Efecto de la Aplicación de Herbicidas en Condiciones de Campo Sobre Algunas Actividades Biológicas. Effects of Herbicides Applied in Field Conditions on Some Biological Activities.

Marysol Alvear Z.², Roxana López E.², Analí Rosas G.², Nelsón Espinoza N.³

¹ Recepción de originales:

² Departamento de Ciencias Químicas, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D Temuco, Chile. e-mail: malvear@ufro.cl

³ Departamento de Recursos Naturales, INIA Carillanca, Casilla 58-D Temuco, Chile.

Keywords: Microbial biomass, enzyme activities, herbicides, dehydrogenase, acid phosphatase, annual crops.

ABSTRACT

Some recent research has indicated that the use of herbicides can cause different effects on soil biological activities. However, most of these studies have been conducted in laboratory conditions without considering field conditions. In view of this, an experiment was carried out on andisol soil with the purpose of ascertaining the effect of different herbicides applied on traditional annual crops in southern Chile upon microbial biomass and some enzyme activities. The crops and herbicides applied in each case were wheat-MCPA+metsulfuron-methyl, lupin-simazine, oil rape-trifluraline and a control without applying any herbicides. Microbial biomass C and N were affected negatively by trifluralin and MCPA+metsulfuron methyl. In general, all enzyme activities were negatively affected by the different herbicide treatments in the first and second sampling in relation to the control. Dehydrogenase activity, was observed a significant reduction in relation to the control after applying the different herbicides on the different crops in the first and second sampling. As for the acid phosphatase activity the same tendency toward dehydrogenase activity was observed in the simazine treatment. In the case of urease activity, a significant reduction was observed in the third and fourth sampling in relation to the witness treatment. In general, the enzyme activities were also conditioned by the crops that each treatment was applied on. Therefore, it is interesting to continue studying the relation between enzyme activities and the different agricultural managements including the application of herbicides.

Palabras claves: Biomasa microbiana, actividades enzimáticas, herbicidas, dehidrogenasa, fosfatasa ácida, cultivos anuales.

RESUMEN

Se realizó un ensayo en un suelo Andisol de la IX Región con el objetivo de determinar el efecto de diferentes herbicidas aplicados en cultivos anuales tradicionales sobre las actividades biológicas del suelo. Los cultivos y herbicidas aplicados en cada caso correspondieron a trigo-MCPA+metsulfuron-metil, lupino-simazina, raps-trifluralina y un testigo sin aplicación de herbicidas. En general, todas las actividades biológicas fueron afectadas negativamente por los distintos tratamientos de herbicidas ($p < 0,05$) en el primer y segundo muestreo respecto al testigo. Entre las actividades generales, el C y N biomásico fueron afectados negativamente por la trifluralina y el MCPA+metsulfuron-metil, mientras que la dehidrogenasa fue afectada significativamente en relación al testigo en el primer y segundo muestreo, recuperándose en el último muestreo. Entre las actividades biológicas específicas la fosfatasa ácida fue afectada por simazina, trifluralina y MCPA+metsulfuron-metil, mientras que la ureasa presentó una reducción significativa en el tercer y cuarto muestreo respecto al testigo. En general, las actividades enzimáticas fueron también afectadas por el cultivo de cada tratamiento, siendo necesario seguir estudiando la relación entre las actividades enzimáticas y los diferentes manejos agrícolas incluyendo la aplicación de herbicidas.

INTRODUCCIÓN

El reto de una vida sostenible requiere una nueva visión, aproximaciones holísticas para el manejo de ecosistemas y renovación de la relación entre ciencia y sociedad (Doran y Saffley, 1997), este reto se plantea frente a la creciente demanda de alimentos, protección ambiental y al empobrecimiento de recursos energéticos no renovables (Karlen *et al.*, 2001), en una sociedad urbanizada y en constante expansión. La aplicación de herbicidas ha incrementado y mantenido la productividad de los cultivos debido a que las malezas son uno de los factores más importantes que afectan el establecimiento y rendimiento de los cultivos. Sin embargo, en el último tiempo diversas investigaciones han mostrado que el uso de herbicidas puede producir diversos efectos sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas del suelo (Vischetti *et al.*, 1997; Perucci *et al.*, 2000; Sannino y Gianfreda, 2001; Moorman *et al.*, 2001; Klódka y Nowak, 2004), lo que genera un problema debido a que los microorganismos del suelo por medio de sus enzimas catalizan muchos procesos esenciales en el ciclo de nutrientes y

el crecimiento de las plantas y por lo tanto, la interferencia de los herbicidas sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas se relacionaría directamente con la fertilidad del suelo (Vischetti, 1997).

