	0.99	0.127±0.032	0.99
	M3	0.242±0.07	0.97	0.219±0.097	0.95
	M4	0.357±0.01	0.99	0.248±0.100	0.99
	M5	0.348±0.13	0.99	0.153±0.014	0.99
	M6	0.129±0.08	0.99	0.189±0.057	0.99
Biomasa	M1	-		0.39±0.00	0.38
	M2	-		-	
	M3	0.249±0.02	0.99	0.348±0.15	0.99
	M4	-		0.336±0.192	0.87
	M5	0.409±0.07	0.98	-	
	M6	0.204±0.232	0.96	-	
Area foliar (AF)	M1	0.115±15.39	0.90	-	
	M2	0.506±3.736	0.98	1.208±2.501	0.99
	M3	0.226±0.026	0.99	1.313±2.756	0.99
	M4	0.755±0.211	1.00	0.650±4.169	0.86
	M5	0.406±0.085	1.00	0.916±0.060	0.89
	M6	-		0.103±0.075	0.98

Los datos de los demás muestreos presentaron ajuste al modelo en las variables evaluadas ($R^2 > 0.86$), sin embargo, en algunos de estos se observa un alto valor de desviación, indicando que a pesar del ajuste se presenta diferencia entre los datos experimentales y los estimados por el modelo (AF de M1P0; M2P0; M2P1; M3P1 y

M4P1). Los estimados de AF y la biomasa de plantas, indican tendencia decreciente en la pendiente (B) a medida que aumenta el tiempo de exposición al herbicida, resultado del cual se exceptúa a M1P0 en el parámetro biomasa (Figura 3-9. Anexo C2), en donde se obtuvo valores estadísticamente iguales entre las diferentes dosis y el testigo.

La tendencia decreciente del AF en relación con la dosis, es una respuesta indicadora de la interacción negativa que generan dosis crecientes del herbicida en la planta. Respuesta reportada por diversos estudios de aplicación foliar directa del herbicida a plantas, como el presentado por Ferreira *et al.* (2017) quienes señalan disminuciones en estos mismos parámetros debidas a la aplicación foliar del glifosato en plántulas de especies nativas en El Chacho (Argentina).

Los resultados evidencian la mayor sensibilidad a las dosis expuestas (ED_{50}) cuando se adiciona MAP en el caso del AF al comparar M4P1 y M5P1, frente a los estimados en estos mismos muestreos para M4P0 y M5P0, indicando como disminuye la dosis responsable del 50% de la respuesta observada cuando se adiciona el MAP. En relación con la biomasa únicamente es posible comparar el resultado en M3, donde $M3P0 \leq M3P1$.

El modelo también se utilizó para estimar el efecto del herbicida sobre la acumulación del ácido shikímico, indicando ED_{50} (Tabla 3-5) en un rango de 0.108 ± 0.011 y 0.357 ± 0.007 L glifosato ha^{-1} , valores que señalan como bajas dosis del herbicida producen modificaciones del metabolismo en las plantas. En los muestreos con mayor acumulación de ácido shikímico M3, M4 y M5, los valores de ED_{50} fueron menores en P1 frente a los estimados en P0, reiterando la mayor sensibilidad al herbicida en presencia del MAP, excepto en M2 y M6, donde los valores de ED_{50} fueron estadísticamente iguales entre los tratamientos. Esta respuesta señala al MAP como facilitador de la interacción entre el glifosato y la planta al ser expuesta vía radicular. Resultados que señalan a los valores en la pendiente son positivos en relación con la dosis de exposición al herbicida, reiterando que la acumulación de ácido shikímico es indicador directo de la interacción con la planta (Freitas-Silva *et al.*, 2020), independientemente de si la exposición es foliar o radicular, siendo concordante con la teoría de que el herbicida tiene como sitio de acción primario la inhibición de la EPSP sintasa, bloqueando la ruta metabólica y produciendo la acumulación del ácido shikímico (Kanissery *et al.*, 2019). La mayor sensibilidad por la presencia del fosfato está acorde con lo reportado por Gomes *et al.*

(2012) y Gomes *et al.* (2015) acerca del ingreso del herbicida favorecido en presencia del fosfato.

3.6 Conclusión

Los resultados indican que la exposición radicular de subdosis de glifosato en plantas de arroz no ocasionó la muerte de las plantas, sin embargo, se encuentra que se produce la acumulación temporal del ácido shikímico, disminución en el área foliar y la biomasa de las plantas expuestas, resultados que se observaron en proporciones inferiores a las reportadas por otros autores frente a la exposición foliar. En relación con la adición de MAP, se observa que este aumenta el efecto del herbicida sobre los parámetros evaluados, implicando que la presencia del fertilizante en la solución del suelo favorece la interacción del herbicida en las plantas.

El ajuste de los datos obtenidos en el modelo de dosis respuesta y los valores estimados en este reiteran que variables de respuesta indirecta como AF y biomasa se ajustan parcialmente al modelo, de modo que con los datos obtenidos en algunos de estos muestreos no es posible estimar la respuesta observada con el modelo Log logistic de dosis respuesta, mostrando por tanto un resultado que si bien refleja el daño del herbicida, no necesariamente se ajusta al modelo de evaluado. Los valores estimados a lo largo de los diferentes muestreos señalan que el parámetro que mejor refleja el efecto de las subdosis de glifosato sobre las plantas de arroz corresponde para el ácido shikímico.

3.7 Bibliografía

Belz, R., Leberle, C. 2012. Low dose responses of diferents glyphosate formulations on plants. 25th German conference on weed biology and weed control, march 13-15, 2012, Braunschweig, Germany. DOI:10.5073./JKA.2012.434.052

Barbosa, E., Moreira, I., Cabral, A., de Barros E., da Conceicao C. 2020. Evaluation of leaf and root absorptions of glyphosate in the growth of coffee plants. *Pesticides*. 87:1-8. DOI: 10.1590/1808-1657000762018

Bott, S., Tesfamariam, T., Kania, A., Eman, B., Aslan, N., Römheld, V., y Neumann, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilization. *Plant and Soil*, 342(1-2), 249–263. doi:10.1007/s11104-010-0689-3

Bustos., M. 2012. Destino ambiental del glifosato en una zona arrocera del Tolima, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Tesis doctoral.

Cakmak, I., Yazici, A., Tutus, Y., Ozturk, L., 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *European Journal of Agronomy*. 31(3):114-119. DOI:10.1016/J.EJA.2009.07.001

Franz, J.E.; Mao, M.K.; Sikorski, J.A. *Glyphosate: A Unique Global Herbicide*; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 1997.

Feng, J., Shi, Y., Yang, S., Zuo, J., 2017. Cytokinins, Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press, 77-106 doi.org/10.1016/B978-0-12-811562-6.00003-7.

Ferreira, F., Torres, C., Bracamonte, E., Galetto, L. 2017. Effects of the herbicide glyphosate on non-target plant native from Chaco forest (Argentina). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.049>.

Freitas-Silva, L., Araujo, T., Nunes-Nesi, A., Ribeiro, C., Costa, A., da Silva, L. 2020. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. *Ecological Indicators*. 113:106246. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>.

Gómez, C. (2009). Mecanismos de resistencia de *Parthenium hysterophorus* L. a glifosato. Valle del Cauca, Colombia (Tesis de doctorado), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Gomes, M.P.; Smedbol, E.; Chalifour, A.; Hénault-Ethier, L.; Labrecque, M.; Lepage, L.; Lucotte, M.; Juneau, P. 2014. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *J. Exp. Bot.* 65, 4691–4703.

Gomes, M., Maccario, S., Lucotte, M., Labrecque, M., Juneau, P. 2015. Consequences of phosphate application on glyphosate uptake by roots: Impacts for environmental management practices. *Science of The Total Environment*. 537:115-119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.054>.

Gomes, M. P., Le Manac'h, S. G., Moingt, M., Smedbol, E., Paquet, S., Labrecque, M., ... y Juneau, P. (2016). Impact of phosphate on glyphosate uptake and toxicity in willow. *Journal of hazardous materials*, 304, 269-279.

Grzesiuk, A., Debski, H., Okninska, K., Koczkodaj, D., Szwed, M., Horbowicz, M. 2017. Effect of root -zone glyphosate exposure on growth and anthocyanins content of radish seedlings. *Acta Sci. Hortorum Cultus*. 17(2):3-10. DOI: 10.24326/asphc.2018.2.1

Kanissery, R., Gairhe, B., Kadyampakeni, D., Batuman, O., Alferez, F. 2019. glyphosate: its environmental persistence and impact on crop health and nutrition. *Plants*. 8(11):499-<https://doi.org/10.3390/plants8110499>

Kimball, B., Kobayashi, k., Bindi, M., 2002. Responses of agricultural crops to free air CO₂ enrichment. *Advances in agronomy*. 77:293-368. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77017-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77017-X)

Kogan M., y Alister C. 2013. Dinámica de glifosato en el suelo y su potencial actividad vía absorción radicular. *Viabilidad de glifosato en sistemas agrícolas sustentables* (41-50).

Koger, C., Shaner, D., Kruntz, L., Walker, T., Buehring, N., Henry, W., Thomas, W., Wilcut, J. 2005. Rice (*Oriza sativa*) response to drift rates of glyphosate. *Pest Management Science*. 61: 1161-1167. Doi:10.1002/ps.1113

Kurtz, M., Street, J., 2003. Response of rice (*Oriza sativa*) to glyphosate applied to simulate drift. *Weed technology* 17:234-238.

Malalgoda, M., Ohm, J., Howatt, K., Green, A., Simsek, S. (2020). Effects of pre-harvest glyphosate use on protein composition and shikimic acid accumulation in spring wheat. *Food Chemistry*. 332:127422. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127422>.

Matozzo, V., Fabrello, J., Marin, M. 2020. The effects of glyphosate and its commercial formulations to marine invertebrates: A review. *Journal of marine science and engineering*. 8:399. Doi:10.3390/jmse8060399.

Mervosh, T. L., y Balke, N. E. (1991). Effects of calcium, magnesium, and phosphate on glyphosate absorption by cultured plant cells. *Weed Science*, 39(3), 347-353.

Orcaray, L., Zulet, A., Zabalza, A., Royuela, M. 2012. Impairment of carbon metabolism induced by the herbicide glyphosate. *Journal of Plant Physiology*. 169(1)27-33. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.08.009>.

Picoli, G., Carbonari, C., Matos, A., Rodrigues, L., Velini, E. 2017. Influencia do glyphosate em populações de Azevem Suscetível e Resistente ao Herbicida. *Planta Daninha*. 35:017163391 <https://doi.org/10.1590/S0100-83582017350100055>

Piexoto, M., Bauerfeldt, G., Herbs, M., Pereira, M., da Silva, O. 2015. Study of the stepwise deprotonation reactions of glyphosate and the corresponding pK_a values in aqueous solution. *The journal of physical chemistry*. 119: 5241-5249. Doi:10.1021/jp5099552.

Puricelli, E., y Faccini, D. 2009. Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo. *Planta Daninha*, 27(2), 303-307. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582009000200013>

Saunders, L.E.; Pezeshki, R. 2014. Sublethal effects of environmentally relevant run-off concentrations of glyphosate in the root zone of *Ludwigia peploides* (creeping water primrose) and *Polygonum hydropiperoides* (smartweed). *Weed Biol. Manag.* 2014, 14, 242–250.

Seefeldt S.; Jensen, J.; Fuerst, P. 1995. Log-logistic analysis of Herbicide Dose-response relationships. *Weed technology*. 9(2):218-227.

Scrobers, L., Valverde, B., Sorensen, J., Cedergreen, N. 2014. Glyphosates spray drift in *Coffea arabica* – Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 115:15-22.

Silva, F., Duke, S., Dayan, F., Velini, E. 2014 Low doses of glyphosate change the responses of soya bean to subsequent glyphosate treatments. *Weed Research*. 56, 124–136. DOI: 10.1111/wre.12189.

Steinrucken, H., Amrhein, N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-Enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical research communications*. 94(4):1207-1212.

Tesfamariam, T., Bott, S., Cakmak, I., Romheld, V., Neumann, G. (2009). Glyphosate in the rhizosphere—Role of waiting times and different glyphosate binding forms in soils for phytotoxicity to non-target plants. *European Journal of Agronomy*. 31:126-132. doi:10.1016/j.eja.2009.03.007

Tursun, N., Datta, A., Sami Sakinmaz, M., Kantarci, Z., Knezevic, S., Singh Chauhan, B. 2016. The critical period for weed control in three corn (*Zea mays* L.) types. *Crop Protection*. 90:59-65. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.019>.

Vargas, L., Fraga, D.S., Agostinetto, D., Mariani, F., Duarte, T.V., y Silva, B.M. 2013. Dose-response curves of *Lolium multiflorum* biotypes resistant and susceptible to clethodim. *Planta Daninha*, 31(4), 887-892. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582013000400015>

Vereecken, H. Mobility and leaching of glyphosate: A review. *Pest Manag. Sci.* 2005, 61, 1139–1151.

Vered, T., Gad, G., Asaph, A. 2012. Shikimate pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis. Ln: eLS. John Wiley y Sons. Chichester. DOI: 10.1002/780470015902.a0001315.pub2

Yannicari, M., Istilart, C., Gimenez, D., Acciaresi, H., Castro, A. 2012. Glyphosate effects on the growth and free sugar accumulation of two *Lolium perenne* biotypes with different herbicide sensitivity. *Planta Daninha*. 30(1):155-164

Zhang, J., Yang, H. 2021. Metabolism and detoxification of pesticides in plants. *Science of the Total Environment*. 790:148034. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148034>

4. Capítulo 4. Efecto de la adición de fosfato en la desorción de glifosato y la traslocación vía radical a plantas

Resumen

Para evaluar el efecto de la biodisponibilidad del glifosato en suelo, el metabolismo y producción de biomasa de plantas de arroz se planteó un ensayo con diferentes dosis del herbicida aplicadas en suelo en presencia y ausencia de fosfato mono amónico (MAP). Para esto se diseñó un experimento de medidas repetidas en el tiempo, el cual incluyó, tres suelos (CS3, CS2, CS1), cuatro tratamientos (T1-T4), seis dosis de herbicida (incluida la dosis cero) y cinco repeticiones por unidad experimental, realizando siete mediciones en intervalos de ocho días. Los tratamientos implementados fueron T1: glifosato; T2: Fosfato aplicado en pre-siembra, ocho días antes de la adición de glifosato; T3: aplicación conjunta de fosfato y glifosato; T4: aplicación de fosfato después de la adición de glifosato, 15 días después de la siembra. Cada tratamiento del herbicida se aplicó en 6 dosis diferentes de glifosato, las que fueron equivalentes a la aplicación de $D3=12$, $D2=8$, $D=4$, $D/2=2$, $D/3=1$ y $D0=0$ L ha⁻¹ de producto comercial Roundup® siendo la dosis normal de campo $D=4$ L ha⁻¹ y para MAP de 60 kg ha⁻¹. Los resultados observados indican que, en los suelos estudiados, existe una interacción entre el herbicida, suelo y las plantas, dando como resultado la alteración en el metabolismo de las plantas y la modificación en la producción de biomasa. La dosis aplicada produce un diferencial frente al efecto en la planta, puesto que, a mayor dosis, mayor alteración de los parámetros evaluados. En relación con el fosfato, los resultados indican que la adición de este favorece la acumulación del ácido shikímico y la disminución en la producción potencial de biomasa de las plantas expuestas. Con respecto al proceso de transferencia desde el suelo, se evidencia la limitada biodisponibilidad del herbicida, siendo esta la razón por la cual los resultados no implican efectos letales en las plantas.

4.1 Introducción

Posterior a la aplicación foliar de glifosato, este puede trasladarse al suelo (Bott *et al.*, 2010) debido al escurrimiento después de la aspersion o a la exudación desde las plantas tratadas (Mamy *et al.*, 2016). En suelo la molécula se adsorbe y retiene en los minerales (Teshamariam, 2009). No obstante, la frecuencia y cantidad con la que se aplica el herbicida, ha llevado a que este sea reportado como contaminante del suelo y sistemas acuáticos (Vereecken *et al.*, 2005; Okada *et al.*, 2018; Hébert *et al.*, 2019). Adicionalmente la reversibilidad de la adsorción y el movimiento de la molécula se ven favorecidos por algunas prácticas agrícolas como la adición de cales, cenizas o enmiendas orgánicas que inducen la ruptura en la unión adsorbato-adsorbente y por la adición de fosfatos que favorecen la competencia por los sitios de adsorción (Piexoto *et al.*, 2004; Wei y Weiping, 2008; Jodeh *et al.* 2014; Rashmi *et al.*, 2018).

La fertilización con fosfatos en la producción agrícola es una actividad frecuente. El fósforo es un elemento esencial y poco disponible para las plantas, necesario en la construcción de Ácidos nucleicos, fosfolípidos, ATP y moléculas como la FosfoEnol Piruvato (PEP), Eritrosa 4 Fosfato (E4P) y la Ribulosa Bis Fosfato (RuBisCO) (Taiz and Zeiger, 2004). Para la toma de fosfato las plantas han desarrollado mecanismos de transporte especializados, incluyendo la acidificación de la zona de la rizosfera y el uso de transportadores fosfato (Smith, 2002).

En el suelo el fósforo es constituyente de la fracción mineral y orgánica, es susceptible a los procesos de adsorción que lo hacen no disponible para las plantas, en aproximadamente un 80% (Schachtman *et al.*, 1998). Las especies inorgánicas de fósforo, son principalmente derivadas de la molécula de ácido fosfórico, H_3PO_4 , el cual presenta diferentes valores de pKa, por lo que la forma en que este nutriente se encuentra en el suelo es dependiente del pH. Las plantas toman principalmente la forma monovalente $H_2PO_4^-$, la cual sería predominante en los rangos de pH 5.0 a 6.0, sin embargo, esta molécula puede estar presente también en la especie HPO_4^{2-} (Schachtman *et al.*, 1998).

En relación con la adsorción, el fosfato compite por los sitios de intercambio con otras moléculas polares como glifosato, por lo que la adición como parte de los procesos de

fertilización en cultivos, favorece la biodisponibilidad del herbicida debido a la mayor afinidad del suelo por el fertilizante (Bott *et al.*, 2011; Waiman *et al.*, 2012). Una mayor biodisponibilidad de glifosato favorece los procesos químicos y físicos del herbicida como la degradación, el desplazamiento, la reabsorción y la interacción con especies no objetivo (Hébert *et al.*, 2019). En suelos arroceros de Colombia, Bustos (2012) reportó la presencia del herbicida 45 días después de siembra en cultivos de arroz, transcurridos aproximadamente dos meses desde la última aplicación del herbicida y 15 días después fertilizar con triple 18 en dosis de 200 kg ha^{-1} (18.0% N-Total, 18.0% P_2O_5 y 18.0% K_2O), hallándose concentraciones de glifosato de hasta 8.16 mg kg^{-1} , resultados que indican la biodisponibilidad del herbicida en la rizosfera del cultivo.

En las plantas la absorción vía radicular del herbicida ha sido estudiada por Neumman (2006); Bott *et al.* (2011); Tesfamariam *et al.* (2012) y Hebert *et al.* (2018), quienes plantean la biodisponibilidad del herbicida y su ingreso en las plantas por interceptación radicular, proceso que involucra el uso de los transportadores fosfato y la acidificación de la zona de la rizosfera. La biodisponibilidad del herbicida es también favorecida por la presencia de fosfato en el medio (Gomes *et al.*, 2015).

La presencia de glifosato en la zona radicular ha generado respuestas en diversas investigaciones las cuales incluyen fitotoxicidad visual y desbalances en la nutricionales en soja (Bott *et al.*, 2011) además de la disminución en la producción de biomasa en soja, avena y haba (Bott *et al.*, 2011; Helander *et al.*, 2019). También se reporta la posibilidad de formar compuestos insolubles con cationes como calcio, magnesio, manganeso, los cuales se almacenan en los tejidos de plantas de soja (Gordon *et al.*, 2007; Cakmak *et al.*, 2009), la afectación en la eficiencia del proceso de carboxilación en maíz, soja (Matallo *et al.*, 2014) y café (Barbosa *et al.*, 2020), disminución en la síntesis de compuestos de defensa, bloqueo de la ruta metabólica del shikimato y el consecuente incremento en los niveles de ácido shikímico, el cual es considerado indicador directo de toxicidad del herbicida en plantas (Matallo *et al.*, 2014).

4.2 Justificación

En los capítulos anteriores se demostró que a pesar de la alta afinidad del herbicida con los suelos estudiados (CS1, CS2 y CS3) es posible la desorción de la molécula y su

movimiento a través del perfil del suelo. También se reportó que el fósforo favorece la biodisponibilidad de la molécula. En relación con el agua, se encontró que la adición en el sistema la convierte en un vehículo que favorece el movimiento del herbicida en el suelo. De igual manera, los resultados previos indican que la molécula puede absorberse vía radicular. En la producción agrícola la fertilización con fuentes fosfatadas y el riego son prácticas frecuentes. En el cultivo de arroz, la fertilización suele adicionar aproximadamente 60kg ha^{-1} de fosfato monoamónico y la forma en la que la planta asimila el fosfato implica la acidificación de la zona de la rizosfera facilitando la desorción de glifosato, el cual puede ingresar en la planta utilizando mecanismos similares a los del fertilizante. En el caso de arroz, son pocos los estudios acerca de la removilización del herbicida y su efecto en planta. No obstante, este herbicida ha sido reportado como contaminante en el cultivo (Bustos, 2012), lo que implica que existe un riesgo de interacción entre glifosato y la planta, sin que se conozca el efecto que puede generar sobre su crecimiento y desarrollo, motivo por el cual se planteó la presente investigación.

4.3 Objetivo

4.3.1 Objetivo general

- Evaluar los efectos de adicionar glifosato en suelos arroceros sobre la producción del cultivo y el efecto de la adición del fosfato sobre el proceso.

4.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de diferentes dosis del herbicida glifosato sobre el metabolismo y producción de biomasa de plantas de arroz.
- Comparar el efecto de diferentes ordenes de adición de glifosato y fosfato monoamónico (MAP) en suelos sobre el metabolismo y crecimiento de plantas de arroz.

4.4 Materiales y Métodos

4.4.1 Suelos

En el ensayo se utilizaron suelos de origen arroceros, los cuales fueron descritos en el capítulo 1 y que corresponden a **suelo 1** (CS1) proveniente del municipio del Espinal en

el departamento del Tolima; **suelo 2** (CS2) proveniente del municipio de Saldaña en el departamento del Tolima y **suelo 3** (CS3) proveniente de la ciudad de Villavicencio en el departamento del Meta. Las propiedades fisicoquímicas y mineralógicas de estos se encuentran recopiladas en la tabla 1-5 del capítulo 1.

