

**ARRASTRE DE COBRE POR ACCIÓN DE ESCORRENTÍA SUPERFICIAL Y
EROSIÓN HÍDRICA EN SUELOS BAJO CULTIVO DE CAFÉ**



Laura Victoria Cruz Salazar

**Director
Edier Humberto Pérez, PhD**

**Codirectora
María Cristina Gallego Roper, PhD**

**Universidad del Cauca
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación
Maestría en Recursos Hidrobiológicos Continentales
Popayán, 2018**

**ARRASTRE DE COBRE POR ACCIÓN DE ESCORRENTÍA SUPERFICIAL Y
EROSIÓN HÍDRICA EN SUELOS BAJO CULTIVO DE CAFÉ**

Laura Victoria Cruz Salazar

Trabajo de grado como requisito para optar al Título de Magister en Recursos
Hidrobiológicos Continentales

Director
Edier Humberto Pérez, PhD

Codirectora
María Cristina Gallego Roper, PhD

Universidad del Cauca
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación
Maestría en Recursos Hidrobiológicos Continentales
Popayán, 2018

Índice

1. INTRODUCCIÓN	4
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	6
2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	8
3. JUSTIFICACIÓN	9
4. OBJETIVOS	10
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	10
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
5. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	11
5.1 COBRE	11
5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (EAA).....	12
5.3 SIMULADOR DE LLUVIA	12
5.4 ESCORRENTÍA SUPERFICIAL	13
5.5 EROSIÓN	13
5.6 EROSIÓN HÍDRICA	13
5.7 BIOENSAYOS.....	14
5.8 BIOINDICADOR	14
5.9 <i>ARTEMIA FRANCISCANA</i>	14
6. METODOLOGÍA	16
6.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	16
6.2 EVALUACIÓN DE ESCORRENTÍA SUPERFICIAL MEDIANTE SIMULADOR DE LLUVIA	17
6.2.1 ESCORRENTÍA SUPERFICIAL	19
6.2.2 ESCORRENTÍA SUPERFICIAL	19
6.2.3 EROSIÓN	19
6.3 DETERMINACIÓN DE COBRE EN MUESTRAS AMBIENTALES	20
6.3.1 MUESTRAS DE SUELO	20
6.3.2 MUESTRAS DE AGUA	20
6.3.3 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (EAA).....	21
6.4 PRUEBA DE TOXICIDAD DE CU.....	21
6.5 ANÁLISIS DE DATOS.....	23
6.5.1 DETERMINACIÓN DE COBRE EN EL SUELO	23
6.5.2 DETERMINACIÓN DE COBRE	23
6.5.3 BIOENSAYO CON <i>ARTEMIA FRANCISCANA</i>	23
7. RESULTADOS	24
8. DISCUSIÓN	40
9. CONCLUSIONES	46
10. RECOMENDACIONES	47
11. REFERENCIAS	48

Lista de Figuras

Figura 1. Área de estudio.	16
Figura 2. Componentes del mini simulador de lluvia.	17
Figura 3. Esquema de recolección de muestras	18
Figura 4. Minisimulador de lluvia instalado en campo.	19
Figura 5. Mediciones de cobre por Espectrofotometría de absorción atómica.	21
Figura 6. Cámara ambiental empleada en la prueba de toxicidad.	22
Figura 7. Curvas de absorbancia del cobre. A. muestreos 1,2 y 3. B. muestreos 4 al 12.	24
Figura 8. Histogramas para las variables cobre total y suelo erodado	26
Figura 9. Histogramas para escorrentía y humedad.	27
Figura 10. Histograma para la densidad aparente	27
Figura 11. Graficas de normalidad para la variable suelo erodado.	28
Figura 12. Anormalidad de los datos de suelo erodado.	28
Figura 13. Anormalidad de los datos de escorrentía	29
Figura 14. Prueba de normalidad para escorrentía	29
Figura 15. Distribución de probabilidad para humedad	30
Figura 16. Distribución de probabilidad para densidad aparente	31
Figura 17. Probabilidad de cobre total	32
Figura 18. Diagramas de dispersión y Coeficiente de determinación para cobre total y suelo erodado	35
Figura 19. Regresión lineal entre cobre total y suelo erodado.	36
Figura 20. Evolución de CL_{50} de Cu^{++} en <i>Artemia franciscana</i> en el tiempo	38

Lista de Tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva de las variables.	25
Tabla 2. Medidas de tendencia central para los datos relativos al suelo.	26
Tabla 3. Prueba de normalidad para humedad según SPSS	30
Tabla 4. Prueba de normalidad para la densidad aparente	31
Tabla 5. Tabla de test de normalidad para cobre total	31
Tabla 6. Prueba de normalidad para cobre en las parcelas	32
Tabla 7. ANOVA cobre total y humedad	33
Tabla 8. ANOVA para cobre total y escorrentía	33
Tabla 9. ANOVA para cobre total y densidad aparente	34
Tabla 10. ANOVA para cobre total y suelo erodado	34
Tabla 11. ANCOVA para cobre total y suelo erodado	35
Tabla 12. Mortalidad de organismos a diferentes concentraciones para CL ₅₀ a las 6, 12, 24 y 48 horas	37
Tabla 13. CL ₅₀ para el Cu ⁺⁺	37
Tabla 14. Clasificación de toxicidad CYTED.	38
Tabla 15. Toxicidad CL ₅₀ y su evolución en el tiempo	39
Tabla 16. Rangos de cobre en la fertilidad del suelo. Valores dados en mg/Kg.	41
Tabla 17. Valores de referencia de Cu ⁺⁺ para suelos, en mg/Kg y su recomendación para intervención.	42

Acrónimos

CL₅₀: Concentración letal 50

Cu: Cobre

EAA: Espectroscopía de Absorción Atómica

CIC: capacidad de intercambio catiónico

RESUMEN

El objetivo del presente estudio es determinar la concentración de cobre que es arrastrada por escorrentía superficial y erosión hídrica en suelos bajo cultivo de café, ubicados en el municipio de Cajibío, departamento del Cauca. Para la fertilización y fumigación de estos cultivos, se utilizan compuestos derivados y/o a base del cobre, que pueden llegar a generar toxicidad en ecosistemas acuáticos debido al arrastre del metal por medio de la escorrentía superficial, para lo cual se determina la concentración letal media $CL_{5024-48h}$ de cobre total en *Artemia franciscana*.

Se realizaron muestreos quincenalmente durante 6 meses, en cada muestreo se utilizó un simulador de lluvia y un sistema uniforme de goteo para medir el impacto de la escorrentía superficial sobre el suelo. Esto en tres parcelas con diferentes pendientes ($p_{10}=55\%$, $p_{13}=25\%$ y $p_{14}=18\%$). Adicionalmente se midieron variables como densidad aparente, humedad del suelo y suelo erodado para cada parcela. En el laboratorio se empleó una cámara ambiental para simular las condiciones de un ecosistema acuático y determinar el impacto de las concentraciones de cobre, con el tiempo, sobre el bioindicador *Artemia franciscana*.

Se encontró que la media de concentración de cobre total en el suelo erodado por acción de la escorrentía es 0.713 mg/Kg, y que la concentración de cobre arrastrada en la fase líquida de la escorrentía es menor al límite de detección del método empleado. La escorrentía superficial, el suelo erodado y la concentración de cobre no son diferentes significativamente entre las 3 parcelas. Por otra parte, se halló una CL_{50-24h} de 5 mg/L y CL_{50-48h} de 2.5 mg/L, concentraciones catalogadas como extremadamente tóxicas, que aunque no fueron halladas en campo, debe tenerse especial cuidado, por el efecto del cobre en el tiempo, pues los efectos causados por el cobre no son inmediatos sobre *Artemia franciscana*.

De acuerdo a diversos autores, la concentración de cobre hallada en el suelo es catalogada como concentración baja, en lo cual influyen factores como la textura del suelo, la capacidad de intercambio catiónico, el pH, microorganismos, entre otras variables que facilitan la movilidad del cobre en el perfil del suelo, notándose poca concentración en el horizonte O.

Palabras clave: Cobre, escorrentía, toxicidad, erosión, *Artemia franciscana*, suelo, café.

ABSTRACT

The objective of this study is to determine the concentration of copper that is dragged by surface runoff and water erosion in soils under coffee cultivation, located in the municipality of Cajibío, department of Cauca. To fertilize and fumigate these crops, derivatives and / or copper-based compounds are used, these compounds can generate toxicity in aquatic ecosystems due to metal drag by means of surface run-off, and for this reason it is necessary to determine the mean lethal concentration $CL_{50-24-48h}$ of total copper in *Artemia franciscana*.

Samplings were carried twice a month during 6 months. In each sampling it was used a rain simulator and a uniform drip system to measure the impact of surface runoff on the ground. It was done in three grounds with different slopes ($p_{10} = 55\%$, $p_{13} = 25\%$ and $p_{14} = 18\%$). In addition, variables such as bulk density, soil moisture and soil eroded for each ground were measured. In the laboratory an environmental chamber was used to simulate the conditions of an aquatic ecosystem and to determine the impact of copper concentrations as time goes by, on the bioindicator *Artemia franciscana*. It was found that the mean concentration of total copper in the soil eroded by the action of runoff is 0.713 mg/Kg, and that the concentration of copper entrained in the liquid phase of the runoff is lower than the limit of detection of the method used.

It was found that the average concentration of total copper in the soil eroded by the action of the runoff is 0.713 mg / kg, and that the concentration of copper entrained in the liquid phase of the runoff is lower than the limit of detection of the method used. Surface runoff, eroded soil and copper concentration are not significantly different among the 3 grounds. On the other hand, concentrations of CL_{50-24h} of 5 mg/L and CL_{50-48h} of 2.5 mg/L were found, which are classified as extremely toxic, even when they were not found in the field, special care must be taken due to the effect of copper along time, because the effects caused by copper are not immediate on *Artemia franciscana*.

According to several authors, the concentration of copper found in the soil is classified as a low concentration, influenced by factors such as soil texture, capacity of cation exchange, pH, microorganisms, among other variables that affect the mobility of copper in the horizons of the ground, noticing little concentration in the horizon O.

Keywords: Copper, runoff, toxicity, erosion, *Artemia franciscana*, soil, coffee.

1. INTRODUCCIÓN

El café en Colombia es uno de los renglones más importantes del sector primario porque desde 1850 se consolidó como un monocultivo dedicado a la exportación, consolidando lazos específicos con el mercado mundial y una actividad económica con profundos impactos sociales, económicos, políticos y ambientales, de manera que, desde las inversiones de capital antioqueño de fines del siglo XIX, la modernización del sector a partir de 1930, siempre el café ha jalonado las exportaciones colombianas, ha empleado gran cantidad de mano de obra y significado importantes entradas económicas para el país (Palacios, 2002).

Sin embargo, han existido diferentes crisis en el sector, no sólo por el rompimiento de los acuerdos de cuotas en el seno de la Organización Internacional del Café (OIC) hacia 1989, sino porque el mercado mundial se volvió más competitivo, cayendo los precios internacionales de este commodity, con lo cual fue necesario sembrar más, para exportar mayor cantidad y cumplir las metas económicas en menor tiempo, implicando el desarrollo de nuevas variedades de café, genéticamente manipuladas, resistentes a plagas como la roya, de mayor productividad y crecimiento, con menores costos en mano de obra para los grandes productores, labor realizada por Cenicafe en Chinchiná, Caldas, donde aparecieron variedades como Colombia o Castilla, que preservaron las características de calidad y propiedades organolépticas de los cafés suaves que distinguen al país en el mercado internacional (Cano *et al.*, 2012) Con el fin de obtener los niveles deseados de productividad, los monocultivos de café deben ser fertilizados. La fertilización persigue una adecuada nutrición del cultivo para obtener los más altos rendimientos posibles, una buena calidad del producto, la preservación y estado general de la plantación.

Las sucesivas aplicaciones de fertilizantes y fungicidas a base de cobre entre las que se encuentra la mezcla Burdeos ($\text{Ca(OH)}_2 + \text{CuSO}_4$) y, en la actualidad el oxiclورو de cobre ($\text{CuCl}_2 + 3\text{Cu(OH)}_2$), para el control de las principales enfermedades de los cafetales (la roya, *Hemileia vastratix*; las llagas del tallo y de las raíces, *Ceratocystis fimbriata* y *Rosellinia bunodes*) conllevan una acumulación de Cu en suelos destinados al cultivo de café. El exceso que queda en el suelo puede ser llevado por escorrentía superficial a las fuentes de agua existentes alterando los sistemas hidrobiológicos que existan allí, de modo que, la acumulación en los suelos de estos metales es preocupante puesto que están siendo aplicados en cantidades mayores

fertilizantes, fungicidas y bactericidas, además de la depositación atmosférica (Alloway, 1995; Temminghoff *et al.*, 1998).

Por otra parte, si bien el cobre es uno de los nutrientes fundamentales de los seres vivos, su acumulación en los tejidos es muy tóxica, cuando se absorben sus sales en medio acuoso, efecto que se evidencia mediante bioensayos de toxicidad, que permiten evaluar su impacto sobre organismos vivos (Adams y Greeley, 2000). Los bioensayos de toxicidad, con agentes contaminantes bajo condiciones de laboratorio, se han incrementado en los últimos años debido a la rapidez con que se obtiene la información sobre la concentración letal media (CL₅₀) (en mg o mg/L) y los efectos subletales que afectan negativamente a la biota en los ambientes marinos, estuarinos y dulceacuícolas, utilizando especies como la pulga de agua *Daphnia pulex* (Silva *et al.*, 2003), bulbos de cebolla *Allium cepa* y lechuga *Lactuca sativa* (Restrepo *et al.*, 2011), entre otros.

Además, en estas pruebas, se destaca como organismo indicador o biosensor, el crustáceo del orden anostraca *Artemia franciscana* (Artemiidae), el cual hace parte del zooplancton que constituye la cadena trófica en ambientes acuáticos de alta salinidad, de manera que, si se impacta su número, la variabilidad de otras especies superiores acuáticas decrece también (Bartolomé-Camacho & Sánchez-Fortún, 2007).

En este orden de ideas, en este documento se plantean, en primer término, nociones preliminares de la investigación, tales como introducción, planteamiento y formulación del problema, justificación, objetivo general y específicos; luego, se elabora una revisión de literatura, enfatizando en el estado del arte sobre la problemática planteada; entonces, se aborda la metodología donde se explica el diseño experimental a utilizar, sus parámetros y pruebas a realizar para determinar el contenido de cobre en el suelo, así cuánto es arrastrado por escorrentía superficial al sistema hidrobiológico considerado, donde mediante el bioindicador elegido se procede a determinar el impacto sobre el ecosistema. Después, se procede a la discusión de los resultados, analizando los datos, recabados mediante las distintas pruebas de laboratorio, con ayuda de una herramienta software como SPSS o Minitab. Finalmente, se plasman las conclusiones y recomendaciones del estudio.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 Descripción del problema

Los ecosistemas acuáticos continentales naturales cubren alrededor del 1% del total de la superficie terrestre, en donde se alberga gran cantidad de diversidad biológica, desde organismos productores hasta aquellos consumidores. Los ecosistemas continentales y marinos se encuentran interconectados, por lo que vertimientos en ecosistemas acuáticos continentales repercuten en los marinos (FAO, 2001).

En los últimos años se ha evidenciado un aumento en los reportes científicos de la contaminación causada por los metales pesados a los ecosistemas hidrobiológicos, no sólo porque afectan el ecosistema de forma adversa sino también la salud de los seres humanos y de los animales acuáticos, de manera que es frecuente el empleo de bioindicadores, como crustáceos, insectos y peces, para evaluar la acumulación de metales pesados en estos ecosistemas (Das *et al.*, 2003).

Para el desarrollo de las actividades agrícolas se emplea gran cantidad de fertilizantes y fungicidas, los cuales causan impactos negativos a los ecosistemas acuáticos. Los residuos de estas sustancias, que en su composición contienen metales pesados, son arrastrados por escorrentía superficial a los sistemas de agua dulce (lagos, humedales, ríos) y adsorbidos por los componentes del suelo (materia orgánica y arcillas) razón por la que debe medirse el impacto de estos contaminantes en el suelo y en el agua, particularmente porque de la calidad de las aguas continentales dependen organismos fundamentales dentro de la red trófica, siendo necesario mantener sus niveles vigilados y controlados, para prevenir sus efectos.

