

Influencia del plaguicida clorpirifos sobre la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática en yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.)

Effect of chlorpyrifos on photosynthesis, transpiration and stomatal conductance of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.).

Alicia Emilia CASTILLO , Pedro Alfonso SANSBERRO y Claudia Verónica LUNA

Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2131. Corrientes, Argentina.
E-mails: aecast@yahoo.com.ar y castillo@agr.unne.edu.ar  Autor para correspondencia

Recibido: 04/08/2009
Primera revisión recibida: 15/11/2009

Fin de primer arbitraje: 29/09/2009
Aceptado: 12/12/2009

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo observar los efectos del pesticida clorpirifos sobre la conductancia estomática, fotosíntesis y transpiración en yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Se realizó un ensayo en cámara con condiciones controladas y plantas de yerba mate, una por maceta, a las que se les aplicaron tres dosis de clorpirifos (50, 100 y 150 ppm) y un testigo sin pesticida. Uno, 7 y 21 días después de la aplicación se evaluaron la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática. Ninguna de las variables evaluadas fue afectada con las dosis aplicadas. Sin embargo, con la edad de las plantas incrementaron significativamente la conductancia estomática (300%), la fotosíntesis (116%) y la transpiración (285%) entre los 7 y 21 días.

Palabras clave: Clorpirifos, fisiología vegetal, tasa fotosintética, yerba mate.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of chlorpyrifos on stomatal conductance, photosynthesis and transpiration on yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) plants. The experiment was conducted in a chamber under controlled conditions. The plants (one/pot) were sprayed with three doses (50, 100 and 150 ppm of chlorpyrifos) and a non pesticide-sprayed control. Stomatal conductance, photosynthesis and transpiration were evaluated at 1, 7 and 21 days after pesticide application. The mentioned traits were not affected by the pesticide application doses. However, significative differences were found as the plants were growing and traits increased between 7 and 21 days in 300% for stomatal conductance, 116% for photosynthesis and 285% for transpiration.

Key words: Chlorpyrifos, vegetal physiology, photosynthetic rate, *Ilex paraguariensis*.

INTRODUCCIÓN

El uso de pesticidas es a menudo necesario en la producción vegetal, para prevenir daños de insectos en los cultivos. Sin embargo, su uso puede llegar a niveles de toxicidad y afectar negativamente el crecimiento y desarrollo vegetal. El impacto de los insecticidas en los procesos de intercambio gaseoso en la planta es poco entendido, aunque su uso extensivo se ha sugerido como limitativo para la productividad de las cosechas. Si un insecticida altera la fisiología vegetal, la cosecha puede ser afectada (Qiu *et al.*, 2002). Algunos estudios han demostrado efecto significativo de los insecticidas sobre la fisiología de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) y la soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Haile *et al.*, 1999).

Los insecticidas aplicados en el follaje pueden afectar la fotosíntesis, por el cierre parcial de los estomas. A la vez, estos efectos pueden retrasar o disminuir la calidad de la producción. Es el caso de la actividad fotosintética de la lechuga que disminuyó en forma no permanente con la aplicación de algunos insecticidas, aunque su biomasa seca final se mantuvo sin cambio (Haile *et al.*, 2000). Por lo tanto, parece necesario entender los efectos de los insecticidas, usados más frecuentemente, en la fisiología vegetal y regular esos efectos (Untiedt y Blanke, 2004).

Se han realizado distintos estudios referidos a evaluar el comportamiento de los diferentes fenómenos fisiológicos, luego de la aplicación de pesticidas. Por ejemplo, los índices fotosintéticos de lechuga fueron reducidos sensiblemente por algunos

insecticidas a partir de las cuatro horas de una pulverización. Sin embargo, la reducción en fotosíntesis de la lechuga por dichas aplicaciones era solamente temporal, de tal forma que no hubo una alteración perceptible del peso seco de la planta (Haile *et al.*, 2000).