4.4.2 Reactivos

Para el estudio se utilizó RoundUp® en formulación de sal potásica de N-fosfonometil glicina en concentración de 480g L⁻¹ equivalentes a 363g de N-fosfonometil glicina (F-GLY). La fuente fertilizante utilizada fue fosfato mono amónico al 99.3% de J.T. Baker (MAP), ácido sulfúrico 95-97% J.T. Baker; hielo seco; ácido peryódico a 99% MERCK® y metaperiodato de sodio 99% MERCK®; hidróxido de sodio 98% J.T. Baker y sulfito de sodio 98% J.T. Baker.

4.4.3 Material vegetal

Se utilizaron semillas de arroz (*O. sativa*) de la variedad Fedearroz 80.

4.4.4 Condiciones del crecimiento de plantas y aplicación de glifosato.

El ensayo se llevó a cabo en condiciones controladas los invernaderos de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Para la determinación del efecto del herbicida sobre el metabolismo de las plantas se realizó un diseño estadístico de medidas repetidas en el tiempo, el cual incluyó, los tres suelos (CS3, CS2, CS1), 4 tratamientos (T1-T4), seis dosis de herbicida (incluida la dosis cero) y cinco repeticiones por unidad experimental, para un total de 360 unidades experimentales y siete mediciones en intervalos de 8 días. La unidad experimental corresponde a un recipiente de 500 g de cada suelo con una planta de arroz.

Para el montaje del ensayo, cada suelo fue tamizado y homogeneizado previo al llenado de los recipientes de 500 g los cuales, posteriormente fueron humedecidos hasta capacidad de campo. A las 24 horas de humedecido el suelo, se aplicó la dosis correspondiente del glifosato, según el tratamiento. Ocho días más tarde se realizó la siembra de las semillas pregerminadas, ubicando dos semillas por matera. Pasados

ochos días se ralearon las materas y se mantuvo el crecimiento de una sola planta por unidad experimental. Los tratamientos consistieron en T1: glifosato; T2: Fosfato aplicado en presiembr, ocho días antes de la adición de glifosato; T3: aplicación conjunta de fosfato y glifosato; T4: aplicación de fosfato después de la adición de glifosato, 15 días después de la siembra (dds).

Cada tratamiento del herbicida se aplicó en seis dosis diferentes de glifosato, las que fueron equivalentes a la aplicación de $D_3=12$, $D_2=8$, $D=4$, $D/2=2$, $D/3=1$ y $D_0=0$ L ha⁻¹ de producto comercial Roundup® el cual se encuentra formulado como sal potásica de glifosato en concentración 480, equivalente a 395g de glifosato por litro (Roundup®, 2019), siendo la dosis de 4 L ha⁻¹ (D) la dosis de campo. La dosis de fosfato fue equivalente a 60 kg ha⁻¹ fosfato monoamónico.

En el caso de los tratamientos en los cuales se realizó la adición de glifosato y posterior adición de fosfato (T4), esta aplicación se realizó 15 días después de la siembra de las semillas de arroz. Para los tratamientos en los cuales se aplicó inicialmente fosfato, esta se realizó ocho días antes de la adición del glifosato (T2).

Los ensayos tuvieron una duración de 70 días. La temperatura media de crecimiento fue de 27±4°C. El riego consistió en adicionar agua 2 veces por semana, colocando en cada ocasión la cantidad suficiente para formar una lámina superficial de 1cm. Se realizaron muestreos en intervalos de 10 días, a partir del 15dds.

4.4.5 Variables evaluadas

Ácido shikímico. Para el análisis del ácido shikímico se recolectó en cada unidad experimental, el foliolo ubicado en la tercera hoja de la parte central de la planta hacia abajo. Cada muestra fue procesada de acuerdo con la metodología expuesta en el capítulo 3.

Biomasa: Se determinó la biomasa de acuerdo con la metodología expuesta en el capítulo 3 numeral 3.4.8.

Área foliar y altura de planta: Este parámetro se calculó para cada muestreo, de acuerdo con la metodología expuesta en el capítulo 3, numeral 3.4.9.

4.4.6 Análisis estadístico

En el análisis estadístico se utilizó el programa Sigma Plot versión 12.0 y Statistix versión 8., se realizaron las pruebas de normalidad, homocedasticidad y análisis de varianza. En las pruebas de comparación de medias se utilizó el estadístico de Tukey y en las correlaciones la prueba de Pearson. Los resultados en la evaluación de dosis respuesta se ajustaron al modelo Log logistic de Dosis-respuesta el cual se describió en el capítulo 3 del presente trabajo.

4.5 Resultados

4.5.1 Ácido shikímico

En la Figura 4-1 se observan los valores de ácido shikímico (mg g^{-1}) cuantificados en los diferentes tratamientos y muestreos junto con el correspondiente testigo. En esta se evidencian aumentos significativos en las concentraciones del ácido shikímico y la consecuente alteración de la ruta metabólica, como resultado de la inhibición de la EPSPS, Enol piruvato shikimato fosfato sintasa, sitio primario de acción del herbicida (Matallo *et al.*, 2014).

Se observó variación de las magnitudes cuantificadas del ácido shikímico en el testigo (Figura 4-1), donde se evidencia que la síntesis del metabolito es variable, puesto que depende de los requerimientos de la planta los cuales se asocian con las condiciones ambientales y de desarrollo (Weaver y Herrmann, 1997). Para evitar el efecto del testigo, los resultados de cada muestreo fueron analizados y graficados teniendo como referencia la cantidad de veces en las que aumentan las concentraciones de ácido shikímico con relación a la cantidad cuantificada en cada tratamiento a dosis cero, de

modo que el valor graficado es el resultado de ácido shikímico (ácido shikímico, tratamiento (D) / ácido shikímico de la dosis cero (D₀).

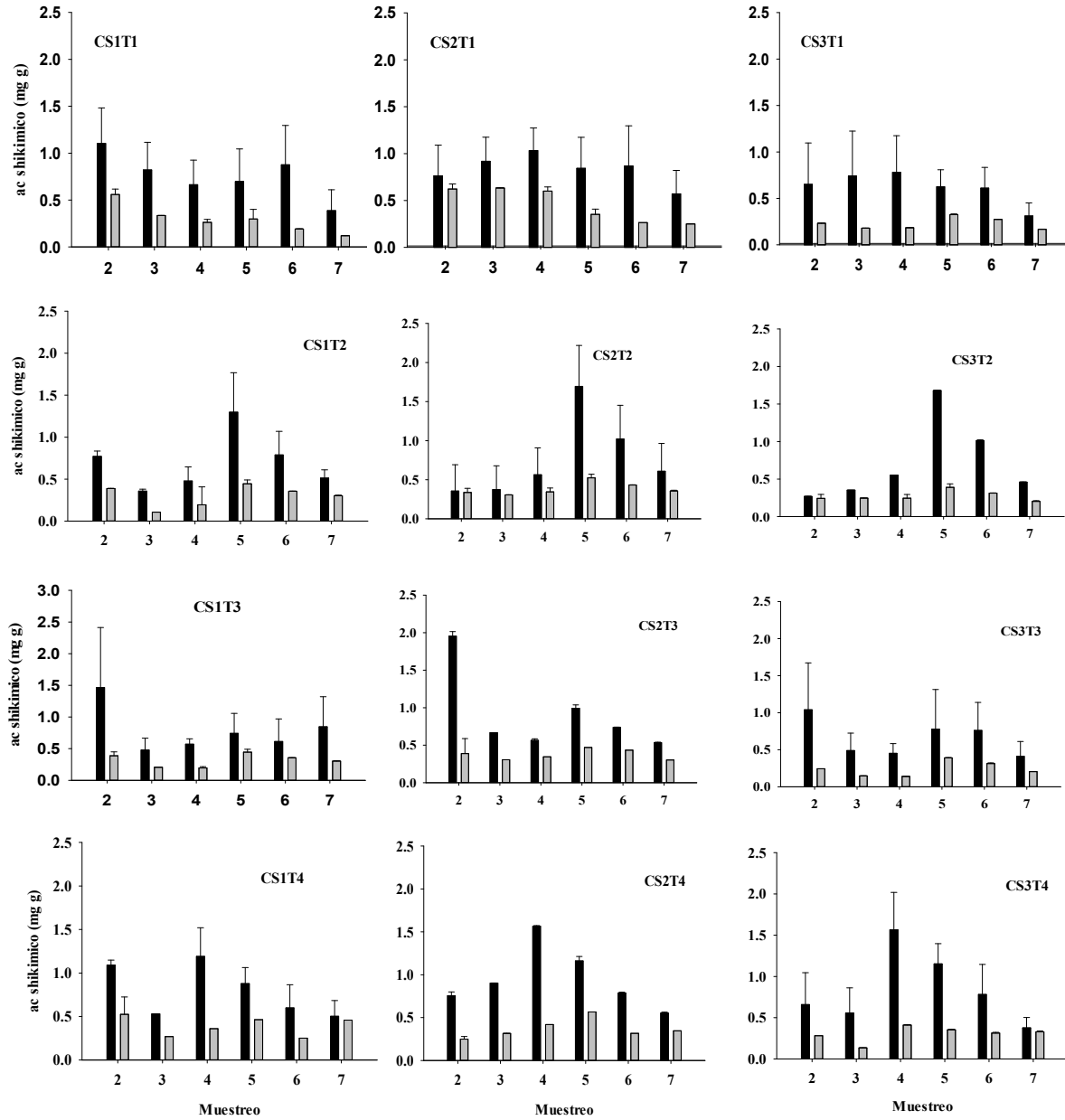


Figura 4-1: Valor promedio del ácido shikímico en las dosis de cada tratamiento (T1, T2, T3 y T4), a lo largo de los muestreos del ensayo. ■ barra del promedio de las dosis por tratamiento ■ barra del testigo del tratamiento.

Una vez realizado el tratamiento de los datos tomados en los muestreos, se procedió a modelar las curvas de dosis respuesta, para cada momento de muestreo, observando para T1 (Figura 4-2) incrementos del ácido shikímico, a través del tiempo, los cuales en CS1 y CS2 inicialmente presentan valores bajos, luego se identifica un crecimiento que presenta valor máximo en M4 y posteriormente decrece. Los incrementos cuantificados para este suelo fueron inferiores en CS3 comparados con CS1 y CS2 (Figura 4-2).

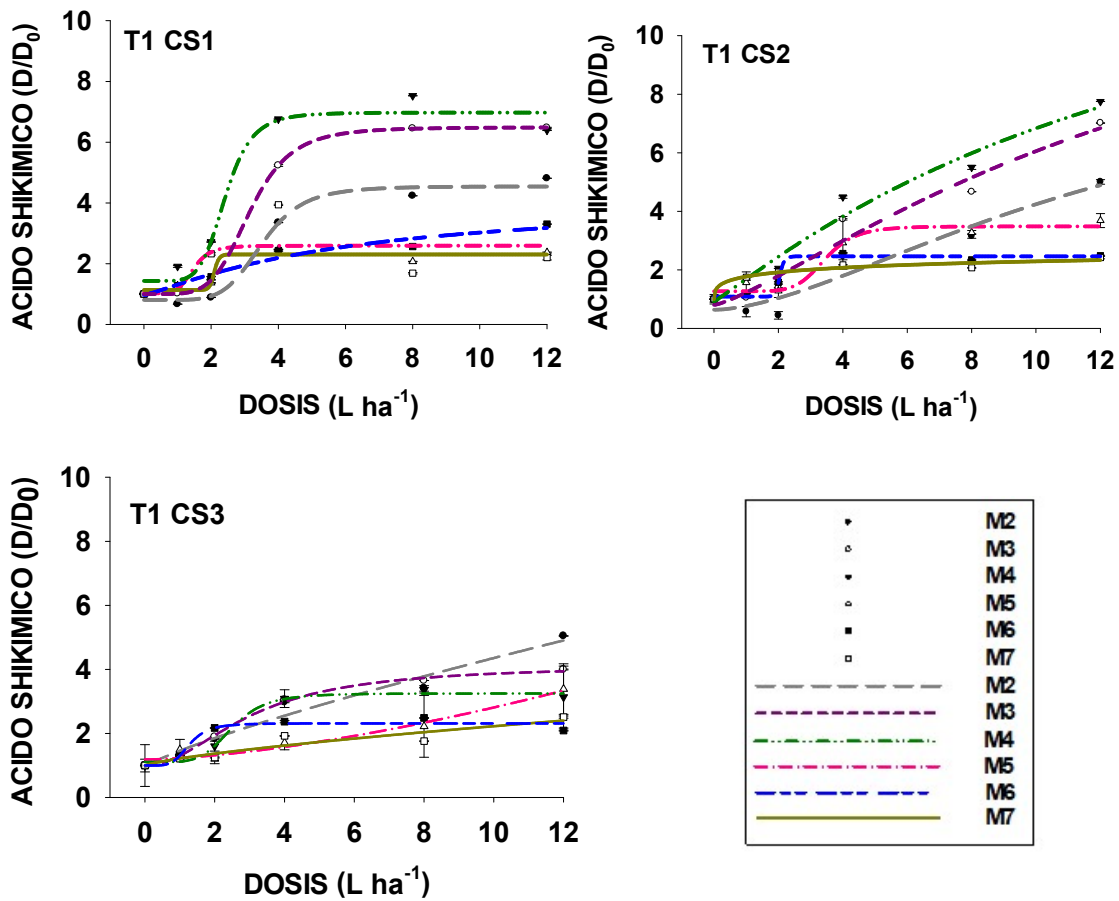


Figura 4-2: Curvas de dosis respuesta para T1 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados del modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.

En CS1, los muestreos M4 y M3 se observa que la exposición al herbicida aumentó las concentraciones de ácido shikímico, con ajuste al modelo de dosis respuesta, el cual señala que en la dosis de 2 y 4 L ha⁻¹ se produce el mayor incremento en la pendiente

del modelo (Figura 4-2), por lo que, a partir de este rango de dosis, la exposición a esta y superiores genera una respuesta en la cual se producen mayores acumulaciones del ácido shikímico en estos muestreos.

Con respecto a CS2, la mayor acumulación de ácido shikímico se observa en los muestreos M4, M3 y M2, en estos la producción de ácido shikímico mantiene un crecimiento de tendencia lineal en relación con la dosis. En los muestreos M5, M6 y M7 los valores conservan ajuste al modelo, con valores de ED_{50} en 7.32, 2.04 y 8.84 L ha⁻¹ respectivamente (Figura 4-2). La menor acumulación del analito se registró en M7 (Figura 4-2; Anexo D1).

Por otra parte, en CS3, los resultados indican un valor inicial elevado de ácido shikímico en las dosis altas de M2 y M3, en el caso de M2 los valores no se ajustaron al modelo de dosis respuesta, acercándose hacia un crecimiento de tendencia lineal con pico en D3; en M3 y M4 la elevación es similar en la dosis D, D2 y D3 e indica la ED_{50} en 3.04 ± 0.27 y 2.5 ± 0.25 L ha⁻¹ respectivamente; mientras que M6 y M7 presentan las menores acumulaciones, con ED_{50} para M6= 1.27 ± 0.27 L ha⁻¹ (Figura 4-2). En relación con el momento de muestreo, se observa en este tratamiento mayores valores en M4 y M3, lo que implica que este es el momento de mayor respuesta de la planta a la interacción con el herbicida. El valor promedio de ED_{50} , en este tratamiento fue 3.81 ± 1.63 L ha⁻¹.

Para T2 (Figura 4-3) los resultados nuevamente señalan mayores incrementos de ácido shikímico en CS1 y CS2 frente a CS3. En CS1 la sensibilidad en relación con la dosis fue mayor, estimándose valores de $ED_{50} = 1.1e^{-2} \pm 0.00$ y 1.37 ± 0.48 L ha⁻¹ en M4 y M5 respectivamente. Los demás muestreos presentaron menores incrementos en las concentraciones de ácido shikímico y se observaron en el orden M6>M7>M2. Los resultados muestran que M3 no ajustó al modelo. Por otro lado, en CS2 el mayor incremento se presentó en M4, sin embargo, este no presentó ajuste al modelo, los muestreos que le siguieron en las elevaciones del ácido shikímico fueron M5 y M3. Los menores incrementos, se observaron en M2, M6 y M7, estos muestreos indican valores de $ED_{50} = 7.10e^{-15} \pm 0.00$, 2.22 ± 0.20 y 4.00 ± 111.63 L ha⁻¹ respectivamente.

En lo que respecta a CS3, se observaron las mayores acumulaciones del ácido shikímico en M3 y M5, situando la ED₅₀ en 0.09±0.76 y 2.00±1.41 L ha⁻¹, valores seguidos de M4 y M6 (ED₅₀=1.66±5.28 y 2.29±0.20 L ha⁻¹). El menor aumento se registró en M2 y M7, muestreos que no presentaron ajuste al modelo, resultados que señalan en este tratamiento la tendencia a un aumento de la respuesta en dosis más bajas del herbicida, de modo que para este tratamiento la ED₅₀ promedio fue de 2.02±0.57 L ha⁻¹.

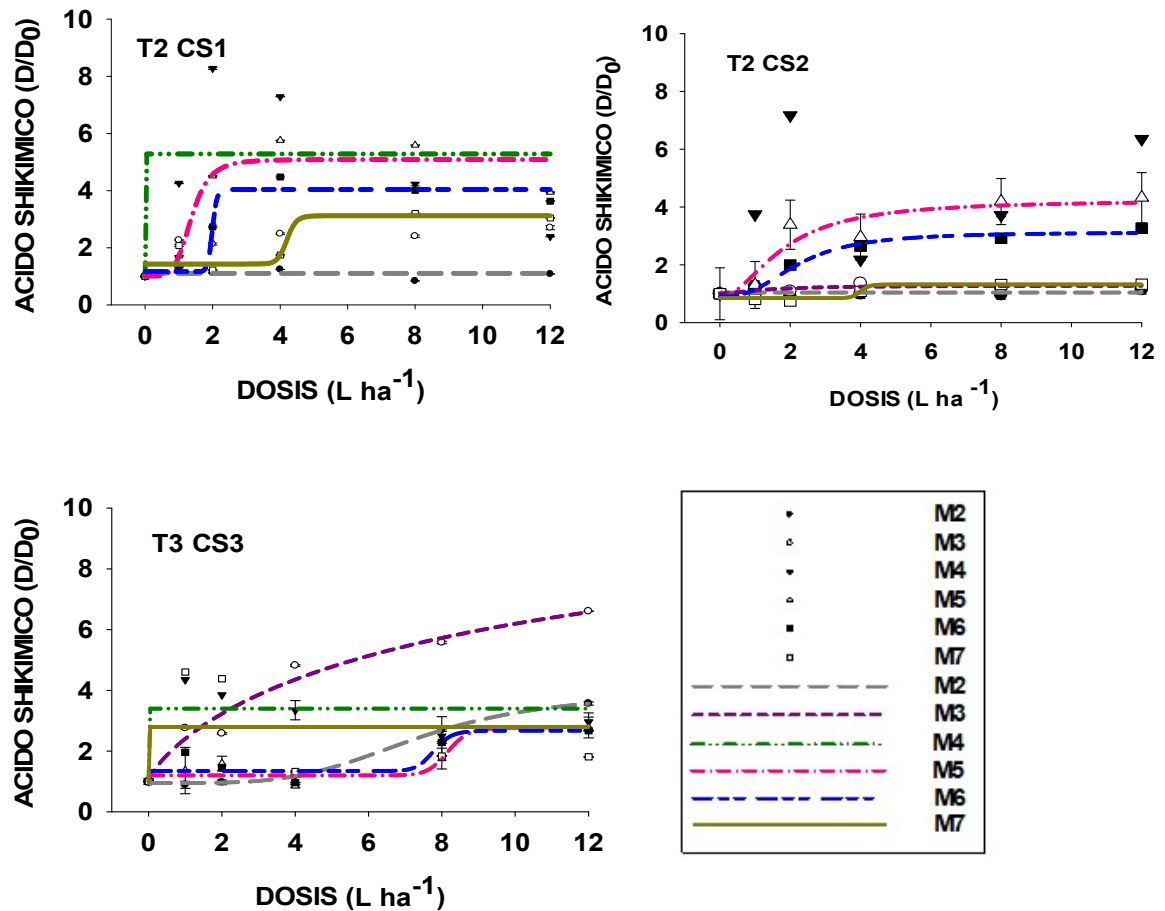


Figura 4-3: Dosis respuesta para T2 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.

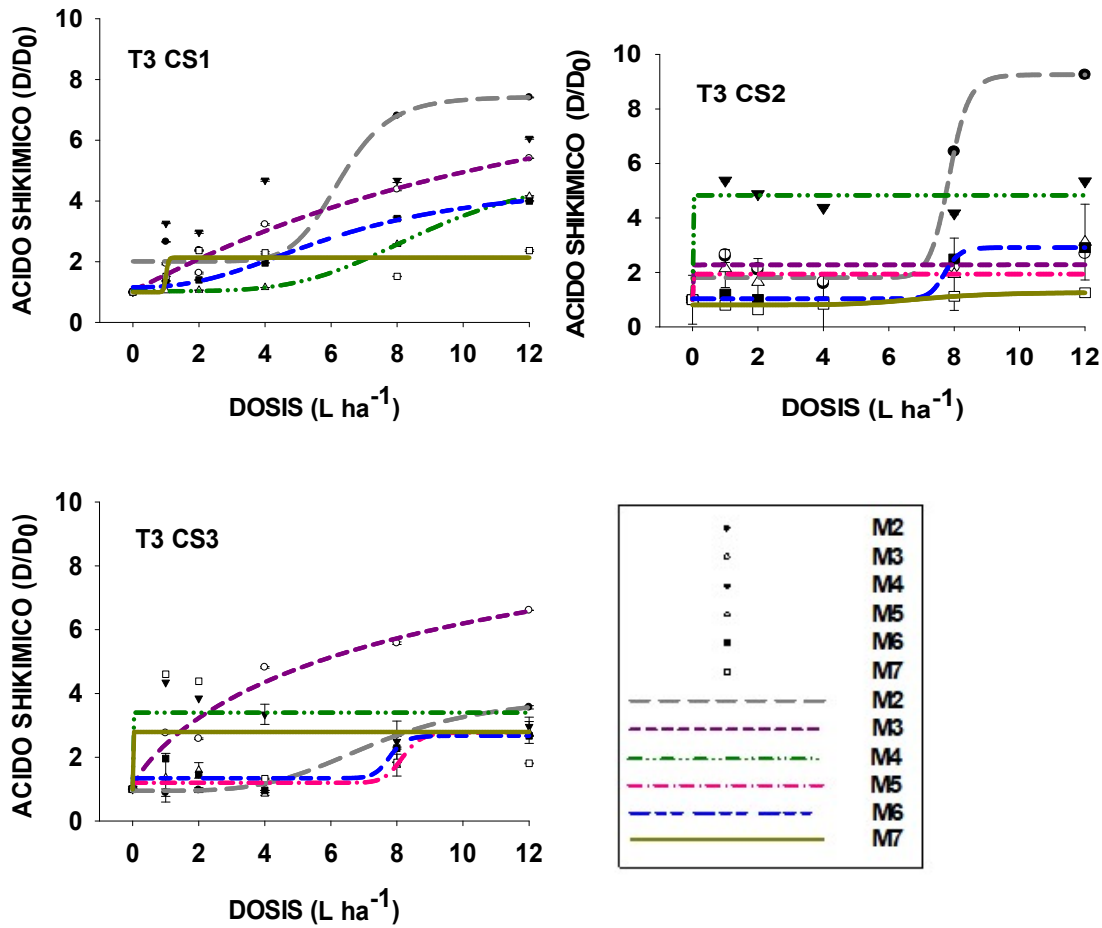


Figura 4-4: Dosis respuesta para T3 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.

