



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIDAD DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“EFECTO DE LAS CONDICIONES DE
HUMEDAD Y TEMPERATURA EN LA
EFICIENCIA DE DISIPACIÓN DE
PLAGUICIDAS EN CAMAS BIOLÓGICAS”**

TESIS

PRESENTADA POR:

I.A. EDGAR AUGUSTO CÓRDOVA MÉNDEZ

EN OPCIÓN AL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

OPCIÓN AMBIENTAL

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2016

"Aunque este trabajo hubiere
servido para el Examen de
Grado y hubiere sido aprobado
por el Sínodo, sólo el autor es
responsable de las doctrinas
emitidas en él."

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca para estudios de posgrado otorgada.

A la asesora de este estudio y al personal del Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería.

Este trabajo fue presentado en el "IX Simposio Universitario Iberoamericano sobre Medioambiente", celebrado en La Habana, Cuba, del 21 al 25 de noviembre de 2016.

Resumen

El uso de plaguicidas en la agricultura ha generado como consecuencia adicional la generación de efluentes provenientes de la limpieza y manejo del equipo empleado en la aplicación de estas sustancias. Tales efluentes pueden ocasionar la contaminación de corrientes de aguas superficiales y subterráneas al no ser dispuestas adecuadamente. Ante esta necesidad surgió la tecnología de camas biológicas para la disposición y degradación de estos contaminantes de origen agrícola. Esta tecnología es empleada en zonas de cultivo, muchas veces instaladas en los patios de las granjas a la intemperie sin protección lo que las hace vulnerable a estragos del clima como anegación por lluvia, falta de humedad por sequía e intenso calor o frío. Por estos motivos es importante evaluar el efecto de la variación de temperatura y humedad sobre la disipación de plaguicidas en la biomezcla empleada en una cama biológica. Para tal propósito se realizó un experimento de dos etapas donde primero se evaluó una cinética de disipación a condiciones consideradas ideales en una biomezcla y en la segunda etapa se sometió la biomezcla a diferentes condiciones de humedad y temperatura. Las unidades experimentales constaron de recipientes de vidrio con 2.24 g de biomezcla en promedio (rastrajo de maíz y suelo agrícola 50:50 v:v) y se les agregó una solución madre de plaguicidas (carbofurán, atrazina, 2,4-D, diazinón, glifosato); en la segunda etapa se ajustó la humedad a 20, 40, 60, 80 y 100 % de su capacidad de retención de agua y se sometieron a temperaturas de 5, 15, 25, 35 y 45 °C. La segunda prueba duró 18 días, se cuantificó el grado de disipación de los plaguicidas al término de ésta y se determinó que la influencia principal sobre la disipación de tales sustancias se le debe a la temperatura ambiental ya que los análisis indicaron que no existen efectos significativos como consecuencia de los niveles de humedad aplicados.

Abstract

The use of pesticides in agriculture has generated, among many other consequences, the generation of effluents derived from cleaning and handling of equipment used for application of these substances. These effluents can pollute superficial and groundwater sources when not being properly disposed. At this, the need of technology for disposal and degradation of these pollutants from agricultural sources were emerged, among them the biobed. This technology is used in farming areas, often installed in the courtyards of the farms, outdoors without protection making them vulnerable to rain flooding, lack of moisture, drought, and intense heat or cold. Therefore, it is important to evaluate the effect of the variation of temperature and moisture on the dissipation of pesticides in the biomixture used in a biobed. For that purpose a two-stage experiment was made, in the first phase a dissipation kinetics at "ideal conditions" in a biomixture was considered and evaluated. In the second stage the biomixture was subjected to different conditions of moisture and temperature was performed. The experimental units consisted of glass containers with 2.24 g of biomixture (corn straw and agricultural soil 50:50 v:v) in which were added a portion of a mixture of pesticides (carbofuran, atrazine, 2,4-D, diazinon, glyphosate); in the second phase, moisture at 20, 40, 60, 80 and 100% of its water retention capacity was adjusted and subjected to temperatures of 5, 15, 25, 35 and 45°C. The second phase lasted 18 days. The extent of dissipation of pesticides at the end of this quantified and determined that the main influence on the dissipation of such substances is due to the ambient temperature since the analysis indicated that there are no significant effects as result of applied moisture levels.

Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivo general	3
2.1 Objetivos específicos	3
3. Marco teórico.....	4
3.1 Plaguicidas.....	4
3.2 Clasificación	6
3.3 Problemas a la salud y medio ambiente	8
3.4 Sistemas de tratamiento para efluentes agrícolas	13
3.5 Principios de biodegradación de plaguicidas	15
3.6 Camas o lechos biológicos	17
3.6.1 Camas biológicas y sus componentes (de acuerdo a Castillo, <i>et al</i> , 2008)	18
3.6.2 Biocamas y sus variantes	21
3.7 Influencias ambientales en los sistemas de camas biológicas.....	24
4. Hipótesis.....	28
5. Metodología.....	28
5.1 Plaguicidas modelo	28
5.2 Biomezcla	28
5.2.1 Caracterización de biomezcla	29
5.3 Preparación de las unidades experimentales	30
5.4 Fase experimental.....	31
5.4.1 Primera fase.....	31
5.4.2 Segunda fase.....	33
5.5 Análisis estadístico y modelo de Gompertz	34
6. Resultados y discusión.....	36
6.1 Caracterización de la biomezcla	36
6.2 Resultados primera fase	39
6.3 Resultados segunda fase.....	45
7. Conclusiones.....	52
Referencias	53
Anexo	58

Lista de Tablas

Tabla 1. Algunos efectos tóxicos de los plaguicidas (SEMARNAT-INE, 1996)	10
Tabla 2. Resultado de las estimaciones realizadas por el modelo de Gompertz por plaguicida.....	40
Tabla 3. Vida media (DT50), velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$) y velocidad inicial (V_0) de cada plaguicida en mg/kg-suelo por día.....	41
Tabla 4. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje por tiempo (día)	43
Tabla 5. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje para los diferentes niveles de humedad (CRA)	48
Tabla 6. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje para los diferentes niveles de temperatura aplicados	50

Lista de Figuras

Figura 1. Mecanismos de dispersión de plaguicidas	12
Figura 2. Componentes estándar de una cama biológica	19
Figura 3. Unidades experimentales empleadas	30
Figura 4. Suelo agrícola tamizado y rastrojo de maíz triturado empleados en la prueba.....	31
Figura 5. Preparación de las muestras para extracción por microondas.....	32
Figura 6. Preparación de viales con muestras para cromatografía	32
Figura 7. Pesado y manipulado de matraces para densidad real.....	36
Figura 8. Análisis de capacidad de retención de agua (CRA)	37
Figura 9. Análisis de determinación de materia orgánica	37
Figura 10. Disipación para cada uno de los plaguicidas presentes en la mezcla evaluada.	39
Figura 11. Gráficas de modelo ajustado para cada plaguicida con datos de disipación, como parte del análisis Gompertz.....	42
Figura 12. Grafico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los tiempos muestreados	44
Figura 13. Disipación del carbofurán expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua versus temperatura).	45
Figura 14. Disipación de 2,4-D y diazinón expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua versus temperatura).	46
Figura 15. Disipación de glifosato y atrazina expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua versus temperatura).	47
Figura 16. Grafico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los diferentes niveles de humedad aplicados	49
Figura 17. Grafico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los diferentes niveles de temperatura aplicados	50