Entre los pesticidas más usados se encuentran los organofosforados, como el cloropirifos. El efecto que producen estos pesticidas en los seres vivos es la inhibición de la acetilcolinesterasa, una enzima que impide la acción de la acetilcolina por catálisis de su hidrólisis, con lo que se interrumpe el funcionamiento normal de la transmisión de impulsos nerviosos en animales. Sus residuos pueden persistir en las plantas de 10 a 14 días, y el cloropirifos puede acumularse a veces en las plantas por un tiempo más prolongado.

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) es un árbol o un arbusto cuyas hojas secas y trituradas se utilizan en regiones de Sudamérica para preparar una bebida tradicional que data de las épocas precolombinas. La República Argentina, favorecida por sus condiciones agroclimáticas, es el principal productor mundial, la producción nacional de yerba mate canchada (seca) en el año 2008 fue de 235,1 millones de kilogramos concentrándose su cultivo en las provincias de Misiones (88,9%) y Corrientes (11,1%) donde se registran 202.736,33 ha plantadas con yerba mate (INYM, 2009). Por su parte, Brasil, caracterizado por un sistema de explotación extractivo de los montes nativos, posee 85.000 ha, mientras que en Paraguay ésta alcanza a 35.000 ha (Gortari, 2007).

Por el volumen de producción e importancia económica que representa, es necesario mantener un nivel de sanidad óptimo, básicamente de las hojas, que sería la materia prima, ya que el cultivo cuenta con algunas plagas importantes tales como, el “Rulo” o Psílido de la yerba mate (*Gyropsylla spegazziniana* Lizer), el taladro grande o “tigre de la yerba mate” (*Hedyphates betulinus* Klug), el marandová de la yerba mate u oruga rabuda, (*Perigonia lusca* F.) y ácaros, que en su mayoría son controlados con productos organofosforados (Burtnik, 2003; CEUTA, 2006).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de cloropirifos sobre la conductancia estomática, fotosíntesis y transpiración en yerba mate, en condiciones controladas de crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento

Fue establecido en macetas en cámara climatizada bajo condiciones controladas con una planta por maceta y una maceta por repetición. Los tratamientos fueron: Control (rociado con agua) (T_0) y tres dosis de cloropirifos: (T_1) 50 ppm, (T_2) 100 ppm, y (T_3) 150 ppm. El insecticida fue aplicado solamente al inicio de la experiencia, teniendo en cuenta que la vida media del producto generalmente está entre 60 y 120 días. Se cuantificó la tasa de fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración a los 1, 7 y 21 días después de la aplicación del producto.

Pesticida

Se usó el insecticida de nombre comercial TauroL. O, en forma de emulsión con 48% de cloropirifos.

Material vegetal y condiciones del ensayo

Las plantas de yerba mate pertenecían al clon SI-49 (Las Marías Co.), de aproximadamente 4 años de edad, pertenecientes al vivero del establecimiento. Las mismas se transplantaron a macetas de polietileno de 4 L, con suelo rojo del orden ultisol (Gob. Virasoro, Corrientes). El suelo se mantuvo a capacidad de campo y el riego fue diario. Las condiciones dentro de la cámara climatizada fueron: temperaturas entre 27 ± 1 y 22 ± 2 °C día/noche, fotoperíodo de 14 h, densidad de flujo fotosintético del fotón $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a partir de lámparas fluorescentes y humedad relativa entre 50 y 55%.

Intercambio gaseoso foliar y medición de conductancia estomática

Las tasas de intercambio gaseoso foliar y la conductancia estomática (gs) fueron evaluadas en hojas completamente maduras y enteras, localizadas en el 6^{to} nudo a partir del ápice y en horas del mediodía, con un analizador de gases en el infrarrojo, con el sistema de intercambio abierto (Li-Cor LI-6400). La fuente de luz LI-6400 fue utilizada para controlar las densidades de flujo fotosintéticas del fotón (PPFD) a $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La corriente de aire de entrada fue mantenida a $350 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mol}^{-1}$ con un sistema de mezcla controlado de CO_2 , suministrado por el LI-6400. Las hojas, la cubeta, y temperatura del aire fueron medidas con