En el caso de T3 se registraron los valores más altos de ácido shikímico, manteniéndose la tendencia de mayores elevaciones en CS1 y CS2 (Figura 4-4). Para CS1 el momento en que se presentan las mayores magnitudes ocurre en M2 ($ED_{50} = 6.58 \pm 2.47 \text{ L ha}^{-1}$) y M3 (crecimiento de tendencia creciente lineal), mientras que los menores incrementos se observan en M6, M4 y M7. Para CS2, el mayor incremento se observa en M2 ($ED_{50} = 7.84 \pm 42.99 \text{ L ha}^{-1}$) y M4 ($ED_{50} = 2.2 \text{ e}^{-7} \pm 1.35 \text{ L ha}^{-1}$), indicando dos valores opuestos en la ED_{50} , de un lado señala la dosis como participante importante en la elevación de las concentraciones de ácido shikímico en este tratamiento durante el primer muestreo y de otro, muestra que hay una respuesta por parte de la planta al

herbicida a muy bajas dosis durante los muestreos M3, M4 y M5. Para CS3, los resultados señalan el mayor incremento en M3, seguido de los tratamientos M4 y M7, muestreos que presentaron valores bajos de ED_{50} (rango), frente a los observados en los muestreos M2, M6 y M4. Los resultados para este tratamiento permiten identificar que el mayor incremento del ácido shikímico ocurre en M2, con promedio de $ED_{50}=4.9\pm 0.91$ L ha^{-1} .

En lo que se refiere a T4 (Figura 4-5), se mantiene la tendencia hacia mayor acumulación de los contenidos del ácido shikímico a medida que aumenta la dosis del herbicida. encontrándose en CS1 que esta respuesta es mayor en el M3 de la dosis D3, sin embargo, la elevación más generalizada a las dosis se observa en M4, seguido de M5, M6, muestreo seguido de M1, el cual indica un aumento de tendencia lineal. Por otra parte, los menores valores se registraron en M7. Para CS2 los resultados nuevamente indican un pico en la elevación del ácido shikímico en M3D3, mientras que en M4 se evidencia una elevación constante, la cual es mayor en a todos los muestreos, valores seguidos por M2 y M6 y M7, en promedio los valores de ED_{50} para este tratamiento se observan en 1.99 ± 0.00 L ha^{-1} . Por último, en CS3 la tendencia es similar a la presentada en los dos suelos en relación con un pico en M3D3 y la mayor elevación del ácido shikímico en M4. Estos resultados permiten afirmar que en promedio hay mayor incremento en las cantidades de ácido shikímico en M3 y M4 y se encuentra la dosis promedio de $ED_{50}=1.91\pm 0.07$ L ha^{-1} .

Los resultados registrados a lo largo del experimento señalan que se presentan modificaciones en las cantidades cuantificadas del ácido shikímico según el tipo de suelo, la dosis y en momento de adición del glifosato y el fosfato. En todos los suelos se produce la interacción del herbicida con las plantas, puesto que en todos los escenarios evaluados hay una alteración temporal del metabolismo. Con un escenario en el que hay menor respuesta en CS3, mostrando la importancia de las características mineralógicas del suelo y la capacidad de adsorción del medio en el proceso evaluado.

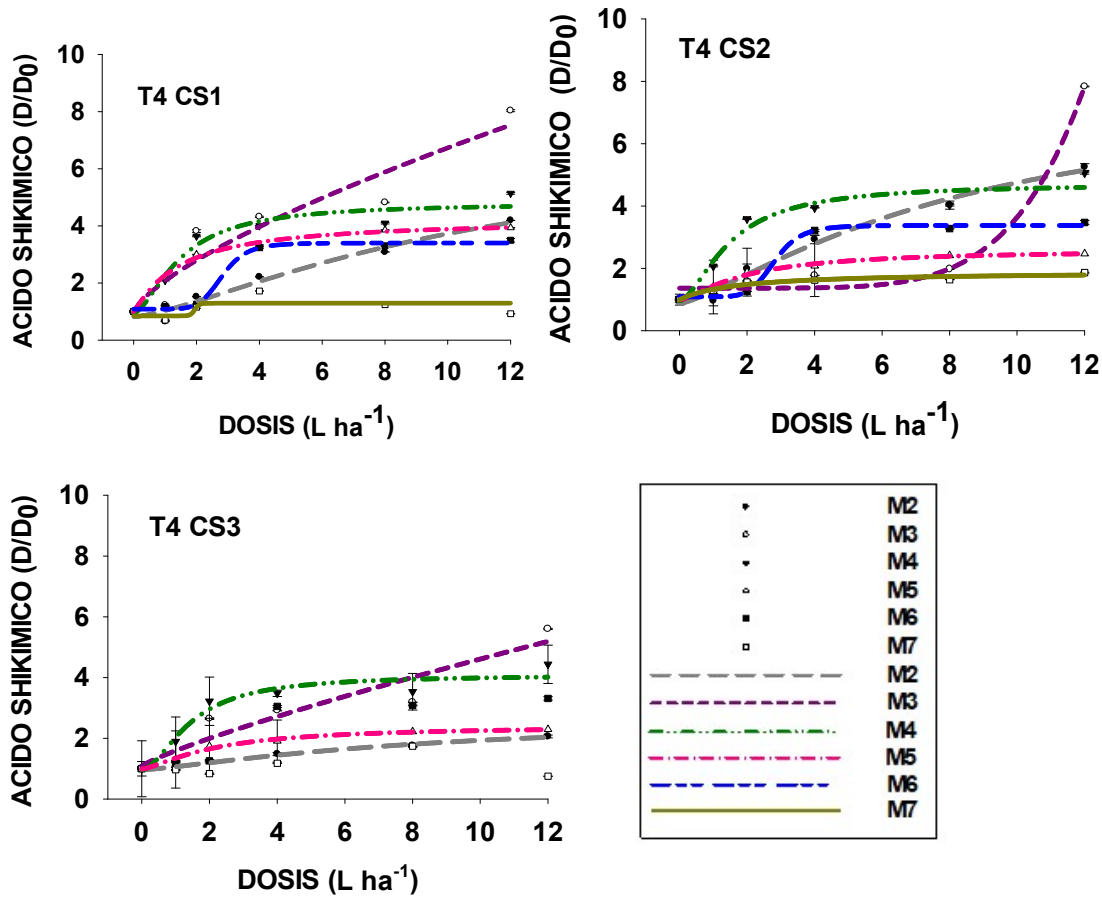


Figura 4-5: Dosis respuesta para T4 en CS1, CS2 y CS3. Las líneas indican los valores estimados el modelo de dosis respuesta, diferenciado por el momento de muestreo, M2; M3; M4; M5; M6 y M7.

Estas observaciones se encuentran en la misma línea a los resultados reportados por Saunders y Pezeshki (2015), acerca de la interceptación radicular del herbicida en suelos y la posterior acumulación del metabolito en cultivos de cebada, algodón, maíz y colza. Petersen *et al.* (2007) evaluaron el efecto de la exposición radicular de glifosato en plantas de *Brassica napus* L. y reportan que las cantidades de ácido shikímico incrementan en la medida que aumenta la dosis de exposición al herbicida. Concentraciones del ácido de hasta de 120 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso seco para dosis de exposición de 60 μM de glifosato, y al igual que los resultados reportados en este

estudio, estos autores no encontraron señales de daño visual sobre las plantas atribuyendo esto al efecto del herbicida. También se encuentran acordes con Koger *et al.*, (2005), quienes en un estudio de la exposición foliar a deriva de glifosato por más de 30 días, exponen la alteración temporal en los niveles de ácido shikímico en plantas de arroz, alcanzando el pico máximo entre los 15 y 25 dda, con la posterior tendencia a equilibrarse en el tiempo con los valores presentados por los testigos.

En relación con el suelo se mantiene la tendencia observada en el capítulo 1, en donde hay una menor biodisponibilidad del herbicida en CS3, respuesta que en este ensayo se refleja en la menor elevación del ácido shikímico en la planta, lo que estaría acorde con una mayor posibilidad de adsorción en este suelo.

Los resultados observados en T1 indican que en los tres suelos la adición del herbicida al suelo genera alteraciones en el metabolismo de la planta, las cuales son mayores en la medida que aumenta la dosis, resultado concordante con lo observado en el capítulo 1 en relación con la adsorción decreciente cuando aumenta dosis y la reversibilidad del proceso. Los resultados también indican que la biodisponibilidad se produce durante la cantidad de tiempo suficiente para interactuar con rizosfera de plantas e ingresar en estas, estando acordes con lo estimado para el herbicida en capítulo 2 acerca del desarrollo de procesos de adsorción no instantáneos. Por otra parte, los resultados también muestran que el momento de adición del fosfato o glifosato modifica la interacción del herbicida con la planta, de modo que se observa para T2 en CS1 y CS2 las mayores acumulaciones de ácido shikímico en M4 y M5 y para CS3 en M3 y M5. Aunque los resultados son similares a los observados en T1, la mayor diferencia que se observa en T2 está relacionada con la mayor sensibilidad al herbicida (ED_{50}) en relación con T1. Esto permite afirmar que a dosis más bajas de la molécula se producen alteraciones significativas en el metabolismo de la planta debido a la presencia previa del fosfato, que permite mayores concentraciones del herbicida biodisponibles interactuando con la planta. Esta respuesta sugiere, al igual que en el capítulo 1, la saturación parcial de los puntos de adsorción en el suelo y la dificultad de acceso de glifosato a los sitios activos, o la formación de enlaces débiles, lo que en ambos casos lleva mayores cantidades herbicida en la solución del suelo para una misma dosis aplicada. Otros estudios concluyen que, en presencia previa de fosfato, la herbicida forma menor número

de uniones y/o uniones menos estables con el suelo, lo que en el tiempo permite su liberación cuando se añade agua al sistema (Waiman *et al.*, 2012).

En T3 los resultados muestran que se produce la acumulación del ácido shikímico, con valor máximo en el M2, resultado que se encuentra antes del promedio total del ensayo, el cual se observa en M4. La anticipación del pico con respecto a los demás tratamientos indica que en este tratamiento es posible la exposición temprana al herbicida con referencia a lo que sucede con los demás tratamientos para las mismas dosis. Estos hallazgos señalan que en T3 el herbicida no es adsorbido en la misma magnitud o es débilmente adsorbido, y que puede ser fácilmente asequible para la planta (Wang *et al.*, 2005). En este tratamiento también se registran en D2 y D3 los mayores incrementos del ácido shikímico en el ensayo, resultado que podría asociarse al desarrollo de procesos de adsorción y desorción competitiva, donde, en condiciones de mayor saturación prevalece la afinidad del suelo por el fosfato, implicando la mayor biodisponibilidad del herbicida (Wang *et al.*, 2005).

En T4, el resultado señala la mayor sensibilidad en la respuesta de la planta al herbicida, registrando en este tratamiento los menores valores de ED₅₀, lo que implica que hay mayor biodisponibilidad de la molécula en todas las dosis evaluadas (Figura 4-5). Resultados que se asocian al desplazamiento molecular que ocasiona el fosfato en el suelo, lo que significaría que este logra movilizar al herbicida haciéndolo más biodisponible. Desplazamiento que ha sido reportado en suelos por diversos autores como Wang *et al.* (2005); Gimsing *et al.* (2007); Borggaard *et al.* (2012); Waiman *et al.* (2012) entre otros.

Los datos registrados en el global del ensayo indican que una vez que se aplica el herbicida, el desarrollo de procesos de adsorción pueden ser no instantáneos, además de limitados y reversibles, lo que en determinados momentos puede favorecer la biodisponibilidad de la molécula tras la adición del fosfato, tal y como ocurre en los muestreos M2, M3, M4 y M5 en los cuales es posible observar incrementos en la concentración de ácido shikímico en las plantas. Debe tenerse en cuenta también que estos muestreos coinciden con la fase de crecimiento rápido de las plantas de arroz, la cual favorece la exploración radical, aumentando la posibilidad de absorber el herbicida. De

este modo si glifosato está presente en la solución del suelo, puede ingresar en la planta por gradiente de concentración entre el suelo y la raíz, ingreso, mediado por la acidificación inducida en la absorción activa del fosfato, cuya presencia en la solución del suelo favorece el ingreso del herbicida, según datos reportados por Gomes *et al.* (2015).

La temporalidad del aumento del ácido shikímico en todos los tratamientos se puede relacionar con el desarrollo de procesos como el crecimiento y estado de desarrollo de las plantas, los cuales influyen en la toma del fosfato y por tanto del herbicida. Adicionalmente, la toma del fosfato favorece el desarrollo de procesos de desintoxicación de la molécula herbicida (Padilla y Selim, 2019). La simultaneidad de todos estos procesos permite que se diluya en el tiempo el efecto del herbicida, resultado que se observa en las curvas de dosis respuesta, las cuales tienden a tener menores valores de pendiente en la medida que se aleja la planta del momento de adición del herbicida al suelo.

4.5.2 Biomasa

La producción de biomasa en relación con la dosis adicionada de herbicida y el momento de adición de glifosato o fosfato indica que glifosato aplicado al suelo causa variaciones en la biomasa aérea y radical en la mayoría de las dosis evaluadas.

Los valores obtenidos en cada tratamiento se observan en el Anexo D2, estos se relativizaron tomando como valor de referencia la biomasa producida en D0 de cada tratamiento, haciendo posible observar las diferencias debidas a la adición de glifosato, eliminando el efecto de fosfato, el cual se adicionó según lo estipulado para cada tratamiento. Los resultados de este proceso, para la biomasa radical y foliar se observan en las Figuras 4-6 y 4-7 respectivamente.

Estadísticamente (Anexo D3), los resultados señalan que a nivel de biomasa radical se producen modificaciones en la interacción del suelo*tratamiento y en la interacción suelo*dosis. En el caso de la interacción entre el suelo y tratamiento, los resultados indican diferencia en la producción de biomasa a nivel de suelos únicamente en CS3, en donde se observó en el orden $T2^a > T1^{ab} > T4^{bc} > T3^{bc}$, en los demás suelos los resultados fueron estadísticamente iguales. La interacción dosis*suelo presenta resultados en los cuales las dosis D3 y D2 tienen los menores valores de biomasa en los tres suelos. Los

resultados también muestran que el mayor valor del ensayo se dio en CS3D/2, valor estadísticamente igual a todas las D0 y a D/3 en CS1 y CS3.

La interacción tratamiento*dosis mantiene la tendencia a presentar menores valores de biomasa en relación con las mayores dosis evaluadas, señalando diferencias con el testigo de todos los tratamientos, con $T1D0^a > D3^{e-h} > D2^h$, en $T2D0^a > D^{b-g} > D2^{b-g} > D3^{gh}$, en $T3D0^a > D^{b-g} > D2^{e-h} > D3^{gh}$ y en $T4D0^a > D^{b-h} > D/2^{c-h} > D2^{d-h} > D3^{fgh}$. Resultados que reiteran la importancia de la dosis sobre el efecto de la producción de biomasa en las plantas, puesto que altas dosis generan disminuciones estadísticamente significativas con el testigo.

También se observa que el orden de adición de glifosato y fosfato modifican la producción de biomasa, de modo que mientras en T1 se observa la diferencia únicamente en las dos dosis más altas (D2 y D3) en los tratamientos en los cuales se adiciona el fosfato (T2, T3 y T4), estas diferencias se incrementan a la dosis D, en el caso de T2 y T3 y la dosis D/2 en el caso de T4 implicando mayor efecto de la disponibilidad del herbicida en el medio.

En la biomasa aérea se observan diferencias en las interacciones suelo*tratamiento, suelo *dosis y tratamiento*dosis (anexo D3). En el caso de la relación suelo*tratamiento los resultados indican mayor producción del CS3T3^a y CS3T4^a. En este suelo la menor producción de biomasa se observa en CS3T1^{ab} y CS3T2^b. La menor producción en el ensayo se observa en CS2T4^c y CS2T2^c. En CS1 no se presentó diferencia en la interacción.

En la relación suelo*dosis los resultados señalan nuevamente la tendencia a menor producción de biomasa en las dosis más altas (D2 y D3), exceptuando a CS1D2 (Anexo D3). La interacción estadística del tratamiento por dosis señala en T1 valores estadísticamente menores a la dosis cero (T1D0^a) en las dosis T1D/2^{b-g}, T1D^{c-h}, T1D2^{d-h} y T1D3^{d-h}. Para T2 (T2D0^a) los valores fueron estadísticamente diferentes a la dosis cero en T2D/3^{c-h}, T2D/2^{d-h}, T2D^{e-h}, T2D2^{gh} y T2D3^h. En T3 fueron diferentes (T3D0^a) únicamente T3D3^{d-h} y para T4 (T4D0^a) fueron diferentes en T4D/2^{c-g}, T4D2^{c-h}, T4D^{d-h}, T4D3^{fgh} (Anexo D3).

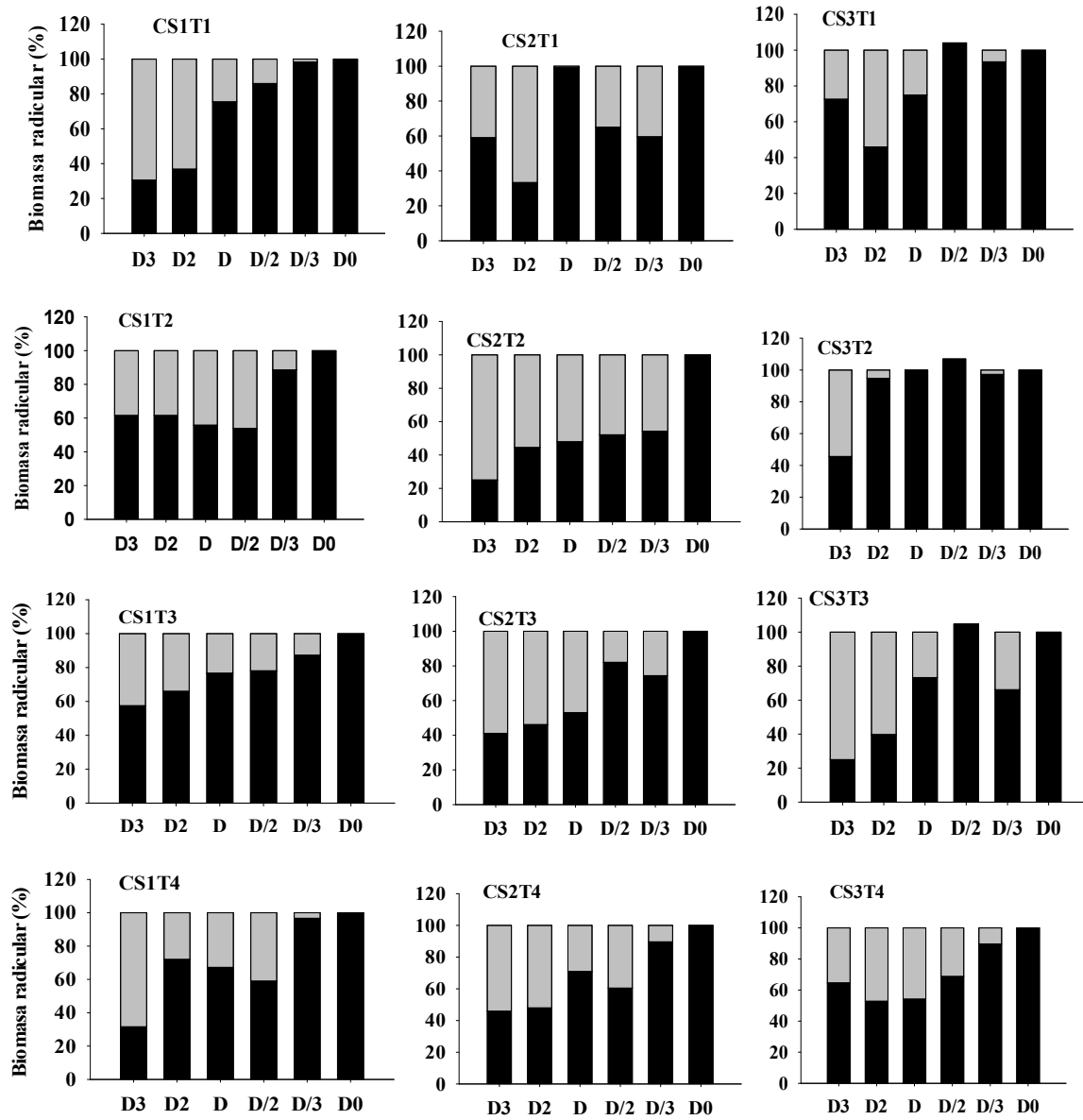


Figura 4-6: Valores ponderados de biomasa radical discriminados por suelo y tratamiento en relación con la dosis. ■ Producción relativa de biomasa. ▒ valor relativo no producido de biomasa en relación con el testigo.