El cobre es uno de los elementos más ampliamente distribuidos en la naturaleza tanto en estado libre como en forma de sulfuros, siendo un ácido de potencia intermedia, con una buena capacidad de estados de oxidación que le permiten formar iones complejos, de modo que hace parte de varias proteínas en los sistemas biológicos, como en la hemocianina, la citocromo oxidasa, tirosina y en las lacasas. Cubre un rol particularmente importante en los ecosistemas acuáticos, donde este metal puede existir como partículas, siendo parte de coloides o estar en forma iónica (soluble), adsorbido en los sólidos suspendidos y sedimentos arrastrados por

escorrentía superficial a los lechos acuáticos. Se ha evidenciado altas concentraciones de este metal, no sólo en los sedimentos sino también en las plantas acuáticas, y en los animales, particularmente los invertebrados, teniendo residuos de 5-200 mg/Kg (Moore & Ramamoorthy, 1984).

La contaminación con metales pesados posee serios efectos sobre el equilibrio ecológico del entorno receptor y sobre la diversidad de organismos acuáticos. Microcrustaceos del género *Artemia* son ampliamente utilizados en ensayos de ecotoxicología ya que son especies cosmopolitas, habitantes constantes de cuerpos de agua en el mundo incluyendo las contaminadas con desechos industriales y municipales. Dichos organismos no son solo útiles para conocer el grado de contaminación de un cuerpo de agua, sino, para conocer las estrategias que generan estos organismos en condiciones hostiles para sobrevivir (Mukhopadhyay *et al.*, 2007)

En este orden de ideas, existe inquietud sobre el efecto de algunos fertilizantes y fungicidas utilizados en la caficultura, que presentan en su composición química metales como Cobre, Zinc, entre otros, los cuales no son fácilmente degradables; se pueden acumular en microorganismos del suelo, lixiviar en el perfil del suelo, adsorber en los componentes del suelo o desplazarse por efecto de la escorrentía superficial. Estos metales forman quelatos y complejos orgánicos que tienden a concentrarse en los organismos vivos con un elevado efecto tóxico (Paris *et al.*, 2005) siendo almacenados en los tejidos, procedentes de la escorrentía superficial o porque arrastra solidos suspendidos con la erosión del suelo (Scelzo, 1997).

Siendo los metales Hierro, Magnesio, Manganeso, Zinc, Cobre y Cobalto, esenciales como micronutrientes en la producción agrícola sirviendo como precursores de reacciones bioquímicas en microorganismos presentes en suelo y agua, estos metales son utilizados intensamente para la fertilización de suelos productivos y el cobre, para el control de plagas (roya, *Hemileia vastatrix*), en suelos cafeteros (Department of Energy, USA, 1987).

El cobre es de los oligoelementos, el menos móvil en el suelo, inmovilizándose en los primeros 20 cm del perfil, siendo factores determinantes de su adsorción el pH, la cantidad de carbonatos, el contenido de arcilla y materia orgánica, entre otros; sin embargo, como los fungicidas a base de cobre tienen alta aplicación en el cultivo del café, se genera un uso intensivo de estos plaguicidas que pueden llegar a acumularse y causar toxicidad a los microorganismos presentes en el suelo y agua (Cabalceta *et al.*, 1996). Una de las vías por las cuales el cobre llega

a los ríos y quebradas es la escorrentía superficial, depositándose en los ríos o solubilizándose en el agua, siendo este metal uno de los más peligrosos para la vida acuática, aun en concentraciones relativamente bajas (Fergusson, 1992).

Por lo anterior, es relevante diagnosticar las cantidades de cobre que se depositan por escorrentía superficial y erosión a las aguas superficiales y a los lechos de ríos en su tránsito por zonas agrícolas y productivas donde se emplea fertilización química, por sus efectos nocivos sobre la biota y por la posibilidad que esta nociva concentración pase por las redes tróficas terrestres y acuáticas.

2.2 Formulación del problema

¿Existe arrastre significativo de cobre por acción de la escorrentía superficial y erosión hídrica en suelos bajo cultivo de café, que afecte a un biosensor acuático?

3. JUSTIFICACIÓN

El cobre es un micronutriente que requieren las plantas en bajas concentraciones con respecto a los macronutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio, siendo necesario para un adecuado desarrollo, agregándose en menor concentración a las mezclas de los fertilizantes empleados para el cultivo de café. También funciona como fungicida, especialmente para controlar el hongo *Hemileia vastatrix*, encargado de producir la enfermedad comúnmente conocida como roya, por cuyo motivo generalmente en este caso se aplican fungicidas a base de cobre, como el caldo bordelés (sulfato de cobre + hidróxido de calcio), hidróxido de cobre, óxido de cobre, oxicloruro de cobre y vigilante (azufre + cobre) (Andrei, 1993).

El déficit o exceso de cobre afecta las plantaciones, este es un metal pesado que estando en forma de sal soluble en agua se acumula y se convierte en un elemento tóxico para los organismos que lo absorben (Scelzo, 1997). En casi todas las especies, el cobre (Cu) es un cofactor indispensable en numerosos procesos enzimáticos, sin embargo, se ha considerado un contaminante importante de los cuerpos de agua, clasificándose como extremadamente tóxico (Heath, 1991).

En la finca El Naranjal, del municipio de Cajibío, se cultiva el café desde hace aproximadamente 10 años, esto con fines de exportación. Los cafetales se encuentran plantados en suelos con características ándicas, a diferentes grados de inclinación y que han generado procesos erosivos mediante escorrentía superficial que desplaza el cobre presente en el suelo hasta la quebrada que atraviesa la zona. Por esta razón se pretende cuantificar el cobre que es arrastrado hacia la quebrada, en suelo y agua; y evaluar la concentración letal media (CL₅₀) de cobre mediante ensayos de toxicidad en *Artemia franciscana*, la cual es considerada como biosensor de ambientes acuáticos (Bartolomé-Camacho & Sánchez-Fortún, 2007)

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el arrastre de cobre por acción de la escorrentía superficial y erosión hídrica en suelos bajo cultivo de café y evaluar la concentración letal media del cobre en *Artemia franciscana*.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el contenido de cobre en el agua y suelo proveniente de la escorrentía superficial y erosión hídrica en tres diferentes grados de inclinación del terreno.
2. Determinar la concentración letal CL_{50} de cobre en *Artemia franciscana*.

5. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

Teniendo en cuenta el enfoque del presente trabajo de investigación, se describen a continuación algunos conceptos, los cuales serán abordados durante todo el proceso:

5.1 Cobre

Se encuentra en la naturaleza en bajas concentraciones, sin embargo, el hombre altera estas concentraciones debido a los usos que se le da al cobre, en la agricultura, por ejemplo, es adicionado para fertilizar los suelos, siendo un micronutriente necesario para las plantas, se presenta como complemento de algunos abonos y por su poder letal fúngico es utilizado profusa e indiscriminadamente en algunos cultivos. El cobre se incorpora al suelo por los procesos de descomposición de las rocas que lo contienen. Al igual que otros metales, el cobre puede seguir cuatro diferentes vías: retenido en el suelo, (disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbido sobre constituyentes inorgánicos del suelo, asociado con la materia orgánica del suelo o precipitados como sólidos puros o mixtos); puede ser absorbido por las plantas (incorporándose a las cadenas tróficas); pasa a la atmósfera por volatilización y se moviliza por escorrentía superficial o lixiviación a las aguas superficiales y subterráneas (Solano, 2017; Diez, 2006).

El cobre se adsorbe sobre la materia orgánica y las arcillas desde donde es transportado por medio de la escorrentía superficial y el suelo erodado a las fuentes hídricas por lo cual se debe tener especial importancia en su manejo. Adicionalmente, es empleado como sal de sulfato para controlar el crecimiento de las algas en los estanques de abastecimiento de agua (Sawyer *et al.*, 2000).

Entre los métodos más utilizados para la determinación de cobre se encuentran la espectroscopia de absorción atómica de llama y la espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica. Esta última además de ser necesario más tiempo para el análisis de cada elemento, tiene un límite de detección muy bajo, y la normatividad para agua permite valores relativamente altos de cobre (Moreno & García, 2008). La absorción atómica es una técnica que ha demostrado su exactitud y eficiencia para estas determinaciones, por esta razón es

uno de los métodos recomendados por la Norma Técnica Colombiana (ICONTEC, 1997) para determinación de cobre en el agua y en el suelo (ICONTEC, 2007).

5.2 Espectroscopia de absorción atómica (EAA)

Un sistema de absorción atómica tiene una fuente de luz que emite una luz estable e intensa de longitud de onda específica. Cada elemento tiene una longitud de onda característica que es rápidamente absorbida. Una fuente de luz cuya longitud de onda se absorbe en forma rápida por el elemento a determinar, se dirige a través de la llama y se hace una medida de su intensidad sin presencia de la muestra, y luego se hace la medida con la muestra introducida en la llama. La disminución de la intensidad que se observa con la muestra en la llama es una medida de la concentración del elemento. La absorción depende de la presencia de átomos libres no excitados por la llama, que están presentes en más abundancia que los átomos excitados (Sawyer *et al.*, 2000).

5.3 Simulador de lluvia

Los simuladores de lluvia son instrumentos de investigación diseñados para aplicar agua de forma similar a los episodios de lluvia natural. Son útiles para obtener datos de erosión, infiltración, escorrentía superficial y transporte de sedimentos. No obstante, las características de la lluvia natural han de ser simuladas de forma adecuada, los datos de escorrentía/erosión obtenidos han de ser analizados cuidadosamente y se debe efectuar una buena interpretación de los resultados para obtener una información fiable en las condiciones para las que ha sido aplicada la lluvia simulada (Benito *et al.*, 2001).

Las principales características de la lluvia natural que han de conseguir los simuladores de lluvia son las siguientes (Meyer, 1965; Bubenzer, 1979):

Distribución del tamaño de las gotas de lluvia similar a la de la lluvia natural.

Velocidad de impacto similar a la velocidad terminal de las gotas en la lluvia natural.

Intensidad de lluvia correspondiente a las condiciones naturales.

Energía cinética similar a la de la lluvia natural.

Lluvia uniforme y distribución aleatoria de las gotas.

5.4 Escorrentía superficial

La escorrentía es el agua generada por una cuenca en la forma de flujo superficial. Los flujos superficiales o escorrentía se originan de dos formas; por las lluvias de baja intensidad que logran saturar el suelo y por las lluvias de alta intensidad que superan la velocidad de infiltración del suelo (Morgan, 1986). La escorrentía superficial se origina en el momento en que se supera la capacidad de infiltración. Uno de los factores que afectan la escorrentía superficial es la pendiente del terreno; si aumenta la pendiente del terreno, aumenta la velocidad y el volumen del agua que escurre pendiente abajo, y por lo tanto, su poder erosivo.

5.5 Erosión

La erosión del suelo consiste en la remoción, arranque y transporte de los materiales que constituyen la capa más superficial del suelo, sea cual sea el agente responsable: agua, viento, hielo, actuaciones humanas, etc (De Alba *et al.*, 2011). En Colombia, el cultivo de café se localiza principalmente en regiones de ladera, con predominio de altas precipitaciones y de suelos jóvenes, factores que favorecen la erosión.

5.6 Erosión hídrica

La erosión hídrica es un proceso físico definido como el desprendimiento y arrastre de partículas de suelo por acción del agua. Las gotas de lluvia desprenden el suelo y el agua de escorrentía es la encargada de realizar el transporte y la sedimentación (Hudson, 1981; Paulet, 1974). En climas tropicales las lluvias son más erosivas que en los templados debido a su alta intensidad (Perez-Nieto *et al.*, 2012). En Colombia, el cultivo de café se localiza principalmente en regiones de ladera, con predominio de altas precipitaciones y de suelos jóvenes, factores que favorecen la erosión (Gómez *et al.*, 1975)

5.7 Bioensayos

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (Larrain, 1995). Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones concentración-respuesta bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio (Silva *et al.*, 2003).

5.8 Bioindicador

Un organismo se considera bioindicador cuando presenta alguna reacción que puede ser identificada frente a diferentes grados de alteración del medio, por ejemplo frente a la contaminación del agua. Muchas especies son incapaces de adaptarse ecológica o genéticamente a la condición ambiental alterada, de modo que su ausencia es, de hecho, un indicio del problema. Su comportamiento ante dichas condiciones difiere del natural en aspectos tales como hábito, fisiología, demografía y relaciones con otros organismos (García & Rubiano, 1984). Para escoger un buen bioindicador se deben tener en cuenta aspectos como ser abundantes, de amplia distribución y fáciles de recolectar, presentar facilidad para cultivar en laboratorio.

5.9 *Artemia franciscana*

El género *Artemia* engloba a un grupo de crustáceos caracterizados por estar dotados de apéndices torácicos en forma de hoja, que ejercen funciones locomotoras, respiratorias y filtradoras (Subclase Branchiopoda), y por la ausencia de caparazón rígido (Orden Anostraca). Entre las seis especies que existen, se encuentra *Artemia franciscana*, la cual se distribuye por toda América. *Artemia* habita ecosistemas salinos, caracterizados por su escasa diversidad biológica y por la casi ausencia de predadores. Los hábitats naturales comprenden salinas y lagos salados, temporales y permanentes, situados en zonas costeras o en entornos continentales. Algunas hembras pueden detener su desarrollo en estado de blástula o gástrula entrando en estado criptobiótico. Cuando los quistes deshidratados son rehidratados de nuevo en agua de baja salinidad, con adecuados niveles de aireación e iluminación, los embriones enquistados continúan su desarrollo hasta eclosionar en forma de nauplio completamente formado (Ruiz-Pérez, 2009).

Artemia franciscana presenta gran importancia económica en la industria de la acuicultura; cuenta con una gran demanda como alimento vivo en la cría de peces. Es ampliamente utilizada en estudios de toxicidad gracias a sus condiciones fisiológicas y de desarrollo (Andriolli *et al.*, 2007)

6. METODOLOGÍA

6.1 Área de estudio

La finca Los Naranjos se encuentra ubicada en el corregimiento de La Venta, municipio de Cajibío, a 19 km al norte de Popayán (Figura 1) entre las coordenadas $2^{\circ}35'09.6''N$, $76^{\circ}33'05.4''W$. La temperatura media anual varía entre $12^{\circ}C$ y $24^{\circ}C$, su altura promedio es de 1.765 msnm (Alcaldía de Cajibío, 2002). La finca tiene 37 ha de café, sembradas hace 10 años. La precipitación varía entre 2.000mm y 2.700mm. Con dos periodos secos y dos periodos húmedos predominando el clima templado húmedo y frío húmedo (Contraloría departamental del Cauca, 2009).

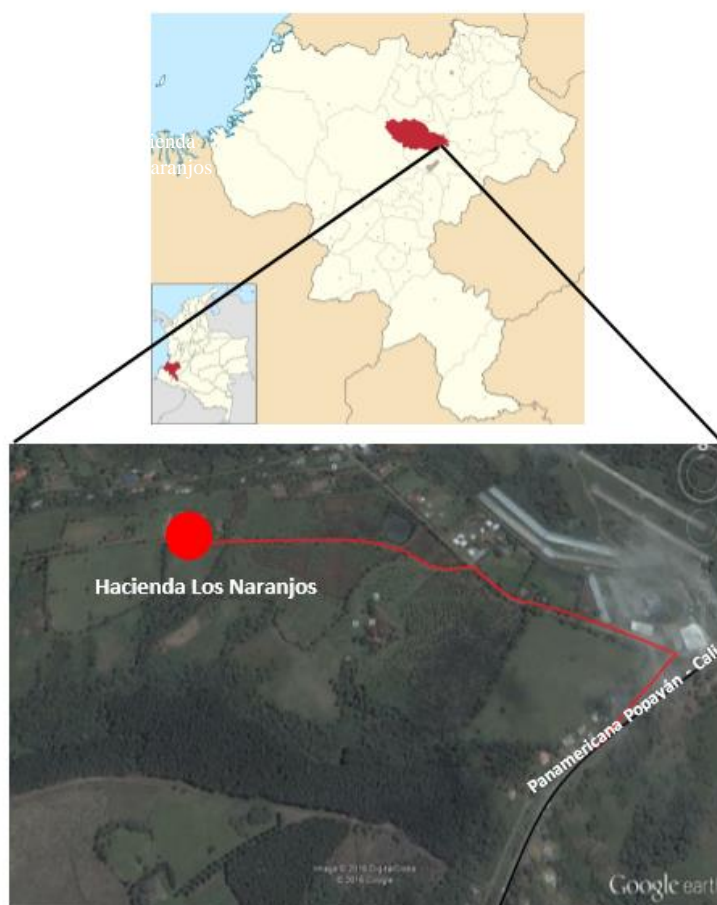


Figura 1. Área de estudio.

Teniendo en cuenta que la finca se encuentra en la región andina, los suelos presentes en esta región son andisoles, por lo que su pH es ácido (5.56). La textura es arenosa-franca, la

capacidad de intercambio catiónico es de 27cmol/kg y el contenido de materia orgánica es de 17.29% (Solano, 2017).