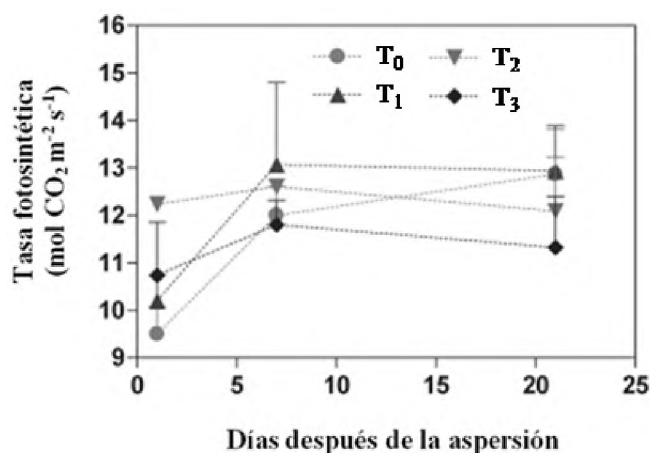
termocuplas. La temperatura de la cámara de medición y el tejido de la hoja fue mantenida a 27 °C con un módulo Peltier controlado y colocado sobre la cubeta. Esta temperatura fue equivalente a la media del ambiente dentro de la cámara de ambiente controlado. El déficit de la presión de vapor de hoja a aire en la cámara fue mantenido aproximadamente a 1,6 KPa.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño estadístico de bloques completos al azar, con tres repeticiones y una maceta con una planta como unidad experimental. Se realizó análisis de varianza y se utilizó la prueba de Duncan de comparación múltiple para evaluar diferencias entre las medias de los tratamientos ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Los resultados del presente estudio podrían representar la primera aportación de los efectos fisiológicos del clorpirifos en yerba mate. Actualmente existe información equivalente con dimetoato (Schmalko *et al.*, 2002). La fotosíntesis el primer día fue mayor en los tratamientos con el pesticida respecto al control. En los siguientes días no se observó una tendencia única; aunque el menor valor se observó en el tratamiento con la dosis mayor (Figura 1). Comportamiento similar fue observado en berenjena (*Solanum melongena* L.) por Yu *et al.* (2006).

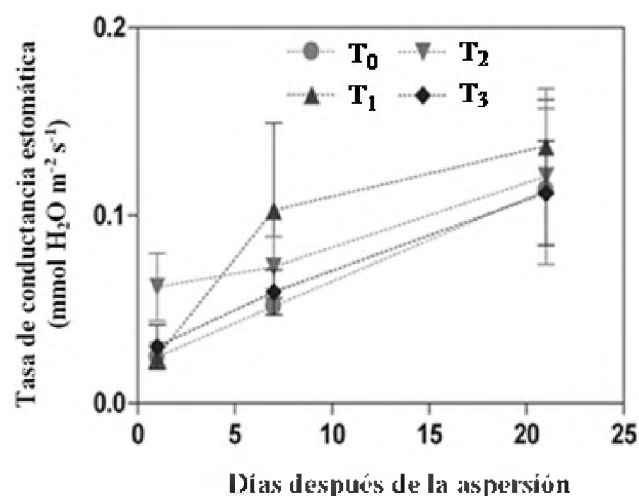


T₀: Control (rociado con agua); T₁: 50 ppm, T₂: 100 ppm y T₃: 150 ppm de clorpirifos. Promedio de tres repeticiones

Figura 1. Tasa fotosintética de hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 de acuerdo a las dosis de clorpirifos aplicadas.

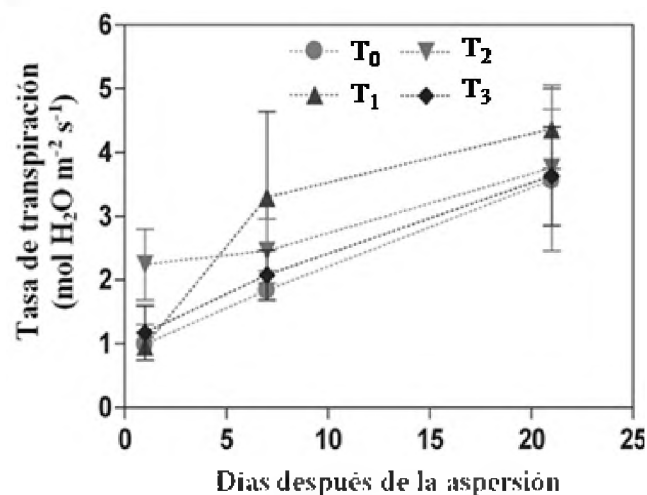
La conductancia estomática en el T₀ presentó el valor menor, el T₃ presentó niveles similares, mientras que el T₁ tuvo un incremento sostenido (Figura 2).