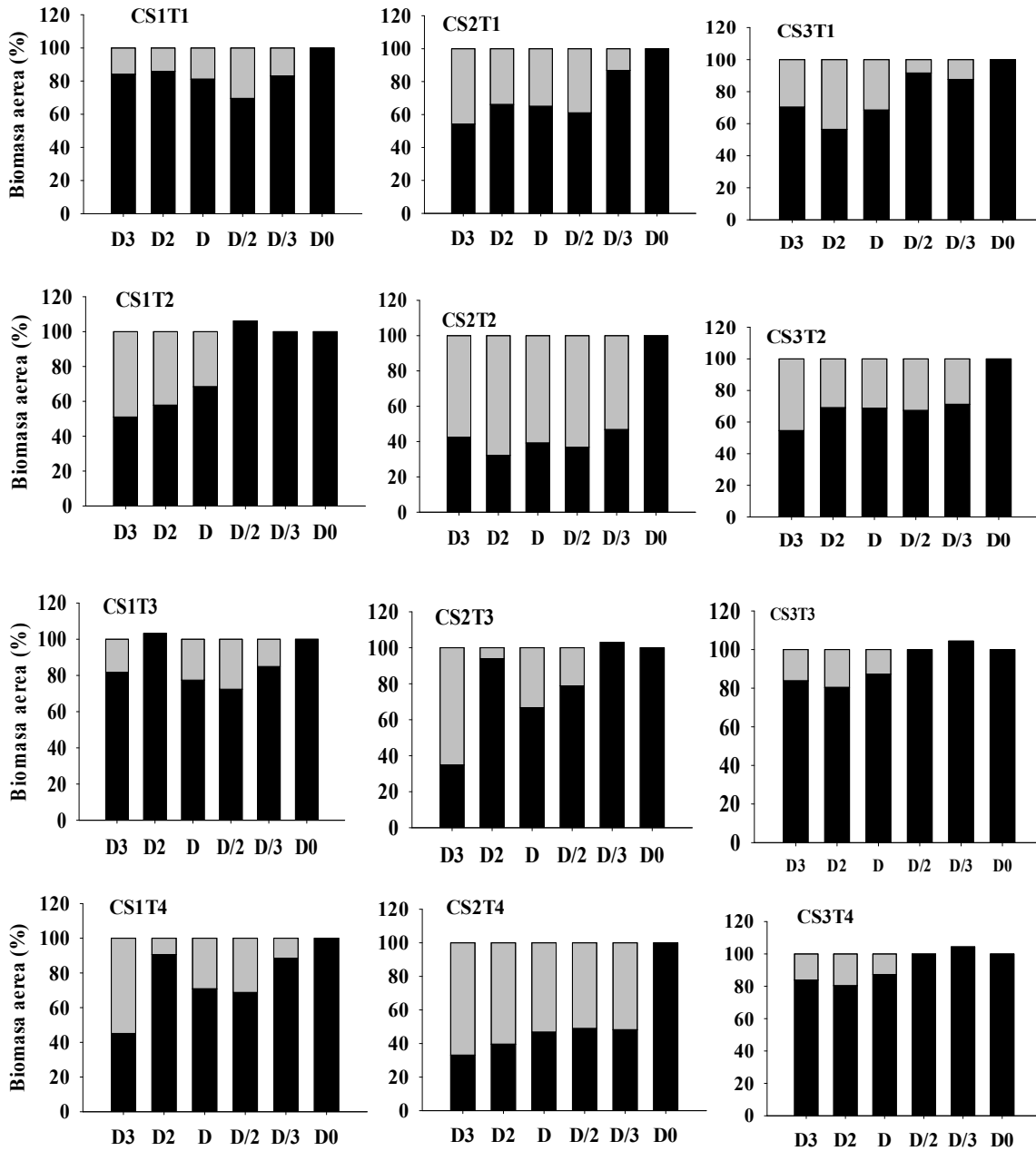


Figura 4-7: Valores ponderados de biomasa aérea discriminados por suelo y tratamiento en relación con la dosis. ■ Producción relativa de biomasa. ▒ valor relativo no producido de biomasa en relación con el testigo.

Los resultados muestran que hay una variación de la producción de biomasa radical y foliar en algunas de las dosis y tratamientos evaluados, sin embargo, aunque es frecuente, no es constante la tendencia decreciente en relación con la dosis. Resultado que refleja como el transcurrir del tiempo es un factor fundamental en el proceso de determinación del efecto a la exposición del herbicida, puesto que los resultados observados en el capítulo 3 indican que, a mayor distancia entre el momento de exposición al herbicida y la toma de datos, es menor la brecha entre dosis de exposición al herbicida.

La afectación negativa sobre la producción de biomasa se ha reportado en investigaciones como las presentadas por Saunders y Pezeshki (2015), quienes afirman que la exposición radicular al herbicida induce reducciones en la biomasa seca de plantas de cebada, disminuciones de hasta el 43% en tallos de *B. napus* y de hasta el 50% del peso fresco en plantas de maíz. En el algodón, la exposición radicular al herbicida, en semillas GR y no GR generaron menor producción de biomasa en plántulas, con una correlación negativa entre la dosis y la producción, llegando a reducciones de hasta el 50% del peso seco de los cotiledones, hipocótilos y raíces (Pline *et al.*, 2002).

El detrimento observado se relacionaría con los efectos del herbicida en las plantas, el cual, además del bloqueo metabólico, genera la detención del crecimiento como parte de las respuestas asociadas a la inhibición de la EPSPS (Grzesiuk *et al.*, 2017; Kanissery *et al.*, 2019), puesto que indirectamente disminuye la eficiencia fotosintética y la fijación del carbono debido a la menor posibilidad de regeneración de la RuBisCO y la menor disponibilidad de la PEP (Gomes *et al.*, 2014).

En la producción de biomasa radical fue evidente como el momento de adición de glifosato y fosfato aumenta la diferencia estadística entre los tratamientos, así, mientras que en T1 y T2 la menor producción se observa en $D_3 > D_2$; en T3 las menores producciones de biomasa se encuentran en $D > D_2 > D_3$ y en T4 en $D > D/2 > D_2 > D_3$, implicando que la respuesta es diferente según el momento de adición del fosfato, de modo que en T4 y T3 se produce mayor interacción del herbicida con las plantas a dosis más bajas de las observadas en T1 y T2. Mientras que en el caso de la biomasa aérea se observa que la tendencia es generar diferencias estadísticas en relación con el

testigo, lo que implica que la adición del herbicida afecta la producción de biomasa en toda la planta. Los resultados observados en la biomasa radicular se encuentran en línea con lo planteado al estudiar la desorción en el capítulo 1, donde ocurre mayor desorción del herbicida cuando se adiciona fosfato (T4).

Por otra parte, los resultados observados en la biomasa radical de CS3T1D/2, CS3T2D/2 y en la biomasa foliar de CS1T2D/2, CS3T3D/3 y CS3T4D/3 muestran valores superiores a los observados en la D0 de raíz, más no en D0 de biomasa aérea, por lo que estos valores estarían señalando aumentos de la biomasa en una parte de la planta, resultado indicador de modificaciones en la traslocación, las cuales se presentan en condiciones de estrés o como respuestas a la necesidad de toma de un recurso (Hannan *et al.*, 2020).

En el caso estudiado, es posible que la respuesta observada en CS3T3D/2, en el cual se presentan aumentos a nivel de biomasa radical y aérea con valores mayores a los observados en D0, sea el resultado que se asocia al desarrollo del proceso hormético, el cual plantea que una sustancia considerada inhibidora para un organismo en dosis altas puede tener un efecto de estímulo en dosis bajas (Brito *et al.*, 2018). Desde el modelo de dosis respuesta, este estímulo puede presentar una forma tipo **J**, representando la curvatura la dosis a la cual se presenta el estímulo sobre el organismo (Calabrese, 2003). En el caso de glifosato, el efecto hormético ha sido reportado tras la aplicación de subdosis en plantas de *Commelia benghalensis* L. y *Pinnus caribea* L. (Velini *et al.*, 2008), sin embargo, este resultado representa un hallazgo que requerirá de posteriores estudios para determinar con mayor certeza el posible fenómeno observado, puesto que como lo menciona Brito *et al.* (2018), este proceso es muy variable en los diferentes organismos y condiciones evaluadas.

La correlación entre la dosis aplicada y las respuestas en ácido shikímico ($r=0.8279$) y las encontradas con la producción de biomasa y la dosis (tallos $r=-0.3051$ y raíz $r=-0.5186$) indican que en la interacción entre la planta y el herbicida, la dosis en el suelo es fundamental, puesto que la adsorción del herbicida se limita en la medida que la dosis aumenta (ausencia de linealidad en los valores de K_d del analito reportados para el capítulo 1), de modo que mayores dosis aumentan la posibilidad de interacción con especies no objetivo.

Teniendo en cuenta la correlación entre la dosis aplicada en suelos y la respuesta en las variables evaluadas, se revisó la correlación de la elevación del ácido shikímico con la producción relativa de biomasa aérea (Figura 4-8). Los parámetros correlacionaron significativamente ($r=-0.7$). Sin embargo, los resultados muestran que a pesar de esta correlación existen también otras variables que van a intervenir en el desarrollo de este proceso en la planta. Lo anterior muestra que la alteración del metabolismo no es la única respuesta que promueve el herbicida en el sistema suelo-planta y es probable que se produzcan procesos adicionales que no fueron evaluados, como son afectaciones en la nutrición mineral de la planta, las cuales se han reportado en plantas susceptibles y tolerantes al herbicida (Tesfamariam *et al.*, 2009), puesto que la molécula desarrolla uniones rápidas y estables con cationes (Duke *et al.*, 2012) llegando a limitar algunas fuentes minerales (Yamada *et al.*, 2007), como el caso de cationes divalentes, por ejemplo, calcio (Cakmak *et al.*, 2009), elemento que previamente ha mostrado correlacionar positivamente con la lixiviación del herbicida en los suelos estudiados (capítulo 2).

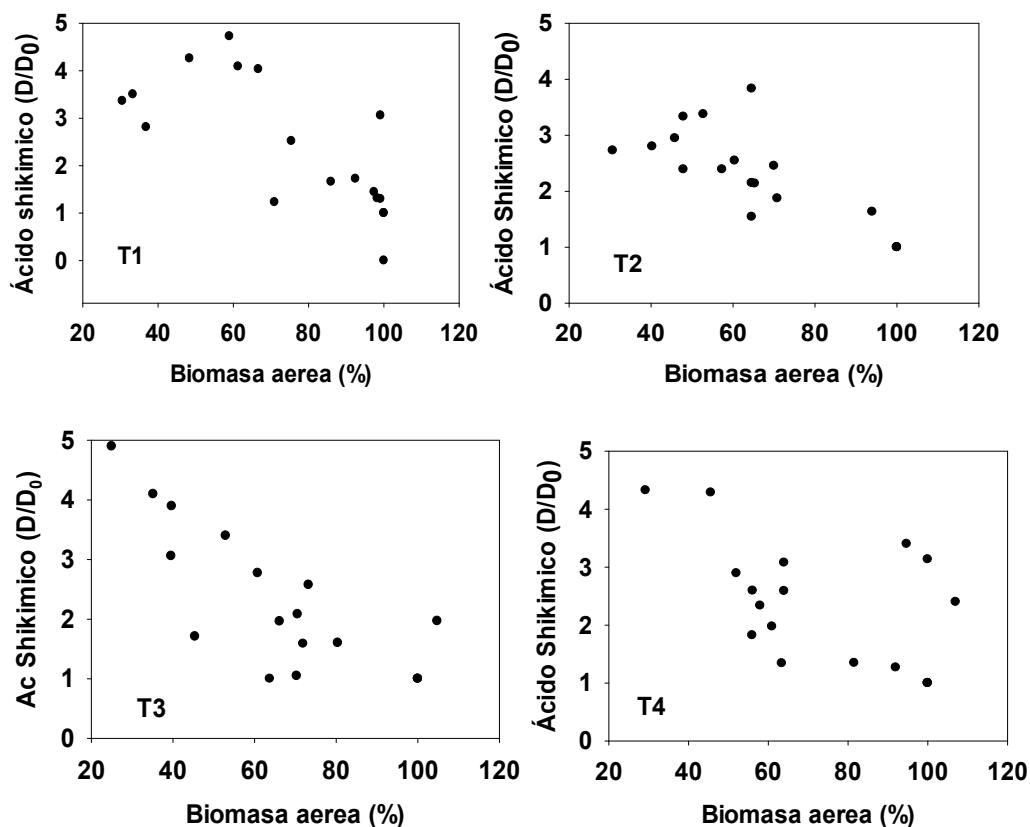


Figura 4-8: Relación ácido shikímico – producción relativa de biomasa tratamientos evaluados.

4.6 Conclusiones

Los resultados observados indican que, en los suelos estudiados, la adición de glifosato en el suelo, 8 días antes de siembra, la posterior siembra y la adición de agua para llevar a las semillas de arroz a condiciones de crecimiento, se presenta la biodisponibilidad de la molécula y la interacción con las plantas, dando como resultado la alteración en el metabolismo y la modificación en la producción de biomasa.

La dosis aplicada produce un diferencial frente al efecto en la planta, puesto que, a mayor dosis, mayor alteración de los parámetros evaluados, respuesta que se observó en todos los tratamientos, por tanto, dosis más altas favorecerían la menor adsorción de la molécula debido a la saturación en los puntos de intercambio del suelo y una mayor disponibilidad.

En relación con fosfato, los resultados reiteran lo observado en el capítulo 1 acerca de la adsorción competitiva entre el glifosato y el fosfato, el consecuente desplazamiento debido a la mayor afinidad con el fosfato y la alta afinidad del herbicida con el agua. Los hallazgos indican en T4 y T3 se presentan las mayores reducciones en la producción de biomasa, en el caso de T4 las respuestas estarían principalmente asociadas con mayores magnitudes desorbidas y en el caso de T2 y T3 los resultados se asociarían a reducciones en las cantidades adsorbidas y el desplazamiento molecular.

Por otra parte, en el proceso de transferencia a la planta vía radical desde el suelo, es evidente la limitada biodisponibilidad del herbicida, siendo esta la razón para que los resultados no impliquen efectos letales en las plantas. Sin embargo, estos reflejan que una parte del herbicida ingresa y produce alteración del metabolismo y detrimento en los procesos asociados al crecimiento de las plantas, las cuales son suficientes para inducir la alteración de la producción de biomasa, generando reducciones en este parámetro, mayores en los tratamientos en que se adiciona glifosato inicial y posteriormente el fosfato (T4) y en el que se adiciona glifosato y fosfato en el mismo momento (T3).

4.7 Bibliografía

Alister C., Kogan M., Pino I. 2005. Differential phytotoxicity of glyphosate in maize seedlings following applications to roots or shoot. *Weed Res.* 45:27–32. doi: 10.1111/j.1365-3180.2004.00424.x.

Barbosa, E., Moreira, I., Cabral, A., de Barros E., da Conceicao C. 2020. Evaluation of leaf and root absorptions of glyphosate in the growth of coffee plants. *Pesticides.* 87:1-8. DOI: 10.1590/1808-1657000762018

Brito IP, Tropaldi L, Carbonari CA, Velini ED. Hormetic effects of glyphosate on plants. *Pest Manag Sci.* 2018 May;74(5):1064-1070. Doi: 10.1002/ps.4523. Epub 2017 Mar 3. PMID: 28094904.

Calabrese E. J. (2003). The maturing of hormesis as a credible dose-response model. *Nonlinearity in biology, toxicology, medicine*, 1(3), 319–343. <https://doi.org/10.1080/15401420390249907>

Belz R.G., Duke S.O. 2014. Herbicides and plant hormesis. *Pest Manag. Sci.* 2014;70:698–707. doi: 10.1002/ps.3726.

Borggaard O.K. Raben-Lange, B., Gimsing, A.L., Strobel, B.W. 2005. Influence of humic substances on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides. *Geoderma*, 127,270–279. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.011>

Duke, S., Lydon, J., Koskinen, W., Moorman, T., Chaney, R., Hammerschmidt, R. 2012. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere, microbiota and plant disease in glyphosate resistant crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 60(42): 10375–10397. Doi: 10.1021/jf302436u

Jodeh, S., Attallah¹, M., Haddad¹, m., Hadda, T., Salghi, R., Jodeh, D., Warad., D. 2014. Fate and Mobility of Glyphosate Leachate in Palestinian Soil Using Soil Column. *Mater. Environ. Sci.* 5 (6):2008-2016.

Helander, M., Pauna, A., Saikkonen, K. et al. Glyphosate residues in soil affect crop plant germination and growth. *Sci Rep* 9, 19653 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56195-3>

Herbert, M., Fugere, V., Gonzalez, A. 2019. The overlooked impact of rising glyphosate use on phosphorus loading in agricultural watersheds. *Frontiers in ecology and the environment.* <https://doi.org/10.1002/fee.1985>.

Hannan, A., Hoque, N., Hassan, L., Robin, H. 2020. Adaptative mechanisms of root system of rice for withstanding osmotic stress. *Recent advances in rice research.* Doi :[dx.doig.org/10.5772/intechopen.93815](https://doi.org/10.5772/intechopen.93815)

Tesfamariam, T., Bott, S., Cakmak, I., Römheld, V., y Neumann, G. (2009). Glyphosate in the rhizosphere—Role of waiting times and different glyphosate binding forms in soils for phytotoxicity to non-target plants. *European Journal of Agronomy*, 31(3), 126–132. Doi:10.1016/j.eja.2009.03.007

Smith, F.W. The phosphate uptake mechanism. *Plant and Soil* 245, 105–114 (2002). <https://doi.org/10.1023/A:1020660023284>

Bott, S., Tesfamariam, T., Kania, A., Eman, B., Aslan, N., Römheld, V., Neumann, G., 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate anagesation. *PlantSoil*342(1-2), 249–263. Doi:10.1007/s11104-010-0689-3

Cakmak, I.; Yazici, A.; Yusuf, T.; Ozturk, L. 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, magnesium, anages, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *European Journal of Agronomy*, 31:114-119

Neumann, G., Kohls, S., Landesberg, E., Stoch-Oliveira Souza, K., Yamda, T., Römheld, V., 2006. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *J. Plant Dis. Prot. (Suppl. 20)*, 963–969.

Gordon, B., 2007. Manganese nutrition of glyphosate-resistant and conventional soybeans. *Better Crops* 91(4) 12–13.

Grzesiuk, A., Debski, H., Okninska, K., Koczkodaj, D., Szwed, M., Horbowicz, M. 2017. Effect of root -zone glyphosate exposure on growth and anthocyanins content of radish seedlings. *Acta Sci. Hortorum Cultus*. 17(2):3-10. DOI: 10.24326/asphc.2018.2.1

Gomes, M. ; Elise S. ; Chalifour, A. ; Hénault, L. ; Labrecque, M. ; Laurent, L. ; Lucotte, M. ; Juneau, P. 2014. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid : An Overview. 65(17):4691–4703. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.054>

Gomes, M., Maccario, S., Lucotte, M., Labrecque, M., Juneau, P. 2015. Consequences of phosphate application on glyphosate uptake by roots: Impacts for environmental management practices. *Science of The Total Environment*. 537:115-119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.054>.

Kanissery, R., Gairhe, B., Kadyampakeni, D., Batuman, O., Alferez, F. 2019. glyphosate: its environmental persistence and impact on crop health and nutrition. *Plants*. 8(11):499-<https://doi.org/10.3390/plants8110499>

Kolakowski, M., Miller, L., Murray, A., Leclair, A, Bietlot, H., M. van de Riet, J. 2020. Analysis of glyphosate residues in foods from the canadian retail markets between 2015 and 2017. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68:5201–5211. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07819>

Mamy, L., Bariuso, E. 2005. Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops. *Chemosphere*. 61, 844–855. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.051>

Matallo, M.B.2, Almeida, S.D.B.2, Franco, D.A.S.2, Cerdeira, A.L.3, AND Gazziero, D.L.P. 2015. Glyphosate as a tool to produce shikimic acid in plants. *Planta Daninha*., 32:(3)601-608. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582014000300016>

Padilla, J.T., and H.M. Selim. 2019. Time-dependent sorption and desorption of glyphosate in soils: Multi-reaction modeling. *Vadose Zone J.* 18:180214. doi:10.2136/vzj2018.12.0214

Pline, W. A., Wilcut, J. W., Edmisten, K. L., y Wells, R. 2002. Physiological and morphological response of glyphosate-resistant and non-glyphosate-resistant cotton seedlings to root-absorbed glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 73(1), 48–58. doi:10.1016/s0048-3575(02)00014-7

Petersen, I., Hansen, H., Ravn, H., Sorensen, J., Sorensen., H. 2007. Metabolic effects in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings after root exposure to glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 89:220-229. doi:10.1016/j.pestbp.2007.06.009

Piexoto, M., Bauerfeldt, G., Herbs, M., Pereira, M., da Silva, O. 2015. Study of the stepwise deprotonation reactions of glyphosate and the corresponding pKa values in aqueous solution. *The journal of physical chemistry*. 119: 5241-5249. Doi:10.1021/jp5099552.

Okada, E., Pérez, D., De Gerónimo, E., Aparicio, V., Massone, H., Costa, J.L., 2018. Nonpoint source pollution of glyphosate and AMPA in a rural basin from the southeast Pampas, Argentina. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (15), 15120–15132. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1734-7>.

Rashmi, I., Biswas., A.K., Kartika, K.S., Kala, S. 2018. Phosphorus leaching through column study to evaluate P movement and vertical distribution in black, red and alluvial soils of India. *Journal of the Saudi Society if Agricultural Sciences*. 19(3):241-248. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.11.002>

Saunders, L.E.; Pezeshki, R. 2015. Glyphosate in runoff waters and in the root zone: a review. *Toxics*. 3(4)462-480. doi: 10.3390/toxics3040462

Schachtman, P., Reid, R., Ayling, S. 1998. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology* 116 (2) 447-453. DOI: 10.1104/pp.116.2.447

Velini, E., Alves, E., Godoy, M., Meschede, D., Souza, R., Duke, S. 2008. Glyphosate applied at low dose can stimulate plant growth. *Pest management science*. 64:489-496.

Vereecken, H. 2005. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Manag. Sci.* 61, 1139–1151. <https://doi.org/10.1002/ps.1122>.

Wagner R., Kogan M., Parada A.M. Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.) *Weed Biol. Manag.* 2003;3:228–232. doi: 10.1046/j.1444-6162.2003.00110.x. Wang, Y., Zhou, D., Sun., R. 2005. Effects of phosphate on the adsorption of glyphosate on three different types of Chinese soils. *Journal of Environmental Sciences*. 17(5): 711-715. Id:1001-0742(2005)05-0711-05.

Weaver, L., Herrmann, K. 1997. Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends in plant science*. 2(9):1360-1385

Wei, Z.; Weiping, L. 1998. Adsorption, desorption and photolysis of the herbicide imazethapyr in soil-Water environment. *China Environment Science*, 18:476-480.