1. Introducción

El mal manejo de las sustancias plaguicidas puede causar contaminación en cuerpos de aguas superficiales y subterráneas representando un potencial riesgo para el medio ambiente y la salud humana. Existen dos tipos de contaminación por plaguicidas, la contaminación difusa y la puntual. La contaminación difusa se origina después de la aplicación de las sustancias activas en la parcela y está ligada a tratamientos plaguicidas intensivos, a las condiciones climáticas y del suelo que favorecen la transferencia de las materias activas a diversos cuerpos de agua. Si bien, la contaminación difusa aporta significativamente, varios autores sugieren que la principal fuente es la contaminación puntual, la cual se origina debido al derrame intencional o accidental de plaguicidas en un punto determinado. Estos derrames son debidos al mal manejo de los productos plaguicidas en el momento de la preparación de mezclas o en el momento del lavado de contenedores y equipos de aspersión o en la eliminación de productos caducos. El riesgo de contaminación es más evidente si los derrames de plaguicidas ocurren en lugares donde la capa superficial del suelo ha sido removida y reemplazada por grava y arena (Castillo *et al*, 2008).

Evitar la transferencia de los plaguicidas al medio ambiente es un gran reto, sin embargo es posible si se llevan a cabo acciones como la limitación de las dosis, una mejor elección de materias activas y la utilización de “las buenas prácticas agrícolas” en las cuales se recomienda la recolección de los efluentes agrícolas con plaguicidas para ser tratados posteriormente. Han surgido varias propuestas de sistemas de tratamiento para los efluentes recolectados. Muchos de estos sistemas son complejos y representan una carga financiera importante para los agricultores así como una carga suplementaria de trabajo (Fogg *et al*, 2001).

La cama biológica es un sistema que ha tenido gran aceptación entre los agricultores de varios países. Es una construcción sencilla y económica diseñada para confinar y degradar los plaguicidas contenidos en los efluentes. La idea principal es que toda manipulación de plaguicidas, esto es, el llenado y lavado de equipo, debe ser hecho sobre la biocama, así los efluentes y derrames originados

son retenidos y degradados en ella. Su eficiencia radica en la capacidad catabólica de la microflora presente y está en función de los materiales utilizados en la biomezcla, de la naturaleza de los plaguicidas a tratar, así como de los factores del medio ambiente en que se encuentran (Castillo *et al*, 2008)..

Las camas biológicas se emplean eficientemente en varios países de Europa y América. Su diseño de construcción y materiales usados en la biomezcla varían de acuerdo a las necesidades de los usuarios, y a las condiciones presentes en el sitio de instalación. Esta tecnología es por lo común empleada en zonas agrícolas, o instaladas en los patios de las granjas muchas veces a la intemperie sin protección adicional lo que la hace vulnerable a eventos inconvenientes que el clima puede traer consigo, como anegación por lluvia, falta de humedad por sequía, intenso calor, o incluso su estado por falta de uso temporal, propiciando condiciones no aptas para el crecimiento microbiano que pueden disminuir la eficiencia en la degradación de los plaguicidas contenidos en los efluentes. Por ello, se considera importante evaluar el funcionamiento de las camas biológicas bajo condiciones extremas de humedad y temperatura, tomando como indicadores de tales efectos a la eficiencia en la disipación de los plaguicidas.

2. Objetivo general

Evaluar el efecto de la variación de temperatura y humedad sobre la eficiencia en la disipación de plaguicidas en una cama biológica a nivel microcosmos.

2.1 Objetivos específicos

- Evaluar y determinar el tiempo óptimo de disipación de la mezcla de plaguicidas en la biomezcla a condiciones ambientales consideradas como ideales de acuerdo a la bibliografía consultada.
- Evaluar la eficiencia en la disipación de la mezcla de plaguicidas al tiempo óptimo elegido bajo diferentes condiciones de contenido de agua y temperatura en la biomezcla.
- Analizar el efecto causado por tales condiciones sobre la disipación de los plaguicidas.

3. Marco teórico

3.1 Plaguicidas

Existen diferentes definiciones para plaguicida, éstas dependen del contexto en el que se maneje y a la entidad u organismo que la emita.

Entre las tales se pueden mencionar la dada por la Ley General de Salud (LGS) (2015), cuya definición para plaguicida dicta que es “cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal, así como las sustancias defoliantes y las desecantes”. Por otro lado, la NOM-127-SSA1-1994 define como plaguicida a “cualquier sustancia o mezcla de sustancias utilizadas para prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier forma de vida que sea nociva para la salud, los bienes del hombre o el ambiente, excepto la que exista sobre o dentro del ser humano; y los protozoarios, virus, bacterias, hongos y otros microorganismos similares sobre o dentro de los animales”. La USEPA (2015) lo define como "cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga (insectos, ácaros, nematodos, malezas, ratas, etc.), incluyendo insecticidas, herbicidas, fungicidas y varias otras sustancias usadas para el control de plagas".

Así, de acuerdo a estas definiciones, los plaguicidas son sustancias tóxicas y los efectos que tienen en los seres vivos dependen de su estructura química, su estado físico y las características del receptor; la mayoría son productos sintéticos.

Los plaguicidas son contaminantes persistentes, es decir, que tienen la capacidad de retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio en el cual es transportado o distribuido por un periodo limitado después de su emisión. Resisten en grado variable la degradación fotoquímica, química y bioquímica, por lo que su vida media en el ambiente puede ser elevada (SEMARNAT-INE, 1996). Los plaguicidas que persisten más tiempo en el ambiente, tienen mayor probabilidad de interacción con los diversos elementos que conforman los ecosistemas. Si su vida

media y su persistencia es mayor a la frecuencia con la que se aplican, los plaguicidas tienden a acumularse tanto en los suelos como en la biota.

De acuerdo a Blesa *et al* (2001) residuos de plaguicidas se han encontrado en todo los compartimientos ambientales (aire, agua y suelo), en todas las regiones geográficas incluyendo aquellas muy remotas al sitio original de su liberación ambiental, como océanos, desiertos y zonas polares. Igualmente se ha demostrado su presencia en organismos de todos los niveles tróficos, desde el plancton hasta las ballenas y los animales del ártico. Estos compuestos se bioacumulan en numerosas especies y se han biomagnificado a través de todas las redes tróficas del mundo. Los seres humanos no están exentos de esta contaminación y los plaguicidas se han podido identificar en diversos tejidos y secreciones humanos, inclusive de los habitantes de regiones muy aisladas.

La era de los plaguicidas químicos comenzó en el siglo pasado cuando se desarrollaron los sulfuros y se les encontró una aplicación práctica como fungicidas. Posteriormente fueron los compuestos arsenicales los que se emplearon para el tratamiento de las plagas de insectos en la producción agrícola. En ambos casos se trataba de sustancias de una elevada toxicidad, lo que limitó su empleo generalizado. Fue en 1940 cuando aparecieron en el mercado los primeros plaguicidas organoclorados que tienen su máximo exponente en el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT). Desde entonces se emplearon tanto en los tratamientos agrícolas como en el control de plagas vehiculizadas por insectos portadores.