El T₀ mantuvo la menor transpiración durante los 21 días de evaluación, el T₃ mantuvo valores similares a T₀; mientras que el T₁ tuvo un crecimiento sostenido (Figura 3).



T₀: Control (rociado con agua); T₁: 50 ppm, T₂: 100 ppm y T₃: 150 ppm de clorpirifos. Promedio de tres repeticiones

Figura 2. Tasa de conductancia estomática de hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 de acuerdo a las dosis de clorpirifos aplicadas.



T₀: Control (rociado con agua); T₁: 50 ppm, T₂: 100 ppm y T₃: 150 ppm de clorpirifos. Promedio de tres repeticiones

Figura 3. Tasa de transpiración de hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 de acuerdo a las dosis de clorpirifos aplicadas.

El análisis estadístico indicó que las medias totales de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática fueron estadísticamente similares entre las dosis de clorpirifos aplicadas (Cuadro 1) y los valores medios incrementaron significativamente a través del tiempo en todos los tratamientos; aunque, el nivel menor correspondió al tratamiento con la mayor dosis aplicada. Diferencias altamente significativas fueron observadas en la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática entre el primer día y 21 días posteriores a la aplicación del plaguicida (Cuadro 2) en los tratamientos con y sin insecticida.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos pueden indicar que las concentraciones empleadas de clorpirifos no afectan las tasas fotosintética y transpiratoria y la conductancia estomática de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 durante los primeros 21 días. Estos resultados son parcialmente parecidos a los encontrados por otros autores en especies, como *G. max*. Así, en soja se observó que los índices de la conductancia estomática y transpiración fueron significativamente similares entre los tratamientos con insecticida (Haile *et al.*, 1999). En contraste, otros autores encontraron que esta especie disminuye su tasa fotosintética en los

primeros días posteriores a la aplicación, respecto al testigo (Abdel-Reheem *et al.*, 1991; Li *et al.*, 2008).

Para la alfalfa los niveles fotosintéticos encontrados no presentaron diferencias ante algunos insecticidas probados (piretroides, permetrina, clorpirifos, carbofuran, carbaril y espinosad) estos insecticidas son químicamente disímiles en distintas etapas del crecimiento o reproductivas (Haile *et al.*, 1999).

La aplicación de clorpirifos en las dosis aplicadas y su posible efecto sobre la fotosíntesis se han investigado también en pepino (*Cucumis sativus* L.). En esa especie se observó que la inhibición de la fotosíntesis fue acompañada por la disminución en la conductancia estomática (Xia *et al.*, 2006). Sin embargo, el resultado significativo del efecto de los pesticidas se ha podido observar después de algunos días de la aplicación. La tasa fotosintética de lechuga en almácigo fue reducida por algunos insecticidas (endosulfan, metomil, acefato) a partir de las 4 h y hasta los 2 días después de la aplicación. Dicha reducción sólo fue transitoria, debido a que la lechuga recuperó los niveles de fotosíntesis considerados normales a partir de los 5 días de que la aplicación fuera hecha. No se encontraron diferencias en el rendimiento de su biomasa seca (Haile *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Niveles medios totales de tasa fotosintética, conductancia estomática y transpiración de hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 de acuerdo a las dosis de clorpirifos aplicadas.*

Dosis	Tasa fotosintética (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Tasa de conductancia estomática (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	Tasa de transpiración (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
T ₃	11,29 A	0,06 A	2,13 A
T ₀	11,46 A	0,07 A	2,29 A
T ₁	12,07 A	0,09 A	2,82 A
T ₂	12,31 A	0,09 A	2,88 A

T₀: Control (rociado con agua); T₁: 50 ppm, T₂: 100 ppm y T₃: 150 ppm de clorpirifos. Promedio de tres repeticiones

* Letras iguales no difieren estadísticamente (p < 0,05).