El trabajo de campo inició con el reconocimiento de la zona en donde se llevó a cabo el trabajo de investigación, se determinaron las parcelas, escogidas de acuerdo con la variedad de café (que las 3 parcelas tuvieran la misma variedad) edad del cultivo, la densidad, y que hubieran sido abonados y fumigados igual número de veces y con los mismos productos. Se establecieron los puntos de muestreo en 3 parcelas con diferente grado de inclinación (P10= 55%, P13= 25% y P14= 18%).

6.2 Evaluación de escorrentía superficial mediante simulador de lluvia

Se utilizó como instrumento básico un simulador de lluvia basado en el principio de Vaso de Mariotte, diseñado por Cobo (1998), con el que se determinó “in situ” el arrastre de suelo y escorrentía, semejando características importantes de la lluvia como: intensidad, velocidad de impacto, distribución y tamaño de las gotas de lluvia. El minisimulador de lluvia para montaje en el campo cuenta con las siguientes partes (Figura 2):

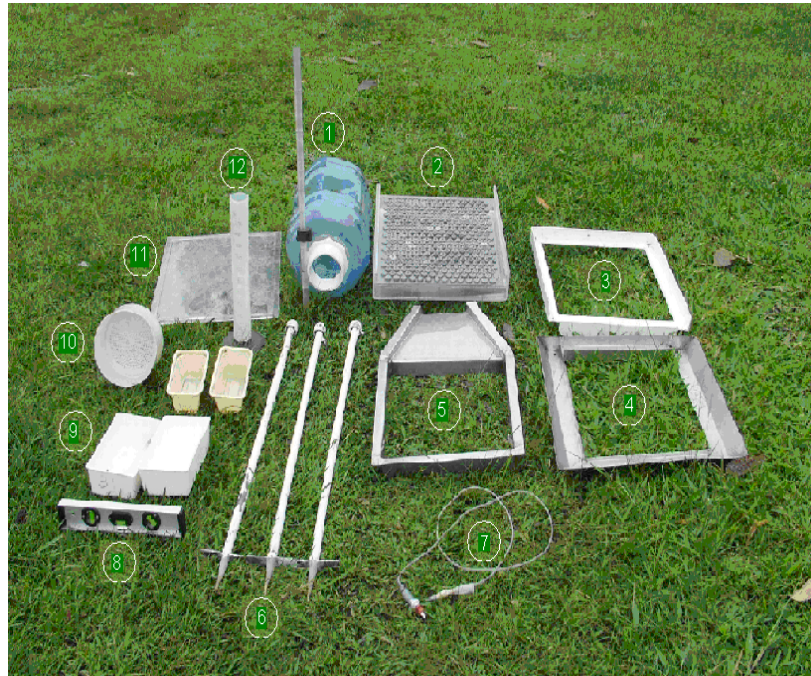


Figura 2. Componentes del mini simulador de lluvia.

Fuente: Muñoz (2007). 1. Abastecedor de agua; 2. Distribuidor de gotas; 3. Soporte de panel de agujas; 4. Bandeja de salpicado; 5. Bandeja de escorrentía; 6. Trípode; 7. Controlador de presión; 8. Nivel; 9. Colectores; 10. Embudo; 11. Protector de agujas; 12. Probeta.

El simulador de lluvias fue dispuesto en los sitios de muestreo, los cuales se determinaron basados en el grado de pendiente y el área respectiva, realizando triplicado para cada sitio de muestreo. Cada salida de campo se realizó quincenalmente durante 6 meses, se tomaron las muestras del agua y la cantidad de suelo erodado durante la simulación de lluvia, proceso que se repitió por triplicado para cada pendiente. El diseño de muestreo se ilustra en la Figura 3.

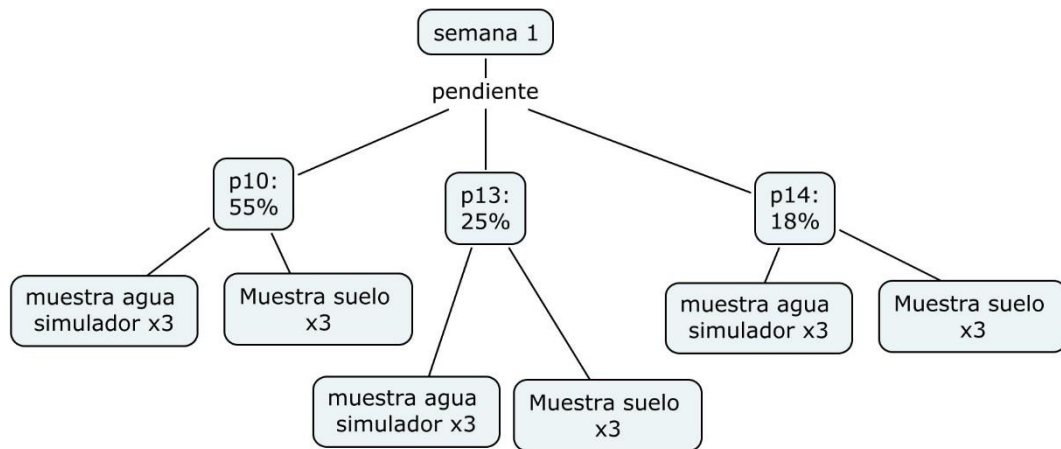


Figura 3. Esquema de recolección de muestras.p10: pendiente alta, p13: pendiente media, p14: pendiente baja.

6.2.1 Calibración del minisimulador de lluvia

La calibración consiste en determinar si las gotas caen uniformemente sobre la superficie de la bandeja, para lo cual se colocaron 18 frascos en el área de ésta y al transcurrir 3 minutos de goteo, se midió el volumen en cada uno de ellos procurando que todos tuvieran el mismo volumen de agua. En caso de que esto no ocurriera, se destapaban o se cambiaban las agujas. También, se determinó el volumen total de escorrentía en un lapso de 5 minutos, esto con el fin de calibrar una simulación de 100 mm de lluvia, en caso de que no se recolecte este volumen, se cambia la altura del tubo por medio del cual ingresa aire para estabilizar la presión de la columna de agua que regulariza y controla la velocidad e intensidad de goteo.

Tras calibrar los simuladores, se instalan las bandejas colectoras enterrándolas 5 cm para que quedara firme y permitiera el flujo constante de la escorrentía. En los extremos de la bandeja hay dos orificios que recogen el salpicado, en ellos se ubicaron recipientes para recoger los productos de este proceso, lo mismo se hizo con el colector de sedimentos. Seguidamente se coloca el trípode de tal manera que forme un ángulo recto con la pendiente del suelo para poder sobreponer el distribuidor de gotas de lluvia. Tras verificar que el agua cae justo sobre el área de

suelo escogido para realizar la prueba, se retira la tapa de acrílico que cubre el área de estudio mientras se realizan los ajustes.

6.2.2 Escorrentía superficial

La simulación se realizó durante 30 minutos; con toma de muestra de escorrentía cada 5 minutos en una intensidad de lluvia constante de 100 mm (figura 4).



Figura 4. Minisimulador de lluvia instalado en campo.

6.2.3 Erosión

Una vez obtenido el volumen total de la escorrentía superficial por cada simulación; se midió el volumen de agua desplazado, se decantó, filtró y secó para obtener el suelo erodado en la simulación de lluvia. Se tomó una muestra de suelo en cada punto de muestreo para medir la cantidad de Cu presente en la superficie del suelo y así calcular la cantidad de cobre obtenida por efecto de la escorrentía superficial.

Adicionalmente se utilizaron cilindros de acero inoxidable para tomar muestras del suelo en cada sitio en donde se instaló el minisimulador de lluvia, esto con el fin de determinar la humedad del suelo y la densidad aparente, ya que cuando la densidad aparente del suelo aumenta,

se incrementa la compactación y se afectan las condiciones de retención de humedad (Haddad, 2004). Para determinar la humedad, al llegar al laboratorio se pesó cada cilindro, seguidamente se colocaron al horno a una temperatura de 45°C durante 24 horas, pasado este tiempo, se volvieron a pesar las muestras. La fórmula empleada para determinar el porcentaje de humedad en el suelo es la siguiente:

$$\% \text{ Humedad} = (a/b) * 100$$

En donde “a” corresponde al peso del agua existente en la masa del suelo y “b” corresponde al peso de las partículas sólidas.

6.3 Determinación de cobre en muestras ambientales

6.3.1 Muestras de suelo

Cada muestra de suelo tomada, se secó a temperatura ambiente, se molió y tamizó a 2 mm. Más adelante se realizó la digestión basada en la metodología empleada por Alvarez-Sánchez & Marín-Campos (2011) para extraer el cobre presente en la muestra y ser sometida al análisis por espectrofotometría de absorción atómica. La digestión consistió en pesar 0.1 g de suelo, tamizado, adicionar 5 mL de ácido nítrico y ácido perclórico en una proporción 3:1. Se deja en reposo en un Erlenmeyer durante toda una noche, cubierto con vinipel para evitar contaminaciones. Al día siguiente se colocaron en una plancha de calor, agitándolos constantemente durante 3 horas, hasta que el sólido tornara a amarillo y la fase líquida se evapore. Una vez fría la muestra, se procede a filtrar (poro 0.45µm), se agrega agua desionizada para aforar a 50 mL, de esta manera quedan listas las muestras de suelo digestadas para ser llevadas al laboratorio de análisis industriales de la Universidad del Cauca y ser analizadas por Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA).

6.3.2 Muestras de agua

Las muestras de agua, una vez colectadas, se llevaron al laboratorio del grupo de estudios de Agroquímica, y teniendo en cuenta la guía metodológica para la determinación de metales

pesados empleada por el IDEAM (2004), se pasaron por un filtro de $0.45\mu\text{m}$ y se les añadió ácido nítrico hasta llevarlas a un pH de 2.0, se refrigeraron para su posterior lectura de cobre total por EAA.

6.3.3 Espectrofotometría de absorción atómica (EAA)

Las mediciones de cobre en las muestras de suelo y agua se realizaron con el método de espectrofotometría por absorción atómica en la Unidad de Análisis Industriales de la Universidad del Cauca (figura 5), mediante el método curva de calibración con patrón estándar de chequeo en equipo Thermo® serie S4SN71203 (Waltham, USA). Este método es avalado por el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).



Figura 5. Mediciones de cobre por Espectrofotometría de absorción atómica.

6.4 Prueba de toxicidad de Cu

El ensayo preliminar de la actividad biológica con *Artemia franciscana*, se realizó siguiendo la metodología descrita por Sanabria *et al.* (1997), el cual consiste en tomar diluciones de sulfato de cobre pentahidratado a partir de una solución stock altamente concentrada. En este caso se emplearon concentraciones de 1, 10, 100 1000, 2000 y 3000mg/L. Los organismos de

prueba (huevecillos) se obtuvieron por medio del laboratorio de biología de la Universidad del Valle, en la ciudad de Cali. Para obtener las larvas de *A. franciscana* se agregó 50 mg de huevecillos en 300 mL de agua de mar artificial al 3% de salinidad, preparada con agua destilada, y se dejaron incubar durante 48 horas en una cámara ambiental Biotronette lab line 846 (Virginia USA), a 25°C y luz blanca (Figura 6). Una vez eclosionados los huevecillos se tomaron 10 larvas con una pipeta Pasteur y se depositaron en viales de vidrio de 5 mL de capacidad. Este bioensayo es de tipo estático, sin renovación de la solución de prueba.



Figura 6. Cámara ambiental empleada en la prueba de toxicidad.

Para determinar la toxicidad de cobre (II) se utilizó una solución stock de 3000 mg/L de sulfato de cobre pentahidratado. A partir de esta solución se tomaron diferentes volúmenes y se adicionaron a los viales que contenían las larvas de *A. franciscana*, de tal manera que las concentraciones finales fueron 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 10, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 500, 600, 1000, 1120, 1400, 1680, 2100, 2520, 2800, 2850 y 2900 mg/L para los ensayos de 6 y 12, 24 y 48 horas, completando a 5 mL con solución salina, preparada con agua destilada. Paralelamente se trabajó con un blanco para cada tratamiento, en el cual solo había agua destilada y sal marina, con una concentración de salinidad al 3%. Todos los ensayos se realizaron por triplicado, a 25°C, con un fotoperiodo de 16 h luz / 8 h oscuridad. Finalizado este proceso se introdujeron en la cámara ambiental, y se realizaron los conteos de las larvas muertas a las 6, 12, 24 y 48 horas.

6.5 Análisis de datos

6.5.1 Determinación de cobre en el suelo

El tratamiento estadístico se realizó mediante el software SPSS versión 11.0. Se aplicó prueba de Kolmogorov para determinar normalidad en variables como erosión, cobre, humedad y escorrentía. Seguidamente se aplicó prueba no paramétrica de Kruscall Wallis para determinar si existen diferencias significativas entre las tres parcelas en cuanto a humedad y escorrentía. Posteriormente se aplicó un Análisis de Covarianza (ANCOVA) para determinar la relación entre las parcelas (pendientes) con las demás variables.

6.5.2 Determinación de cobre

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existieron diferencias significativas entre el volumen de agua (mL) obtenida por escorrentía superficial y los diferentes grados de inclinación del suelo, de la misma manera se determinó si existen diferencias significativas entre peso de suelo erodado (g) y las inclinaciones del terreno. Posteriormente, tras haber encontrado la concentración de cobre, se correlacionó con las diferentes pendientes para determinar si existen diferencias significativas entre la concentración de cobre y los grados de inclinación del terreno.

6.5.3 Bioensayo con *Artemia franciscana*

Los resultados obtenidos se procesaron empleando el software Graph PadPrism 5.0 donde se determinó el valor de la CL_{50} a 6, 12, 24 y 48 horas. Se transformó el porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción toxica del cobre a unidades Probit. La idea del análisis probit fue publicada originalmente en *Science* por Chester Ittner Bliss (1934) y debido a su utilidad es ampliamente usada para este tipo de ensayos.

Esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración correspondiente al Probit 0.5 corresponde a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población (Ramírez & Mendoza, 2008).

7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en cuanto a la humedad del suelo, suelo erodado, densidad aparente, y concentración de cobre en el suelo se muestran en el anexo 1. Es de tener en cuenta que al realizar la lectura de cobre en el agua, la absorbancia en el espectrómetro por absorción atómica de llama marcó cero, por lo que se asume que el cobre que existe en el agua que fluye por escorrentía superficial se encuentra por debajo del límite de detección del equipo el cual es de 0.00213 mg/L, por lo que los datos de cobre que se muestran de aquí en adelante corresponden al contenido en el suelo erodado.

Con la medición de muestras de cobre con concentraciones conocidas, fue posible determinar la concentración de cobre tanto de las muestras de agua como de suelo erodado. A continuación se muestran las curvas de calibración realizadas para proceder con la determinación de cobre en las muestras, tanto para la medición del cobre en el suelo digerido, como en el agua (figura 7). Se trabajan dos curvas de calibración debido a que todas las muestras no fueron medidas por EAA al mismo tiempo.

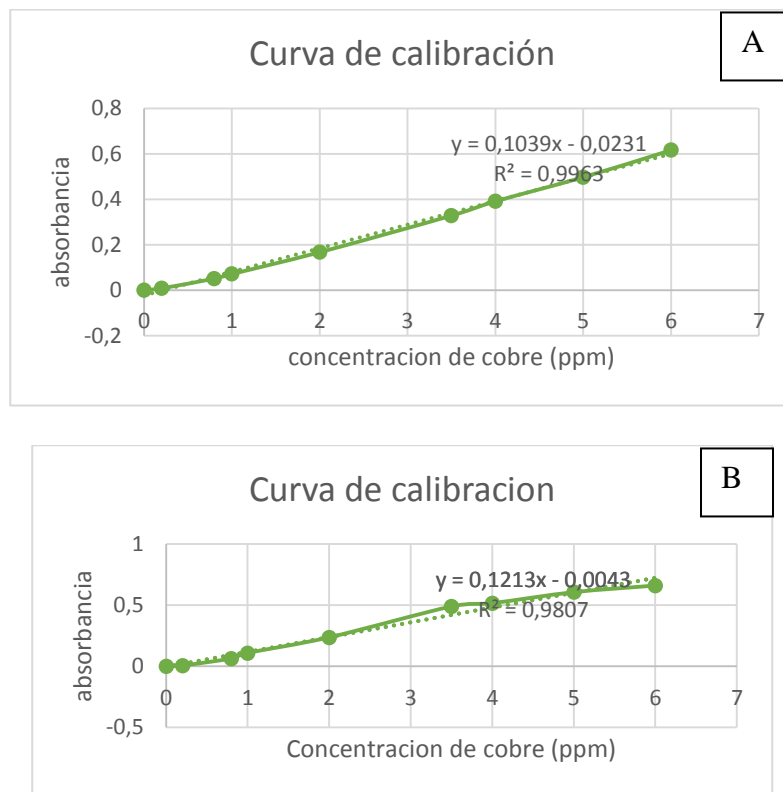


Figura 7. Curvas de absorbancia del cobre. A. muestreos 1,2 y 3. B. muestreos 4 al 12.