Sin embargo, la mayoría de estos estudios han sido realizados en laboratorio sin considerar las condiciones de campo. Al respecto, el efecto de diferentes herbicidas en los grupos microbianos y en los procesos biológicos en que estos participan dependerá, entre otros factores, de la naturaleza química del herbicida, la dosis y el método de aplicación, el tipo de suelo, y de las diferentes especies de plantas establecidas como cultivos. Así, es necesario considerar que el entorno de las raíces de las plantas, llamado rizósfera, favorece la permanencia de poblaciones microbianas envueltas en el ciclo de nutrientes entre el suelo y la planta (Schilling *et al.*, 1998) y por lo tanto podría modificar el efecto de la aplicación de herbicidas sobre la biomasa microbiana y sus actividades enzimáticas. Considerando todos estos factores, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintos grupos de herbicidas utilizados en la IX Región, sobre la biomasa microbiana

y algunas actividades enzimáticas, cuando éstos productos son aplicados sobre cultivos recomendados y en dosis utilizadas frecuentemente en la agricultura.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo se desarrolló en la Estación Experimental Maipo (38° 44' Lat. Sur y 72° 35' Long. Oeste) perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. El suelo de la Estación Experimental corresponde a suelos derivados de cenizas volcánicas modernas (Mella y Küne, 1985) y algunas características químicas de ellos se presentan en el cuadro 1.

El ensayo en terreno comenzó el 26 de

el 9 de Octubre de 1999. En trigo los herbicidas utilizados fueron MCPA (MCPA 750) + metsulfuron-metil (Ally), en las dosis de 0,72 kg i.a./ha + 0.0048 kg i.a./ha respectivamente. Esta mezcla se aplicó cuando el cultivo presentaba una macolla. En lupino australiano se utilizó el herbicida simazina (Simazina 500 F) en dosis de 1,25 kg/ha y en raps el herbicida trifluralina (Treflan) en dosis de 1,20 kg/ha, ambos en preemergencia.

Los muestreos se realizaron en los primeros 7,5 cm de suelo, las muestras fueron tamizadas a 2 mm y posteriormente fueron guardadas en un refrigerador a 4 °C. En estas muestras se determinó el contenido de materia orgánica, pH y P del suelo y como parámetros biológicos, se determinaron el carbono y nitrógeno de la biomasa

CUADRO 1: Características químicas de suelo en el sitio de ensayo. Temporada 1999-2000.

Table 1: Chemical properties of study site. Season 1999-2000.

Muestreo	pH	Materia orgánica (%)	P-Olsen (ppm)
26/8/1999	5,75	18	7,67
8/3/2000	5,78	19	7,54

Fuente: Laboratorio de Bioquímica de Suelos, Departamento de Ciencias Químicas. Universidad de La Frontera.

Agosto de 1999 y finalizó el 8 de Marzo del 2000 con la recolección de las últimas muestras de suelo. Con el objetivo de hacer coincidir la fecha de aplicación de los herbicidas en los distintos cultivos, se sembró trigo el 26 de Agosto de 1999, el lupino australiano y el raps se sembraron el 8 de Octubre de 1999. El área de cada parcela fue de 10 m². La fertilización fue idéntica para todas las parcelas. Las dosis utilizadas fueron las siguientes: P₂O₅, 120 kg/ha; N, 150 kg/ha; K₂O, 100 U/ha. El material biológico utilizado en el ensayo correspondió a los siguientes cultivos: Trigo (*Triticum aestivum* L.) var. Dalcahue, raps (*Brassica napus* L.) var. Liberty y lupino australiano (*Lupinus angustifolius* L.) var. Gungurru.

Todos los herbicidas fueron aplicados

microbiana (CBM y NBM, respectivamente) mientras que las actividades enzimáticas determinadas fueron : dehidrogenasa, fosfatasa ácida y ureasa.