Cuadro 2. Niveles medios totales de tasa fotosintética, conductancia estomática y transpiración de hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clon SI-49 de acuerdo a los días transcurridos después de la aplicación de clorpirifos.*

Días **	Tasa fotosintética (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Tasa de conductancia estomática (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	Tasa de transpiración (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
1	10,67 A	0,04 A	1,34 A
7	12,30 B	0,07 A	2,42 B
21	12,37 B	0,12 B	3,83 C

* Letras iguales no difieren estadísticamente (p < 0,05).

** Días después de la aspersión de clorpirifos

CONCLUSIÓN

El cloropirifos en dosis entre 50 y 150 ppm no afectó la fisiología de la yerba mate. El incremento de las tasas fotosintética y transpiratoria y la conductancia estomática aumentaron con el tiempo de la aplicación y no se puede señalar que sea resultado de la degradación del pesticida ya que el testigo tuvo el mismo comportamiento. Se sugiere realizar nuevas evaluaciones con otros niveles de pesticida y tiempo más prolongado.

LITERATURA CITADA

- Abdel Reheem, S.; M. H. Belal and G. Gupta. 1991. Photosynthesis inhibition of soybean leaves by insecticides. *Environ. Poll.* 74: 245-250.
- Burtnik, O. 2003. Manual del pequeño productor yerbatero correntino. INTA-Secretaría de Extensión Rural Santo Tomé, Corrientes, Argentina. 30 p.
- Centro Uruguayo de Tecnologías Apropriadadas (CEUTA). 2006. Agrotóxicos en Uruguay: miradas desde los afectados. Montevideo, Uruguay. 58 p.
- Gortari, J. 2007. El Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM) como dispositivo político de economía social: mediación intrasectorial en la distribución del ingreso, empoderamiento del sector productivo y desarrollo local en la región yerbatera. *IADE. Buenos Aires. Realidad Económica* 232: 21-31.
- Haile F. J.; R. K. D. Peterson and L. G. Higley. 1999. Gas exchange responses of alfalfa and soybean treated with insecticides. *J. Econ. Entomol.* 92: 954-959.
- Haile, F. J.; D. L. Kerns, J. M. Richardson and L. G. Higley. 2000. Impact of insecticides and surfactant on lettuce physiology and yield. *J. Econ. Entomol.* 93: 788-794.
- Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM). 2009. Estadísticas de producción. <http://www.inym.org.ar/>. Consultado el 12 de diciembre de 2009.
- Li, W. J.; Z. K. Gao, M. Wang, Y. P. Cao and Z. J. Xue. 2008. Toxicological effects of omethoate on leaf photosystem II of cole. *Chin. J. Appl. Ecol.* 19: 2317-2321.
- Qiu B.; J. Liu, Z. Liu and S. Liu. 2002. Distribution and ecology of the edible cyanobacterium Ge-Xian-Mi (Nostoc) in rice fields of Hefeng County in China, *J. Appl. Phycol.* 14: 423-429.
- Schmalko, M. E.; L. A. Ramallo, D. Ferreira and L. D. Belingheri. 2002. Dimethoate degradation in plants and during processing of Yerba Mate Leaves. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 45: 419-422.
- Untiedt, R. and M. M. Blanke. 2004. Effects of fungicide and insecticide mixtures on apple tree canopy photosynthesis, dark respiration and carbon economy. *Crop Protect.* 23: 1001-1006.
- Untiedt, R. and M. M. Blanke. 2004. Effects of fungicide and insecticide mixtures on apple tree canopy photosynthesis, dark respiration and carbon economy. *Crop Protect.* 23 (10): 1001-1006.
- Xia, X. J.; Y. Y. Huang, L. Wang, L. F. Huang, Y. L. Yu, Y. H. Zhou and J. Q. Yu. 2006. Pesticides induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. *Pest. Biochem. and Physiol.* 86:42-48.
- Yu, J.; Y. Zhang, C. Niu and J. Li. 2006. Effects of two kinds of allelochemicals on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Solanum melongena* L. seedlings. *Chin. J. Appl. Ecol.* 17: 1629-1632.