Desde el inicio de la revolución industrial, se estiman en más de 120,000 las sustancias químicas de nueva síntesis y los subproductos derivados de éstas producidos por la actividad humana (Olea y Fernández, 2001; citado por Castrejón-Godínez *et al*, 2008a).

3.2 Clasificación

Existen diferentes clasificaciones de plaguicidas de acuerdo a diversos criterios. En México, la principal autoridad que regula a los plaguicidas es la Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (CICOPLAFEST), y este organismo los clasifica de la siguiente manera (Catálogo de plaguicidas del CICOPLAFEST, 2004):

Por su concentración

- a) Plaguicida técnico: la máxima concentración del ingrediente activo obtenida como resultado final de su fabricación, de la cual se parte para preparar un plaguicida formulado (NOM-045-SSA1-1993).
- b) Plaguicida formulado: mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes conocidos como “inertes”, cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz; constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas (NOM-045-SSA1-1993).

Organismos que controlan

- a) Insecticida: Control de insectos
- b) Acaricida: Control de ácaros
- c) Fungicida: Control de hongos y levaduras
- d) Bactericida: Control de bacterias
- e) Antibiótico: Control de bacterias
- f) Herbicida: Control de hierba y maleza
- g) Rodenticida: Control de roedores
- h) Molusquicida: Control de moluscos

Modos de acción

- a) De contacto: Actúa principalmente al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga.
- b) De ingestión: Debe ser ingerido por la plaga para su acción efectiva.
- c) Sistémico: Al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica y en los cuales actúa.
- d) Fumigante: Se difunde en estado gaseoso o de vapor y penetra por todas las vías de absorción.
- e) Repelente: Impide que las plagas ataquen.
- f) Defoliante: Causa la caída del follaje de las plantas.

Composición química

- a) Compuestos inorgánicos: Estos son compuestos que carecen de carbono.
- b) Compuestos orgánicos: Son aquellos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, fabricados a partir de compuestos químicos básicos; algunos son extraídos de plantas, por lo que se conocen como botánicos. Los compuestos orgánicos sintéticos utilizados como plaguicidas pertenecen a distintos grupos o familias químicas. Cada uno de estos grupos tiene algunas características comunes y en cualquiera de ellos puede haber insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas u otros tipos de plaguicidas.
- c) Plaguicidas biológicos: Se llama así a los virus, microorganismos o sus metabolitos, formulados como insumos, que pueden controlar a una plaga en particular.

Presentación comercial

Sólidos (polvos y granulados), líquidos (suspensiones, soluciones, emulsiones) y gases.

Uso al que se destinan

- a) Agrícolas: Uso en diversas extensiones, en sistemas de producción agrícola y en productos y subproductos de origen vegetal.

- b) Forestales: Uso en bosques y maderas
- c) Urbanos: Uso exclusivo en áreas urbanas, industriales, áreas no cultivadas, drenes, canales de riego, lagos, presas, lagunas y vías de comunicación.
- d) Jardinería: Uso en jardines y plantas de ornato.
- e) Pecuarios: Uso en animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será destinado al consumo humano o a usos industriales. Incluye el uso en animales domésticos.
- f) Domésticos: Uso en el interior del hogar.
- g) Industriales: Se utiliza como materia prima en el proceso industrial para la formulación de plaguicidas o productos de uso directo.

De acuerdo con su periodo de persistencia

Ligeramente persistentes (menos de cuatro semanas)

Poco persistentes (de cuatro a 26 semanas)

Moderadamente persistentes (de 26 a 52 semanas)

Altamente persistentes (más de un año y menos de 20)

Permanentes (más de 20 años)

3.3 Problemas a la salud y medio ambiente

La lucha constante del hombre para satisfacer sus necesidades lo han llevado a tener que incrementar, en el caso de las necesidades alimenticias, los monocultivos para lograr mayor producción y rentabilidad. El logro de una agricultura con altos rendimientos conlleva a la aplicación de medidas de cuidado y protección desde el punto de vista nutricional y sanitario para las plantas. Dentro de estas medidas existe la participación de los plaguicidas, ya que permiten el control rápido, efectivo y a veces más económicos frente a otras alternativas.

Los plaguicidas han tenido una función muy importante en el control de enfermedades transmisibles entre organismos animales como el paludismo, el dengue o el tifo, por mencionar algunas. Al igual ayudan a controlar o eliminar insectos, malas hierbas y diferentes plagas que perjudican al desarrollo de las actividades agrícolas. Sin embargo, a la par del uso de estas sustancias surgieron

otros problemas derivados del empleo excesivo o inadecuado, causando severos daños ambientales a veces irreversibles o difíciles de remediar.

En gran medida, estos problemas han surgido por falta de conocimientos sobre los riesgos o efectos secundarios que puede causar el uso de este tipo de sustancias en el ambiente y consecuentemente sobre los seres vivos (CICLOPLAFEST-INE-SS-SAGARPA, 2004).

Los plaguicidas tienen la capacidad inherente de provocar efectos adversos en los seres vivos, de dañar su estructura o funciones, y de provocar su muerte. La toxicidad de ellos depende de factores como: absorción, distribución, almacenamiento, activación, detoxificación; que influyen en la reacción de su forma tóxica final con el sitio “blanco”, es decir, la molécula, célula, tejido, órgano o sistema directamente afectado. Los daños a la salud ocasionados están relacionados con su estructura química, sus propiedades fisicoquímicas, de las que depende su afinidad por los sistemas biológicos específicos y, de manera preponderante, la dosis en que los humanos se exponen a los mismos, así como su susceptibilidad.

Los plaguicidas son causantes de reacciones alérgicas como vómito, cefalea, conjuntivitis, diarrea, calambres abdominales, disnea, tos, entre otros. Causan alteraciones neurológicas, reproductivas, endocrinas e inmunológicas, fracasos funcionales y alteraciones del comportamiento debido a la aparición de tumores y lesiones degenerativas en hígado y riñón. Tales efectos son función, además, de la magnitud y duración de la exposición al plaguicida, así como de su vía de ingreso al organismo, ya sea oral, dérmica o por inhalación (Olea y Fernández, 2001, citado por Castrejón-Godínez *et al*, 2008b). En la Tabla 1 se enlistan algunas de las afectaciones a la salud que pueden causar.

Por otro lado, el empleo de agroquímicos en las actividades agropecuarias constituye quizás la forma más importante de contaminación que impacta de forma directa no sólo al suelo donde se aplica, sino que puede llegar también por escurrimientos hacia los ríos y mares (Figura 1) y como consecuencia contaminar estos cuerpos y afectar

una diversidad de especies acuáticas. Además genera conflictos sociales por el número de trabajadores intoxicados con alto índice de mortalidad, así como por la sospecha de efectos adversos sobre la salud de las comunidades de flora, fauna y aledañas (Malato-Rodríguez *et al*, 2004).