Puesto que se trata de una cantidad amplia de datos, se utilizaron los promedios para obtener un modelo experimental adecuado que se pueda procesar en SPSS, de manera que se tendrán doce promedios y variables, siendo la dependiente el contenido de cobre total en mg/L.

La estadística descriptiva indica que el promedio de escorrentía en el terreno es de 343.6 mL, la humedad es de 41.8 %, siendo la densidad aparente de 0.87 g/mL, lo que lleva a un contenido de cobre total de 0.014 mg/L en el suelo. Además, la erosión del suelo causada por la escorrentía superficial es de 0.227g en 30 minutos (tabla 1), en una área de 0.1386 m², es decir que el suelo se erosiona en promedio 3.338 g/h.m².

Tabla 1. Estadística descriptiva de las variables.

PARAMETRO	Mínimo	Máximo	Media	Desv. estándar
suelo erodado	.016	.782	.227	.2306
cobre total en el suelo	.0010	.053	.0142	.0146
Escorrentía	62.33	1113.67	343.6	222.82
densidad aparente	.483	1.299	.870	.227
% humedad	21.34	80.99	41.84	12.143
N valido				

Los parámetros de tendencia central de los datos, así como de asimetría y sesgo indican que los valores de escorrentía están muy dispersos respecto a la media, observación que es válida para el contenido de cobre total, la erosión, el contenido de humedad y la densidad aparente (tabla 2). Al encontrarse en promedio 0.014 mg/L de cobre en 0.1 g de suelo, entonces, estando diluido en 50 mL, se calculó el contenido de Cu por cada kilogramo de suelo, obteniéndose un promedio de 0.71 mg Cu/Kg Suelo. Estos resultados reflejan un comportamiento de las variables que no siguen un patrón definido, cada muestreo es bastante diferente de los demás.

Tabla 2. Medidas de tendencia central para los datos relativos al suelo.

		Suelo erodado (g)*	Cobre total en el suelo (mg/L)	Escorrentía (mL)	Densidad aparente (g/L)	Humedad (%)
N	Valido	36	36	36	36	36
	Invalido	0	0	0	0	0
	Media	.2276	.0142	343.629	.8702	41.8435
	Mediana	.1201	.0088	286.500	.8988	43.5679
	Moda	.0216 ^a	.0010 ^a	259.333 ^a	.4831 ^a	21.34 ^a
	desv. Estándar	.2306	.01459	222.821	.2269	12.1434
	simetría	1.282	1.282	1.736	.024	.707
	error estándar de simetría	.393	.393	.393	.393	.393
	Curtosis	.439	.546	3.500	-.945	1.701
	error estándar de curtosis	.768	.768	.768	.768	.768

a. Múltiples modos existen. El menor valor se muestra. * Calculado por 30 minutos de lluvia en una área de 0.1386 m².

De igual manera, en cuanto a las gráficas como histogramas para cada variable se puede observar que:

Para el suelo erodado existe un sesgo a la derecha, comportamiento muy semejante al del cobre total (figura 8), indicando que existe una relación directa entre estas variables, ya que entre más suelo erodado, existe mayor cantidad de cobre.

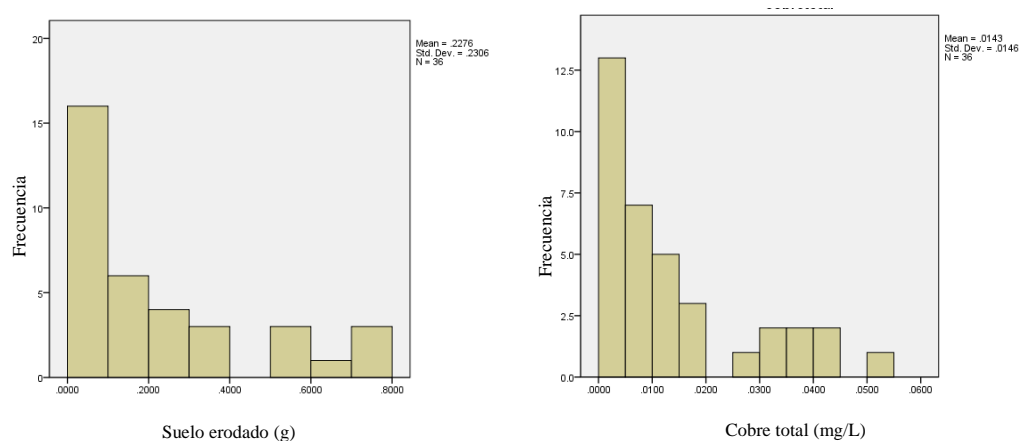


Figura 8. Histogramas para las variables cobre total y suelo erodado

Por otra parte, los histogramas de escorrentía y humedad (figura 9) reflejan un comportamiento de los datos muy semejante en su distribución, con un sesgo a la izquierda, aunque el apuntamiento es distinto, lo mismo que la curtosis. Se debe tener en cuenta que la humedad se encuentra directamente relacionada con la escorrentía, pues esta última es mayor cuando los poros del suelo se encuentran llenos de agua, generando que el agua que cae al suelo sea arrastrada generando escorrentía superficial.

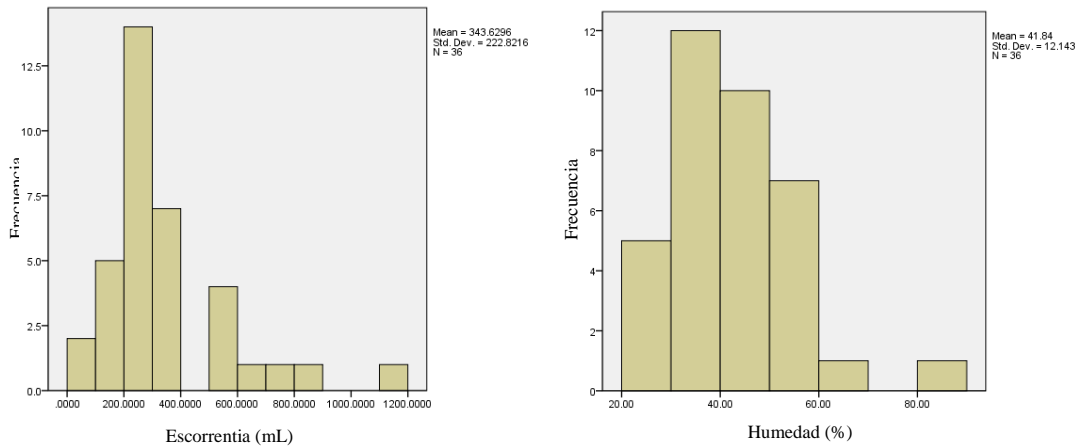


Figura 9. Histogramas para escorrentía y humedad.

Para la densidad aparente, se tiene un histograma que apunta a una distribución de los valores con menos sesgos y más normal, lo que quiere decir que este parámetro es más propio de las características físicas del suelo (figura 10). Este es un buen indicador del grado de infiltración del agua; cuando la densidad aparente aumenta, se genera mayor compactación del suelo, impidiendo que penetre el agua. En la figura 16 se evidencia que no se presenta normalidad en los datos, es decir, son bastante distantes unos de otros.

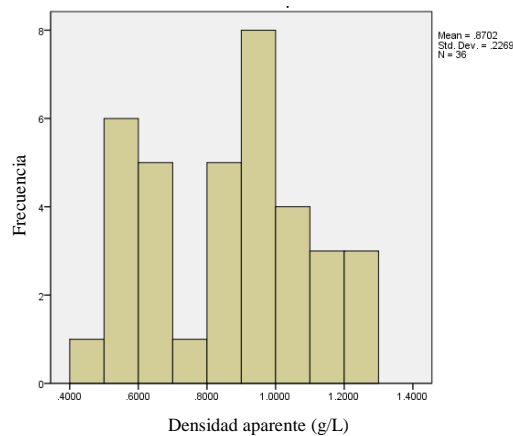


Figura 10. Histograma para la densidad aparente

Para la variable suelo erodado no es posible considerar una suposición de normalidad lo que requiere análisis diferente a ANOVA. Esta situación se presenta para las tres parcelas consideradas (figura 11).

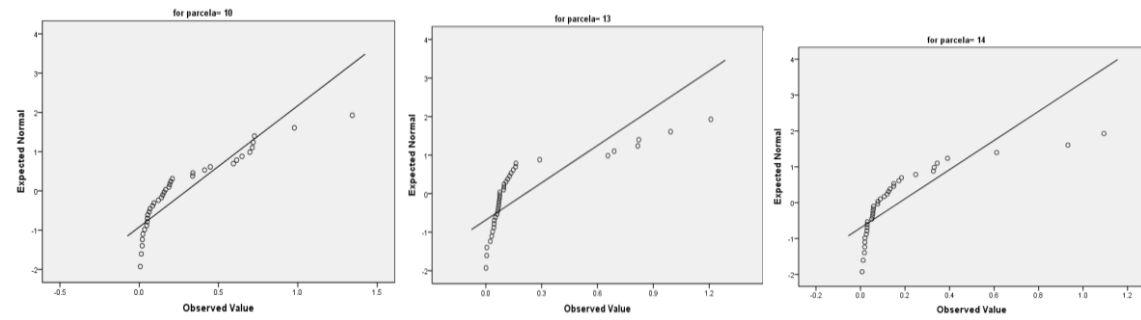


Figura 11. Graficas de normalidad para la variable suelo erodado.

La anormalidad de los datos, para suelo erodado, se visualiza integralmente con Minitab 17, en la figura 12.

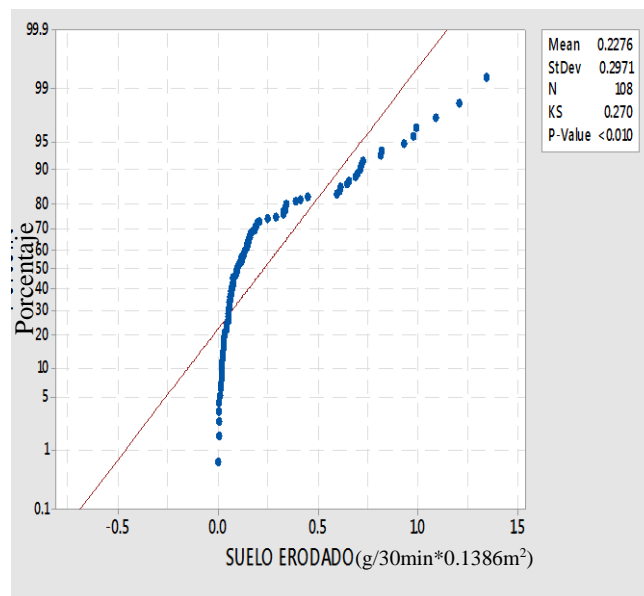


Figura 12. Anormalidad de los datos de suelo erodado.

De igual manera, la variable escorrentía tampoco cumple con el test de normalidad en ninguna de las parcelas, y por tanto los datos de esta variable no se pueden ajustar mediante una distribución normal, de donde tampoco es posible aplicar ANOVA (figuras 13 y 14).

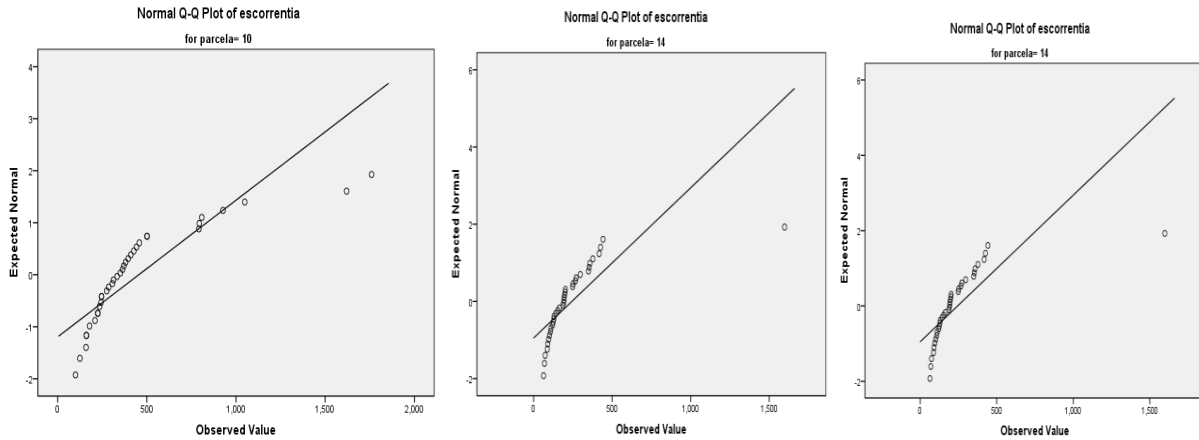


Figura 13. Anormalidad de los datos de escorrentía

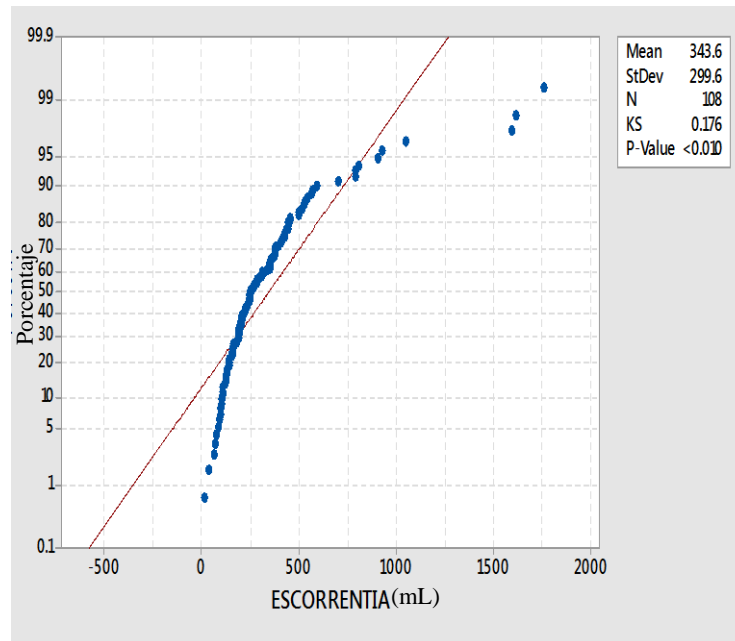


Figura 14. Prueba de normalidad para escorrentía

Cuando se aplica la prueba de bondad del ajuste de Kolmogorov Smirnov, para la variable humedad, es posible establecer, dado que $p > 0.05$, que la distribución de datos de humedad si puede seguir una distribución normal al nivel del 5% (figura 15).

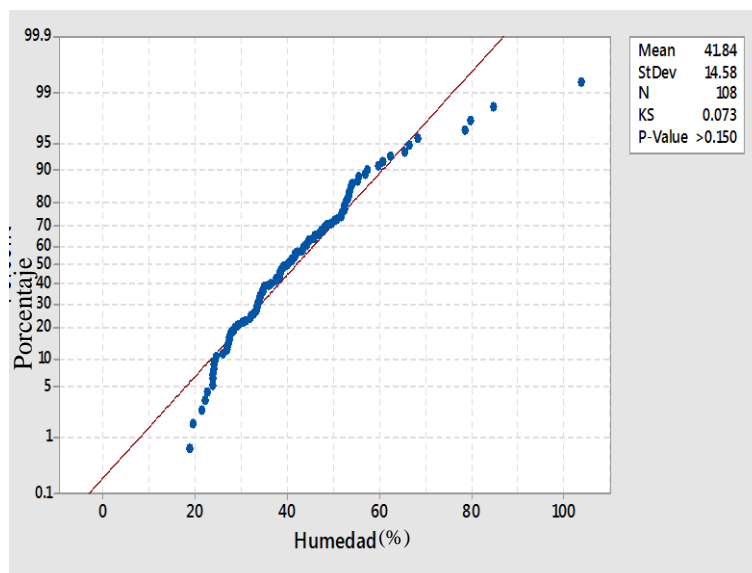


Figura 15. Distribución de probabilidad para humedad

La tabla de SPSS para esta prueba indica el mismo resultado en función de la parcela (tabla 3), lo cual indica que hay diferencia significativa para la humedad entre las pendientes del terreno.

Tabla 3. Prueba de normalidad para humedad según SPSS

	Parcela	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadística	gl	Sig.	Estadística	gl	Sig.
Humedad	10	.136	36	.090	.915	36	.009
	13	.112	36	.200*	.960	36	.212
	14	.116	36	.200*	.931	36	.027

a. Corrección de Lilliefors

De igual forma, para la variable densidad aparente se encuentra que no sigue una distribución normal (tabla 4, figura 16).