Yamada, T., Kremer, R., de Camargo, P., Castro, E., Wood, B. 2009. Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: Threat to agricultural sustainability?, *European Journal of Agronomy*, 31 (3):111-113. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.07.004>

5. Conclusiones generales

Los resultados de la presente investigación señalan que en la evaluación orden de adición de glifosato y fertilizantes fosforados (MAP) sobre la adsorción-desorción del herbicida existe un alto porcentaje de adsorción del herbicida en los suelos ($CS3 > CS2 > CS1$), decreciente en relación con la dosis, con buen ajuste al modelo de Freundlich y mayor cuando el herbicida se encuentra en formulación analítica. Se observa que la presencia de sustancias acompañantes a la formulación del herbicida modifica el proceso de adsorción y la adición del fosfato produce cambios en el proceso debido a la saturación parcial de los puntos de adsorción o de aquellos de fácil acceso, lo que incide en cambios de la forma de las isothermas. Estos efectos se asocian a la aparición de procesos de competencia por los puntos de intercambio (limitados en los suelos) y procesos de difusión, los cuales facilitan la interacción con sitios de adsorción menos expuestos.

En este estudio, el orden de adsorción se observó de $T1^a > T3^b > T2^b$ en el caso del glifosato analítico (A-GLY^a), mientras que en el caso del glifosato formulado (F-GLY^b) no se presenta o diferencia estadística en relación con el orden de adición. Se encuentra que el proceso de adsorción es reversible y en la mayoría de los escenarios evaluados la adición del fosfato favorece la desorción del herbicida. La mayor desorción se encuentra cuando el MAP es el primero en adsorberse, lo que reitera la similitud de los mecanismos de adsorción y desorción de las moléculas. En los escenarios evaluados el herbicida mantiene una movilidad catalogada de escasa a ligeramente móvil en los tres inceptisoles.

En los ensayos de infiltración, el trazador (Br⁻) muestra que el movimiento del agua se produce en condiciones de no equilibrio físico en los tres suelos, comportamiento

asociado los altos contenidos de arcillas. El ajuste al NEF indica que este movimiento en las columnas ocurre por procesos de difusión y dispersión.

El estudio del efecto del MAP sobre el movimiento, mineralización y formación de Residuos ligados del herbicida en los suelos muestra que glifosato permanece fuertemente retenido en el suelo en todas las columnas (< 62%), formando enlaces de forma no instantánea y cinéticamente limitada. Se observa que una parte del herbicida se mueve a través del perfil del suelo (% lixiviado: CS1=5.05±0.11 CS2=4.40±0.23 CS3=4.00±0.12) y la adición de MAP aumenta la lixiviación del herbicida (P1(5.11%)^a>P0^b(4.48%)). El modelamiento de la lixiviación del herbicida sugiere que tienen lugar procesos de dispersión y difusión. Estos procesos favorecen el desplazamiento de glifosato hacia zonas difícil acceso, las cuales permiten la formación de uniones estables o menos reversibles con el suelo.

En los suelos se cuantifican valores elevados de residuos ligados (CS1=67.87±4.73; CS2=64.7±0.58 y CS3=73.36±1.89%) implicando que en el proceso se desarrollan uniones estables entre el herbicida y el suelo, los cuales son acordes con los valores cuantificados de mineralización y los estimados en la DT₅₀ de mineralización del herbicida. La adición del MAP produce diferencias significativas únicamente en CS3 (CS1=70.75±6.16%; CS2= 62.02±3.90% y CS3= 68.73±2.12%),

La mineralización se produce principalmente en el primer volumen relativo de poro, e indica que la retención del suelo en los primeros momentos no es lo suficientemente estable. La producción de ¹⁴CO₂ decrece en el tiempo, y se asocia la formación de enlaces estables con las partículas minerales, tendencia que se produciría independientemente de la adición o no del fosfato, pero que difiere según el tipo de suelo (CS2>CS1>CS3).

En relación con la exposición directa vía radicular de subdosis de glifosato en plantas de arroz, los resultados señalan que el ingreso del herbicida en la planta y su afectación en el metabolismo, el crecimiento y desarrollo de las plantas expuestas, no ocasionan la muerte de estas. Las afectaciones indican menores daños a los reportados por otros autores cuando la exposición es foliar. En relación con la adición de MAP, se observa que este aumenta el efecto negativo del herbicida sobre los parámetros evaluados. El

ajuste de los datos al modelo de dosis para el ácido shikímico muestra de manera adecuada el efecto del herbicida en relación con la dosis, encontrándose el mejor ajuste en el modelo a través de los diferentes momentos de muestreo del ensayo.

En relación con la presencia del herbicida en los suelos estudiados se encuentra que hay la suficiente biodisponibilidad de la molécula que permite la interacción con las plantas, y se refleja en la alteración del metabolismo y la modificación en la producción de biomasa. La dosis aplicada es causa de diferencias frente al efecto en la planta, de modo que, a mayor dosis, mayor alteración de los parámetros evaluados, proceso que aparece correlacionado con los porcentajes desorbidos en cada tratamiento que a su vez son dependientes del orden de adicción de glifosato y fosfato. La saturación en los puntos de intercambio por MAP y la competencia por los mismos de ambas moléculas, afecta directamente la producción de biomasa y la alteración del metabolismo de la planta. Sin embargo, el proceso de transferencia desde el suelo es limitado, siendo esta la razón para que los resultados no impliquen efectos letales en las plantas.

Los resultados sugieren que el herbicida puede mantenerse como contaminante en los suelos evaluados, interactúa con el medio y se transporta hacia diferentes compartimientos ambientales, debido a procesos de lixiviación y transferencia hacia plantas no objetivo. En las condiciones evaluadas, la molécula mantiene una movilidad catalogada de escasa a ligeramente móvil y características como contenido inicial de fósforo, el pH del suelo o la composición mineralógica del mismo afectan su posibilidad de adsorción.

El fosfato en el suelo también influye en la interacción del herbicida con la planta favoreciendo el ingreso del herbicida. Efectos que parecen ser menores en la medida que transcurre el tiempo desde la aplicación, por lo que, desde el punto de vista agronómico, de ser necesario, el uso del herbicida debe realizarse de manera racional, rotándolo para evitar la saturación de los puntos de intercambio del suelo, utilizando las dosis agronómicas recomendadas para el cultivo, ampliando el tiempo entre la aplicación y la siembra, de modo que sea posible el desarrollo de procesos asociados a la disipación del herbicida, la formación de enlaces más estables con el suelo y así se limite el impacto en las plantas cultivadas y también el efecto de la adición de fertilizantes fosfatados, puesto que los resultados señalan que en el caso de pre existencia de glifosato en el suelo, el

fosfato favorece la desorción de la molécula y la interacción vía radicular de este con las plantas.

Anexos

A. Anexo a: Anexos capítulo 1

Anexo A1 Estadística capítulo 1

Analysis of Variance Table for PORCENTAJE DE ADSORCIÓN

Source	DF	SS	MS	F	P
FUENTE	1	1049.71	1049.71		
SUELO	2	1305.93	652.97	41.50	0.0000
DOSIS	4	51.60	12.90	0.82	0.5161
TRATA	3	636.94	212.31	13.49	0.0000
SUELO*DOSIS	8	373.09	46.64	2.96	0.0057
SUELO*TRATA	6	191.40	31.90	2.03	0.0710
DOSIS*TRATA	12	87.06	7.26	0.46	0.9317
Error	83	1306.05	15.74		
Total	119				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 92.266 CV 4.30

Statistix 8.0

CAP 1, 25/04/2021, 07:53:20 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCENTAJE DE ADSORCIÓN for SUELO

SUELO	Mean	Homogeneous Groups
3	96.738	A
2	91.591	B
1	88.468	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.383 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 All 3 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCENTAJE DE ADSORCIÓN for Fuente

BLOQUE1RO Mean Homogeneous Groups

2	95.237	A
1	89.294	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 2.817 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCENTAJE DE ADSORCIÓN for TRATAMIENTO

TRATA Mean Homogeneous Groups

4	94.075	A
1	94.049	A
3	92.511	A
2	88.429	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.718 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCENTAJE DE ADSORCIÓN for SUELO*DOSIS

SUELO	DOSIS	Mean	Homogeneous Groups
3	12	97.248	A
3	2	97.081	A
3	4	96.966	A
3	1	96.564	A
3	8	95.833	AB
2	12	93.130	ABC
2	8	92.523	ABC
2	1	91.546	ABC
1	1	91.203	ABC
1	2	90.729	ABC
2	4	90.679	ABC
2	2	90.079	BC
1	4	89.808	BC
1	8	87.614	CD
1	12	82.986	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.957 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCENTAJE DE ADSORCIÓN for SUELO*FUENTE

SUELO	BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
3	2	99.069	A
3	1	94.407	B
1	2	93.564	B
2	2	93.080	BC
2	1	90.103	C
1	1	83.372	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.137 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.0

CAP 1, 25/04/2021, 07:55:06 a.m.

Analysis of Variance Table for KD

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	1605722	802861	54.87	0.0000
DOSIS	4	55963	13991	0.96	0.4368
TRATA	3	266578	88859	6.07	0.0009
BLOQUE1RO	1	1185637	1185637	81.02	0.0000
SUELO*DOSIS	8	77639	9705	0.66	0.7220
SUELO*TRATA	6	462106	77018	5.26	0.0001
SUELO*BLOQUE1RO	2	899953	449976	30.75	0.0000
DOSIS*TRATA	12	95756	7980	0.55	0.8777
DOSIS*BLOQUE1RO	4	40252	10063	0.69	0.6028
TRATA*BLOQUE1RO	3	160084	53361	3.65	0.0164
Error	74	1082867	14633		
Total	119				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
 Grand Mean 165.70 CV 73.00

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO

SUELO	Mean	Homogeneous Groups
3	335.29	A
2	93.53	B
1	68.29	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.383 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for fuente

BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
A-GLY	265.19	A
F-GLY	66.22	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 2.817 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for TRATA

TRATA	Mean	Homogeneous Groups
1	229.73	A
3	192.13	AB
4	125.44	B
2	115.52	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.718 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO*DOSIS

SUELO	DOSIS	Mean	Homogeneous Groups
3	1	401.44	A
3	4	354.27	A
3	2	329.85	AB
3	12	329.85	AB
3	8	261.03	ABC
2	12	141.64	BCD
1	1	100.81	CD
2	1	88.07	CD
2	8	84.79	CD
1	2	82.35	CD
1	4	80.67	CD
2	4	78.19	CD
2	2	74.97	CD
1	8	42.39	D
1	12	35.25	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.957 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO*TRATA

SUELO	TRATA	Mean	Homogeneous Groups
3	1	504.94	A
3	3	411.16	AB
3	2	254.83	BC
3	4	170.23	CD
2	4	137.55	CD
2	1	110.85	CD
2	3	88.83	CD
1	3	76.39	CD
1	1	73.41	CD
1	4	68.54	D
1	2	54.83	D
2	2	36.89	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.771 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO*BLOQUE1RO

SUELO	BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
3	A-GLY	559.43	A
2	A-GLY	133.39	B
3	F-GLY	111.15	B
1	A-GLY	102.74	B
2	F-GLY	53.67	B
1	F-GLY	33.85	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.137 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for DOSIS*BLOQUE1RO

DOSIS	FORMULACIÓN 1=ROUN UP	Mean	Homogeneous Groups
1	A-GLY	2	321.27 A
4	A-GLY	2	277.67 A
12	A-GLY	2	270.02 A
2	A-GLY	2	259.60 A
8	A-GLY	2	197.38 AB
1	F-GLY	1	72.28 B
12	F-GLY	1	67.81 B
2	F-GLY	1	65.18 B
4	F-GLY	1	64.41 B
8	F-GLY	1	61.43 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.612 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for TRATA*BLOQUE1RO**TRATA BLOQUE1RO Mean Homogeneous Groups**

1	A-GLY	2	389.01	A
3	A-GLY	2	287.03	AB
2	A-GLY	2	197.76	BC
4	A-GLY	2	186.94	BC
3	F-GLY	1	97.22	CD
1	F-GLY	1	70.45	CD
4	F-GLY	1	63.94	CD
2	F-GLY	1	33.27	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.410 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO*TRATA**SUELO TRATA Mean Homogeneous Groups**

3	1	504.94	A
3	3	411.16	AB
3	2	254.83	BC
3	4	170.23	CD
2	4	137.55	CD
2	1	110.85	CD
2	3	88.83	CD
1	3	76.39	CD
1	1	73.41	CD
1	4	68.54	D
1	2	54.83	D
2	2	36.89	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.771 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of KD for SUELO*FUENTE**SUELO fuente Mean Homogeneous Groups**

3	A-GLY	2	559.43	A
2	A-GLY	2	133.39	B
3	F-GLY	1	111.15	B
1	A-GLY	2	102.74	B
2	F-GLY	1	53.67	B
1	F-GLY	1	33.85	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.137 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 74 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Analysis of Variance Table for Kfa

Source	DF	SS	MS	F	P
Suelo	2	429457	214729	14.95	0.0000
tratamien	2	81804	40902	2.85	0.0697
fuelle	1	34383	34383	2.39	0.1296
suelo*tratamien	4	75512	18878	1.31	0.2811
suelo*fuelle	2	47922	23961	1.67	0.2014
tratamien*fuelle	2	318623	159311	11.09	0.0001
Error	40	574391	14360		
Total	53	1562092			

Grand Mean 132.69 CV 90.31

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Kfa for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

2	236.47	A
3	142.86	A
1	18.73	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 39.944
 Critical Q Value 3.443 Critical Value for Comparison 97.240
 Error term used: Error, 40 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Kfa for tratamien*fuelle

tratamien fuele Mean Homogeneous Groups

1	A-GLY 1	296.11	A
3	F-GLY 2	209.47	AB
2	A-GLY 1	91.72	B
3	A-GLY 1	85.93	B
2	F-GLY 2	66.92	B
1	F-GLY 2	45.97	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 56.489
 Critical Q Value 4.231 Critical Value for Comparison 169.01
 Error term used: Error, 40 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Desorción

Desorción}Statistix 8.0

CAP 1, 26/04/2021, 05:36:07 p.m.

Analysis of Variance Table for PORCDESOR

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	3215.60	1607.80	19.19	0.0000
DOSIS	4	640.80	160.20	1.91	0.1174
TRATA	3	9652.83	3217.61	38.40	0.0000
FUENTE1RO	1	577.98	577.98	6.90	0.0105
SUELO*DOSIS	8	780.47	97.56	1.16	0.3322
SUELO*TRATA	6	1117.81	186.30	2.22	0.0501
SUELO*FUENTE1RO	2	1696.91	848.45	10.13	0.0001
DOSIS*TRATA	12	1468.41	122.37	1.46	0.1590

DOSIS*BLOQUE1RO	4	402.39	100.60	1.20	0.3178
TRATA*BLOQUE1RO	3	1914.81	638.27	7.62	0.0002
Error	74	6200.90	83.80		
Total	119				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 24.082 CV 38.01

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for SUELO

SUELO	Mean	Homogeneous Groups
2	29.379	A
1	26.149	A
3	16.717	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
Critical Q Value 3.383 Critical Value for Comparison VARIES
Error term used: Error, 74 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for BLOQUE1RO

BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
A-GLY 2	26.278	A
F-GLY 1	21.885	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
Critical Q Value 2.817 Critical Value for Comparison VARIES
Error term used: Error, 74 DF
All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for DOSIS

DOSIS	Mean	Homogeneous Groups
12	27.484	A
1	25.982	A
8	23.768	A
4	21.682	A
2	21.492	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
Critical Q Value 3.955 Critical Value for Comparison VARIES
Error term used: Error, 74 DF
There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for TRATA

TRATA	Mean	Homogeneous Groups
4	38.193	A
2	23.132	B
1	22.220	B
3	12.781	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.718 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for SUELO*DOSIS

SUELO	DOSIS	Mean	Homogeneous Groups
1	12	35.699	A
2	1	30.701	AB
2	4	30.236	AB
2	12	29.094	AB
2	2	28.920	ABC
2	8	27.941	ABC
1	1	26.909	ABC
1	8	24.252	ABC
1	2	22.378	ABC
1	4	21.508	ABC
3	1	20.335	ABC
3	8	19.110	BC
3	12	17.660	BC
3	4	13.302	C
3	2	13.179	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.957 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for SUELO*TRATA

SUELO TRATA	Mean	Homogeneous Groups
1 4	45.328	A
2 4	40.072	AB
2 1	31.314	BC
3 4	29.180	BCD
2 2	28.586	BCDE
1 2	26.442	BCDEF
3 1	17.757	CDEFG
1 1	17.589	CDEFG
2 3	17.542	DEFG
1 3	15.237	EFG
3 2	14.369	FG
3 3	5.562	G

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.771 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 7 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for SUELO*FUENTE1RO

SUELO BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
2 A-GLY 2	36.618	A

1	F-GLY	1	27.768	B
1	A-GLY	2	24.531	BC
2	F-GLY	1	22.139	BCD
3	A-GLY	2	17.686	CD
3	F-GLY	1	15.748	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.137 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 74 DF

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for DOSIS*TRATA

DOSIS TRATA		Mean	Homogeneous Groups
12	4	48.212	A
1	4	45.465	AB
8	4	34.127	ABC
4	4	32.295	ABCD
2	4	30.868	ABCDE
12	2	28.088	BCDEF
8	1	25.260	CDEF
8	2	24.585	CDEF
12	1	24.280	CDEF
1	1	22.909	CDEF
4	2	22.805	CDEF
1	2	21.071	CDEF
4	1	19.505	CDEF
2	1	19.147	CDEF
2	2	19.113	CDEF
2	3	16.840	CDEF
1	3	14.482	DEF
4	3	12.123	EF
8	3	11.100	F
12	3	9.358	F

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 5.191 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 74 DF

There are 6 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for DOSIS*BLOQUE1RO

DOSIS BLOQUE1RO		Mean	Homogeneous Groups
12	A-GLY 2	32.816	A
1	A-GLY 2	26.456	AB
1	F-GLY 1	25.508	AB
2	A-GLY 2	24.701	AB
8	A-GLY 2	24.540	AB
8	F-GLY 1	22.996	AB
4	A-GLY 2	22.878	AB
12	F-GLY 1	22.153	AB
4	F-GLY 1	20.486	B
2	F-GLY 1	18.284	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.612 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PORCDESOR for TRATA*BLOQUE1RO

TRATA	BLOQUE1RO	Mean	Homogeneous Groups
4	A-GLY 2	45.433	A
4	F-GLY 1	30.954	B
1	A-GLY 2	26.584	BC
2	F-GLY 1	26.506	BC
2	A-GLY 2	19.759	CD
1	F-GLY 1	17.856	CD
3	A-GLY 2	13.337	D
3	A-GLY 1	12.224	D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.410 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 74 DF
 There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.0

28/04/2021, 03:40:32 p.m.

Analysis of Variance Table for kfd

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	26694	13346.8	1.18	0.3319
formulaci	1	93414	93414.4	8.28	0.0110
tto	3	80094	26698.1	2.37	0.1094
suelo*formulaci	2	10342	5170.8	0.46	0.6405
suelo*tto	6	48047	8007.8	0.71	0.6470
formulaci*tto	3	141905	47301.5	4.19	0.0228
Error	16	180591	11286.9		
Total	33				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 131.95 CV 80.52

tatistix 8.0

28/04/2021, 03:41:02 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for suelo

suelo	Mean	Homogeneous Groups
3	176.75	A
2	131.65	A
1	87.44	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 3.651 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for formulaci

formulaci Mean Homogeneous Groups

1	198.12	A
2	65.78	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 2.999 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for tto

tto Mean Homogeneous Groups

1	222.59	A
2	149.82	AB
3	91.79	AB
4	63.60	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.047 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for suelo*formulaci

suelo formulaci Mean Homogeneous Groups

3	1	266.50	A
2	1	177.56	AB
1	1	150.30	AB
3	2	87.00	AB
2	2	85.75	AB
1	2	24.58	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.557 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for suelo*tto

suelo tto Mean Homogeneous Groups

2	1	265.67	A
1	1	224.09	A
3	2	220.80	A
3	3	181.74	A
3	1	178.00	A
2	2	131.34	A
3	4	126.46	A
1	2	97.32	A
2	3	86.35	A

2	4	43.26	A
1	4	21.08	A
1	3	7.27	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 5.349 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of kfd for formulaci*tto

formulaci tto Mean Homogeneous Groups

1	1	403.16	A
1	2	235.50	AB
2	3	129.87	AB
1	4	100.11	AB
2	2	64.14	B
1	3	53.71	B
2	1	42.01	B
2	4	27.09	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.903 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 16 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

N adsorción

Analysis of Variance Table for nads

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.33453	0.66727	6.70	0.0028
formulaci	1	0.02240	0.02240	0.22	0.6376
tto	3	0.18068	0.06023	0.60	0.6153
suelo*formulaci	2	0.61867	0.30933	3.11	0.0545
suelo*tto	6	0.93761	0.15627	1.57	0.1782
formulaci*tto	3	0.11391	0.03797	0.38	0.7669
Error	45	4.48100	0.09958		
Total	62				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.9522 CV 33.14

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

2	1.1320	A
3	0.9579	AB
1	0.7667	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.428 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for suelo*formulaci

suelo	formulaci	Mean	Homogeneous Groups
2	2	1.2125	A
3	1	1.0833	A
2	1	1.0516	A
1	2	0.8700	AB
3	2	0.8325	AB
1	1	0.6633	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.209 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for formulaci

formulaci	Mean	Homogeneous Groups
2	0.9717	A
1	0.9327	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 2.846 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for tto

tto	Mean	Homogeneous Groups
3	1.0209	A
2	0.9883	A
1	0.9177	A
4	0.8819	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.773 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for suelo*tto

suelo	tto	Mean	Homogeneous Groups
2	3	1.4140	A
2	2	1.2539	AB
3	4	1.0226	AB
3	1	1.0155	AB
3	3	0.9509	AB
2	1	0.9444	AB
2	4	0.9158	AB
1	2	0.8684	AB
3	2	0.8427	AB
1	1	0.7932	AB
1	4	0.7073	B
1	3	0.6977	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.870 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 45 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of nads for formulaci*tto

formulaci tto Mean Homogeneous Groups

2	3	1.1000	A
2	2	1.0267	A
1	1	0.9554	A
1	2	0.9500	A
1	3	0.9417	A
1	4	0.8838	A
2	4	0.8800	A
2	1	0.8800	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 4.493 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 45 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Analysis of Variance Table for ndes

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.05212	0.02606	0.69	0.5092
formulaci	1	0.31132	0.31132	8.19	0.0064
tto	3	0.25885	0.08628	2.27	0.0934
suelo*formulaci	2	0.93646	0.46823	12.31	0.0001
suelo*tto	6	0.44032	0.07339	1.93	0.0966
formulaci*tto	3	0.19626	0.06542	1.72	0.1764
Error	45	1.71158	0.03804		
Total	62				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.8906 CV 21.90

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ndes for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

2	0.9129	A
3	0.9100	A
1	0.8490	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES

Critical Q Value 3.428 Critical Value for Comparison VARIES

Error term used: Error, 45 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ndes for suelo*formulaci

suelo formulaci Mean Homogeneous Groups

1	2	1.0970	A
2	1	0.9458	A
3	2	0.9125	A
3	1	0.9075	A

2	2	0.8800	A
1	1	0.6009	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.209 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ndes for formulaci

formulaci	Mean	Homogeneous Groups
2	0.9632	A
1	0.8181	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 2.846 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ndes for tto

tto	Mean	Homogeneous Groups
4	1.0009	A
2	0.8806	A
1	0.8458	A
3	0.8353	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 3.773 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ndes for suelo*tto

suelo tto	Mean	Homogeneous Groups
3 4	1.1298	A
2 4	0.9847	A
2 3	0.9552	A
3 2	0.9499	A
2 1	0.9449	A
1 2	0.9250	A
1 4	0.8882	A
3 1	0.8420	A
1 3	0.8323	A
2 2	0.7668	A
1 1	0.7503	A
3 3	0.7183	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.870 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of n_{desorción} for formulación * tratamiento

formulaci	tto	Mean	Homogeneous Groups
-----------	-----	------	--------------------

2	4	1.1700	A
2	2	0.9400	AB
2	1	0.8860	AB
2	3	0.8567	AB
1	4	0.8318	B
1	2	0.8211	B
1	3	0.8138	B
1	1	0.8055	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison VARIES
 Critical Q Value 4.493 Critical Value for Comparison VARIES
 Error term used: Error, 45 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Hysteresis

Statistix 8.0 kfd suelo cap 1 h, 02/05/2021, 10:27:28 a.m.