La determinación de la materia orgánica (MO) se realizó con el método redox de Walkley y Black modificado (Walkley y Black, 1934). El pH se determinó en agua utilizando una suspensión de suelo 1:25 según el método descrito por Mc Lean (1982). El procedimiento utilizado para la determinación de P disponible fue el descrito por Olsen y Summers, (1982).

La determinación de CBM y NBM se realizó a través del método general de fumigación-extracción (Vance *et al.*, 1987). El NBM de las muestras se determinó a partir

del nitrógeno reactivo a ninhidrina, mediante la técnica colorimétrica de Joergensen y Brookes (1990). El CBM para los extractos fumigados y no fumigados se determinó mediante oxidación con dicromato, además se consideró el K_{ec} 0,45 (Alvear *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos para el CBM y NBM corresponden a la diferencia entre los suelos fumigados y no fumigados. La actividad dehidrogenasa fue determinada por el método de Casida *et al.* (1964) el cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio fue añadido a la muestra de suelo e incubado a 37 °C por 24 h. La liberación de rojo formazán fue extraído con metanol. La intensidad del color rojo fue medida a 480 nm. La actividad fosfatasa ácida fue determinada por incubación del suelo con el sustrato p-nitrofenilfosfato. La mezcla (pH ajustado a 5,5 usando buffer universal modificado) fue incubada a 20 °C, después de 1 h se añadió $CaCl_2$ 0,5 M y filtrada sobre NaOH 0,5 M según el método de Rubio *et al.*, (1990), para suelos volcánicos, donde se mide espectrofotométricamente a 400 nm el p-nitrofenol liberado en la reacción. La actividad ureasa fue determinada con urea como sustrato. La mezcla fue incubada a 37°C por 2 h y el amonio (NH_4^+) liberado fue medido con un electrodo de ión selectivo (Alvear *et al.*, 2005). Todos los análisis fueron realizados en triplicado

El diseño experimental correspondió al de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron cuatro y correspondieron a 3 herbicidas y al testigo sin herbicida. Para evaluar el efecto de la aplicación de los distintos herbicidas en el tiempo se realizaron cuatro muestreos en las siguientes fechas: Tiempo 0: Día previo a la aplicación de los herbicidas (8 de octubre de 1999). Tiempo 15: 15 días después de la aplicación de los herbicidas (23 de octubre de 1999). Tiempo 66: 66 días después de la aplicación de los herbicidas (14 de Diciembre de 1999). Tiempo 153: 153 días después de la aplicación de los herbicidas (8 de marzo del 2000).

Se efectuó un Análisis de Varianza

(ANDEVA) con tres repeticiones considerando cuatro tratamientos con herbicidas y tiempo de aplicación. Una prueba de comparación múltiple de medias fue estimada usando el test de contrastes ortogonales con un nivel de significancia de 5%. (Chew, 1976; Petersen, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSION

Biomasa microbiana

Los valores de CBM obtenidos en los distintos tratamientos de herbicidas a las diferentes fechas de muestreo fluctuaron entre 132 y 365 mg de C/kg de suelo seco (s.s.).

Al tiempo 0, antes de la aplicación de los herbicidas, se observó una diferencia en el contenido de CBM de los tratamientos, siendo mayor en el tratamiento en que se sembró trigo (tratamiento MCPA-metsulfuron-metil) (Figura 1). Este resultado puede explicarse porque desde este tiempo, habían transcurrido 13 días desde el establecimiento del cultivo y aplicación de fertilizantes. La fertilización afecta a la biomasa microbiana del suelo, debido a que produce un aumento en la biomasa radicular, en este mismo sentido Saratchandra *et al.* (1988) atribuyen a la fertilización nitrogenada un aumento en los niveles de C orgánico, lo que promovería el crecimiento de la biomasa microbiana del suelo y por lo tanto, produciría un aumento en el CBM (Kirchner *et al.*, 1993).

En relación al efecto de los herbicidas en el tiempo, se observó que a los 15 días de haber sido aplicados los tratamientos, el nivel de CBM de los tratamientos MCPA-metsulfuron metil y 2,6 di-nitro-anilina disminuyó en alrededor de un 10% en comparación con el suelo sin aplicación de herbicidas. En el último muestreo, a los 150 días desde la aplicación de los herbicidas, aumentó el CBM en todos los tratamientos en comparación al período anterior (66 días), sin embargo, todos los herbicidas aplicados causaron una disminución significati-

va, aproximadamente un 40%, del CBM del suelo en comparación con el testigo.