Tabla 4. Prueba de normalidad para la densidad aparente

	parcela	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadística	gl	Sig.	Estadística	gl	Sig.
densidad	10	.226	36	.000	.904	36	.004
aparente	13	.190	36	.002	.932	36	.029
	14	.156	36	.028	.830	36	.000

a. Corrección de Lilliefors

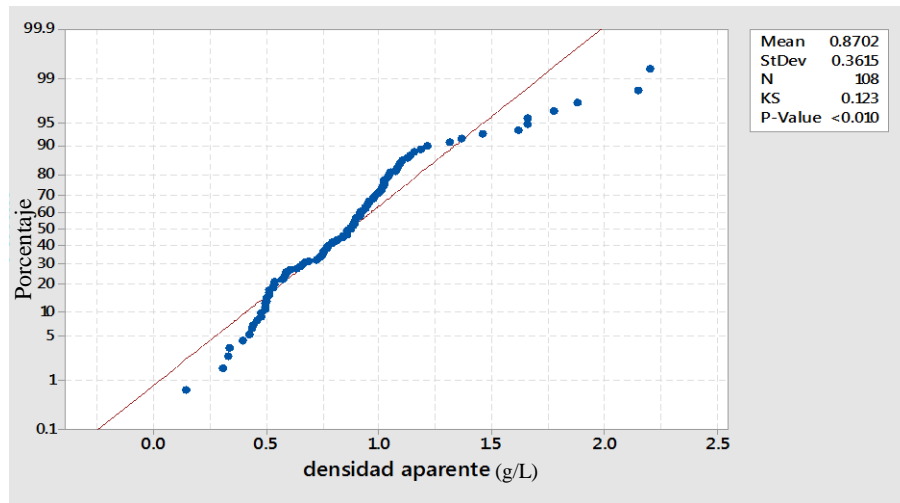


Figura 16. Distribución de probabilidad para densidad aparente

Finalmente, es importante ver si la variable cantidad total de cobre en el suelo sigue una distribución normal o no. Como puede observarse, ésta variable es la que menos sigue una distribución normal, es decir es muy atípica (tabla 5, figura 17).

Tabla 5. Tabla de test de normalidad para cobre total

	Parcela	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadística	gl	Sig.	Estadística	gl	Sig.
cobre total	10	.220	36	.000	.809	36	.000
	13	.329	36	.000	.619	36	.000
	14	.244	36	.000	.681	36	.000

a. Corrección de Lilliefors

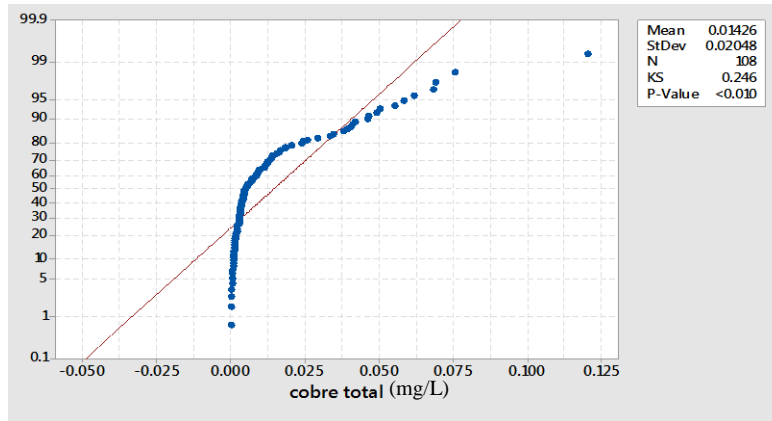


Figura 17. Probabilidad de cobre total

Puesto que la variable de interés es el cobre total, se intenta un cambio de variable, por ejemplo, tomar los logaritmos neperianos de los valores de cobre total; esto hace que se haga normal esta variable, para propósitos de análisis (tabla 6).

Tabla 6. Prueba de normalidad para cobre en las parcelas

	Parcela	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadística	gl	Sig.	Estadística	gl	Sig.
Cobre	10	.126	35	.176	.955	35	.163
	13	.125	35	.185	.946	35	.084
	14	.076	36	.200*	.984	36	.869

a. Corrección de Lilliefors

Ahora, se realiza un análisis unifactorial para las variables escorrentía vs cobre; suelo erodado vs cobre; densidad aparente vs cobre y humedad vs cobre.

Para humedad y cobre total, se trabajó con un diseño unifactorial, con respuesta el contenido total de cobre en el suelo, las siguientes hipótesis: Ho: todas las medias de humedad son iguales; Ha: existe alguna media de humedad significativamente distinta de las otras. Para la opción de ANOVA de una vía entre cobre y humedad, se tiene que, al nivel de 5%, no existen medias significativamente distintas y se acepta Ho, con lo cual no hay una relación o efecto entre el cobre total y la humedad, es decir, una variable no depende de la otra (tabla 7).

Tabla 7. ANOVA cobre total y humedad

Cobre	ANOVA				
	Suma de cuadrados	gl	media cuadrática	F	Sig.
inter-grupos	227.050	104	2.183	.869	.714
intra-grupos	2.511	1	2.511		
Total	229.561	105			

Para escorrentía y cobre total se trabajó un diseño unifactorial, con respuesta el contenido total de cobre en el suelo, con las siguientes hipótesis: Ho: todas las medias de escorrentía son iguales; Ha: existe alguna media de escorrentía significativamente distinta de las otras. Para la opción de ANOVA de una vía entre cobre y escorrentía, se tiene que, al nivel de 5%, no existen medias significativamente distintas (tabla 8) y se acepta Ho, con lo cual no hay una relación o efecto entre el cobre total y la escorrentía.

Tabla 8. ANOVA para cobre total y escorrentía

Cobre	ANOVA				
	suma de cuadrados	gl	media cuadrática	F	Sig.
inter-grupos	196.100	92	2.132	.828	.713
intra-grupos	33.461	13	2.574		
Total	229.561	105			

También, es posible plantear para densidad aparente y cobre total, en un diseño unifactorial, con respuesta el contenido total de cobre en el suelo, las siguientes hipótesis: Ho: todas las medias de densidad aparente son iguales; Ha: existe alguna media de densidad aparente significativamente distinta de las otras.

Para la opción de ANOVA de una vía entre cobre y densidad aparente, se tiene que, al nivel de 5%, no existen medias significativamente distintas (tabla 9) y se acepta Ho, con lo cual no hay una relación o efecto entre el cobre total y la densidad aparente.

Tabla 9. ANOVA para cobre total y densidad aparente

Cobre	ANOVA				
	Suma de cuadrados	gl	media cuadrática	F	Sig.
inter-grupos	229.548	104	2.207	163.008	.062
intra-grupos	.014	1	.014		
Total	229.561	105			

Finalmente, se plantea para suelo erodado y cobre total, un diseño unifactorial, con respuesta el contenido total de cobre en el suelo, las siguientes hipótesis: Ho: todas las medias de suelo erodado son iguales; Ha: existe alguna media de suelo erodado significativamente distinta de las otras. Para la opción de ANOVA de una vía entre cobre suelo erodado, se tiene que, al nivel de 5%, existen medias significativamente distintas ya que $p=0.035$ es menor que 0.05 (tabla 10) y se acepta Ha, con lo cual hay una relación o efecto entre el cobre total y el suelo erodado.

Tabla 10. ANOVA para cobre total y suelo erodado

Cobre	ANOVA				
	Suma de cuadrados	gl	media cuadrática	F	Sig.
inter-grupos	229.405	103	2.227	28.448	.035
intra-grupos	.157	2	.078		
Total	229.561	105			

Puesto que entre estas dos variables existe una relación causa-efecto, se puede utilizar el análisis ANCOVA siempre y cuando se tengan el mismo número de observaciones y sean semejantes los coeficientes de correlación.

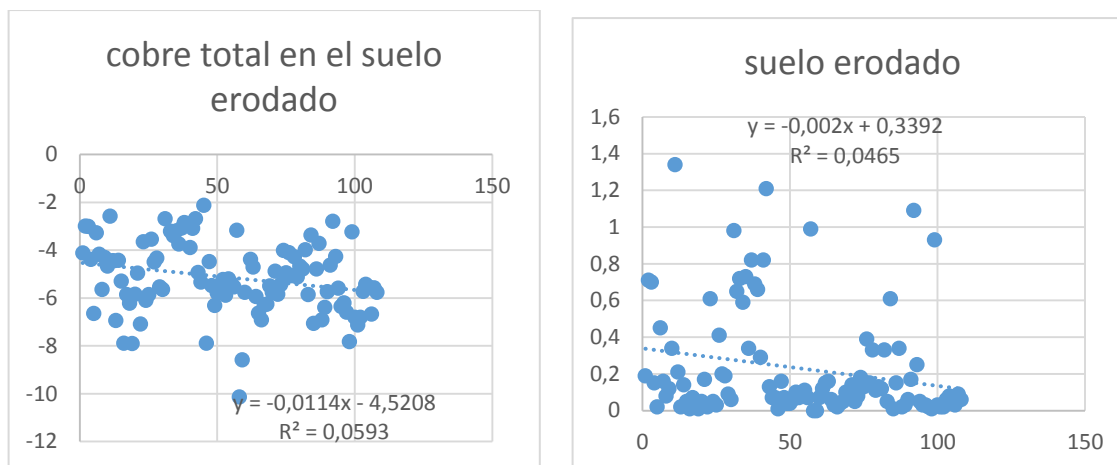


Figura 18. Diagramas de dispersión y Coeficiente de determinación para cobre total y suelo erodado

Se puede ver que, en efecto, este es el caso y que el análisis ANCOVA es pertinente; así, se utilizan estas variables y como factor de covarianza la escorrentía, pero se observa que no existe ni interacción entre escorrentía y suelo erodado ni efecto sobre el contenido de cobre de los factores de forma independiente o en combinación (figura 18, tabla 11).

Tabla 11. ANCOVA para cobre total y suelo erodado

Test de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: cobre					
Recurso	suma de cuadrados tipo III	gl	media cuadrática	F	Sig.
modelo corregido	229.483 ^a	104	2.207	27.971	.150
Intercepto	2.890	1	2.890	36.635	.104
escorrentía	.078	1	.078	.985	.502
suelo erodado	202.275	103	1.964	24.894	.158
Error	.079	1	.079		
Total	3034.949	106			
total corregido	229.561	105			

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado ajustado = .964)

Además, si se trata de correlacionar el contenido de cobre total con el suelo erodado, se obtiene un modelo que solo predice entre estas variables una regular correlación (figura 19). Es decir, con la prueba ANOVA se determinó que existen diferencias significativas, sin embargo, al aplicar la prueba ANCOVA se determina que la relación que existe es mínima.

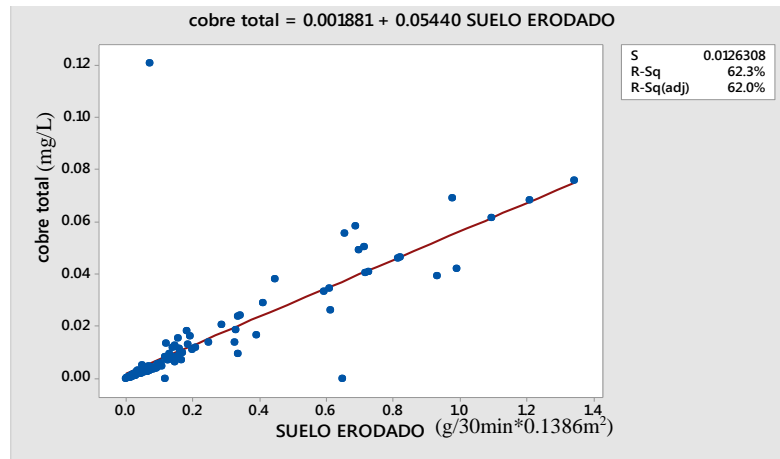


Figura 19. Regresión lineal entre cobre total y suelo erodado.

Concentración letal media CL₅₀

Teniendo en cuenta que el resultado de toxicidad del cobre depositado en el agua del sistema hidrobiológico se encuentra por debajo del límite de detección del espectrofotómetro, para determinar las concentraciones de cobre a utilizar en el bioindicador *Artemia franciscana*, se realizó un test preliminar, con diferentes concentraciones (1, 10, 100, 1000, 2000 y 30000 mg/L), para determinar las concentraciones a emplear. Se trabajó con tres replicas, a las 6, 12, 24 y 48 horas, además del control, los diferentes niveles de concentración de sulfato de cobre pentahidratado utilizados se observan en la tabla 12.

Tabla 12. Mortalidad de organismos a diferentes concentraciones para CL₅₀ a las 6, 12, 24 y 48 horas

CuSO ₄ .5H ₂ O mg/L	6 horas			12 horas			24 horas			48 horas		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
2900	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2850	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2800	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2520	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2100	9	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
1680	8	7	8	10	9	9	10	10	10	10	10	10
1400	6	5	6	8	9	8	10	10	10	10	10	10
1120	4	5	5	5	6	7	10	10	10	10	10	10
1000	4	3	4	6	5	6	10	10	10	10	10	10
600	1	1	1	5	4	5	10	10	10	10	10	10
500	0	0	0	4	3	4	10	10	10	10	10	10
200	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
150	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
100	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
50	0	0	0	0	0	0	8	8	8	10	10	10
25	0	0	0	0	0	0	4	5	6	8	9	9
20	0	0	0	0	0	0	1	2	1	5	5	6
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	2
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	2
3,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Al correr los datos en el software Graph PadPrism 5.0 fue posible obtener la concentración letal media (CL₅₀) del sulfato de cobre pentahidratado para los diferentes tiempos (anexo 2). Para determinar la concentración de Cu⁺⁺ se realizó la conversión mediante el peso molecular (tabla 13).

Tabla 13. CL₅₀ para el Cu⁺⁺

	6 horas	12 horas	24 horas	48 horas
CL₅₀ CuSO₄ .5H₂O	1163 mg/L	889,30 mg/L	23,20 mg/L	11,41 mg/L
CL₅₀ CuSO₄	743,78 mg/L	568,74 mg/L	14,83 mg/L	7,29 mg/L
CL₅₀ Cu⁺⁺	295,97 mg/L	226,31 mg/L	5,90 mg/L	2,90 mg/L

Teniendo ya, la conversión para el ion Cu^{++} , se muestran los resultados obtenidos. En 6 horas la concentración letal es de 295,97 mg/L, al cabo de 12 horas, la concentración letal media es de 226,31 mg/L, siendo ambas concentraciones moderadamente tóxicas (tabla 14). Tras 24 horas, en diferentes rangos de concentración de sulfato de cobre pentahidratado, se observa que la concentración letal media para el cobre en *Artemia franciscana* es de 5,90 mg/L y por último, al transcurrir 48 horas, se observa una concentración letal media de 2,9 mg/L, considerándose ambas concentraciones extremadamente tóxicas según la clasificación establecida por el CYTED.

Tabla 14. Clasificación de toxicidad CYTED.

Nº	Categoría	CL ₅₀ (mg/L)
I	Extremadamente tóxico	1-10
II	Altamente tóxico	10-100
III	Moderadamente tóxico	100-500
IV	Ligeramente tóxico	500-1000
V	Prácticamente no toxico	1000-1500
VI	Relativamente inocuo	>1500

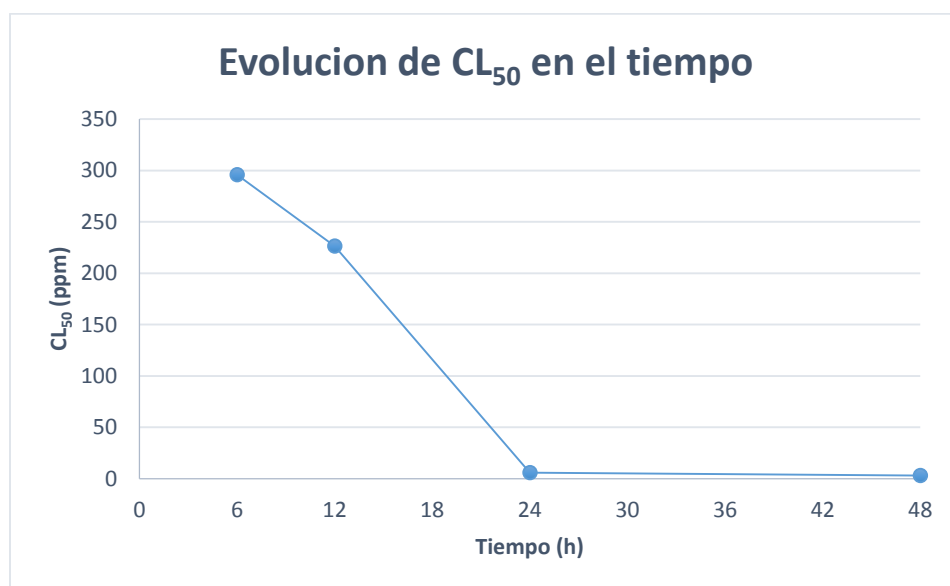


Figura 20. Evolución de CL₅₀ de Cu^{++} en *Artemia franciscana* en el tiempo

Según la figura 20, se aprecia el efecto del cobre a concentración constante sobre *Artemia franciscana* a través del tiempo, evidenciándose cómo el aumento en la concentración de cobre

es tóxica para los organismos con el pasar de las horas, por tanto, entre más tiempo pase el metal en el organismo del bioindicador, más letal será para éste y su efecto en el ecosistema hídrico.