Tabla 1. Algunos efectos tóxicos de los plaguicidas (SEMARNAT-INE, 1996)

Bioquímico	
Inducción enzimática	Los plaguicidas (como los organoclorados) pueden inducir las enzimas hepáticas encargadas de la biotransformación de sustancias químicas y esta inducción aumenta con exposiciones repetidas.
Inhibición enzimática	Un ejemplo conocido es la inhibición de la colinesterasa sanguínea por la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. Inhibiciones de esta enzima superiores a 50% producen intoxicación aguda.
Cutáneo	
Dermatitis de contacto	Paraquat, captafol, 2,4-D y mancozeb.
Sensibilización cutánea, reacción alérgica y exantema	Benomilo, DDT, g-HCH, zineb y malatión.
Reacciones fotoalérgicas.	HCH, benomilo y zineb.
Cloracné	Plaguicidas organoclorados, el 2,4,5-T, probablemente contaminado con dioxinas y furanos.
Manifestaciones cutáneas tardías de porfiria tóxica adquirida grave.	Hexaclorobenceno
Neurológico	
Neurotoxicidad tardía	Ciertos compuestos organofosforados
Cambios de comportamiento	Ciertos organofosforados
Lesiones del sistema nervioso central	Insecticidas organoclorados y organofosforados y fungicidas organomercuriales.
Neuritis periféricas	Herbicidas de oxiclógeno, piretroides y ciertos insecticidas organofosforados.

Adicional a los efectos negativos mencionados que este tipo de sustancias tóxicas pueden causar a los individuos, existen también otros que influyen directamente sobre el medio ambiente. De acuerdo a la SEMARNAT (2004) los efectos indeseables de los plaguicidas sobre el ambiente se pueden agrupar en aquellos que ocurren a: corto plazo en el ambiente cercano, largo plazo en el ambiente cercano y a largo plazo en el ambiente lejano. A continuación se discuten brevemente:

Efectos adversos a corto plazo en el ambiente cercano (Malato-Rodríguez *et al*, 2004)

Se refiere a las afectaciones adyacentes sobre el ambiente cercano al lugar donde han sido aplicadas. Esto causa, por un lado, la contaminación inmediata del ambiente abiótico (suelo, aguas superficiales y subterráneas, aire) y por otro, la muerte de diversos organismos sensibles a los que no se deseaba afectar, como los insectos que son enemigos naturales de las plagas o los que el hombre considera como benéficos. A corto plazo, los plaguicidas causan la muerte de los organismos susceptibles entre los que constituyen la plaga y afectan momentáneamente el equilibrio fisiológico de todos los organismos expuestos a ellos, incluidos los seres humanos.

Estos efectos sólo son leves en apariencia, pues aunque se trate de plaguicidas no persistentes y cuya aplicación no sea continua, el efecto sobre los organismos susceptibles a ellos forzosamente tendrá efectos adversos a largo plazo.

Efectos adversos a largo plazo en el ambiente cercano (Malato-Rodríguez *et al*, 2004)

Cuando los plaguicidas son persistentes y se utilizan con frecuencia, el problema se complica, pues con cada aplicación, se agregan al ambiente nuevos contaminantes que requerirán años para degradarse. Así, aunque el producto deje de usarse en un lugar determinado, por sus características de persistencia (o las de sus productos de transformación, isómeros o impurezas) contaminan los suelos, los sedimentos y los mantos freáticos, los que permanecerán así hasta que se tomen medidas drásticas,

como el dragado integral de un río o el cierre de los pozos de una región, lo cual no siempre es costeable o factible.

Efectos adversos a largo plazo en el ambiente lejano (Malato-Rodríguez *et al*, 2004)

Paradójicamente, estos fueron las primeras señales indeseables que se conocieron de los plaguicidas. Entre ellos está la presencia de residuos de plaguicidas en la zona de los polos, su biomagnificación a través de las redes tróficas y su presencia en los alimentos de origen animal.

Estos efectos son causados principalmente porque los primeros plaguicidas sintéticos usados, o sea los organoclorados, son muy persistentes y de esto se deriva su capacidad para movilizarse en el ambiente y llegar a sitios remotos al de su uso inicial y así causar alteraciones en organismos que no se intentaba afectar.

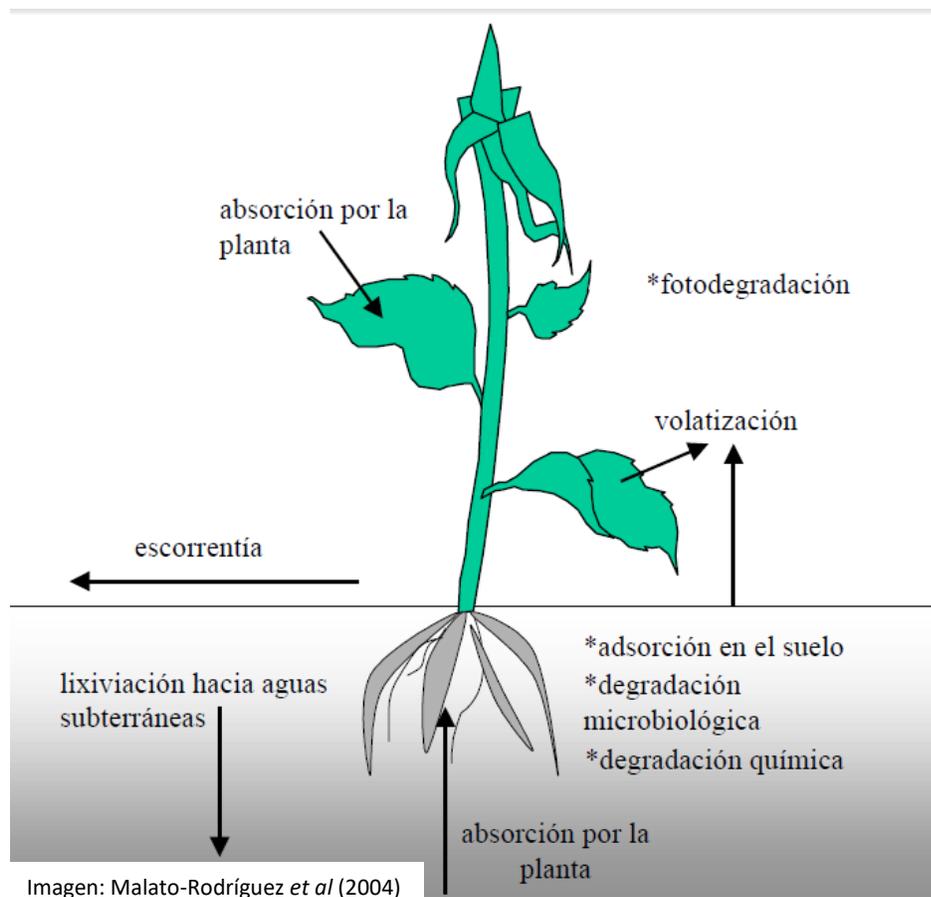


Figura 1. Mecanismos de dispersión de plaguicidas

3.4 Sistemas de tratamiento para efluentes agrícolas

Las aguas residuales, conocidas también como efluentes líquidos (Vidales-Olivo *et al*, 2010), son mezclas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (NOM-001-ECOL-1996).

Los efluentes provenientes de la industria agrícola no sólo están compuestos por componentes de tierra, sino sobre todo por notables cargas de sustancias orgánicas entre los que se incluyen los efluentes con sustancias plaguicidas generadas como desecho en el campo.