Analysis of Variance Table for H

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	0.85590	0.42795	5.88	0.0049
TRATAMIEN	3	0.55008	0.18336	2.52	0.0677
FUENTE	1	0.04769	0.04769	0.66	0.4218
SUELO*TRATAMIEN	6	1.81548	0.30258	4.16	0.0017
SUELO*FUENTE	2	0.04091	0.02046	0.28	0.7561
TRATAMIEN*FUENTE	3	0.06748	0.02249	0.31	0.8188
Error	54	3.93136	0.07280		
Total	71	7.30891			

Grand Mean 1.1541 CV 23.38
 Statistix 8.0 kfd suelo cap 1 h, 02/05/2021, 10:27:51 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for SUELO

SUELO	Mean	Homogeneous Groups
3	1.2537	A
2	1.2063	A
1	1.0024	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0779
 Critical Q Value 3.409 Critical Value for Comparison 0.1877
 Error term used: Error, 54 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for FUENTE

FUENTE	Mean	Homogeneous Groups
--------	------	--------------------

1	1.1799	A
2	1.1284	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0636
 Critical Q Value 2.834 Critical Value for Comparison 0.1274
 Error term used: Error, 54 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for SUELO*TRATAMIEN

SUELO TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups

3	3	1.6339	A
2	2	1.4337	AB
3	1	1.3588	AB
2	3	1.2746	AB
2	4	1.0945	B
1	4	1.0938	B
3	4	1.0262	B
2	1	1.0224	B
1	1	1.0151	B
3	2	0.9959	B
1	3	0.9936	B
1	2	0.9070	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1558
 Critical Q Value 4.828 Critical Value for Comparison 0.5318
 Error term used: Error, 54 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for TRATAMIEN

TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups

3	1.3007	A
1	1.1321	A
2	1.1122	A
4	1.0715	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0899
 Critical Q Value 3.749 Critical Value for Comparison 0.2384
 Error term used: Error, 54 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for SUELO*FUENTE

SUELO FUENTE Mean Homogeneous Groups

3	1	1.3073	A
2	1	1.2345	A
3	2	1.2000	A
2	2	1.1781	A
1	2	1.0070	A
1	1	0.9978	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1102
 Critical Q Value 4.178 Critical Value for Comparison 0.3254
 Error term used: Error, 54 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of H for TRATAMIEN*FUENTE

TRATAMIEN	FUENTE	Mean	Homogeneous Groups
3	1	1.3537	A
3	2	1.2477	A
1	2	1.1573	A
2	1	1.1419	A
4	1	1.1170	A
1	1	1.1069	A
2	2	1.0826	A
4	2	1.0260	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1272
 Critical Q Value 4.458 Critical Value for Comparison 0.4009
 Error term used: Error, 54 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Anexo A2. Correlaciones capítulo 1

Correlaciones de los minerales de suelo en relación con los porcentajes de adsorción y Kfa.

	t1	t2	t3	KF_t1	kf_t2	kf_t3
Phosp	0.308.	0.028	0.109	-0.996**	0.028	0.109
Clorita	0.973**	0.259	0.175	0.973**	0.259	0.175
Caolinita	-0.332	0.363	0.558*	-0.666*	0.715*	0.756*
Clor_caol	-0.354	0.916**	0.929**	-0.354	0.916**	0.929**
PH	-0.666*	-0.581*	-0.751**	0.027	-0.993**	-0.977**
Al	0.610**	0.547*	0.727*	-0.17	0.946**	0.939**

Correlaciones de los porcentajes de desorción con relación a las propiedades del suelo y los porcentajes de adsorción

Porcentaje de adsorción	Porcentaje de desorción
q ads	0.84
conc inicial	0.707
conc desorb	0.706
P	0.807
PH	0.725
Ca	0.859
Mg	-0.681
Mn	-0.737
	-0.721

Caolinita	-0.665
Aluminio	-0.795

Anexo B: Anexos capítulo 2

Anexo B1. Estadística capítulo 2

movimiento glifosato

Analysis of Variance Table for KD

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	73.863	36.9314	1.51	0.2603
tratamien	1	56.796	56.7965	2.32	0.1536
suelo*tratamien	2	6.796	3.3982	0.14	0.8718
Error	12	293.768	24.4806		
Total	17	431.223			

Grand Mean 8.7052 CV 56.84

Analysis of Variance Table for alfa

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.00457	0.00229	0.54	0.5968
tratamien	1	0.00097	0.00097	0.23	0.6414
suelo*tratamien	2	0.01235	0.00618	1.46	0.2715
Error	12	0.05088	0.00424		
Total	17	0.06878			

Grand Mean 0.0498 CV 130.82

Analysis of Variance Table for f

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.16521	0.08260	1.26	0.3175
tratamien	1	0.08216	0.08216	1.26	0.2841
suelo*tratamien	2	0.04696	0.02348	0.36	0.7054
Error	12	0.78405	0.06534		
Total	17	1.07839			

Grand Mean 0.2474 CV 103.33

Analysis of Variance Table for retardo

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.2996	0.64982	0.43	0.6626
tratamien	1	6.9192	6.91920	4.54	0.0546
suelo*tratamien	2	1.5151	0.75755	0.50	0.6206
Error	12	18.3063	1.52552		
Total	17	28.0402			

Grand Mean 3.5300 CV 34.99

Analysis of Variance Table for omega

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	33.966	16.9828	0.39	0.6865
tratamien	1	26.613	26.6134	0.61	0.4506
suelo*tratamien	2	35.411	17.7054	0.40	0.6760
Error	12	525.078	43.7565		
Total	17	621.068			

Grand Mean 13.184 CV 50.17

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 25/05/2021, 09:46:28 p.m.

Analysis of Variance Table for r

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.2996	0.64982	0.43	0.6626
tratamien	1	6.9192	6.91920	4.54	0.0546
suelo*tratamien	2	1.5151	0.75755	0.50	0.6206
Error	12	18.3063	1.52552		
Total	17	28.0402			

Grand Mean 3.5300 CV 34.99

Analysis of Variance Table for coefdispe

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	2.105E-15	1.052E-15	2.24	0.1493
tratamien	1	2.722E-16	2.722E-16	0.58	0.4614
suelo*tratamien	2	3.451E-15	1.725E-15	3.67	0.0571
Error	12	5.643E-15	4.702E-16		
Total	17	1.147E-14			

Grand Mean 1.33E-07

WARNING: The total sum of squares is too small to continue.
The dependent variable may be nearly constant.

Analysis of Variance Table for lixiviado

Source	DF	SS	MS	F	P
--------	----	----	----	---	---

suelo	2	7.4410	3.72052	36.21	0.0000
tratamien	1	1.7360	1.73601	16.89	0.0014
suelo*tratamien	2	0.7887	0.39434	3.84	0.0515
Error	12	1.2331	0.10276		
Total	17	11.1989			

Grand Mean 4.7950 CV 6.69

Analysis of Variance Table for tiempopic

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.35338	0.67669	18.78	0.0002
tratamien	1	2.80845	2.80845	77.93	0.0000
suelo*tratamien	2	1.78413	0.89207	24.75	0.0001
Error	12	0.43247	0.03604		
Total	17	6.37843			

Grand Mean 2.1439 CV 8.85

Analysis of Variance Table for velocidad

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.00527	0.00263	17.16	0.0003
tratamien	1	0.00043	0.00043	2.77	0.1219
suelo*tratamien	2	0.00316	0.00158	10.30	0.0025
Error	12	0.00184	0.00015		
Total	17	0.01070			

Grand Mean 0.2481 CV 4.99

Analysis of Variance Table for alfa

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.00457	0.00229	0.54	0.5968
tratamien	1	0.00097	0.00097	0.23	0.6414
suelo*tratamien	2	0.01235	0.00618	1.46	0.2715
Error	12	0.05088	0.00424		
Total	17	0.06878			

Grand Mean 0.0498 CV 130.82

Concentración lixiviada en pico

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 11/05/2021, 11:46:16 a.m.

Analysis of Variance Table for concetrac

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	2.267E-07	1.133E-07	99.83	0.0004
repeticio	2	2.831E-10	1.416E-10	0.12	0.8861
tratamien	1	4.550E-08	4.550E-08	40.08	0.0032
suelo*repeticio	4	4.350E-09	1.087E-09	0.96	0.5161
suelo*tratamien	2	5.988E-08	2.994E-08	26.38	0.0050

repeticio*tratamien	2	6.191E-10	3.096E-10	0.27	0.7744
Error	4	4.541E-09	1.135E-09		
Total	17	3.418E-07			

Grand Mean 2.05E-04 CV 16.47

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 11/05/2021, 11:49:18 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of concetrac for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

1	3.63E-04	A
2	1.39E-04	B
3	1.11E-04	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.945E-05
 Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 6.936E-05
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of concetrac for tratamien

tratamien Mean Homogeneous Groups

2	2.55E-04	A
1	1.54E-04	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.588E-05
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 4.414E-05
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of concetrac for suelo*tratamien

suelo tratamien Mean Homogeneous Groups

1	2	4.94E-04	A
1	1	2.31E-04	B
2	2	1.50E-04	B
2	1	1.29E-04	B
3	2	1.20E-04	B
3	1	1.03E-04	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.751E-05
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 1.300E-04
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 11/05/2021, 11:49:18 a.m.

Pico de lixiviación en columnas

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 11/05/2021, 11:05:46 a.m.

Analysis of Variance Table for tiempopic

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.35338	0.67669	13.94	0.0157
repeticio	2	0.09321	0.04661	0.96	0.4565
tratamien	1	2.80845	2.80845	57.87	0.0016
suelo*repeticio	4	0.06089	0.01522	0.31	0.8562
suelo*tratamien	2	1.78413	0.89207	18.38	0.0096
repeticio*tratamien	2	0.08423	0.04212	0.87	0.4864
Error	4	0.19413	0.04853		
Total	17	6.37843			

Grand Mean 2.1439 CV 10.28

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 11/05/2021, 11:10:31 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for suelo**suelo Mean Homogeneous Groups**

- 1 2.5317 A
- 2 1.9517 B
- 3 1.9483 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1272
 Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 0.4535
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for tratamien**tratamien Mean Homogeneous Groups**

- 1 2.5389 A
- 2 1.7489 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1039
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 0.2886
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for suelo*tratamien**suelo tratamien Mean Homogeneous Groups**

- 1 1 3.3400 A
- 2 1 2.2833 B
- 3 1 1.9933 B
- 3 2 1.9033 B

1	2	1.7233	B
2	2	1.6200	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1799
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 0.8498
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 02/05/2021, 11:28:45 a.m.

Analysis of Variance Table for alfa

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	4.444E-15	2.222E-15	1.00	0.4444
repeticio	2	2.111E-14	1.055E-14	4.75	0.0878
tratamien	1	5.556E-16	5.556E-16	0.25	0.6433
suelo*repeticio	4	2.889E-14	7.222E-15	3.25	0.1400
suelo*tratamien	2	1.778E-14	8.889E-15	4.00	0.1111
repeticio*tratamien	2	7.778E-15	3.889E-15	1.75	0.2844
Error	4	8.889E-15	2.222E-15		
Total	17	8.944E-14			

Grand Mean 4.94E-07

WARNING: The total sum of squares is too small to continue.
 The dependent variable may be nearly constant.

Sin diferencia significativa para el parametro

Analysis of Variance Table for coefdispe

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	2.265E-15	1.132E-15	5.66	0.0682
repeticio	2	1.145E-15	5.727E-16	2.86	0.1693
tratamien	1	1.561E-16	1.561E-16	0.78	0.4271
suelo*repeticio	4	2.404E-15	6.011E-16	3.00	0.1560
suelo*tratamien	2	2.822E-15	1.410E-15	7.05	0.0488
repeticio*tratamien	2	1.043E-15	5.216E-16	2.61	0.1885
Error	4	8.006E-16	2.001E-16		
Total	17	1.063E-14			

Grand Mean 1.33E-07

WARNING: The total sum of squares is too small to continue.
 The dependent variable may be nearly constant.

Sin diferencia significativa para el parametro

Analysis of Variance Table for concetrac

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	2.267E-07	1.133E-07	99.83	0.0004
repeticio	2	2.831E-10	1.416E-10	0.12	0.8861
tratamien	1	4.550E-08	4.550E-08	40.08	0.0032
suelo*repeticio	4	4.350E-09	1.087E-09	0.96	0.5161
suelo*tratamien	2	5.988E-08	2.994E-08	26.38	0.0050
repeticio*tratamien	2	6.191E-10	3.096E-10	0.27	0.7744
Error	4	4.541E-09	1.135E-09		
Total	17	3.418E-07			

Grand Mean 2.05E-04 CV 16.47

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 02/05/2021, 11:34:51 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of concetrac for suelo**suelo Mean Homogeneous Groups**

1	3.63E-04	A
2	1.39E-04	B
3	1.11E-04	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.945E-05
 Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 6.936E-05
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of concetrac for suelo*tratamien**suelo tratamien Mean Homogeneous Groups**

1	2	4.94E-04	A
1	1	2.31E-04	B
2	2	1.50E-04	B
2	1	1.29E-04	B
3	2	1.20E-04	B
3	1	1.03E-04	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.751E-05
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 1.300E-04
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Analysis of Variance Table for lixiviado

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	7.4410	3.72052	19.14	0.0090
repeticio	2	0.0589	0.02945	0.15	0.8641
tratamien	1	1.7360	1.73601	8.93	0.0404

suelo*repeticio	4	0.2420	0.06049	0.31	0.8578
suelo*tratamien	2	0.7887	0.39434	2.03	0.2465
repeticio*tratamien	2	0.1547	0.07734	0.40	0.6957
Error	4	0.7776	0.19440		
Total	17	11.1989			

Grand Mean 4.7950 CV 9.20

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 02/05/2021, 11:36:30 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of lixiviado for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

1 5.6467 A
2 4.6450 B
3 4.0933 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2546
Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 0.9077
Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of lixiviado for tratamien

tratamien Mean Homogeneous Groups

2 5.1056 A
1 4.4844 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2078
Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 0.5776
Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of lixiviado for suelo*tratamien

suelo tratamien Mean Homogeneous Groups

1 2 6.2400 A
1 1 5.0533 AB
2 2 4.8900 AB
2 1 4.4000 B
3 2 4.1867 B
3 1 4.0000 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3600
Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 1.7007
Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of lixiviado for repeticio*tratamien

repeticio tratamien Mean Homogeneous Groups

3 2 5.2367 A
1 2 5.1700 A
2 2 4.9100 A

1	1	4.5333	A
2	1	4.5233	A
3	1	4.3967	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3600
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 1.7007
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Analysis of Variance Table for tiempopic

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	1.35338	0.67669	13.94	0.0157
repeticio	2	0.09321	0.04661	0.96	0.4565
tratamien	1	2.80845	2.80845	57.87	0.0016
suelo*repeticio	4	0.06089	0.01522	0.31	0.8562
suelo*tratamien	2	1.78413	0.89207	18.38	0.0096
repeticio*tratamien	2	0.08423	0.04212	0.87	0.4864
Error	4	0.19413	0.04853		
Total	17	6.37843			

Grand Mean 2.1439 CV 10.28

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 02/05/2021, 11:37:31 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

1	2.5317	A
2	1.9517	B
3	1.9483	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1272
 Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 0.4535
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for tratamien

tratamien Mean Homogeneous Groups

1	2.5389	A
2	1.7489	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1039
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 0.2886
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for suelo*tratamien

suelo tratamien Mean Homogeneous Groups

1	1	3.3400	A
---	---	--------	---

2	1	2.2833	B
3	1	1.9933	B
3	2	1.9033	B
1	2	1.7233	B
2	2	1.6200	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1799
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 0.8498
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of tiempopic for repeticio*tratamien

repeticio tratamien Mean Homogeneous Groups

3	1	2.6500	A
2	1	2.5767	AB
1	1	2.3900	ABC
3	2	1.8400	ABC
1	2	1.7767	BC
2	2	1.6300	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1799
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 0.8498
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Analysis of Variance Table for velocidad

Source	DF	SS	MS	F	P
suelo	2	0.00527	0.00263	45.58	0.0018
repeticio	2	0.00020	0.00010	1.69	0.2937
tratamien	1	0.00043	0.00043	7.36	0.0534
suelo*repeticio	4	0.00065	0.00016	2.79	0.1721
suelo*tratamien	2	0.00316	0.00158	27.35	0.0046
repeticio*tratamien	2	0.00077	0.00038	6.66	0.0533
Error	4	0.00023	0.00006		
Total	17	0.01070			

Grand Mean 0.2481 CV 3.06

Statistix 8.0 movimiento glifosato..., 02/05/2021, 11:38:37 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for suelo

suelo Mean Homogeneous Groups

2	0.2633	A
1	0.2568	A
3	0.2242	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.389E-03

Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 0.0156
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for tratamien

tratamien Mean Homogeneous Groups

1	0.2530	A
2	0.2433	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 3.584E-03
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 9.959E-03
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for suelo*tratamien

suelo tratamien Mean Homogeneous Groups

1	1	0.2804	A
2	2	0.2691	A
2	1	0.2575	AB
1	2	0.2333	BC
3	2	0.2273	C
3	1	0.2211	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 6.207E-03
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 0.0293
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for repeticio*tratamien

repeticio tratamien Mean Homogeneous Groups

3	1	0.2627	A
1	1	0.2561	A
2	2	0.2468	A
1	2	0.2457	A
2	1	0.2402	A
3	2	0.2373	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 6.207E-03
 Critical Q Value 6.681 Critical Value for Comparison 0.0293
 Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for suelo*repeticio

suelo repeticio Mean Homogeneous Groups

2	1	0.2675	A
2	2	0.2637	A
1	3	0.2595	A
2	3	0.2588	A
1	2	0.2580	A
1	1	0.2530	A

3	1	0.2322	AB
3	3	0.2317	AB
3	2	0.2087	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 7.602E-03
Critical Q Value 7.578 Critical Value for Comparison 0.0407
Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of velocidad for repeticio

repeticio Mean Homogeneous Groups

1	0.2509	A
3	0.2500	A
2	0.2435	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.389E-03
Critical Q Value 5.043 Critical Value for Comparison 0.0156
Error term used: suelo*repeticio*tratamien, 4 DF
There are no significant pairwise differences among the means.

Anexo B2. capítulo 2. Valores promedio de los lixiviados de las columnas 2

Anexo B-2. Valores promedio de los lixiviados de las columnas

	PH
CS1P0	6.71 ± 0.24
CS1P1	6.89 ± 0.28
CS2P0	6.98 ± 0.19
CS2P1	6.93 ± 0.19
CS3P0	6.85 ± 0.24
CS3P1	6.97 ± 0.10
\bar{X}	6.88 ± 0.21

Anexo B2. Ajuste de mineralización a cinéticas de 1^{er} y 2^o orden

Los resultados de la mineralización se modelaron con las ecuaciones de cinética de primer y segundo orden, teniendo en cuenta los valores resultantes, se asumió para el modelamiento los valores obtenidos en las Cinéticas de primer orden

COL	1 ^{er} ORDEN			2 ^o ORDEN				
	R ²	K	B	R ²	A	B	c	d
1	0.92	0.0033	1.18	0.986	509.4	88.66	0.002	1.16
2	0.91	0.003	1.4589	0.978	195.47	81.74	0.0018	1.21
3	0.873	0.0024	1.033	0.99	0.0406	22.99	0.0012	0.75
4	0.838	0.0082	4.6038	0.995	395.6	114.61	0.001	0.857
5	0.8476	0.0057	3.653	0.9887	0.0114	13.0797	0.0005	0.47
6	0.9138	0.0025	1.3963	0.9877	0.003	5.285	0.0006	0.6
7	0.817	0.0041	2.0645	0.9878	0.0015	1.0903	1211.66	114.1
8	0.003	1.3411	1.3411	0.98	0.001	0.7464	54652.65	133.52
9	0.915	0.0053	2.327	0.99	0.0019	1.7783	5.329	66.0277
10	0.891	0.0047	2.52	0.8916	0.007	4.3208	-0.0023	4.32
11	0.9346	0.0061	3.628	0.9949	0.0003	0.273	0.0078	9.09
12	0.9239	0.004	2.727	0.988	0.0052	6.824	0.0003	0.206
13	0.8176	0.0015	1.939	0.9825	0.002	5.9126	0.0002	0.0862
14	0.8242	0.0014	2.063	0.9847	0.0019	5.9792	0.0002	0.0882
15	0.8557	0.0018	3.9029	0.9641	0.0002	0.5095	0.5485	58.93
16	0.6583	0.0015	2.41	0.973	49.3653	93.05	0.0003	0.4206
17	0.8364	0.0015	3.126	0.9461	0.0002	0.5971	0.2944	50.928

18	0.7329	0.0016	2.442	0.738	6787.67	395.48	0.0016	3.9132
----	--------	--------	-------	-------	---------	--------	--------	--------

B. Anexo C: Anexos capítulo 3

Anexo C1. Estadística capítulo 3

Statistix 8.0

HIDROP NO VECES AUMENTA, 10/08/2021, 07:58:58 p.m.