En el caso de las plantaciones de café, el hecho de utilizar fungicidas con metales como el cobre con elevada frecuencia de aplicación, puede conllevar la movilidad de este en los diferentes estratos del perfil o ser arrastrados por la escorrentía superficial hacia aguas superficiales generando riesgo a la fauna y la flora de los ecosistemas acuáticos.

Finalmente se presentan los resultados de las toxicidades CL_{50} para las cuatro concentraciones en el tiempo, que son 6, 12, 24 y 48 horas, junto con su nivel de toxicidad, como se ve en la tabla 15.

Tabla 15. Toxicidad CL_{50} y su evolución en el tiempo

Tiempo (h)	CL_{50} (ppm)	Toxicidad
6	295.97	Moderadamente tóxico
12	226.31	Moderadamente tóxico
24	5.9	Extremadamente tóxico
48	2.9	Extremadamente tóxico

Estos resultados indican que a medida que transcurre el tiempo, se hace más letal el efecto de los iones de cobre en el bioindicador *Artemia franciscana* y por tanto, el peligro que enfrenta el ecosistema hídrico, con el riesgo de entrar estas concentraciones moderadamente tóxicas en la cadena alimenticia humana, aunque las concentraciones iniciales que llegan al agua no sean muy tóxicas.

8. DISCUSIÓN

A partir de las características del suelo de la finca Los Naranjos, Corregimiento de La Venta, Municipio de Cajibío, Cauca, es posible buscar una explicación de los resultados encontrados porque se esperaba que la escorrentía y el suelo erodado fueran altamente significativos en el arrastre de cobre hacia el sistema hidrobiológico, donde el bioindicador elegido evidenciaría cual sería el efecto del cobre sobre el ecosistema acuático.

Teniendo en cuenta, que, como se mencionó en los resultados, no existe un patrón de comportamiento entre las diferentes variables con el tiempo (muestreos realizados quincenalmente), y en la mayoría de los casos tampoco existe relación significativa entre las variables, la discusión se enfocará en los promedios obtenidos para cada variable.

Si bien se espera que el pH del suelo (5.56) y la concentración de iones de cobre (II) sean factores de control del impacto del cobre sobre los microorganismos del suelo, especialmente en los poros donde existe agua, el efecto es mínimo porque la concentración de cobre es muy baja, lo que concuerda con los resultados encontrados por Vulkan *et al.*, (2000), quienes encontraron que los iones de Cu^{++} con respecto al cobre disuelto era menor al 1%, y por tanto bioindicadores como la *Escherichia Coli* podían asimilarlos.

Así mismo, existe una relación significativa entre las propiedades del suelo contaminado con cobre y la concentración de cobre existente en las hojas de las plantas de café, si bien ésta es variable, utilizándose muestras de suelo con profundidades de 0-20 cm, como lo demuestra el estudio realizado por Senkondo *et al.*, (2014), en cafetales de Tanzania, la propiedad más significativa a tener en cuenta es el pH (en este caso 5.56), porque este determina el grado de movilización del cobre en el suelo cuando es llevado por la lluvia desde las hojas hasta el sustrato, siendo mayor tal absorción cuando el suelo es ácido (como en este caso); además, la cantidad de materia orgánica (17,29%) afecta la disponibilidad del cobre en el suelo, ya que esta puede acomplejar el cobre entre un 50 y 80% (Gupta y Mackay, 1965).

Aparentemente, el riesgo de usar cobre en fungicidas para controlar las plagas del cafeto es menor, sin embargo esto sólo se puede afirmar para la capa superficial del suelo, ya que esta planta tiene raíces profundas, aproximadamente entre 30 y 60 cm y por tanto a estas

profundidades el cobre está inmovilizado; de modo que si el suelo es lo suficientemente ácido (como en este caso), el contenido de cobre superficial va a ser muy bajo porque la solubilidad del metal es mayor a pH menores a 6 (Boudesocque *et al.*, 2007). En la superficie del suelo se encuentran microorganismos heterótrofos que podrían estar disminuyendo la concentración de cobre, otra parte de este pasa a las raíces y es absorbido para fomentar el crecimiento de las plantas (Senkondo *et al.* 2014), también puede estar infiltrándose en las aguas subterráneas, siendo esta la situación que se podría estar presentando en los suelos de la Finca Los Naranjos.

La escorrentía de 343.6 mL, en promedio, no arrastra mucha materia orgánica y en consecuencia, no existe una significativa cantidad de cobre en el torrente hídrico. Se debe tener en cuenta que aunque se encontró un promedio de 0.713 mg de Cu/Kg de suelo, en el agua no fue posible obtener concentración de cobre debido a que los valores estaban por debajo del límite de detección del equipo (0,00213 mg/L).

A pesar de que en Colombia no existen valores de referencia para la toxicidad del cobre en el suelo, Osorio (2012) determina parámetros de comparación para niveles de fertilidad de suelos en Colombia, encontrándose el valor medio obtenido en el presente estudio como concentración baja para la fertilidad de los suelos (tabla 16). Este autor asegura que concentraciones entre 1-3mg/Kg son suficientes en cuanto a la fertilidad del suelo. Sin embargo, si se habla de toxicidad del metal estudiado, en Europa existen normativas que establecen los valores permitidos para suelos ácidos, así como también se dan a conocer algunos valores de cobre sugeridos para realizar intervención en ellos (tabla 17). Teniendo en cuenta estos valores de referencia, el cobre encontrado en el suelo, está dentro de los valores permitidos, siendo la concentración hallada baja. En el Anexo 3 se dan a conocer algunos valores de referencia para el Cu en suelos de diferentes países europeos.

Tabla 16. Rangos de cobre en la fertilidad del suelo. Valores dados en mg/Kg. Modificado de Osorio (2012).

Parámetro	Interpretación				
	Muy baja	Baja	Suficiente	Alta	Muy alta
Cu	< 0.5	0.5-1	1-3	3-5	> 5

Tabla 17. Valores de referencia de Cu^{++} para suelos, en mg/Kg y su recomendación para intervención. Modificado de CMAJA (1999).

Valores máximos	Investigación recomendable	Investigación obligatoria	Tratamiento necesario - obligatorio	Parques naturales	Áreas industriales
<50	50-150	150-300	>300	>500	>1000

Los resultados encontrados en cuanto al cobre total en este cultivo de café, están limitados a un periodo muy corto, en el cual no se evidencia acumulación a lo largo del tiempo, por tanto no se puede comparar con los diferentes estudios realizados en cultivos de café en el mundo, ni siquiera con los antecedentes de países cafeteros como Costa Rica, donde en cuanto a los niveles del microelemento por contaminación con plaguicidas, utilizados en el cultivo de café, se ha demostrado que éstos incrementan de forma importante el contenido de cobre, donde el valor de referencia era de 22.9 mg/Kg, y se elevaron hasta 44.0 mg/Kg (Cabalceta *et al.*, 1996), por lo cual se podría pensar que se está dando un manejo adecuado a la finca Los Naranjos, sin excederse en el uso de fertilizantes y plaguicidas.

Según se establece en el estudio de Loland & Singh (2004), el empleo repetido de fungicidas a base de cobre, para controlar las plagas del cafeto, como la roya o la broca, evidencia ser factor de acumulación de cobre en el suelo y en la vegetación, con una concentración peligrosa para las plantas y para la salud humana; se encontró una gran concentración de cobre en el suelo, que era de tres a cinco veces mayor a una profundidad de 5 cm que a la de 15-30 cm, existía una gran variabilidad de concentraciones en diferentes puntos del cafetal, siendo mayor con menores pH. Entonces, que exista poco cobre en la superficie del suelo, no es confiable, pues este se puede estar movilizando en el perfil del suelo, como lo demuestra Solano (2017) quien encontró que la mayor concentración de Cu en la misma región se encuentra a 5 cm de profundidad, con rangos entre 50 y 55 ppm. A pesar de que hay poco cobre en la superficie del suelo, es preocupante a largo plazo, aunque sea poco el cobre desplazado por la erosión, este termina afectando los acuíferos aledaños, y por tanto la biota ahí presente.

Entonces, tiene más sentido afirmar que el poco cobre existente se inmoviliza en los niveles profundos, aunque un contenido de cobre total de 0.713 mg/Kg, indica que este microelemento se está reteniendo en otros puntos del ecosistema, además de indicar que el suelo es bastante infértil en el horizonte O, lo que si puede ser posible en razón de la correlación entre

el suelo erodado y el contenido de cobre. El cobre no ha sido arrastrado de forma significativa al sistema hídrico, sino que por las necesidades del café, el que está disponible se acumula en la zona radicular de los cafetos.

Otra de las razones es que la materia orgánica existente en el suelo está muy relacionada con la inmovilización y retención de cobre en el suelo, especialmente en los niveles de profundidad superiores a 20 cm. El valor reportado para la finca Los Naranjos es muy alto (17.29%), tomando como base la escala proporcionada por Rioja (2002), en donde menciona que valores por encima de 3.6% son muy altos, valor que es altamente superado. Entonces, el hecho de que exista abundante materia orgánica genera que una buena porción del cobre forme complejos con esta, y a su vez, la existencia de materia orgánica afecta positivamente la presencia de microorganismos que contribuyen a retenerlo y a disminuir la disponibilidad de cobre en suelos agrícolas ((Jezequel *et al.* 2005; Kass, 1996).

Esto lleva a la necesidad de establecer los contenidos y necesidades de micronutrientes a suministrar a los suelos cafeteros con características similares a los de la Finca Los Naranjos, porque como afirman Sadeghian & Salamanca (2015), “En la actualidad no se cuenta con información acerca de la acumulación de micronutrientes en los frutos de café para la zona cafetera de Colombia, de modo que se requieren estudios sobre las variaciones en la acumulación de Hierro-Fe, Manganese-Mn, Cinc-Zn, Cobre-Cu y Boro-B en los frutos de café desde la floración hasta la maduración y sus concentraciones en las hojas”.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) juega un papel bastante importante en la retención de metales; en general, cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo de fijar metales. Según el criterio de Balland (1984) y Gagnard *et al.* (1988) los valores de CIC comprendidos entre 20 y 30 cmol/kg, rango dentro del cual se encuentran los suelos estudiados (27 cmol/kg), son considerados altos, sin embargo, la textura del suelo (arenosa-franca) es otro factor a tener en cuenta, pues los suelos arenosos carecen de capacidad de fijación de los metales pesados, los cuales pasan rápidamente al subsuelo y pueden contaminar los niveles freáticos (pineda-Hernandez, 2004).

Por otra parte, la discusión de la toxicidad, en cumplimiento del segundo objetivo planteado, implica la evaluación del efecto del cobre en el organismo de la *Artemia franciscana*,

determinando la toxicidad media del cobre CL_{50} depositado en el agua, llevado por escorrentía superficial y erosión al ecosistema hídrico.

Ante la evidencia de toxicidad por acumulación de metales pesados como el cobre, debido a las actividades humanas, particularmente aquellas de la agricultura, Blaxter & Hallers (1992) investigaron el efecto de diversos metales pesados y otros contaminantes sobre los órganos sensoriales y comportamiento de animales acuáticos al reducirse la cantidad de información que llega al cerebro, particularmente sobre los peces e invertebrados de agua dulce, efecto que se debe a la acumulación del contaminante, capturado desde el medio ambiente por difusión, en el hígado y torrente sanguíneo, impactando en los mecanorreceptores y fotoreceptores, fundamentalmente, permitiendo fijar umbrales de efecto letal por envenenamiento con cobre, por ejemplo de 0.04 ppm para la trucha arcoíris.

De igual forma, Briks, *et al.* (2006), determinaron que las células de los huevecillos de *Artemia franciscana* eran extremadamente sensibles a las concentraciones de metales pesados en el entorno acuático, especialmente a una concentración efectiva (EC_{50}) de 5 $\mu\text{g/L}$ de cobre, pero que si se disuelve carbono en el agua, se obtiene un efecto protector que permite a este invertebrado soportar niveles de cobre de hasta 68 $\mu\text{g/L}$ en el entorno salino marino.

Sin embargo, los nauplios de *Artemia franciscana* no son generalmente sensibles a cambios de concentración de metales pesados en el entorno, cuando se la compara con otros organismos. Por ejemplo, *Poecilia reticulata* (pez guppy) presenta CL_{50} para cobre a las 24 y 48 horas es de 0,349 mg/L y de 0,145 mg/L respectivamente. La carpa forrajera (*Ctenopharyngodon idella*) presenta una CL_{50} a las 24 y 48 horas de 293.747 mg/L, y 278.019 mg/L respectivamente (Clegg, 1997; Blaxter *et al.*, 1992; Shuhaimi-Othman *et al.*, 2010; Nekoubin *et al.*, 2012).

Así mismo, Blust, *et al.* (1991), determinaron que tanto la ingesta como la toxicidad del cobre por organismos acuáticos, es en gran parte función de las características químicas y físicas del metal en el ambiente y de la concentración de los iones libres en la solución, interesándose en particular en el entorno salino, donde el cobre se hace más complejo mediante ligandos orgánicos e inorgánicos, donde solo una pequeña fracción del cobre existe como radicales libres; demostraron que la ingesta de cobre por la *Artemia franciscana* se incrementaba linealmente en función de la concentración total del metal en la solución, siendo más elevada en medio básico

que en uno ácido, comportamiento que se mantuvo en todos los niveles de concentración utilizados.

Es importante destacar que, la *Artemia franciscana*, es uno de los bioindicadores preferidos por los investigadores en toxicidad y contaminación ambiental, dado que permite conocer los efectos nocivos que los metales pesados y otros contaminantes ejercen sobre los ecosistemas. La *Artemia* es hasta la fecha el único género animal en todo el mundo cuyo estado criptobiótico (quistes) está disponible comercialmente de manera continua, como fuente de alimentos para peces y crustáceos en acuicultura. Esto ha constituido un elemento clave en su utilización en ensayos biológicos (Hadjispyrou *et al.*, 2001; Vanhaecke & Persoone, 1984).

En este orden de ideas, los resultados obtenidos a las 6, 12, 24 y 48 horas, con respecto al efecto de la concentración de iones Cu^{++} en un sistema acuático simulado donde se colocaron nauplios de *Artemia franciscana*, evidenciaron que la toxicidad es moderada a las 24 y 48 horas, debido al efecto del cobre con el pasar del tiempo en el sistema biológico, y que pueden presentarse efectos de envenenamiento del bioindicador, aún si las dosis iniciales no son elevadas.

En la figura 19, se evidenció que la cantidad de cobre aumenta a medida que aumenta la cantidad de suelo erodado, teniendo en cuenta que la erosión aumenta en suelos con pendiente bajo cultivo, entonces, entre más suelo erodado, mas cobre puede estar llegando a las aguas continentales, lo cual también depende de factores climáticos (intensidad de lluvias), topográficos, capacidad de infiltración, compactación, acidez y densidad del suelo, entre otras variables que en conjunto, como en este caso permitieron que el cobre se adsorba al suelo, y sea arrastrado a la escorrentía superficial, llegando a las fuentes hídricas aledañas.

9. CONCLUSIONES

- El cobre que llega a las aguas superficiales proveniente del arrastre de la escorrentía superficial se encuentra adsorbido en los sólidos suspendidos y materia orgánica del suelo que es erosionado, encontrándose en concentración media de 0.713 mg Cu/Kg de suelo arrastrado.
- La concentración de cobre contenida en el suelo erodado es catalogada como concentración baja, de acuerdo con diversos autores, sin embargo, esta concentración puede variar de acuerdo con las intensidades de lluvia de la zona, que en el presente estudio se mantuvieron controladas. Se sabe que en la naturaleza, la frecuencia e intensidad de lluvia puede variar.
- El porcentaje de inclinación de las tres parcelas (p10 = 65%, P13 = 25% y P14 = 18%) no mostró diferencias significativas frente a las variables estudiadas como la cantidad de agua arrastrada por escorrentía superficial, suelo erosionado y contenido de cobre en el suelo.
- A pesar de que algunas condiciones fisicoquímicas del suelo son aptas para retener el cobre, no existe gran cantidad de este metal en la superficie del suelo; por ejemplo, al existir alta materia orgánica, pH ácido, alta capacidad de intercambio catiónico, se esperaría mayor concentración de cobre sobre la materia orgánica unificada, sin embargo, factores como la densidad aparente, el tipo de suelo (arenoso-franco) y los microorganismos favorecen la movilidad de este metal en el perfil del suelo.
- En este estudio se encontró una CL₅₀ de 5,9 ppm a las 24 horas y de 2.5 ppm a las 48 horas para el cobre. Las concentraciones halladas de cobre en el suelo son bajas, pero si estas concentraciones son constantes, por largos periodos de tiempo, pueden llegar a convertirse en concentraciones tóxicas para los organismos, como se pudo evidenciar con *Artemia franciscana*. la cual a mayor tiempo de exposición del organismo frente al cobre, se va disminuyendo la concentración a la cual el metal se vuelve tóxico para el organismo.