Como respuesta a esta problemática, se han centrado investigaciones para el seguimiento y comprensión de los procesos que determinan el destino de estas sustancias después de la aplicación en campo y así comprender la importancia de las diferentes vías de contaminación.

Así, con lo poco o mucho que se conoce, han surgido una variedad de alternativas de tratamiento que buscan minimizar o hasta eliminar los efectos nocivos que este tipo de desechos pueden causar cuando son vertidos directamente al medio circundante.

La degradación de un plaguicida al contacto con el medio da lugar a nuevos compuestos que no necesariamente han de ser menos tóxicos que la sustancia original; cuando el producto de degradación resulta menos tóxico se trata de inactivación o detoxificación, si por el contrario el producto resulta mayor tóxico se trata de una activación.

La degradación puede ser total o parcial, llegando en el mejor de los casos a la obtención de compuestos inorgánicos como H_2O , CO_2 , haluros, amonio, fosfatos, etc. Las reacciones de degradación son variadas, oxidación, reducción, hidrólisis, sustitución, eliminación de grupos funcionales, etc., pudiendo estar medidas tanto por agentes orgánicos (bacterias del suelo principalmente), como inorgánicos.

La degradación en suelos con plantas es muy diferente a la que se produce en aquellas que no la contienen, las exudaciones que producen y los restos de raíces

mueras proporcionan energía y nutrientes capaces de sostener una intensa actividad bacteriana que lleva a una rápida mineralización de plaguicidas. Sin embargo, la facilidad de degradación de un plaguicida depende de su estructura molecular. En general los más resistentes son los organoclorados y entre los menos están los organofosforados (García-Calvo *et al*, 1998).

Los tratamientos más habituales, según García-Calvo *et al* (1998), se pueden dividir en:

a) Tratamientos físicoquímicos

Estas tecnologías forman parte de procesos que tienen la capacidad de reducir o eliminar tanto la toxicidad como el volumen de contaminantes peligrosos. Son característicos por su selectividad y la posibilidad de concentrar los contaminantes en una fase que se añade al medio, habitualmente suelos.

Entre los tratamientos se encuentran: la extracción con disolventes: el contaminante puede aislarse y concentrarse pero no destruirse, suele ser viable cuando se trata de grandes volúmenes.

- Lavado con surfactantes: existen tecnologías de lavado *ex-situ* utilizando glicol o polietilenglicol.
- Extracción con fluidos supercríticos: Suele realizarse con metanol y tiene un rendimiento del 50 al 90 %.
- Oxidación: Los oxidantes más habituales son el dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, ozono, la fotólisis y radiación UV.

El Cl_2O y el H_2O_2 tienen la ventaja de incorporarse con facilidad a medios donde se produce el tratamiento: aguas, lixiviados, suelos, etc.

Pueden oxidar materiales peligrosos hasta su eliminación total en forma de moléculas inorgánicas, o habitualmente transformar los contaminantes a sustancias menos tóxicas o más fácil de degradar por otros medios.

b) Tratamientos biológicos

Se realizan con microorganismos naturales o cultivados para convertir los contaminantes en compuestos simples bajo condiciones ambientales especiales.

Tienen muchas ventajas técnicas, por ejemplo se puede llegar a la mineralización completa de los contaminantes, siendo escasa la transferencia de contaminación. Es poco intrusiva y por lo general no requiere de grandes estructuras o componentes mecánicos complejos. Es económica en comparación con otras alternativas

Es así que surgen métodos para prevenir la entrada de plaguicidas principalmente hacia las corrientes de agua, y también la identificación de una serie de vías de contaminación potencial.

3.5 Principios de biodegradación de plaguicidas

La biodegradación es un proceso que envuelve la completa ruptura en la estructura de un compuesto orgánico en sus componentes inorgánicos. Esta transformación sucede por acción microbiana que se ve impulsada por las necesidades de energía o detoxificación en la naturaleza. La búsqueda de microorganismos degradadores, así como el entendimiento de su genética y mecanismos bioquímicos para el desarrollo de métodos aplicables al campo se ha convertido en uno de los principales propósitos para el ser humano en la biorremediación (Megharaj *et al*, 2011). La naturaleza resistente y adaptable de los microorganismos, su capacidad de multiplicación y producción de biomasa relativamente superior a otros organismos terrestres, así como la diversidad de mecanismos catalíticos, entre otras, son lo que han propiciado el uso de estos como excelentes degradadores de compuestos tóxicos, entre ellos los plaguicidas (Ortiz-Hernández *et al*, 2013).

Las poblaciones microbianas del suelo, y también del medio acuático, están compuestas por comunidades sinérgicas y antagónicas, lo que propicia a un proceso conocido como cooperación metabólica. La cooperación metabólica consiste en la transferencia de sustratos y productos dentro de una comunidad microbiana coordinada, lo cual es fundamental en la biodegradación (Abraham *et al*, 2002). Los microorganismos tienen la habilidad de interactuar de forma química y física con las sustancias, provocando así cambios estructurales y de degradación de tales. Sin embargo, estas capacidades pueden verse afectadas por diversos factores ambientales que incluyen temperatura, humedad, tipo de suelo, pH, oxígeno,

nutrientes, sustancias contaminantes, entre otras. Por lo común, a pH bajo sólo sobreviven los hongos y a pH alto microorganismos como bacterias, actinomicetos, y por igual hongos, son activados. Así la degradación a pH altos será más rápida (Spanoghe *et al*, 2009).

Los plaguicidas pueden interactuar con los organismos y sus procesos metabólicos y así alterar el comportamiento fisiológico y bioquímico de los microorganismos del suelo. Sin embargo, existen grupos microbianos capaces de usar la sustancias plaguicidas aplicadas como fuente de energía y nutrientes para su multiplicación, mientras que para otros resulta tóxico. La aplicación de plaguicidas es capaz de reducir la diversidad microbiana pero incrementar la diversidad funcional de las comunidades microbianas sobrevivientes (Hussain *et al*, 2009).

Entre otros inconvenientes para la biodegradación está la accesibilidad de los microorganismos al plaguicida, es decir, la biodisponibilidad de dichas sustancias. La biodisponibilidad de un químico en el suelo está influido por factores como la concentración, solubilidad, cantidad de arcilla presente, materia orgánica presente, pH, temperatura y características químicas propias del compuesto (Hatzinger *et al*, 1995). De Wilde *et al* (2007) cita a Thompson *et al* (2001) que sugieren que la biodisponibilidad puede aumentar si se aumenta la concentración del contaminante en fase acuosa ya que se propicia a un mayor contacto entre el contaminante y los microorganismos. La biodegradación de un compuesto orgánico se da casi exclusivamente donde los contaminantes se encuentran disueltos, es decir, donde hay humedad presente en el suelo. Es dentro de la delgada capa de agua en la superficie de un sustrato donde los microorganismos están presentes y donde la biodegradación se llevará a cabo. Por lo tanto, se sugiere que incrementando la superficie específica en el sustrato (como por ejemplo incrementar los microporos agregando arcilla) puede permitir más sitios de contacto para los microorganismos y así un aumento en la biodegradación (de Wilde *et al*, 2007).