FIGURA 1. Efecto de los herbicidas en el contenido de carbono biomásico de un suelo Andisol transcurridos diferentes periodos desde la aplicación. Cifras con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

FIGURE 1. Effect of herbicides on soil carbon biomass after different days of application. Different letters indicate significantly different means at $p < 0.05$ according to orthogonal contrast.

Según Bolinder *et al.* (1999) el manejo agronómico, entre ellos el uso de herbicidas afecta el CBM, este efecto exhibieron los demás tratamientos por lo que a pesar de presentar un aumento del CBM no todos alcanzaron los niveles del testigo, el cual si pudo expresar el efecto de la temperatura y humedad favorable (Wardle y Parkinson, 1990) que se presentaron en esta fecha debido a que no fue alterado por ningún tipo de manejo.

Un efecto similar encontraron Paccola *et al.* (1996) y Marzocca *et al.* (1996) al aplicar herbicidas de la familia de las triazinas, las cuales aunque no disminuyen el CBM si afectaban las poblaciones de micorrizas vesículo arbusculares, lo que demuestra que estos herbicidas pueden alterar de igual forma el equilibrio del suelo. La trifluralina afectó negativamente el CBM, lo que coincide con lo observado por Rocha *et al.* (1996). El

tratamiento MCPA+metsulfuron-metil también presentó menor contenido de CBM que el testigo. El MCPA, según lo señalado por Wardle y Parkinson (1990), no afecta la biomasa microbiana ni las actividades enzimáticas de los microorganismos, por lo que este herbicida no debería ejercer una influencia negativa sobre el CBM. En contraste el metsulfuron-metil es un herbicida sulfonilurea, de las cuales se ha informado que disminuyen el CBM (Vischetti *et al.*, 1997). Dumonet *et al.* (1993) indicaron que los herbicidas Sulfonilureas al ser aplicados a los cultivos reduce los microorganismos del suelo, lo que afectaría la biomasa microbiana del suelo disminuyendo el CBM.

También se observó una disminución significativa de la biomasa microbiana, especialmente CBM, por efecto de la aplicación de trifluralina y MCPA+metsulfuron-metil en el segundo muestreo. Al respecto,

Wardrop (1986) y Edwards (1989) han indicado que herbicidas como triazinas, trifluralina y MCPA, entre otros tienen un impacto negativo en las poblaciones de hongos y algas y, por lo tanto, afectarían directamente la biomasa microbiana del suelo. Específicamente, otras investigaciones han señalado que herbicidas de la familia de las sulfonilureas afectan las poblaciones de microorganismos del suelo y disminuyen el CBM (Dumonet *et al.*, 1993; Vischetti *et al.*, 1997). Por otro lado Perucci *et al.* (2000) encontraron que la adición de herbicidas en

dosís recomendadas para aplicaciones en campo, disminuían el CBM y NBM durante todo el periodo de evaluación (30 días).

El nivel de NBM durante el ensayo presentó una variación de 65 a 118 mg N/kg de s.s. (Figura 2). En general desde la aplicación de herbicidas no se observó un efecto claro sobre el NBM en el tiempo. Sin embargo, a los 15 días de la aplicación de los herbicidas el control presentó un nivel de NBM superior a los tratamientos trifluralina y MCPA-metsulfuron metil.

FIGURA 2. Efecto de los herbicidas en el contenido de nitrógeno biomásico de un suelo Andisol transcurridos diferentes períodos desde la aplicación. Cifras con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

FIGURE 2. Effect of herbicides on soil nitrogen biomass after different days of application. Different letters indicate significantly different means at $p < 0.05$ according to orthogonal contrast.

Similares resultados han sido obtenidos por Rocha et al. (1996), quienes observaron una disminución en el contenido de NBM por efecto de la trifluralina. Según Paccola (1996) una triazina aplicada al suelo produjo un incremento en la biomasa microbiana y, por lo tanto un efecto positivo sobre el nitrógeno biomásico, lo que concuerda con los resultados obtenidos en este ensayo. Sin embargo un incremento de la biomasa microbiana no indica las características de los organismos que están predominando, pues por un lado podría estar favoreciendo a algunos organismos parásitos que antes se mantenían en forma latente producto de un desequilibrio biológico (García, 1987), así como también, podría alterar el desarrollo de algunos organismos benéficos importantes para la producción vegetal (Marzocca, 1996), entonces, un aumento de la biomasa microbiana en este caso no sería indicativo de una mejor calidad de suelo. Respecto a este resultado Vischetti *et al.* (1997) obtuvo respuestas similares al aplicar un herbicida sulfonilurea, por lo que se puede observar una correspondencia con nuestros resultados, debido a que siendo el lupino una le-

guminosa y el raps una oleaginosa, presentan una mayor capacidad de producir exudados radicales en relación a otros cultivos (Speir y Ross, 1978), lo que provocaría un incremento en la actividad biológica y por lo tanto un aumento en el NBM.