10. RECOMENDACIONES

- La principal recomendación según el caso estudiado es realizar los muestreos periódicos después de cada cosecha por periodos largos (décadas), para poder monitorear y detectar el cobre que se acumula en el suelo y determinar el momento indicado para tomar medidas preventivas y de control y así; evitar que su concentración acumulada se convierta en toxica.
- También se aconseja trabajar con técnicas diferentes a la espectrofotometría por absorción atómica de llama, como la espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito, el cual tiene elevada sensibilidad (ppb) que permitan medir valores de cobre más bajos, para así tener datos precisos de este en el agua que fluye por escorrentía superficial.

11. REFERENCIAS

- Adams, S. M. & Greeley M. 2000. Ecotoxicological indicators of water quality: using multi-response indicators to assess the health of aquatic ecosystems. *Water, Air and Soil Pollution* 123: 103-115.
- Alcaldía de Cajibío. 2002. Plan Básico de Ordenamiento Territorial, Municipio de Cajibío.
- Alloway, B.J. 1995. Heavy metals in soils. Second Edition. Blackie and Professional, London, Glasgow, U.K. 332p.
- Álvarez-Sánchez M. E. & Marín-Campos A. 2011. Manual de procedimientos analíticos de suelo y planta Laboratorio de Química, Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx.
- Andrei, E. 1993. Compêndio de agrotóxicos agrícolas. 4. ed. São Paulo: Organização Andrei Editora Ltda.
- Andriolli, A., Beraldo, H., Santos, D., Teixeira, S., Teixeira, L. & Ziolli, R. 2007, Avaliação do potencial citotóxico de 2-piridiniformamida tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe (III) utilizando *Artemia franciscana*. *Heal. and Environ. J.* 8: 2-10
- Balland D. 1984. Fertilisation phosphatée et potassique des cultures. Inst. Tech. Cereales et des Fourrages.
- Bartolomé-Camacho Mc, Sánchez-Fortún Rodríguez S. 2007. Valoración de la toxicidad aguda de biocidas utilizados en ambientes de la vida privada y la salud pública sobre *Artemia franciscana*. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 3: 90-97
- Benito, E., Blas E., Santiago J. & Varela M. 2001. Descripción y puesta a punto de un simulador de lluvia de campo para estudios de escorrentía superficial y erosión del suelo. *Cadernos Lab. Xeolóxico de Laxe* 26 (1): 211-20.
- Blaxter, J.H.S., & Hallers-Tjabbes, C.C. (1992). The effect of pollutants on sensory systems and behaviour of aquatic animals. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 26(1), 43-58.
- Bliss CI. 1934. The method of probits. *Science*. 79 (2037): 38-39.
- Blust, R., Fontaine, A., & Declair, W. 1991. Effects of hydrogen ions and inorganic complexing on the uptake of cooper by brine shrimp *Artemia franciscana* . *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, 76(1), 273.
- Boudesocque, S., Guillon, E., Aplincourt, M., Marceau, E. & Stievano, L. 2007.Sorption of Cu(II) onto vineyard soils: Macroscopic and spectroscopic investigations. *J. Colloid Interface Sci.* 307, 40-49.

- Brix, K.V., Gerdes, R.M., Adams, W.J. & Grosell, M. 2006. Effects of copper, cadmium, and zinc on the hatching success of brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(4), 580–583.
- Bubbenzer, G.D. 1979. Rainfall characteristics important for simulation. In: Proceedings of the rainfall simulator workshop. Tucson, Arizona.
- Cabalceta, G., D'ambrosio, A. & Bornemisza, E. 1996. Evaluación de cobre disponible en Andisoles e Inceptisoles de Costa Rica plantados de café. *Agronomía Costarricense* 20(2):125-134.
- Cano, C.G., Vallejo C., Caicedo, E., Amador, J. & Tique E. 2012. "El Mercado Mundial del Café y su Impacto en Colombia", *Borradores de Economía*. Banco de La Republica. Colombia. v.710.
- Clegg, J. 1997. Embryos of *Artemia franciscana* survive four years of continuous anoxia: the case for complete metabolic rate depression. *J Exp Biol*, 200(Pt 3), 467–475.
- CMAJA. 1999. Los criterios y estándares para declarar un suelo contaminado en Andalucía y la metodología y técnicas de toma de muestra y análisis para su investigación. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.
- Cobo, L. 1998. Diseño, construcción y evaluación de un mini simulador portátil de lluvia para estudios de susceptibilidad a erosión en laderas. Palmira: Universidad del Valle. Facultad de ingeniería.
- Contraloría Departamental del Cauca. 2009. *Informe final auditoría especial a la gestión integral del recurso hídrico en Colombia*. Dirección técnica de auditorías de gestión y resultados auditoría especial de gestión al recurso hídrico en Colombia. Popayán.
- Das, K., Debacker, V., Pillet S. & Bouquegnea J. 2003. Heavy metals in marine mammals. In: J.G. Vos, G.D. Bossart, M. Fournier & T.J. O'shea (eds.). *Toxicology of marine mammals*. Taylor & Francis, London, pp. 135-167.
- De Alba, S., Alcázar, M., Cermeño, F.I. & Barbero, F. 2011. Erosión y manejo del suelo. Importancia del laboreo ante los procesos erosivos naturales y antrópicos. En: *Agricultura ecológica en secano: soluciones sostenibles en ambientes mediterráneos*. Ministerio De Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. p. 13-38.
- Department of Energy, 1987. Physiological responses of marine organisms to environmental stresses. Dorigan, J.V. and F.L. Harrison (eds). DOE/ER-0317: USA. 501 pp.
- Díez, M. 2006. Valores de Fondo de Elementos Traza en Suelos de La Provincia de Granada. *Tesis Doctoral, UG*.

- FAO. 2001. Fisheries Topics: Ecosystems. Ecosistemas acuáticos continentales. Topics Fact Sheets. Texto de Peter Manning. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. Roma. Actualizado diciembre 28 de 2015. Food and Agriculture of the United Nations.
- Fergusson J.E. 1992. The heavy elements: Chemistry, environmental impact and health effects, Pergamon Press, Nueva York, 502 p
- Gagnard, J., Huguet, C. & Ryser, J.P. 1988. L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation: le contrôle de la qualité des fruits. Org. Int. Lutte biologique et intégrée. Galán Huertos, E., Romero Baena, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. Macla, 10, 48-60.
- García L. & Rubiano O. 1984. Comunidades de líquenes como indicadores de niveles de calidad del aire en Colombia. Cont. Amb. 8, 73-90.
- Gómez, A.A., Grisales, G.A. & Suárez, S.J. 1975. Manual de conservación de suelos de ladera. Chinchiná: CENICAFÉ. 267 p.
- Gupta, U. C. y Mackay, D. C. 1965. Extraction of water-soluble copper and molybdenum from podzol soils. Soil Science Society of America Proceedings 29: 323.
- Haddad, N. 2004. Introduction – Why Study Earth System Science. Online Internet. Cambridge, TERC.
- Hadjispyrou S., Kungolos A. & Anagnostopoulos A. 2001. Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 49 (2):179-186.
- Heath, A.G. 1991. Effect of waterborne copper on physiological responses of bluegill (*Lepomis macrochirus*) to acute hypoxic stress and subsequent recovery. Comp. Biochem. Physiol C 100: 559-564.
- Hudson, N. 1981. Soil conservation, Ithaca, New York, Cornell University Press, 324 p. Instituto Caribeño de Recursos Naturales. 2008, Cambio climático y reducción de riesgos de desastres. Reporte técnico N° 386.
- IDEAM. 2004. Determinación de metales pesados totales con digestión ácida y solubles lectura directa por espectrofotometría de absorción atómica. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial - República de Colombia.
- ICONTEC. 1997. Gestión ambiental. Calidad de agua. Determinación de cobalto, níquel, cobre, cinc, cadmio y plomo. Métodos espectrométricos de absorción atómica de llama. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Bogotá. 3h. (NTC, 4254).

- ICONTEC. 2007. Calidad de suelo. Determinación de micronutrientes Disponibles: cobre, zinc, hierro y Manganeso. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Bogotá. (NTC, 5526).
- Kass, D. 1996. Fertilidad de suelos. Nuñez, J. 1 ed. San José, C.R., EUNED. 272p.
- Larrain, A. 1995. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. *Cienc. Tec. Mar*, CONA (N° especial):39-47.
- Loland, J. & Singh, B. 2004. Copper contamination of soil and vegetation in coffee orchards after long-term use of Cu fungicides. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69: 203-211.
- Meyer, L.D. 1965. Simulation of rainfall for soil erosion research. *Trans of the ASAE*, 8: 63-65.
- Moore J.W. & Ramamoorthy, S. 1984. Heavy metals in natural waters – *applied monitoring and impact assessment*. Spring Series on Environmental Management; Springer – Verlag, New York.
- Moreno, C. & Garcia M. 2008. Nuevas alternativas para la simplificación y mejora de la metodología de análisis de metales pesados en muestras ambientales.
- Morgan, R. P. 1986. Factors influencing erosion. In: *Soil erosion and conservation*, Jon Wiley y Sons, New York, Cap. 3.
- Mukhopadhyay, S., Chattopadhyay, B., Goswami, A., & Chatterjee, A. 2007. Spatial Variations in Zooplankton Diversity in Waters Contaminated with Composite Effluents. *Journal of Limnology.*, 66(2): 97-106
- Muñoz, F. A. 2007. Evaluación de la susceptibilidad a la erosión en dos tipos de agroecosistemas alto andinos en la cuenca del río Palacé. Trabajo de grado. Departamento de Biología. Popayán: Universidad del Cauca.
- Nekoubin, H. and Gharedaashi, E. 2012. Determination of LC50 of Lead Nitrate and Copper Sulphate in common carp (*Cyprinus carpio*). *American-Eurasian Journal of Toxicological sciences*, 4(2): 60- 63.
- Osorio, N.W. 2012. Como interpretar los resultados del análisis de fertilidad del suelo. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín.
- Paris, C., Hadad H., Maine M.A. & Suñe N. 2005. «Eficiencia de dos macrófitas flotantes libres en la absorción de metales pesados.» *Limnetica* 24 (3-4): 237-44.
- Paulet, I. M. 1974. Guía para el planeamiento del uso de las tierras agrícolas en las zonas de lluvia del Perú. Universidad Agraria La Molina. Depto. de Recursos de Agua y Tierra. Publicación N°5, 55 p.

- Perez-Nieto, J., Valdes-Velarde, E., & Ordaz-Chaparro, V. 2012. Cobertura vegetal y erosión del suelo en sistemas agroforestales de café bajo sombra. *Terra Latinoam* [online]. vol.30, n.3, pp.249-259. ISSN 2395-8030
- Pineda-Hernández, R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus* L.) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Universidad de Colima.
- Ramírez, P. & Mendoza A. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos naturales. Instituto Nacional de Ecología. México.
- Restrepo R., Ortiz M. & Reyes D. 2011. Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla *Allium cepa* L y semillas de lechuga *Lactuca sativa* L como bioindicadores. *Revista Iteckne* ISSN: 1692-1798 ed: Editorial La Bastilla. v.8 fasc.1 p.7 – 14.
- Rioja M.A. 2002, Apuntes de Fitotecnia General, E.U.I.T.A., Ciudad Real.
- Ruiz-Perez, O. 2009. Caracterización de diversas poblaciones de *Artemia* desde el punto de vista de su composición en ácidos grasos y de sus Patrones moleculares. Universidad de Valencia. ISBN: 978-84-370-7340-8. España.
- Sadeghian K.S & Salamanca J.A. 2015. Micronutrientes en frutos y hojas de café. *Revista Cenicafé* 66 (2): 73-87.
- Sanabria-Galindo A., López SI. & Gualdrón R. 1997. Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. *Rev Col Cienc Quím Farm*, 26:15-9.
- Sawyer, C.N., Mccarty P.L. & Parkin G.F. 2000. Química para ingeniería ambiental. Editado por Interamericana S.A. Bogotá D.C.
- Scelzo, M. 1997. Copper toxicity in nauplii larvae of the commercial shrimp *Artemisia longinarius* (Crustacea, Decapada, Penaeidae). *Invest. Mar. Valparaíso*, 25:177-185.
- Senkondo, Y.H., Tack, F.M.G. & Semu, E. 2014. Copper Accumulations in Soils, Coffee, Banana, and Bean Plants Following Copper-Based Fungicides in Coffee Farms in Arusha and Kilimanjaro Regions, Tanzania. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45(15), 2032–2045.
- Shuhaimi-Othman M., Nadzifah Y. & Ahmad A. 2010. Toxicity of Copper and Cadmium to Freshwater Fishes. *Proceedings of World Academy of Science, Engin Technol*, 2010; 65:869-71.

- Silva, J., Torrejón G., Bay-Schmith E. & Larrain A. 2003. «Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *daphnia pulex* (crustacea : cladocera) usando un toxico de referencia.» *Gayana* 67 (1): 87-96.
- Solano, R. 2017. Especiación y movilidad de cobre en un agroecosistema cafetero del municipio de cajibío (cauca). Trabajo de grado. Departamento de Química. Popayán; Universidad del Cauca.
- Temminghoff, E., Van Der Zee S. & De Haan F. 1998. Effects of dissolved organic matter on the mobility of copper in a contaminated sandy soil. *European Journal of Soil Science* 49:617-628. Universidad De Valencia. ISBN: 978-84-370-7340-8
- Vanhaecke P. & Persoone, G. 1984. The ARC-Test: a standardized short-term routine toxicity test with *Artemia nauplii*. Methodology and evaluation. *Ecotoxicological Testing for the Marine Environ.*; 143-157.
- Vulkan, R., Zhao, F.J., Barbosa-Jefferson, V., Preston, S., Paton, G.I., Tipping, E. & McGrath, S.P. 2000. Copper speciation and impacts on bacterial biosensors in the pore water of copper-contaminated soils. *Environmental Science and Technology*, 34(24), 5115–5121.