Los hongos y las bacterias son considerados excelentes productores de enzimas extracelulares, además, la habilidad de los hongos de formar redes miceliales

extensas, la baja especificidad de sus enzimas catabólicas y su independencia de los compuestos orgánicos que toman como sustrato de crecimiento, hacen a los hongos aptos para procesos de biorremediación (Harms *et al*, 2011). Los hongos son esenciales para los ciclos biogeoquímicos y son responsables de la mayoría de la degradación de los xenobióticos en la biósfera (Liang *et al*, 2005). El hongo blanco de la pudrición ha sido propuesto como un agente prometedor de la biorremediación, especialmente para aquellos compuestos que no son degradados por las bacterias. Esta habilidad sale principalmente por la producción de enzimas extracelulares que actúan sobre una amplia gama de compuestos orgánicos. Algunas de estas enzimas están involucradas en la degradación de la lignina, como la lignina-peroxidasa, fenoloxidasa, manganasa-peroxidasa, laccasa y oxidasa (Diez, 2010; Bass y Field 2011, citado por Ortiz-Hernández *et al*, 2013).

Enfatizando la función de las enzimas en el proceso de biorremediación, muchas de ellas juegan un papel esencial en el modo de acción de algunos plaguicidas: algunos de ellos son activados "in situ" por acción enzimática y muchos otros funcionan atacando enzimas particulares con roles fisiológicos esenciales. Las enzimas también están involucradas en la degradación de plaguicidas, así pueden ser empleadas tanto por los organismos objetivo a través de mecanismos de detoxificación intrínseca y desarrollando resistencia metabólica, como en el ambiente circundante por acción de microorganismos del suelo y agua. Por otro lado, existe también la aplicación de enzimas para la transformación y degradación de plaguicidas, esta una técnica innovadora para la remoción de estos químicos de ambientes contaminados (Scott *et al*, 2008).

3.6 Camas o lechos biológicos

Una cama biológica, biocama o lecho biológico es una construcción sencilla y económica diseñada para coleccionar y degradar derrames y efluentes de plaguicidas (Torstensson, 2000, citado por Castillo *et al*, 2008). El sistema original sueco consiste principalmente tres componentes dispuestos en 60 cm de espesor en un hoyo en el suelo: una capa de arcilla en el fondo (10 cm), una mezcla de paja, turba y suelo,

llenando el espacio remanente; y por último, una cubierta de césped sobre la superficie (Castillo *et al*, 2008).

Es una tecnología de remediación biológica surgida en Suecia como respuesta a la necesidad de métodos simples y efectivos para minimizar la contaminación ambiental causada por el uso de plaguicidas, específicamente al momento de llenar el equipo de pulverización, la cual es una fuente de contaminación puntual típica. Su principal propósito es reducir las concentraciones ambientales de plaguicidas por medio de la adsorción en los componentes orgánicos y la degradación de ellos por la población microbiana presente en la biomezcla (Vischetti *et al*, 2004).

Este sistema biológico, al ser considerado sencillo, efectivo y económico, ha atraído la atención y se han realizado trabajos para la adaptación de éste dependiendo de los materiales locales disponibles regionalmente. Esto ha derivado en la existencia de diferentes nombres para definirlos según el país donde se desarrolle. En Europa, según lo indica Castillo *et al* (2008), en países como el Reino Unido, Italia, Francia, Dinamarca, se realizan trabajos de adaptación a las condiciones climatológicas, a las prácticas agrícolas y a los materiales orgánicos disponibles para preparar la biomezcla. Al igual, estudios similares se están efectuando en otros países como Perú, Guatemala, Costa Rica, México, Ecuador, Vietnam e India.

3.6.1 Camas biológicas y sus componentes (de acuerdo a Castillo, *et al*, 2008)

3.6.1.1 Clasificación

Dependiendo de si el fondo de la cama biológica está aislado o no del ambiente se suelen clasificar en dos tipos:

- Cama biológica sin aislante: no cuenta con capas sintéticas que la aisle del suelo (la biocama sueca original pertenece a este grupo). En muchos casos una capa de arcilla natural se coloca en el fondo de la biocama. No hay recolección de agua de drenaje en este sistema.

- Cama biológica con aislante: Se asemeja al diseño sueco original pero presenta una capa sintética impermeable (plástico, concreto, etc.) que la aísla del suelo. El diseño permite la recolección de agua de drenaje. Capas de drenaje (grava, arena) son colocadas usualmente debajo de arcilla. Este diseño se usa en Reino Unido.

3.6.1.2 Componentes

Actualmente existe una variedad de componentes para una cama biológica, esto debido a los diversos estudios e investigaciones que en los diferentes países se han estado realizando. Sin embargo, no se debe perder de vista que la eficiencia de retención y degradación va a depender de cada uno de los componentes de la biocama, es decir, la capa aislante, la biomezcla y la capa de hierba superficial (Figura 2).

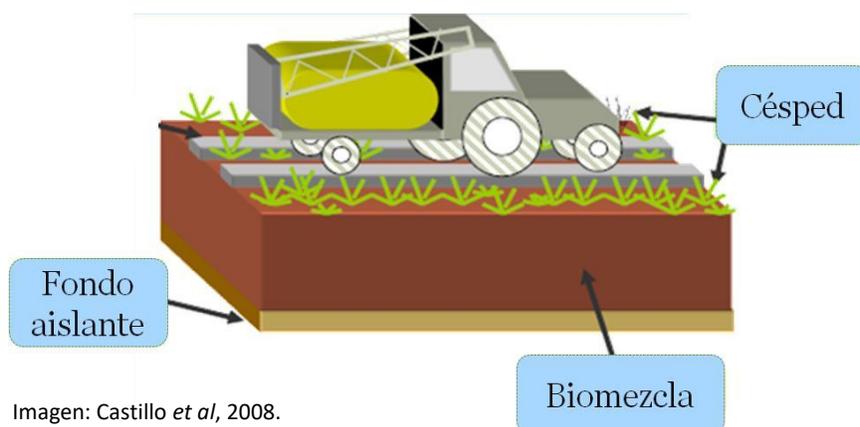


Imagen: Castillo *et al*, 2008.

Figura 2. Componentes estándar de una cama biológica

Biomezcla

La biomezcla de la cama biológica es el componente más importante del sistema. Debe tener la habilidad de retener y degradar el contaminante, (específicamente, plaguicidas, que es para lo que se han usado estos sistemas). Esta mezcla debe tener una buena capacidad de absorción y alta actividad microbiana. Ambas capacidades son afectadas por la composición, homogeneidad, edad, humedad y temperatura de la mezcla. Las características más importantes que determinan la

adsorción de un plaguicida son el contenido de materia orgánica del suelo y la solubilidad del plaguicida en agua (Antonious, 2012).

Por lo común, los componentes empleados para su preparación incluyen una parte de suelo, específicamente suelo superficial, y otra parte de material rico en componentes orgánicos, como composta o vermicomposta, paja, turba, hojarasca, entre otros. El suelo funciona como fuente de microorganismos degradadores de plaguicidas, mientras que la composta, turba, o cualquiera de los materiales orgánicos, ofrece sitio para adsorción, mantenimiento de las condiciones aeróbicas y regula la humedad en la biocama (Karanasious *et al*, 2010).