Actividades enzimáticas

Los valores de actividad dehidrogenasa obtenidos en los distintos tratamientos de herbicidas fluctuaron entre 221-502 μg de rojo de formazán / g de s.s. (Figura 3). En el primer muestreo los valores de actividad dehidrogenasa en los distintos tratamientos no mostraron diferencias significativas respecto al testigo excepto el tratamiento MCPA+metsulfuron-metil el cual alcanzó un promedio de 502,26 μg de rojo de formazán / g de s.s., sin embargo la actividad dehidrogenasa de este tratamiento en el segundo muestreo (15 días) disminuyó en un 59%. En este muestreo la actividad dehidrogenasa en los tratamientos simazina y trifluralina presentaron diferencias significativamente menores en relación al testigo.

FIGURA 3. Efecto de los herbicidas en la actividad dehidrogenasa en suelo Andisol transcurridos diferentes períodos desde la aplicación. Cifras con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

FIGURE 3. Effect of herbicides on soil dehydrogenase activity after different days of application. Different letters indicate significantly different means at $p < 0.05$ according to orthogonal contrast.

A los 15 días desde la aplicación de los herbicidas, la actividad de esta enzima en el tratamiento MCPA+metsulfuron-metil sembrado con trigo, no presentó diferencias significativas respecto al tratamiento testigo lo cual puede deberse a que este cultivo fue sembrado antes que los demás cultivos, observándose un efecto las labores del suelo en este tratamiento, que no se observó en los demás tratamientos por ser sembrados con posterioridad, ya que la actividad dehidrogenasa es una enzima que pertenece al grupo de las oxido-reductasas, las que participan en la degradación de los sustratos orgánicos en el suelo mediante una serie de reacciones oxidativas, produciéndose cambios en su actividad por efecto de las condiciones de oxidorreducción de suelo, con un aumento en la actividad dehidrogenasa con manejos como la inversión de suelo que favorece a la oxidación (Sierra, 1990; Vidal *et al.*, 1997). A este efecto también se suma otro factor que es la fertilización, la cual produce un aumento de la biomasa microbiana por un incremento en la biomasa radical, lo que aumentó la actividad dehidrogenasa (Lynch y Panting, 1980; Kirchner *et al.*, 1993). Al día 15, la actividad dehidrogenasa disminuyó significativamente en el tratamiento con simazina, lo que coincide con resultados obtenidos por Ladd (1978), que indican que los derivados de triazinas disminuyen la actividad dehidrogenasa.

Sin embargo, a los 66 días desde la aplicación de los herbicidas, el tratamiento

Simazina presentó mayor actividad dehidrogenasa que el testigo, lo que puede deberse a que este tratamiento fue sembrado con lupino, especie que se caracteriza por exudar altas cantidades de ácidos orgánicos, además, existe una continua exudación de enzimas y sustancias orgánicas por parte de las raíces de estas plantas (Dkhar y Mishra, 1983), lo que genera una alta asociación de las raíces de este cultivo con los microorganismos (Borie y Moraga, 1993) todo lo cual favorece la actividad microbiana y, por tanto, la actividad dehidrogenasa

A los 150 días desde la aplicación de los herbicidas todos los tratamientos presentaron una actividad dehidrogenasa similar excepto el tratamiento MCPA+metsulfuron-metil que presentó un promedio mayor, en general este tratamiento mantuvo una actividad dehidrogenasa alta en el tiempo.