Continuación anexo 1. Resultados obtenidos en la simulación de lluvia.

pendiente	Parcela	Replica	Muestreo	Suelo erodado (g)	Cobre total en el suelo mg/L	Humedad (%)	Escorrentía (mL)	Densidad aparente (g/mL)
Baja	14	1	1	0.0772	0.0043	33.3705	73	1.2129
	14	2	1	0.1845	0.0182	52.3592	202	0.8393
	14	3	1	0.1258	0.0071	66.5128	142	0.6041
Media	13	1	1	0.8216	0.0463	23.8223	379	0.4972
	13	2	1	0.6891	0.0582	21.3361	208	1.0517
	13	3	1	0.6556	0.0554	18.8474	191	0.5105
Alta	10	1	1	0.1923	0.0163	24.0661	225	0.4975
	10	2	1	0.7130	0.0502	19.3346	161	0.5877
	10	3	1	0.6971	0.0491	21.9549	501	0.5120
Baja	14	1	2	0.3910	0.0165	33.0165	353	1.1589
	14	2	2	0.1494	0.0063	79.8216	87	0.5873
	14	3	2	0.3273	0.0138	28.3494	442	2.1510
Media	13	1	2	0.2892	0.0204	47.0624	379	0.5113
	13	2	2	0.8160	0.0460	24.0409	208	1.0111
	13	3	2	1.2087	0.0681	27.4717	191	0.4943
Alta	10	1	2	0.1488	0.0126	22.5953	225	0.5315
	10	2	2	0.0184	0.0013	28.5262	161	0.5771
	10	3	2	0.4483	0.0379	24.3380	501	0.5369
Baja	14	1	3	0.1063	0.0060	25.7962	417	0.5296
	14	2	3	0.1329	0.0094	29.1647	164	1.1014
	14	3	3	0.1196	0.0084	23.7153	186	1.0224
Media	13	1	3	0.1277	0.0072	26.8084	572	0.4991
	13	2	3	0.0690	0.0049	27.1927	905	0.7552
	13	3	3	0.0719	0.1205	23.7271	252	0.4989
Alta	10	1	3	0.1569	0.0155	33.1939	395	0.4355
	10	2	3	0.0844	0.0036	33.9999	381	0.4778
	10	3	3	0.1207	0.0136	24.3178	352	0.5359
Baja	14	1	4	0.3312	0.0187	32.0154	95	0.4578
	14	2	4	0.0508	0.0029	33.7316	377	0.9141
	14	3	4	0.6116	0.0345	31.8308	358	0.6871
Media	13	1	4	0.0053	0.0004	27.8443	526	0.5699
	13	2	4	0.1612	0.0114	38.3822	567	0.8117
	13	3	4	0.0742	0.0042	39.0711	454	0.3976
Alta	10	1	4	0.3366	0.0095	33.8341	442	1.0443
	10	2	4	1.3433	0.0757	36.3901	1760	1.0797
	10	3	4	0.2090	0.0118		427	0.9387
Baja	14	2	5	0.1491	0.0084	38.4351	426	2.2065
	14	3	5	0.3448	0.0243	47.8210	271	0.7594

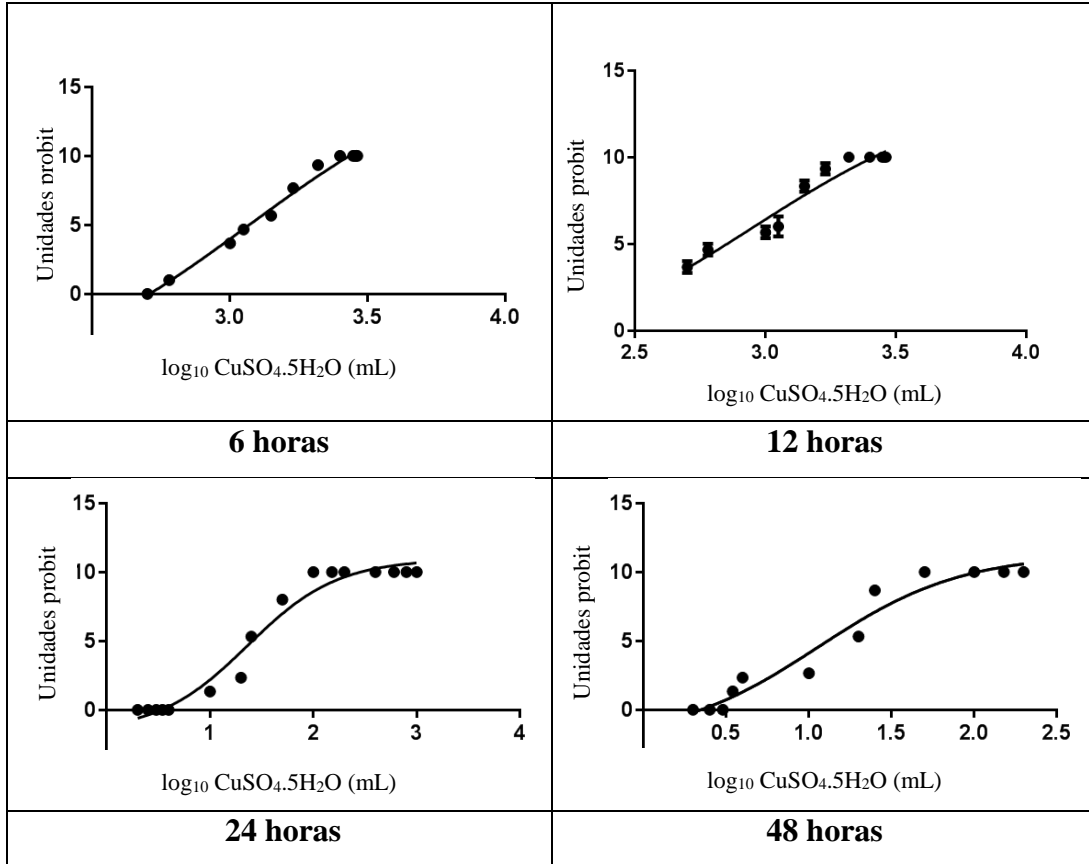
Continuación anexo 1. Resultados obtenidos en la simulación de lluvia.

pendiente	Parcela	Replica	Muestreo	Suelo erodado (g)	Cobre total en el suelo mg/L	Humedad (%)	Escorrentía (mL)	Densidad aparente (g/mL)
Media	13	1	5	0.0429	0.0018	30.9469	546	0.4275
	13	2	5	0.0363	0.0031	37.5421	518	1.6596
	13	3	5	0.0600	0.0042	38.4820	535	0.8409
Alta	10	1	5	0.0229	0.0010	41.2928	307	0.9507
	10	2	5	0.1403	0.0119	40.1907	209	1.0153
	10	3	5	0.0508	0.0050	38.2630	246	0.8586
Baja	14	1	6	0.0177	0.0010	52.3874	248	0.3062
	14	2	6	0.0299	0.0017	38.3885	266	0.7551
	14	3	6	0.0578	0.0033	44.7877	194	0.6331
Media	13	1	6	0.0953	0.0054	35.9844	405	0.7496
	13	2	6	0.0664	0.0028	52.2996	310	1.4600
	13	3	6	0.0976	0.0055	27.3468	228	0.9824
Alta	10	1	6	0.0133	0.0004	34.2042	286	0.8584
	10	2	6	0.0678	0.0029	27.2208	179	1.0717
	10	3	6	0.0469	0.0020	33.5228	246	0.8979
Baja	14	1	7	0.1723	0.0097	53.5563	125	0.4788
	14	2	7	1.0936	0.0616	52.6462	130	0.7945
	14	3	7	0.2481	0.0140	53.8848	197	0.7242
Media	13	1	7	0.1087	0.0046	48.0593	443	0.9482
	13	2	7	0.0699	0.0039	42.1041	436	1.3643
	13	3	7	0.9921	0.0419	47.4213	139	0.8779
Alta	10	1	7	0.0066	0.0004	41.7277	313	0.9429
	10	2	7	0.0516	0.0029	33.9915	275	1.0860
	10	3	7	0.1666	0.0070	43.4325	333	0.8873
Baja	14	1	8	0.0531	0.0037	52.9353	191	0.3360
	14	2	8	0.0309	0.0017	56.8938	297	0.7916
	14	3	8	0.0285	0.0020	50.5812	349	0.5839
Media	13	1	8	0.0007	0.0000	33.6164	352	1.0367
	13	2	8	0.0044	0.0002	30.1738	165	1.8837
	13	3	8	0.0746	0.0032	34.6411	248	0.9106
Alta	10	1	8	0.0197	0.0008	40.9524	364	0.8851
	10	2	8	0.6146	0.0260	26.8947	125	1.1843
	10	3	8	0.0530	0.0022	37.3142	243	0.6570
Baja	14	1	9	0.0196	0.0014	34.6093	153	1.3136
	14	2	9	0.0071	0.0004	65.3474	193	0.8908
	14	3	9	0.9319	0.0394	59.6939	1598	0.7431
Media	13	1	9	0.1176	0.0000	45.8142	205	0.9549
	13	2	9	0.1467	0.0124	51.5806	702	1.6593
	10	1	9	0.0340	0.0029	41.6455	100	1.0909

Continuación anexo 1. Resultados obtenidos en la simulación de lluvia.

pendiente	Parcela	Replica	Muestreo	Suelo erodado (g)	Cobre total en el suelo mg/L	Humedad (%)	Escorrentía (mL)	Densidad aparente (g/mL)
Alta	10	2	9	0.4126	0.0291	40.8758	792	1.1277
	10	3	9	0.1986	0.0112	48.5314	235	0.9151
Baja	14	1	10	0.0261	0.0011	37.6438	121	1.1363
	14	2	10	0.0190	0.0008	55.4138	69	0.8568
	14	3	10	0.0198	0.0011	57.4348	200	0.6734
	13	1	10	0.0631	0.0027	44.5081	221	0.9735
Media	13	2	10	0.0312	0.0013	51.5806	284	0.1470
	13	3	10	0.0237	0.0010	43.1280	111	1.0080
	10	1	10	0.1873	0.0132	50.1300	458	0.9151
Alta	10	2	10	0.0931	0.0039	51.8419	159	0.9012
	10	3	10	0.0632	0.0036	39.1579	410	0.9280
	14	1	11	0.0585	0.0033	32.6359	63	1.0277
Baja	14	2	11	0.0781	0.0044	68.3645	107	0.7711
	14	3	11	0.0563	0.0040	49.5799	101	0.7697
	13	1	11	0.0445	0.0019	45.6153	36	0.8174
Media	13	2	11	0.0453	0.0019	43.2575	16	1.7758
	13	3	11	0.0973	0.0041	46.7135	135	0.9900
	10	1	11	0.9781	0.0689	53.9789	1620	0.8751
Alta	10	2	11	0.6482	0.0000	62.3462	927	0.8910
	10	3	11	0.7189	0.0405	53.1940	794	1.0010
	14	1	12	0.0300	0.0013	103.8514	110	0.3327
Baja	14	2	12	0.0892	0.0038	78.4602	129	1.0202
	14	3	12	0.0560	0.0032	60.6731	90	0.6523
	13	1	12	0.0745	0.0031	53.2307	103	0.7342
Media	13	2	12	0.1353	0.0076	55.1167	251	1.6186
	13	3	12	0.0516	0.0029	34.3732	143	0.9725
	10	1	12	0.5938	0.0335	44.1845	1049	0.9583
Alta	10	2	12	0.7268	0.0409	84.7818	808	0.7771
	10	3	12	0.3378	0.0238	53.0560	371	0.8631

Anexo 2. Curvas para la determinación de la CL_{50} .



* Valores convertidos a unidades probit.

Anexo 3. Valores de referencia del Cu en la Unión Europea. Tomado de CMAJA (1999).

340 ng/m ³	aire, en Europa (Bowen, 1979)
0,01-15 µg/L	agua de lluvia (Azcue, 1993)
1,5 µg/L	agua en el suelo, valor de referencia MTR en Holanda (NMHPPE, 1998)
3 µg/L	agua de riego (Azcue, 1993)
0,02	nivel mínimo de detección con ICP-MS
0,03-0,3mg/L	solución del suelo, nivel tóxico (Bohn et al. 1985)
0,2 mg/L	agua de riego, uso continuo, máximo recomendado por US-EPA (Crook y Bastian, 1992)
0,2-538	rango para organismos del suelo (Martin y Coughtrey, 1982)
0,25-0,4	suelos, extraible con NH ₄ NO ₃ , nivel de referencia en Alemania (Prueb, 1997)
0,5 mg/L	agua potable para ganado, máximo WQC (ESB, 1972)
0,5-495	suelos agrícolas, rango para USA (Holmgren et al., 1993)
0,7	solución del suelo, nivel tóxico en Suiza (Ewers, 1991)
1	nivel mínimo de detección con Fluorescencia de Rayos-X
1	suelos, extraible con NH ₄ NO ₃ , nivel de intervención en Alemania (Prueb, 1997)
1-20	suelos agrícolas, rango para Alemania (Kloke, 1980)
1-26	mamíferos (Azcue, 1993)
1-300	fertilizantes (Alloway, 1995)
1-1508	suelos, rango para Inglaterra y Gales (McGrath y Loveland, 1992)
2-20	suelos naturales sin anomalías, en Francia (Baize, 1997)
2-28	suelos naturales, rango normal para Francia (Baize, 1997)
2-100	suelos naturales, rango (Alloway, 1968; Bohn et al. 1985)
2-172	estiércol (Alloway, 1995)
2-250	suelos naturales, rango (Swaine, 1955; Bowen, 1979)
4-20	vegetales, (Alloway, 1968; Bowen 1979; Azcue, 1993)
4,2	suelos, extractos DTPA, nivel de toxicidad (Chang y Broadbent, 1981)
5	nivel mínimo de detección con Espectroscopia de Absorción Atómica
5	suelos, extraible con EDTA en RU (Barth y Hermite, 1987)
5 mg/L	agua de riego, corto plazo en suelo de pH≥7, máximo US-EPA (Crook y Bastian, 1992)
5,5	calizas (Alloway, 1995)
6,3	suelos cultivados, extraible con agua regia, en Polonia (Ducka, 1992)
8,8	suelos cultivados, extraible con HNO ₃ , Rep. Democ. Alemana (Machelett et al., 1993)
12,4	suelos naturales, en Francia (Baize, 1997)
13-90	rocas ígneas (Alloway, 1995)
13-3580	compost (Alloway, 1995)
15	suelos cultivados, República Federal Alemana (Crossman y Wustemann, 1992)
17	suelos, valor de referencia en Bélgica (BVRHABTGG, 1995)
18,5	suelos cultivados, extraible por HNO ₃ , en USA (Holmgren et al., 1993)
20	suelos naturales (Alloway, 1968)
20-25	suelos, valor de referencia N1 en Galicia (CICDXLXG, 1997)
20-62	suelos naturales con moderadas anomalías, en Francia (Baize, 1997)
20-100	vegetales, nivel de toxicidad (Kabata Pendias y Pendias, 1992)
21,5	suelos, extractos HNO ₃ , nivel de toxicidad (Chang y Broadbent, 1981)
23	suelos, Inglaterra y Gales (McGrath y Loveland, 1992)
23,6	suelos cultivados, extraible por HNO ₃ , en Suiza (Meyer, 1991)
30	arenisca (Alloway, 1995)
30	suelos agrícolas de USA (Holmgren et al., 1993)
30	suelos en Alemania (Barth y Hermite, 1987)
30	suelos (Azcue, 1993)
32	suelos naturales hidromorfos en Japón (Kitagishi y Yamane, 1981)
35	suelos, nivel de investigación en Francia (ASPITET, Baize, 1997)
36	suelos, valor de referencia en Holanda (NMHPPE, 1991)
39	arcillas (Alloway, 1995)
45-50	corteza terrestre (Alloway, 1995; Baize, 1997)
50	suelos, extraible con EDTA, nivel máximo ("trigger") RU (ICRCL, 1978)
50	suelos, nivel máximo con pH<7 para aplicar lodos en España (BOE 1/10/90)
50	suelos, extracto con HNO ₃ , en Suiza (Ordonnance OSOL, 1986)
50	suelos agrícolas, extraible con EDTA, Inglaterra (Baize, 1997)
50-140	suelos, nivel máximo para aplicar lodos en la UE (McGrath et al., 1994)
60-125	suelos, nivel de toxicidad (Kabata Pendias y Pendias, 1992)

Continuación anexo 3. Valores de referencia del Cu en la Unión Europea. Tomado de CMAJA (1999).

70	corteza terrestre (Bohn et al. 1985)
100	suelos, máximo permitido para aplicar lodos en Canadá (Sheppard et al., 1992)
100	suelos, nivel de anomalía en Francia (Godin, 1983)
100	suelos, valor de referencia en Francia (AFNOR, 1985)
100	suelos, valor de referencia en Alemania (Barth y Hermite, 1987)
100-200	suelos, ligera contaminación, clase I del GLC del RU (Kelly, 1979)
100	suelos, nivel de intervención en Italia (GRER, 1996)
100	suelos agrícolas, nivel de intervención para Alemania (Kloke, 1980)
130	suelos, nivel máximo "trigger" para usos varios en RU (ICRCL, 1978)
140	suelos no calcáreos, extr. con EDTA, nivel de referencia en RU (Barth y Hermite, 1987)
150	suelos, nivel de intervención en Canadá (Sheppard et al., 1992)
190	suelos, nivel ecotoxicológico (van der Berg, 1993)
190	suelos, nivel de intervención en Holanda (NMHPPE, 1991)
200	suelos, nivel de intervención para Parques Naturales y agric. en Bélgica (Stringer, 1990)
200	suelos, nivel de intervención para áreas residenciales en Ontario (Sheppard et al., 1992)
400	suelos, nivel de intervención para áreas residenciales en Bélgica (Adriano et al., 1997)
500	suelos, nivel de intervención para áreas recreativas en Bélgica (Adriano et al., 1997)
500	suelos, nivel de tratamiento en Francia (Godin, 1983)
500-2500	suelos, fuerte contaminación, clase 3 del GLC del RU (Kelly, 1979)
800	suelos, nivel de intervención para áreas industriales en Bélgica (Adriano et al., 1997)
1000	suelos, nivel de urgencia en Francia (Godin, 1983)
1000	lodos, nivel máximo para aplicar a suelos con pH<7 en España (BOE 1/10/90)
1000-1750	lodos, para aplicar en agricultura en Unión Europea (Alloway, 1995)
1500	suelos, nivel máximo para aplicar lodos en USA (McGrath et al., 1994)
1750	lodos, nivel máximo para aplicar a suelos con pH>7 en España (BOE 1/10/90)
>2500	suelos, contaminación inusualmente fuerte, clase B del GLC del RU (Kelly, 1979)
3000	lodos, nivel máximo permitido para agricultura en USA (Alloway, 1995)
4300	lodos, para aplicar en agricultura en USA (Alloway, 1995)
16000	suelos, nivel toxicológico humano (van der Berg, 1993)