Analysis of Variance Table for Medidas en tiempo

Source	DF	SS	MS	F	P
medida	5	311.48	62.296		
TTO	1	19.85	19.845	1.57	0.2659
Error medida*TTO	5	63.29	12.657		
DOSIS	4	572.01	143.003	13.01	0.0000
Error medida*DOSIS	20	219.79	10.990		
TTO*DOSIS	4	21.16	5.290	2.97	0.0446
Error medida*TTO*DOSIS	20	35.60	1.780		
Error	120	29.67	0.247		
Total	179	1272.85			

Grand Mean 3.8530

CV(medida*TTO) 92.34

CV(medida*DOSIS) 86.04

CV(medida*TTO*DOSIS) 34.63

CV(Error) 12.91

Statistix 8.0

HIDROP NO VECES AUMENTA, 10/08/2021, 07:51:29 p.m.

Analysis of Variance Table for M1

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	11.4410	2.86026		
TTO	1	7.9670	7.96695	7.15	0.0555
Error DOSIS*TTO	4	4.4546	1.11366		
Error	20	28.0715	1.40358		
Total	29	51.9341			

Grand Mean 2.4440
 CV(DOSIS*TTO) 43.18
 CV(Error) 48.47

Analysis of Variance Table for M2

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	57.8282	14.4571		
TTO	1	0.0900	0.0900	0.06	0.8196
Error DOSIS*TTO	4	6.0740	1.5185		
Error	20	0.3492	0.0175		
Total	29	64.3414			

Grand Mean 3.2573
 CV(DOSIS*TTO) 37.83
 CV(Error) 4.06

Analysis of Variance Table for M3

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	257.047	64.2616		
TTO	1	47.037	47.0369	6.03	0.0700
Error DOSIS*TTO	4	31.198	7.7995		
Error	20	0.340	0.0170		
Total	29	335.621			

Grand Mean 5.5465
 CV(DOSIS*TTO) 50.35
 CV(Error) 2.35

Analysis of Variance Table for M4

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	344.340	86.0849		
TTO	1	22.435	22.4346	11.39	0.0279
Error DOSIS*TTO	4	7.882	1.9705		
Error	20	0.565	0.0282		
Total	29	375.221			

Grand Mean 5.4704
 CV(DOSIS*TTO) 25.66
 CV(Error) 3.07

Analysis of Variance Table for M5

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	103.164	25.7910		
TTO	1	5.598	5.5977	3.48	0.1355
Error DOSIS*TTO	4	6.433	1.6083		
Error	20	0.221	0.0111		
Total	29	115.416			

Grand Mean 4.1233
 CV(DOSIS*TTO) 30.76
 CV(Error) 2.55

Analysis of Variance Table for M6

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS	4	17.9870	4.49676		
TTO	1	0.0054	0.00544	0.03	0.8706
Error DOSIS*TTO	4	0.7215	0.18038		
Error	20	0.1219	0.00609		
Total	29	18.8359			

Grand Mean 2.2764
 CV(DOSIS*TTO) 18.66
 CV(Error) 3.43

tatistix 8.0 HIDROP NO VECES AUMENTA, 10/08/2021, 07:53:54 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M1 for DOSIS**DOSIS Mean Homogeneous Groups**

1 3.1248 A
 2 2.8398 A
 4 2.6840 A
 3 2.2115 A
 5 1.3600 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.6093
 Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 2.7096
 Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M1 for TTO**TTO Mean Homogeneous Groups**

1 2.9593 A
 2 1.9287 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3853
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 1.0709
 Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M2 for DOSIS**DOSIS Mean Homogeneous Groups**

1 4.8430 A
 2 4.3416 A
 3 3.6935 AB
 4 2.3875 AB
 5 1.0210 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.7115
 Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 3.1640
 Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M2 for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

1 3.3121 A
2 3.2026 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.4500
Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 1.2505
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M3 for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

1 9.7806 A
2 6.7093 AB
3 6.2707 AB
4 3.9524 AB
5 1.0193 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.6124
Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 7.1707
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M3 for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

2 6.7986 A
1 4.2943 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.0198
Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 2.8341
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M4 for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

1 9.8155 A
2 8.8695 A
3 4.7663 B
4 2.8667 BC
5 1.0340 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.8105
Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 3.6043
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M4 for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

2 6.3352 A
1 4.6056 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5126
Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 1.4246
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
All 2 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M5 for DOSIS**DOSIS Mean Homogeneous Groups**

1 6.1170 A
2 5.5897 A
3 4.7867 A
4 3.0928 AB
5 1.0303 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.7322
Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 3.2563
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M5 for TTO**TTO Mean Homogeneous Groups**

2 4.5553 A
1 3.6914 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.4631
Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 1.2870
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M6 for DOSIS**DOSIS Mean Homogeneous Groups**

1 3.2007 A
2 2.9433 AB
3 2.2547 AB
4 1.9745 BC
5 1.0087 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2452
Critical Q Value 6.289 Critical Value for Comparison 1.0905
Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M6 for TTO**TTO Mean Homogeneous Groups**

2 2.2899 A
1 2.2629 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1551
 Critical Q Value 3.930 Critical Value for Comparison 0.4310
 Error term used: DOSIS*TTO, 4 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Statistix 8.0 HIDROP NO VECES AUMENTA, 10/08/2021, 07:59:46 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M1 for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

1	6.1469	A
2	5.2156	A
3	3.9972	AB
4	2.8263	BC
5	1.0789	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.7814
 Critical Q Value 4.232 Critical Value for Comparison 2.3383
 Error term used: medida*DOSIS, 20 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M1 for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

2	4.1850	A
1	3.5209	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5304
 Critical Q Value 3.633 Critical Value for Comparison 1.3623
 Error term used: medida*TTO, 5 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of M1 for medida

medida Mean Homogeneous Groups

3	5.5465	A
4	5.4704	A
5	4.1233	A
2	3.2573	A
1	2.4440	A
6	2.2764	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.9186
 Critical Q Value 6.034 Critical Value for Comparison 3.9191
 Error term used: medida*TTO, 5 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Anexo D: Anexos capítulo 4

Anexo D1. Tabla de ED₅₀ para Ácido shikimico

Tabla de ED₅₀ para las concentraciones cuantificadas de ácido shikimico en los tratamientos

Tratamiento	T1		T2		T3		T4	
Muestreo	ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²	ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²	ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²	ED ₅₀ (L ha ⁻¹)	r ²
CS1								
M2	3.52±0.41	0.99	0.63±0.21	0.57	6.28±2.47	0.96	10.90±9.56	0.97
M3	3.16±0.01	1	N.A.		13.03±3.65	0.97	37.01±20.53	0.9
M4	2.42±0.49	0.97	0.116±0.00	0.59	N.A.		1.5±0.6	0.95
M5	2.09±4.16	0.93	1.37±0.48	0.89	8.9±0.34	0.99	1.46±0.31	0.99
M6	5.96±8.95	0.96	1.99±2.43	0.95	6.32±1.51	0.99	2.81±0.27	0.99
M7	1.46±1.71	0.5	4.19±6.51	0.84	1.01±4.35	0.69	1.94±3.58	0.49
CS2								
M2	12.11±3.72	0.93	N.A.		7.849±9.89	0.97	8.5±9.55	0.99
M3	15.06±5.81	0.96	1.308±1.61	0.66	0.29±0.18	0.65	61.14±7.08	0.98
M4	15.6±6.59	0.97	N.A.		3.21±1.36	0.91	1.49±0.59	0.95
M5	3.45±1.16	0.96	1.801±0.99	0.89	0.15±0.00	0.42	1.98±0.46	0.99
M6	2.04±7.68	0.96	2.22±0.41	0.98	7.71±1.32	0.98	2.82±0.28	0.99
M7	708.4961	0.87	4.01±3.65	0.89	6.17±5.86	0.74	1.68±1.70	0.94
CS3								

M2	412.16±1.835	0.967	43.76±4.93	0.73	7.35±0.26	0.99	8.52±9.55	0.98
M3	3.05±0.27	0.99	0.09±0.77	0.97	9.98±36.28	0.96	48.64±2.85	0.89
M4	3.25±0.0.12	0.99	2.00±0.00	1	8.16±2.49	0.85	1.45±0.56	0.94
M5	620.35±28.31	0.96	N.A.		8.17±9.49	0.85	2.19±0.61	0.98
M6	1.28±0.27	0.95	2.01±1.41	0.88	7.78±4.78	0.99	N.A	
M7	708.4961	0.87	1.015±2.78	0.9	0.42±0.00	0.41	N.A	

Anexo D2. Producción de Biomasa

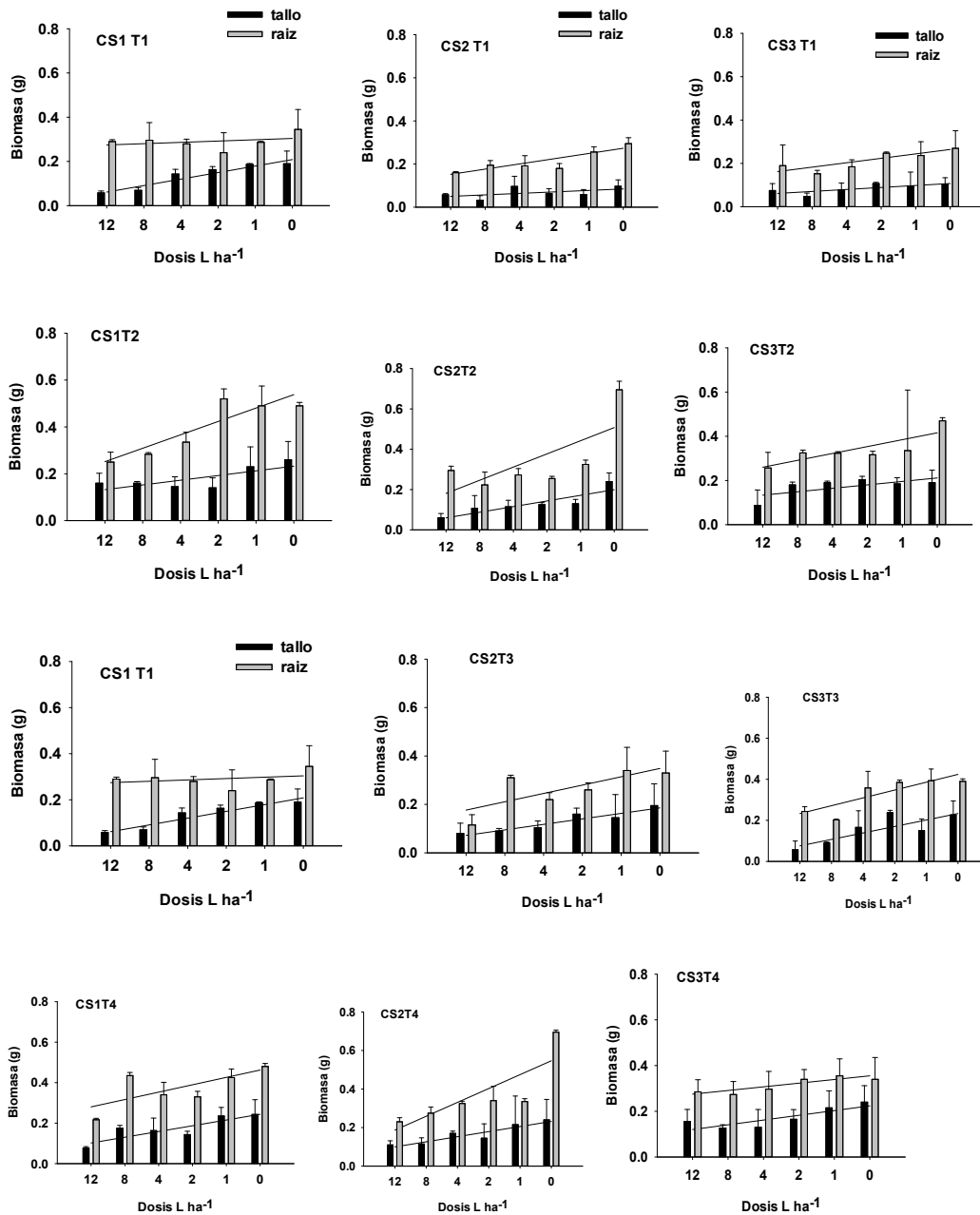


Figura D-1. Producción de biomasa (g) en relación con la dosis aplicada, discriminado para Tallo y Raíz

Anexo D3. Estadística capítulo 4

ACIDO SHIKÍMICO

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 06:27:26 p.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
DOSIS (A)	4	223.522	55.8806	15.13	0.0000
TRATAMIEN (B)					
Error A*B	15	55.400	3.6933		
SUELO (C)	2	34.784	17.3921	28.31	0.0000
A*C	8	17.634	2.2042	3.59	0.0049
Error A*B*C	30	18.428	0.6143		
momentoM (D)	5	150.489	30.0978	10.93	0.0000
A*D	20	61.034	3.0517	1.11	0.3595
Error A*B*D	75	206.453	2.7527		
C*D	10	45.919	4.5919	6.05	0.0000
A*C*D	40	15.164	0.3791	0.50	0.9941
Error A*B*C*D	150	113.941	0.7596		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051

CV(DOSIS*TRATAMIEN) 73.77

CV(DOSIS*TRATAMIEN*SUELO) 30.09

CV(DOSIS*TRATAMIEN*momentoM) 63.69

CV(DOSIS*TRATAMIEN*SUELO*momentoM) 33.46

tatistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 06:38:10 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

12 3.7427 A
8 3.1034 B
4 2.6576 C
2 2.0196 D
1 1.5022 E

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1603

Critical Q Value 3.857 Critical Value for Comparison 0.4372

Error term used: momentoM*TRATAMIEN*DOSIS*SUELO, 274 DF

All 5 means are significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM*DOSIS

momentoM DOSIS Mean Homogeneous Groups

3 12 5.0898 A
4 12 4.8563 AB

2	12	4.1407	ABC
4	8	4.1135	ABC
4	4	4.0937	ABC
3	8	3.6578	ABCD
4	2	3.3939	BCDE
5	12	3.3632	CDE
2	8	3.2004	CDEF
3	4	3.1882	CDEF
6	12	3.1400	CDEFG
5	8	2.9882	CDEFGH
6	8	2.9088	CDEFGHI
6	4	2.5248	DEFGHIJ
5	4	2.3898	DEFGHIJ
4	1	2.1833	EFGHIJ
5	2	2.1441	EFGHIJ
3	2	2.0251	EFGHIJ
2	4	1.9630	EFGHIJ
7	12	1.8666	FGHIJ
7	4	1.7864	FGHIJ
7	8	1.7519	FGHIJ
7	2	1.6917	GHIJ
3	1	1.6148	HIJ
6	2	1.5924	HIJ
7	1	1.5090	IJ
5	1	1.4144	J
2	2	1.2702	J
6	1	1.1879	J
2	1	1.1040	J

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3927

Critical Q Value 5.299 Critical Value for Comparison 1.4714

Error term used: momentoM*TRATAMIEN*DOSIS*SUELO, 274 DF

There are 10 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for TRATAMIEN*DOSIS

TRATAMIEN DOSIS Mean Homogeneous Groups

3	12	4.1312	A
1	12	4.1167	A
4	12	3.8975	AB
1	8	3.4689	ABC
3	8	3.2425	ABCD
1	4	3.2041	ABCD
4	8	2.9611	BCDE
2	12	2.8256	BCDEF
2	2	2.7568	CDEFG
2	8	2.7413	CDEFGH
4	4	2.6899	CDEFGH
2	4	2.6151	CDEFGH
3	4	2.1215	DEFGHI
4	2	2.0665	EFGHI
2	1	1.7761	FGHI
3	2	1.6453	GHI

3	1	1.6331	GHI
1	2	1.6097	HI
4	1	1.3198	I
1	1	1.2801	I

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3206
 Critical Q Value 5.010 Critical Value for Comparison 1.1359
 Error term used: momentoM*TRATAMIEN*DOSIS*SUELO, 274 DF
 There are 9 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for DOSIS*SUELO

DOSIS SUELO Mean Homogeneous Groups

12	3	4.0618	A
12	2	4.0242	A
8	3	3.6915	AB
4	3	3.3947	ABC
12	1	3.1421	ABCD
8	2	2.9619	BCD
8	1	2.6569	CDE
2	3	2.3556	DEF
4	2	2.3087	DEF
4	1	2.2695	DEF
2	1	1.9496	EFG
2	2	1.7535	EFG
1	3	1.6723	FG
1	1	1.5383	FG
1	2	1.2962	G

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2777
 Critical Q Value 4.794 Critical Value for Comparison 0.9413
 Error term used: momentoM*TRATAMIEN*DOSIS*SUELO, 274 DF
 There are 7 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM

momentoM Mean Homogeneous Groups

4	3.7281	A
3	3.1151	AB
5	2.4599	BC
2	2.3357	BC
6	2.2708	BC
7	1.7211	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3029
 Critical Q Value 4.136 Critical Value for Comparison 0.8859
 Error term used: DOSIS*TRATAMIEN*momentoM, 75 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3	3.0352	A
2	2.4689	B

1 2.3113 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1012
 Critical Q Value 3.487 Critical Value for Comparison 0.2495
 Error term used: DOSIS*TRATAMIEN*SUELO, 30 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

12 3.7427 A
 8 3.1034 AB
 4 2.6576 BC
 2 2.0196 CD
 1 1.5022 D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3203
 Critical Q Value 4.368 Critical Value for Comparison 0.9892
 Error term used: DOSIS*TRATAMIEN, 15 DF
 There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 12:45:29 p.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
TRATAMIEN (A)	3	2.145	0.7150		
SUELO (B)	2	34.784	17.3921	14.74	0.0048
Error A*B	6	7.081	1.1801		
DOSIS (C)	4	223.522	55.8806	12.59	0.0003
Error A*C	12	53.255	4.4379		
momentoM (D)	5	150.489	30.0978	4.83	0.0078
Error A*D	15	93.393	6.2262		
B*C	8	17.634	2.2042	4.66	0.0015
Error A*B*C	24	11.348	0.4728		
B*D	10	45.919	4.5919	2.24	0.0434
Error A*B*D	30	61.631	2.0544		
C*D	20	61.034	3.0517	1.62	0.0776
Error A*C*D	60	113.059	1.8843		
B*C*D	40	15.164	0.3791	0.87	0.6877
Error A*B*C*D	120	52.310	0.4359		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051
 CV(TRATAMIEN*SUELO) 41.70
 CV(TRATAMIEN*DOSIS) 80.87
 CV(TRATAMIEN*momentoM) 95.78
 CV(TRATAMIEN*SUELO*DOSIS) 26.39
 CV(TRATAMIEN*SUELO*momentoM) 55.02
 CV(TRATAMIEN*DOSIS*momentoM) 52.69
 CV(TRATAMIEN*SUELO*DOSIS*momentoM) 25.34

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 12:22:54 p.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
momentoM	5	150.489	30.0978	14.51	0.0000
TRATAMIEN	3	2.145	0.7150	0.34	0.7929
momentoM*TRATAMIEN	15	93.393	6.2262	3.00	0.0002
Error	336	696.740	2.0736		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051 CV 55.28

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 12:11:59 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3 3.0352 A
2 2.4689 B
1 2.3113 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1784
Critical Q Value 3.458 Critical Value for Comparison 0.4361
Error term used: momentoM*TRATAMIEN*SUELO, 36 DF
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

12 3.7427 A
8 3.1034 AB
4 2.6576 BC
2 2.0196 CD
1 1.5022 D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2533
Critical Q Value 3.958 Critical Value for Comparison 0.7089
Error term used: momentoM*TRATAMIEN*DOSIS, 72 DF
There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM

momentoM Mean Homogeneous Groups

4 3.7281 A
3 3.1151 AB
5 2.4599 ABC
2 2.3357 BC
6 2.2708 BC
7 1.7211 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.4206
Critical Q Value 4.495 Critical Value for Comparison 1.3369
Error term used: momentoM*TRATAMIEN, 18 DF
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM**momentoM Mean Homogeneous Groups**

4 3.7281 A
 3 3.1151 AB
 5 2.4599 ABC
 2 2.3357 BC
 6 2.2708 BC
 7 1.7211 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.4206
 Critical Q Value 4.495 Critical Value for Comparison 1.3369
 Error term used: momentoM*TRATAMIEN, 18 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 ac shikímico por muestreo, 08/05/2021, 11:47:03 a.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
TRATAMIEN (A)	3	2.145	0.7150	0.06	0.9808
momentoM (B)					
Error A*B	20	243.882	12.1941		
SUELO (C)	2	34.784	17.3921	6.47	0.0037
A*C	6	7.081	1.1801	0.44	0.8484
Error A*B*C	40	107.550	2.6888		
DOSIS (D)	4	223.522	55.8806	25.68	0.0000
A*D	12	53.255	4.4379	2.04	0.0310
Error A*B*D	80	174.093	2.1762		
C*D	8	17.634	2.2042	5.23	0.0000
A*C*D	24	11.348	0.4728	1.12	0.3265
Error A*B*C*D	160	67.474	0.4217		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051
 CV(TRATAMIEN*momentoM) 134.04
 CV(TRATAMIEN*momentoM*SUELO) 62.94
 CV(TRATAMIEN*momentoM*DOSIS) 56.63
 CV(TRATAMIEN*momentoM*SUELO*DOSIS) 24.93

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 11:39:51 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for TRATAMIEN**TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups**

1 2.7359 A
 4 2.5869 A
 3 2.5547 A
 2 2.5430 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5206
 Critical Q Value 3.959 Critical Value for Comparison 1.4573
 Error term used: TRATAMIEN*momentoM, 20 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3 3.0352 A
 2 2.4689 B
 1 2.3113 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2117
 Critical Q Value 3.443 Critical Value for Comparison 0.5153
 Error term used: TRATAMIEN*momentoM*SUELO, 40 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

12 3.7427 A
 8 3.1034 AB
 4 2.6576 BC
 2 2.0196 CD
 1 1.5022 D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2459
 Critical Q Value 3.947 Critical Value for Comparison 0.6862
 Error term used: TRATAMIEN*momentoM*DOSIS, 80 DF
 There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 11:34:53 a.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
momentoM	5	150.489	30.0978	14.51	0.0000
TRATAMIEN	3	2.145	0.7150	0.34	0.7929
momentoM*TRATAMIEN	15	93.393	6.2262	3.00	0.0002
Error	336	696.740	2.0736		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051 CV 55.28

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 11:36:13 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for TRATAMIEN

TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups

1 2.7359 A
 4 2.5869 A
 3 2.5547 A
 2 2.5430 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2147
 Critical Q Value 3.632 Critical Value for Comparison 0.5513
 Error term used: Error, 336 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM*TRATAMIEN

momentoM TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups

4	2	4.1265	A
4	1	3.9468	AB
4	4	3.6151	ABC
3	1	3.4953	ABCD
5	2	3.4863	ABCD
3	4	3.4765	ABCD
2	3	3.3307	ABCD
4	3	3.2241	ABCD
3	3	3.1637	ABCDE
2	1	2.6759	ABCDEF
6	2	2.6049	ABCDEF
6	4	2.4543	ABCDEF
5	4	2.4052	ABCDEF
3	2	2.3250	ABCDEF
2	4	2.2908	ABCDEF
5	1	2.1558	BCDEF
6	1	2.1161	BCDEF
7	1	2.0254	CDEF
7	3	1.9095	CDEF
6	3	1.9079	CDEF
5	3	1.7924	CDEF
7	2	1.6699	DEF
7	4	1.2797	EF
2	2	1.0452	F

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5258
 Critical Q Value 5.142 Critical Value for Comparison 1.9120
 Error term used: Error, 336 DF
 There are 6 groups (A, B, etc.) in which the means
 are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM

momentoM Mean Homogeneous Groups

4	3.7281	A
3	3.1151	AB
5	2.4599	BC
2	2.3356	C
6	2.2708	C
7	1.7211	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2629
 Critical Q Value 4.029 Critical Value for Comparison 0.7490
 Error term used: Error, 336 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
momentoM (A)	5	150.489	30.0978		
TRATAMIEN (B)	3	2.145	0.7150	0.11	0.9500
Error A*B	15	93.393	6.2262		
SUELO (C)	2	34.784	17.3921	3.79	0.0596
Error A*C	10	45.919	4.5919		
DOSIS (D)	4	223.522	55.8806	18.31	0.0000
Error A*D	20	61.034	3.0517		
B*C	6	7.081	1.1801	0.57	0.7475
Error A*B*C	30	61.631	2.0544		
B*D	12	53.255	4.4379	2.36	0.0149
Error A*B*D	60	113.059	1.8843		
C*D	8	17.634	2.2042	5.81	0.0001
Error A*C*D	40	15.164	0.3791		
B*C*D	24	11.348	0.4728	1.08	0.3712
Error A*B*C*D	120	52.310	0.4359		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051

CV(momentoM*TRATAMIEN) 95.78

CV(momentoM*SUELO) 82.26

CV(momentoM*DOSIS) 67.06

CV(momentoM*TRATAMIEN*SUELO) 55.02

CV(momentoM*TRATAMIEN*DOSIS) 52.69

CV(momentoM*SUELO*DOSIS) 23.63

CV(momentoM*TRATAMIEN*SUELO*DOSIS) 25.34

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 11:24:25 a.m.