El nivel de actividad fosfatasa ácida (Figura 4) fluctuó entre 3,520 – 6,507 μ moles de PNF/gr de s.s. Antes de la aplicación de herbicidas, los distintos tratamientos no presentaron diferencias significativas respecto al testigo, sin embargo, a los 15 y 66 días la actividad fosfatasa ácida disminuyó significativamente en todos los tratamientos en alrededor de 10-19% y 16-21% respectivamente, cuando fueron comparados con el testigo. A los 150 días el control y el tratamiento simazina presentaron valores de actividad fosfatasa ácida significativamente más altos que los otros tratamientos.

FIGURA 4. Efecto de los herbicidas en la actividad fosfatasa ácida en suelo Andisol transcurridos diferentes períodos desde la aplicación. Cifras con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

FIGURE 4. Effect of herbicides on soil acid phosphatase activity after different days of application. Different letters indicate significantly different means at $p < 0.05$ according to orthogonal contrast.

Algunos de estos resultados han sido encontrados en otras investigaciones, las que concluyeron que la presencia de algunos herbicidas disminuye la actividad fosfatasa ácida en el suelo (Perucci *et al.*, 1988; Ismail *et al.*, 1995). Speir y Ross (1978), describen que las triazinas, grupo al cual pertenece la simazina, reducen la actividad fosfatasa ácida. Sin embargo es necesario considerar que el tratamiento Simazina estaba sembrado con lupino, cultivo que se caracteriza por exudar grandes cantidades de fosfatasa a nivel radical en comparación a otros cultivos (Borie y Moraga, 1993), efecto que se manifestó en este muestreo.

La actividad ureasa (Figura 5), presentó valores que fluctuaron entre 7,06 - 117,07 $\mu\text{moles de NH}_3/\text{g de s.s.} \cdot \text{hr}$ para los diferentes tratamientos. Antes de la aplicación de los herbicidas no se observaron diferencias significativas al comparar los diferentes tratamientos con el testigo (Figura 5). Este mismo resultado se observó a los 15

días en donde los valores de actividad ureasa de los distintos tratamientos no mostraron diferencias significativas con el testigo excepto el tratamiento Simazina el cual alcanzó los valores de actividad más alto.

A los 66 días en comparación con el día 15, la actividad de esta enzima en todos los tratamientos, incluyendo al testigo, disminuyó fuertemente, lo cual coincidió con un período de estrés hídrico, sin embargo como se puede observar en la Figura 5 el tratamiento testigo en este muestreo presentó la mayor actividad ureasa. Este mismo efecto se pudo observar a los 150 días donde el testigo continuó manteniendo una mayor actividad ureasa.

FIGURA 5. Efecto de los herbicidas en la actividad ureasa en suelo Andisol transcurridos diferentes períodos desde la aplicación. Cifras con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

FIGURE 5. Effect of herbicides on soil urease activity after different days of application. Different letters indicate significantly different means at $p < 0.05$ according to orthogonal contrast.

La alta actividad ureasa expresada en el tratamiento con simazina a los 15 días, puede deberse a que este tratamiento fue sembrado con lupino, según lo reportado por Skujins (1978), se ha observado un considerable incremento en la actividad ureasa en la rizósfera de leguminosas a diferencia de otros cultivos. Este fuerte incremento no se mantuvo en el tiempo, lo que puede explicarse de acuerdo a lo señalado por Dkhar y Mishra (1983), quienes indican que la mayor cantidad de enzimas exudadas por las raíces se produce cuando las plantas están en crecimiento, lo que coincidió con la fe-

cha del segundo muestreo, sin embargo un incremento temporal de la enzima, por un aumento en los exudados radicales, no es detectado después de algunas semanas debido a que está expuesta a la descomposición por los microorganismos y las enzimas proteolíticas (Bremner y Mulvaney, 1978)

La actividad ureasa de los tratamientos trifluralina, MCPA+metsulfuron-metil presentaron diferencias significativas al ser comparados con el testigo (Figura 5), lo que pudiera indicar que los distintos herbicidas aplicados a los tratamientos estarían afectando esta actividad.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con los tres tratamientos de herbicidas indican que, se provoca un desequilibrio inicialmente en las actividades biológicas en la biota del suelo, observándose un estado transitorio de baja actividad de ésta, la que se va recuperando en el tiempo, lo que dependería de las características fisicoquímicas del herbicida, persistencia y dosis utilizada.