Destaca el uso de materiales ricos en lignina, como la paja o el rastrojo, ya que es en este tipo de material donde se desarrollan hongos degradadores de lignina, los cuales producen una enzima, la fenoloxidasa, principal responsable de la degradación de tal material y de la conversión de sustancias fenólicas a sustancias húmicas. Además, esta enzima es de gran interés en la industria y el ambiente por las aplicaciones potenciales en la degradación de compuestos recalcitrantes, pues puede ser usada para la degradación de compuestos clorados (Sánchez-Rosario *et al*, 2011). Otra observación registrada por Wilhelm *et al* (2007) dice que la paja o rastrojo de maíz contribuye a mejorar el mantenimiento de carbono en unos 5.25 a 12.5 mg adicionales por ha de suelo, al igual que es un buen mejorador de éste.

En la biomezcla se prefiere suelo superficial debido a que es en esta proporción donde se halla la mayor cantidad y actividad microbiana, y además de que se supone los microorganismos presentes en esta parte están en contacto con ciertas proporciones de plaguicidas y se han adaptado y desarrollado para metabolizar estas sustancias. En un estudio realizado por Rodríguez-Cruz *et al* (2006) para evaluar el grado de biodegradación de plaguicidas que puede existir en esta parte del suelo, se comparó la degradación de bentazon, isoproturon y mecoprop-p en suelo superficial y en suelo de fondo, encontrando descomposiciones de hasta 44 y 54 % mayores en el suelo superficial.

En cuanto al material orgánico, por ejemplo, la vermicomposta por sus propiedades contienen comunidades microbianas relevantes, es un excelente producto orgánico y

puede ser considerado como material útil para restaurar suelos contaminados ya que mejoran la adsorción de plaguicidas reduciendo el riesgo de infiltraciones al agua subterránea (Romero *et al*, 2006). Por otro lado, la turba puede contribuir por su gran capacidad de sorción y regular la humedad en el sistema (Antonious, 2012).

Capa superior de hierba

La capa de césped o hierba superficial contribuye a incrementar la eficiencia de la cama, especialmente en las partes superiores donde la mayoría de los plaguicidas son retenidos y degradados. Igual ayuda a regular la humedad y además puede producir agregados de las raíces para respaldar los procesos metabólicos. La ausencia de esta capa puede derivar en pobre evapotranspiración, generar una corteza hidrofóbica en la parte superior disminuyendo la actividad microbiana.

Fondo aislante

En el diseño original sueco esta capa está compuesta por arcilla, la cual actúa como una barrera impermeable que disminuye el flujo de líquido fuera de la cama biológica y por lo tanto incrementa el tiempo de residencia de los plaguicidas en el sistema. Sin embargo, en la actualidad, al existir una variedad de diseños, esta barrera puede estar construida por membranas sintéticas plásticas o capas de concreto.

3.6.2 Biocamas y sus variantes

Por el interés que el concepto de la biocama ha generado se han desarrollado diferentes modificaciones en algunos países. El propósito de las modificaciones en el diseño de la biocama ha sido para adaptarla a los diferentes condiciones climáticas, la disponibilidad de materiales para la biomezcla, y para mejorar o aumentar su efectividad.

La Phytobac® o biobac desarrollada en Francia difiere de una biocama convencional en que está completamente aislada. Consiste en una cisterna hecha de concreto o plástico y elimina el agua sólo por evaporación. Con este sistema es posible recolectar el efluente contaminante generado desde una rampa o terraza sobre el

cual es llenado y manipulado el material a utilizar, así este líquido puede ser ingresado en un tanque provisional conectado a tal terraza y luego ser distribuido sobre la Phytobac® por medio de un sistema de irrigación. Este sistema tiene la ventaja que puede tratar mayores volúmenes de efluente.

Las Phytobac® son por lo general instalaciones grandes debido a que necesitan grandes volúmenes de biomezcla para evitar la sobresaturación y optimizar la evaporación. Es preferible su utilización en regiones con climas cálidos, es necesario proteger estos sistemas de las precipitaciones pero nunca deben ser selladas por la necesidad de evaporación (Spanoghe *et al*, 2009).

El biofiltro es un término genérico dado a varios sistemas de tratamiento, son otra variación de las biocamas desarrolladas en Bélgica y consisten en una serie de subsistemas (dos o tres por lo regular) dependiendo de la carga hidráulica a tratar. Cada unidad consiste en un contenedor plástico de 1 m³ aproximadamente. Al fondo, cada contenedor tiene un sistema de drenaje conectado a una válvula de salida, éstos se instalan de forma vertical en forma de pila, conectados unos con otros por medio de un sistema de tuberías. Los contenedores del biofiltro son llenados con materiales adsorbentes, como los ya conocidos paja, turba y suelo. Son aptos para tratar grandes volúmenes de agua y son flexibles en su diseño (de Wilde *et al*, 2007).

Debaer y Jaeken (2006) realizaron una variación de los biofiltros en el cual se incluyeron plantas en los contenedores, lo cual es beneficioso en diferentes aspectos pues facilita la evapotranspiración y pueden funcionar como bioindicadores y reguladores tanto de humedad y temperatura. Las plantas también ayudan a la biodegradación como consecuencia de la liberación de enzimas que estimulan a los microorganismos y las transformaciones cometabólicas. La principal desventaja que se tuvo en esta variante fue que la adición de plantas puede no permitir la manipulación de algunos de los subsistemas. Además, las especies vegetales a usar deben ser resistentes tanto a la carga hidráulica que se empleará así como al contacto con plaguicidas.

Gebler *et al* (2015) en Brasil, trabajaron en un sistema que denominaron simplemente como Biorreactores. Estos biorreactores consistieron en unos bloques contruidos con tubos de PVC de 15 cm de diámetro y 1.5 m de largo, montados en un arreglo de 3x9 (en total 27 tubos). Cada tubo se llenó de sustrato y se selló para evitar el drenaje libre. Los sustratos probados fueron tres mezclas: suelo agrícola; suelo y composta de durazno (50:50 %); y una mezcla de paja, turba y suelo agrícola (50:25:25 %). Se midió la actividad microbiana, correlacionándola de manera positiva con las cantidades de humedad encontradas al fondo de cada tubo.

Suciu *et al* (2013) desarrollaron un prototipo de reactor con un principio de funcionamiento similar al de las biocamas. La biomezcla o biomasa elegida para este sistema fue una mezcla de 35 % suelo y 65 % composta (de jardín y de residuos urbanos 1:1). Tal sistema consiste en una columna con la biomezcla (biofiltro) y un tanque donde el agua con plaguicidas es almacenado. El agua contaminada se recircula por el biofiltro. Al tratarse de un sistema con oxigenación limitada, el principio de efectividad de esta variante depende principalmente del número de ciclos que el efluente realice a través del filtro y la temperatura ambiental. En este caso, se notó una eficiencia óptima a partir del día 20 con una temperatura promedio de 25 °C hallándose rangos de disipación de plaguicidas de hasta un 99 %.

En Guatemala existe la llamada biodep o mesa biológica, desarrollado por la Asociación del Gremio Químico Agrícola (AGREQUIMA), que consiste en un cilindro o barril de 200 litros semienterrado en el suelo, el cual es llenado con los elementos básicos de una cama biológica: una capa de arcilla en el fondo, una biomezcla que consiste principalmente en suelo, hojarasca, rastrojo o paja de maíz o trigo o arroz, una capa de césped en la superficie y adicionalmente se le instala un sistema de aspersor con el propósito de distribuir homogéneamente el influente contaminado con plaguicidas por toda la biodep. Como variante hay quienes adicional a la capa de arcilla del fondo agregan una más de carbón y una de cal (Caz-Macz, 2011).