Analysis of Variance Table for muestreos

Source	DF	SS	MS	F	P
momentoM	5	150.489	30.0978	14.51	0.0000
TRATAMIEN	3	2.145	0.7150	0.34	0.7929
momentoM*TRATAMIEN	15	93.393	6.2262	3.00	0.0002
Error	336	696.740	2.0736		
Total	359	942.768			

Grand Mean 2.6051 CV 55.28

Statistix 8.0 ac shikímico por mue..., 08/05/2021, 11:22:05 a.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for TRATAMIEN**TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups**

1 2.7359 A
 4 2.5869 A
 3 2.5547 A
 2 2.5430 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2147
 Critical Q Value 3.632 Critical Value for Comparison 0.5513
 Error term used: Error, 336 DF
 There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM*TRATAMIEN**momentoM TRATAMIEN Mean Homogeneous Groups**

4	2	4.1265	A
4	1	3.9468	AB
4	4	3.6151	ABC
3	1	3.4953	ABCD
5	2	3.4863	ABCD
3	4	3.4765	ABCD
2	3	3.3307	ABCD
4	3	3.2241	ABCD
3	3	3.1637	ABCDE
2	1	2.6759	ABCDEF
6	2	2.6049	ABCDEF
6	4	2.4543	ABCDEF
5	4	2.4052	ABCDEF
3	2	2.3250	ABCDEF
2	4	2.2908	ABCDEF
5	1	2.1558	BCDEF
6	1	2.1161	BCDEF
7	1	2.0254	CDEF
7	3	1.9095	CDEF
6	3	1.9079	CDEF
5	3	1.7924	CDEF
7	2	1.6699	DEF
7	4	1.2797	EF
2	2	1.0452	F

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5258
 Critical Q Value 5.142 Critical Value for Comparison 1.9120
 Error term used: Error, 336 DF

There are 6 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of muestreos for momentoM**momentoM Mean Homogeneous Groups**

4	3.7281	A
3	3.1151	AB
5	2.4599	BC
2	2.3356	C
6	2.2708	C
7	1.7211	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2629
 Critical Q Value 4.029 Critical Value for Comparison 0.7490
 Error term used: Error, 336 DF

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Anexo D2. Análisis estadístico exploratorio por muestreo

Statistix 8.0

07/05/2021, 10:06:56 p.m.

Analysis of Variance Table for M1

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	6.264	3.1319	1.21	0.3062
TRATAMIEN	4	59.438	14.8594	5.73	0.0006
SUELO*TRATAMIEN	8	16.585	2.0732	0.80	0.6050
Error	57	147.710	2.5914		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 2.0685 CV 77.82

Analysis of Variance Table for M2

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	13.887	6.9434	2.66	0.0784
TRATAMIEN	4	58.264	14.5660	5.59	0.0007
SUELO*TRATAMIEN	8	27.217	3.4021	1.30	0.2597
Error	57	148.602	2.6070		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 2.6921 CV 59.98

Analysis of Variance Table for M3

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	35.691	17.8457	7.00	0.0019
TRATAMIEN	4	81.936	20.4840	8.03	0.0000
SUELO*TRATAMIEN	8	17.713	2.2141	0.87	0.5482
Error	57	145.318	2.5494		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 3.1558 CV 50.60

Analysis of Variance Table for M4

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	4.4044	2.2022	2.74	0.0730
TRATAMIEN	4	45.2276	11.3069	14.07	0.0000
SUELO*TRATAMIEN	8	7.6209	0.9526	1.19	0.3238
Error	57	45.7959	0.8034		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 2.1679 CV 41.35

Analysis of Variance Table for M5

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	3.2330	1.61652	1.93	0.1546
TRATAMIEN	4	21.4764	5.36909	6.41	0.0002
SUELO*TRATAMIEN	8	3.5763	0.44703	0.53	0.8263
Error	57	47.7524	0.83776		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 1.9899 CV 46.00

Analysis of Variance Table for M6

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	2.2627	1.13137	3.00	0.0579
TRATAMIEN	4	10.0817	2.52042	6.67	0.0002
SUELO*TRATAMIEN	8	11.4267	1.42833	3.78	0.0013
Error	57	21.5286	0.37769		
Total	71				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares
Grand Mean 1.5768 CV 38.97

Statistix 8.0

PORCENT BIOMASA, 05/06/2021, 07:27:38 p.m.

Analysis of Variance Table for TALLO PORCENTAJE

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	19240	9620.01	49.08	0.0000
TTO	3	11324	3774.72	19.26	0.0000
DOSIS	5	34276	6855.19	34.97	0.0000
SUELO*TTO	6	8568	1427.99	7.29	0.0000
SUELO*DOSIS	10	6591	659.05	3.36	0.0005
TTO*DOSIS	15	5290	352.69	1.80	0.0379
Error	174	34105	196.00		
Total	215	119393			

Grand Mean 77.056 CV 18.17

Analysis of Variance Table for RAIZ PORCENTAJE

Source	DF	SS	MS	F	P
SUELO	2	6644	3321.8	11.34	0.0000
TTO	3	249	83.0	0.28	0.8373
DOSIS	5	66650	13330.1	45.51	0.0000
SUELO*TTO	6	10535	1755.8	5.99	0.0000
SUELO*DOSIS	10	9575	957.5	3.27	0.0007
TTO*DOSIS	15	13202	880.1	3.00	0.0003
Error	174	50967	292.9		
Total	215	157823			

Grand Mean 72.524 CV 23.60

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORCENTAJE for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3 84.969 A
1 82.409 A
2 63.791 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.3334

Critical Q Value 3.314 Critical Value for Comparison 5.4683
 Error term used: Error, 174 DF
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

3 87.130 A
 1 79.273 B
 4 74.638 B
 2 67.184 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.6943
 Critical Q Value 3.632 Critical Value for Comparison 6.9198
 Error term used: Error, 174 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for SUELO*TTO

SUELO TTO Mean Homogeneous Groups

3 3 93.945 A
 3 4 93.945 A
 1 3 86.565 AB
 1 1 85.382 AB
 2 3 80.881 AB
 1 2 80.445 AB
 3 1 80.355 AB
 1 4 77.244 B
 2 1 72.081 B
 3 2 71.631 B
 2 4 52.726 C
 2 2 49.477 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.6667
 Critical Q Value 4.616 Critical Value for Comparison 15.232
 Error term used: Error, 174 DF
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

6 100.00 A
 1 84.56 B
 2 76.14 BC
 8 72.02 C
 4 69.44 CD
 12 60.17 D

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 3.2999
 Critical Q Value 4.029 Critical Value for Comparison 9.4008
 Error term used: Error, 174 DF
 There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for SUELO*DOSIS

SUELO DOSIS Mean Homogeneous Groups

1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
3	2	92.74	AB
3	1	92.56	ABC
1	1	89.97	ABCD
1	8	84.33	ABCDE
1	2	78.76	BCDEF
3	4	78.60	BCDEF
1	4	75.03	BCDEFG
3	12	73.11	BCDEFGH
3	8	72.80	CDEFGH
2	1	71.15	DEFGH
1	12	66.36	EFGH
2	8	58.94	FGHI
2	2	56.93	GHI
2	4	54.70	HI
2	12	41.03	I

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 5.7155
 Critical Q Value 4.932 Critical Value for Comparison 19.933
 Error term used: Error, 174 DF

There are 9 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for TTO*DOSIS**TTO DOSIS Mean Homogeneous Groups**

1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
4	6	100.00	A
3	1	97.89	AB
3	8	94.39	ABC
1	1	87.31	ABCD
3	2	85.57	ABCD
4	1	80.84	ABCDE
3	4	77.82	ABCDEF
1	2	75.42	BCDEFG
4	2	73.55	CDEFG
1	4	72.92	CDEFGH
2	1	72.21	CDEFGH
4	8	70.57	CDEFGH
1	8	70.20	DEFGH
2	2	70.03	DEFGH
1	12	69.79	DEFGH
4	4	68.32	DEFGH
3	12	67.12	DEFGH
2	4	58.72	EFGH
4	12	54.55	FGH
2	8	52.94	GH
2	12	49.22	H

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 6.5997
 Critical Q Value 5.142 Critical Value for Comparison 23.998

Error term used: Error, 174 DF

There are 8 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3 78.413 A
1 74.065 A
2 65.093 B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.8525

Critical Q Value 3.314 Critical Value for Comparison 6.6848

Error term used: Error, 174 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for TTO

TTO Mean Homogeneous Groups

1 74.266 A
2 72.405 A
3 72.062 A
4 71.362 A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 3.2937

Critical Q Value 3.632 Critical Value for Comparison 8.4593

Error term used: Error, 174 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for SUELO*TTO

SUELO TTO Mean Homogeneous Groups

3 2 93.099 A
3 1 80.883 AB
1 3 79.483 AB
1 1 73.606 B
1 4 72.540 B
3 4 71.275 BC
1 2 70.633 BC
2 4 70.272 BC
3 3 68.394 BC
2 1 68.309 BC
2 3 68.309 BC
2 2 53.482 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 5.7049

Critical Q Value 4.616 Critical Value for Comparison 18.621

Error term used: Error, 174 DF

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

6 100.00 A
1 81.96 B
2 79.52 B
4 71.50 B

8 55.47 C
12 46.70 C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.0340
Critical Q Value 4.029 Critical Value for Comparison 11.492
Error term used: Error, 174 DF
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for SUELO*DOSIS

SUELO DOSIS Mean Homogeneous Groups

3	2	100.51	A
1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
1	1	95.15	AB
3	1	85.13	ABC
3	4	74.95	BCD
1	2	71.11	BCDE
2	4	69.98	CDEF
1	4	69.56	CDEF
2	2	66.93	CDEFG
2	1	65.59	CDEFG
1	8	61.87	CDEFG
3	8	60.50	DEFG
3	12	49.38	EFG
1	12	46.70	FG
2	12	44.03	G
2	8	44.03	G

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 6.9871
Critical Q Value 4.932 Critical Value for Comparison 24.367
Error term used: Error, 174 DF
There are 7 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for TTO*DOSIS

TTO DOSIS Mean Homogeneous Groups

1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
4	6	100.00	A
3	2	93.93	AB
4	1	89.79	ABC
1	2	88.00	ABCD
1	1	82.81	ABCDE
1	4	82.10	ABCDE
2	1	80.66	ABCDE
3	1	74.57	ABCDEF
2	2	72.92	ABCDEF
2	4	69.66	BCDEFG
2	8	68.90	BCDEFG
3	4	68.50	BCDEFG
4	4	65.74	BCDEFGH

4	2	63.22	CDEFGH
4	8	60.43	DEFGH
1	12	54.62	EFGH
3	8	54.47	EFGH
4	12	49.00	FGH
2	12	42.30	GH
3	12	40.90	GH
1	8	38.07	H

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 8.0680
 Critical Q Value 5.142 Critical Value for Comparison 29.337
 Error term used: Error, 174 DF

There are 8 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.0 PORCENT BIOMASA, 05/06/2021, 12:27:45 p.m.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

1	85.382	A
3	80.355	AB
2	72.081	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.0951
 Critical Q Value 3.458 Critical Value for Comparison 10.012
 Error term used: Error, 36 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

6	100.00	A
1	87.31	AB
2	75.42	BC
4	72.92	BC
8	70.20	BC
12	69.79	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 5.7913
 Critical Q Value 4.254 Critical Value for Comparison 17.422
 Error term used: Error, 36 DF

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of TALLOPORC for SUELO*DOSIS

SUELO DOSIS Mean Homogeneous Groups

1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
3	2	97.28	AB
3	1	88.25	ABC
1	12	87.69	ABC
1	1	86.91	ABC

2	1	86.77	ABC
1	8	85.65	ABC
1	4	83.96	ABC
3	4	70.45	ABC
1	2	68.08	ABC
3	12	67.24	ABC
2	8	66.04	ABC
2	4	64.35	ABC
2	2	60.89	BC
3	8	58.91	C
2	12	54.44	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 10.031
 Critical Q Value 5.301 Critical Value for Comparison 37.602
 Error term used: Error, 36 DF

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for SUELO

SUELO Mean Homogeneous Groups

3	80.883	A
1	73.606	A
2	68.309	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 5.4636
 Critical Q Value 3.458 Critical Value for Comparison 13.358
 Error term used: Error, 36 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for DOSIS

DOSIS Mean Homogeneous Groups

6	100.00	A
2	88.00	A
1	82.81	A
4	82.10	A
12	54.62	B
8	38.07	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 7.7268
 Critical Q Value 4.254 Critical Value for Comparison 23.244
 Error term used: Error, 36 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RAIZPOC for SUELO*DOSIS

SUELO DOSIS Mean Homogeneous Groups

3	2	109.76	A
1	1	104.23	AB
1	6	100.00	AB
2	6	100.00	AB
3	6	100.00	AB
2	4	95.17	ABC
1	2	90.04	ABC
3	1	86.18	ABCD
1	4	77.96	ABCDE

3	4	73.18	ABCDE
3	12	70.56	ABCDE
2	2	64.20	ABCDE
2	12	61.73	ABCDE
2	1	58.02	BCDE
3	8	45.61	CDE
1	8	37.85	DE
1	12	31.56	E
2	8	30.74	E

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 13.383
 Critical Q Value 5.301 Critical Value for Comparison 50.168
 Error term used: Error, 36 DF

There are 5 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

TTO DOSIS Mean Homogeneous Groups

1	6	100.00	A
2	6	100.00	A
3	6	100.00	A
4	6	100.00	A
3	2	93.93	AB
4	1	89.79	ABC
1	2	88.00	ABCD
1	1	82.81	ABCDE
1	4	82.10	ABCDE
2	1	80.66	ABCDE
3	1	74.57	ABCDEF
2	2	72.92	ABCDEF
2	4	69.66	BCDEFG
2	8	68.90	BCDEFG
3	4	68.50	BCDEFG
4	4	65.74	BCDEFGH
4	2	63.22	CDEFGH
4	8	60.43	DEFGH
1	12	54.62	EFGH
3	8	54.47	EFGH
4	12	49.00	FGH
2	12	42.30	GH
3	12	40.90	GH
1	8	38.07	H

Anexo D4. Altura de las plantas

Tabla D4-1. Altura de planta. Relación suelo por tratamiento según el momento de muestreo.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
CS1 ^a								
T1	1.329±0.214	3,165±0.497	8.750±1.701	13.372±2.039	18.149±1.998	22.791±1.889	25.06±1.517	24.813±2.159
T2	1.356±0.167	3.381±0.389	8.441±2.028	11.190±2.094	17.205±2.127	20.19±2.081	22.28±2.15	24.745±2.584
T3	1.399±0.212	3.278±0.492	7.935±1.416	11.051±1.704	20.645±1.683	24.7±1.391	26.138±2.229	28.313±1.737
T4	1.425±0.339	2.873±0.788	7.371±1.118	11.673±2.872	19.904±2.563	21.236±2.65	23.428±2.762	26.568±2.863
T0	1.869±0.297	4.410±0.691	9.572±1.049	12.805±1.100	21.010±3.026	24.88±1.543	26.491±1.217	30.163±2.083
CS2 ^{ab}								
T1	1.234±0.391	2.907±0.909	6.315±1.314	14.291±2.171	18.339±2.250	20.509±1.642	20.869±1.767	23.33±2.448
T2	1.433±0.516	3.980±1.199	3.674±1.032	14.018±2.988	16.237±2.420	21.988±1.714	24.122±2.853	24.685±1.706
T3	1.435±0.371	2.819±0.863	4.550±0.741	12.363±3.205	16.213±1.213	20.413±4.092	24.417±3.549	25.408±3.019
T4	1.453±0.338	2.645±0.785	5.690±0.768	13.376±2.435	20.380±3.129	22.688±3.215	24.064±1.424	26.715±1.652
T0	1.754±0.544	3.818±0.785	5.714±1.452	14.783±1.257	19.498±4.291	21.542±2.98	25.285±2.68	26.594±2.348
CS3 ^b								
T1	1.325±0.391	2.907±0.909	7.191±0.976	13.706±1.421	16.56±61.457	21.146±1.916	23.901±1.926	26.637±1.386
T2	1.542±0.516	3.980±1.199	7.228±1.877	10.252±2.519	12.932±2.286	17.547±2.094	21.253±2.717	24.413±2.929
T3	1.345±0.355	2.855±0.825	7.019±1.472	13.210±2.723	17.572±2.919	21.813±2.523	25.22±2.897	26.809±2.952
T4	1.432±0.338	2.645±0.785	6.793±1.749	12.355±2.863	16.316±2.376	20.084±2.566	24.068±2.689	27.296±2.715
T0	1.764±0.544	3.818±1.264	8.843±0.677	17.190±1.144	20.890±1.407	24.795±2.132	28.274±1.932	31.211±1.638

Anexo D5. área foliar

Tabla D-5. Área foliar según el momento de muestreo

área foliar								
M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	
CS1								
T1	0.68±0.11	1.58±0.26	5.28±0.96	11.45±2.82	14.58±3.48	21.66±5.37	26.03±4.13	35.17±4.27
T2	0.83±0.22	1.93±0.52	7.78±1.73	9.36±2.97	16.67±3.16	14.78±2.95	22.46±3.44	34.12±4.07
T3	0.69±0.15	1.61±0.35	6.89±1.83	8.99±2.38	19.53±2.91	22.71±4.01	31.46±5.11	38.15±4.84
T4	0.62±0.26	1.44±0.59	6.56±1.08	10.90±3.76	17.30±4.95	23.57±5.20	32.01±5.12	31.08±7.28
T0	0.98±0.14	2.29±0.31	6.36±1.08	12.63±1.75	23.07±4.94	27.14±4.04	33.84±6.45	41.79±3.94
CS2								
T1	0.63±0.20	1.45±0.47	18.73±4.78	11.35±1.86	17.30±5.60	18.73±4.78	22.48±5.87	26.38±5.30
T2	0.94±0.18	2.19±0.41	16.56±3.12	15.61±4.02	15.85±5.59	16.56±3.12	28.70±6.11	27.01±5.94
T3	0.60±0.24	1.39±0.56	15.36±3.09	15.11±4.33	15.12±2.60	15.36±3.09	29.34±5.34	29.38±5.60
T4	0.54±0.22	1.25±0.51	26.58±8.20	11.73±2.93	20.02±8.63	26.58±8.20	32.13±7.27	37.27±6.56
T0	0.75±0.28	1.74±0.65	21.23±4.60	16.76±2.45	21.76±5.91	21.23±4.60	28.91±8.31	32.55±4.90
CS3								
T1	0.63±0.20	1.45±0.47	5.22±3.12	12.45±6.18	17.98±4.92	26.21±4.81	40.19±5.93	49.55±5.06
T2	0.91±0.17	2.12±0.39	6.17±2.53	9.73±2.69	17.44±5.48	23.29±3.84	37.98±9.24	46.09±10.20
T3	0.61±0.18	1.43±0.43	3.08±1.25	13.42±5.98	24.09±6.79	24.52±6.14	41.60±5.64	46.73±8.90
T4	0.57±0.16	1.32±0.38	3.29±0.89	11.32±4.26	17.53±5.79	29.54±5.91	41.16±7.99	50.21±6.34
T0	0.84±0.24	1.96±0.55	5.65±0.48	18.78±3.92	28.38±7.32	31.98±4.61	48.60±3.71	54.40±5.21