La población microbiana se ve afectada negativamente por el uso de xenobióticos, al menos en el primer y segundo muestreo, luego los resultados indican que el NBM y la actividad dehidrogenasa en el testigo al final del experimento fue igual o inferior a los tres tratamientos con herbicidas. Al igual que la actividad fosfatasa ácida fue similar entre testigo y simazina al final del ensayo, lo que sugiere que, hay una tendencia a reestablecer el equilibrio bioquímico existente originalmente.

De los parámetros evaluados, las actividades enzimáticas fueron las más sensibles a la aplicación de herbicidas.

Por otro lado, los cultivos involucrados en los tratamientos presentaron una influencia positiva sobre los parámetros biológicos. Considerando que las actividades enzimáticas no fueron condicionadas sólo por la aplicación de los herbicidas sino también por los cultivos de cada tratamiento, es necesario realizar más estudios que permitan dilucidar la relación entre los parámetros biológicos y los diferentes manejos agronómicos que incluyan la aplicación de herbicidas.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por Proyectos DIDUFRO N° 9810 y DIDUFRO N° 120316, de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad de La Frontera.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVEAR, M., ROSAS, A., J. L. ROUANET., y F. BORIE ., Effects of three soil tillage systems on some biological activities in an Ultisol from southern Chile Soil & Tillage Research 82, 195-202.
- BOLINDER, M., ANGERS, D., GREGORICH, E., y CARTER, M., 1999. The response of soil quality indicators to conservation management. Canadian Journal Soil Science (Canadá) 79: 37-45.
- BORIE, F., y MORAGA, E. 1993. Phosphatase activity associated with roots of four lupin cultivars. En: VIIth International Lupin Conference, Evora, Portugal, I: 2-6.
- BREMNER, J., y MULVANEY, R. 1978. Urease activity in soils. En: Burns, R (Editor) Soil Enzymes. Academic Press. Londres, Inglaterra pp: 149-187.
- CHEW, V., 1976. Comparing Treatment Means: A Compendium. Hort Science 11: 345- 348.
- CASIDA, L., KLEIN, D., and SANTORO, T., 1964. Soil dehydrogenase activity. Soil Science 98: 371-376.
- DKHAR, M., and MISHRA, R., 1983. Dehydrogenase and urease activities of maize (Zea mais L.) field soils. Plant and Soil 70: 327-333.
- DORAN, M., SAFLEY. 1997. Defining and Assessing Soil Health and Sustainable Productivity. En Pankhurst, C. Doube, B.M. Gupta V.V.S.R. (Eds.)
- DUMONET, S., PERUCCI, P., SCOPA, A. and RICCIARDI, A., 1993. Sulfonylureas: Preliminary study on the effect on selected microbial strains and soil respiration. Soil Science 1: 193-198.
- EDWARDS, C., 1989. Impact of herbicides on soil microcosms. Critical Reviews in Plant Science 8: 221-253.
- ISMAIL, B., 1995. Effects of glufosinate-ammonium on microbial populations and enzyme activities in soils. Microbios 83: 183-190.
- GARCIA, J. 1987. La contaminación y el equilibrio ecológico. En: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. INIA ETIMSA. Madrid pp: 47-227.
- JOERGENSEN, R., and BROOKES, P., 1990. Ninhydrin-reactive measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. Soil Biology & Biochemistry 22: 1023-1027.

- KARLEN D.L., S.S. SINDREWS, J.W. DORAN. 2001. Soil Quality : Current Concepts and Applications. *Advances in Agronomy*. 74: 1-22.
- KIRCHNER, M., WOLLUM, A., y KING, L. 1993. Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. *Soil Microbiology and Biochemistry (Estados Unidos)* 57: 1289-1295.
- KLODKA, D., and NOWAK, J., 2004. Influence of combined fungicides and adjuvants application on enzymatic activity and ATP content in soil. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. <http://www.ejpau.media.pl/series/volume7/issue1/environment/art-01.html>.
- LADD, J. 1978. Origin and range of enzymes in soil. En: Burns, R. (Editor) *Enzymes in Soil*. Academic Press. Inglaterra pp: 51-80.
- LYNCH, J., y PANTING, L. 1980. Cultivation and the soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry (Estados Unidos)* 12: 29-33.
- MARZOCCA, M., GOMEZ, L., VELOSO, V., MAVREK, G., ALASIA, M., y DÍAZ, A. 1996. Efecto de la Atrazina sobre la respiración de cuatro suelos agrícolas. En: XIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del suelo (en CD room). Aguas de Lindoia, SP, Brasil.
- Mc LEAN, E. 1982. EN: Page, A.(Editor). *Methods of soil analysis*, part. 2 *Agronomy* 9 (24). Madison, Wisconsin, U.S.A. pp.199-223.
- MELLA, A., and KÜNE, A., 1985. Sistemática y descripción de las familias, asociaciones y series de suelos derivados de materiales piroclásticos de la zona central-sur de Chile. In: Tosso, J. (Ed.) *Suelos volcánicos del sur de Chile*. INIA, Santiago, Chile pp. 549-715.
- MOORMAN, T.B., COWAN, J.K., ARTHUR, E.L., and COATS, J.R., 2001. Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils* 33: 541-545.
- OLSEN, S., and SOMMERS, L., 1982. *Methods of soil analysis*, par. 2 *Agronomy* 9 (24). Madison, Wisconsin, pp, 403-427.
- PACCOLA, E., BALOTA, E., RODRIGUEZ, B., y MACHINESKI, O. 1996. Avaliações microbiológicas na cultura do milho com aplicações de herbicidas. En: XIII Congresso Latinoamericano de Ciencias del Suelo (en CD room). Aguas de Lindoia, SP, Brasil.
- PERUCCI, P., DUMONTET, S., BUFO, S. A., and MAZZATURA, A., 2000. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 33: 17 - 23.
- PERUCCI, P., SCARPONI, L. and MONOTTI, M., 1988. Interference with soil phosphatase activity by maize herbicidal treatment and incorporation of maize residues. *Biology and Fertility of Soils* 6: 286-291.
- PETERSEN, R. 1977., Use and Misuse of Multiple Comparison Procedures. *Agronomy Journal* 69: 205-208
- ROCHA, M., MINHONI, M., NEIRA, A., y MESSI, M. 1996. Biomassa microbiana, consumo de O₂ e propágulos microbianos viáveis em solo adicionado de Trifluralina. En XIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Suelo (en CD room). Aguas de Lindoia, SP, Brasil.
- RUBIO, R., MORAGA, E., BORIE, F., 1990. Acid phosphatase activity and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection associated with roots of four wheat cultivars. *Journal Plant Nutrition*. 13, 585-598.
- SANNINO, F., and GIANFREDA, L., 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere* 45: 417-425.
- SARATHCHANDRA, S., PERROTT, K., BOASSE, M., y WALLER, J. 1988. Seasonal changes and the effects of fertilizer on some chemical, biochemical microbiological characteristics of high-producing pastoral soil. *Biology and Fertility of Soils (Estados Unidos)* 6: 328-335.
- SCHILLING, G., GRAANSE A., DEUBEL, A., LEZOVIC G., and RUPPEL, S., 1998. Phosphorus availability, root exudates, and microbial activity in the rhizosphere. *Journal Plant Nutrition Soil Science* 161: 465-478.

- SIERRA, D. 1990. La fertilidad del suelo y la labranza conservacionista. IPA Remehue (Chile) 11: 19-23.
- SKUJINS, J., 1978. Extracelular enzymes in soil. CRC Critical Reviews in Microbiology 4: 383-421.
- SPEIR, T. and ROSS, D., 1978. Soil phosphatase and sulphatase. In: Burns, R. (Editor). Enzymes in Soil, Academic Press, England, pp. 400.
- VANCE, E., BROOKES, P., and JENKINSON, D., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology & Biochemistry 19: 703-707.
- VIDAL, I., ETCHEVERS, J., y FISCHER, A. 1997. Biomasa microbiana en un suelo sometido a diferentes manejos de labranza y rotación. Agricultura Técnica (Chile) 57 (4): 272-281.
- VISCHETTI, C., PERUCCI, P., and SCARPONI, C., 1997. Rimsulfuron in soil: Effect of persistence on growth and activity of microbial biomass at varying environmental conditions. Biogeochemistry 39: 165-176.
- WALKLEY, A., and BLACK, I., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
- WARDROP, A. J., 1986. Environmental effects of herbicides used in conservation cropping systems: A review. Tech. Rep. Ser. No.129. Department of Agriculture and Rural Affairs, Victoria.
- WARDLE, D., and PARKINSON, D., 1990. Interactions between microclimatic variables on the soil microbial biomass C. Soil Biology & Biochemistry 9: 273-280.