Vischetti *et al* (2004) desarrollaron en Italia un sistema de cama biológica modificado (cama de biomasa), empleando residuos y subproductos agrícolas, como ramas de vid y pulpa de cítricos (1:1, v:v), composta de residuos urbanos y composta de jardín. Ocho kg de esta mezcla de sustrato fueron colocados en cuatro diferentes reactores. Diario se hicieron circular 47 litros de agua contaminada con plaguicidas (clorpirifós, metalaxil e imazamox) empleados en cultivos de cítricos y viñedo. Se hicieron pruebas durante seis semanas obteniendo las mayores eficiencias de remoción a partir de los 20 días para la mayoría de los plaguicidas usados.

3.7 Influencias ambientales en los sistemas de camas biológicas

Las camas biológicas son una tecnología clasificada como un sistema biológico, pues su principio de degradación en un sustrato o biomezcla puede simular la actividad e interacciones entre factores bióticos y abióticos que existen en un suelo.

Como en todo proceso biológico, la actividad de degradación, en este caso de plaguicidas, es afectada, entre otros factores, por la temperatura y humedad presentes en el sistema (Alexander, 1980).

Las condiciones ambientales y los factores abióticos son los principales responsables de la densidad y composición de la flora bacteriana y su potencial bioquímico de forma significativa. Entre las variables principales del medio que influyen sobre las bacterias presentes en un suelo están la humedad, temperatura, aireación, materia orgánica, acidez y nutrientes (Alexander, 1980). Otras variables como los vegetales que se encuentran plantados, la estación del año y la profundidad tienen indudable significado, sin embargo, al final se reduce a la combinación de los factores mencionados al principio.

La humedad controla la actividad microbiana principalmente en dos formas: cuando la humedad es excesiva la proliferación bacteriana puede detenerse, no exactamente por el exceso de agua, sino porque tal exceso limita el intercambio gaseoso y disminuye el suministro de oxígeno disponible, creándose un ambiente anaerobio.

Se dice que la máxima densidad bacteriana se encuentra por lo regular en regiones de alto contenido de humedad, cuyo nivel óptimo frecuentemente es del 50 al 75 % de la capacidad de retención de agua del suelo (CRA) (Alexander, 1980). Sin

embargo, Torstensson (2000) menciona que por debajo del 75 % la humedad es limitante para la actividad microbiana y también insuficiente para el crecimiento de las plantas. Por otro lado, Karanasios *et al* (2010), en Grecia, registraron la degradación de plaguicidas (dimetoato, indoxacarb, buprofezin, terbuthylazina, metribuzin, metalaxil-M, iprodiona y azoxistrobina) en una biomezcla donde la humedad fue ajustada a 45 % de la CRA. Esta cantidad de agua fue seleccionada debido a que es la humedad representativa en una biocama instalada en la región del Mediterráneo durante la época de cultivo, que se caracteriza por pocas lluvias y altas temperaturas.

Idealmente la humedad en una biocama debería ser suficiente para promover los procesos microbiológicos y la solubilización de los plaguicidas pero cuidando de dejar espacio en los poros suficiente para el oxígeno necesario de los procesos aerobios. Además, según Castillo *et al* (2008), los niveles de humedad cerca de la saturación, incrementan el riesgo de fuga de químicos de la biocama y de procesos anaerobios. Reforzando esto, de Wilde *et al* (2007) mencionan que un contenido saturado de humedad del 100 % puede resultar en la infiltración de plaguicidas, pero igual dice que un contenido de agua de entre 95 y 100 % es el requerido para el óptimo de la actividad microbiana e incluso para la adecuada aireación de las raíces de las plantas.

Gebler *et al* (2015) sugieren que la humedad tiene es de mayor importancia si se compara con la oxigenación, ya que en el estudio por ellos realizado, una mejor actividad microbiana fue relacionada con la mayor cantidad de agua acumulada a una profundidad promedio de un metro en los sistemas empleados. Por lo tanto, el efecto negativo que puede causar la ausencia de oxígeno a tales profundidades puede ser compensada si se mantiene una humedad adecuada.

Ismail *et al* (2012), evaluaron en su experimento la degradación de cipermetrina en un sustrato compuesto de suelo, turba y arcilla-limo. Aquí la degradación de tal sustancia incrementó al aumentar la humedad de 40 a 60 % de CRA. Tal comportamiento fue registrado como menor a una temperatura de 20 °C y mayor a la temperatura de 35 °C, lo cual puede estar relacionado con una mayor actividad

microbiana a esta última temperatura. La vida media también decreció en la presencia de una mayor cantidad de humedad.

Las variaciones periódicas del tamaño de la comunidad en un suelo están directamente relacionadas con las variaciones de humedad, enfatizando así la función biológica del suministro de agua (Alexander, 1980).

La temperatura rige todos los procesos biológicos, y por lo tanto, es un factor de interés en relación a las bacterias. Existe una asociación entre tamaño de la comunidad y la temperatura, pero tales efectos, además de cuantitativos, son cualitativos. Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento óptima y un intervalo fuera del cual el crecimiento se detiene. La mayoría de los microorganismos son mesófilos, con una temperatura óptima cercana a 25 y 30 °C y una capacidad de crecimiento entre 15 y 45 °C. Los tipos mesofílicos constituyen la mayor parte de los microorganismos del suelo. Existen aquellas especies que se desarrollan a temperaturas menores a 20 °C, los psicrófilos, pero aun así, éstas no son comunes en el suelo, sino que en invierno son mesofílicas resistentes al frío las presentes, más que psicrófilas. Aunque las bacterias que crecen por encima del punto de congelamiento a 5 °C son numerosas, la mayoría proliferan a temperaturas más altas. Las bacterias termófilas son organismos ubicuos, crecen fácilmente a temperaturas de 45 a 65 °C y algunos, los termófilos obligados, son incapaces de desarrollarse por debajo de los 40 °C. Además de sus efectos microbiológicos, la temperatura determina la velocidad de los procesos bioquímicos que realiza la flora microbiana (Alexander, 1980).

Otro factor, es el contenido de materia orgánica que influye directamente en el tamaño de la comunidad, por lo que en medios ricos en humus las bacterias son numerosas. La adición de material carbonoso tiene gran influencia en el número y actividades bacterianas y la incorporación de abonos vegetales o residuos de cultivo inicia una rápida respuesta microbiológica. En lo respectivo al pH, las condiciones altamente ácidas o alcalinas tienden a inhibir muchas bacterias comunes, ya que

para la mayoría de las especies el óptimo está cercano a la neutralidad (Alexander, 1980).

Otra variable ecológica importante, pero secundaria, es la estación del año, ya que está compuesta de diferentes variables definidas como la temperatura, precipitaciones, residuos de cultivo y otros efectos directos o indirectos de las raíces de las plantas. En regiones templadas el inicio de la actividad ocurre en primavera conforme el suelo se calienta y los materiales de verano e invierno pasados se descomponen. El número de células durante primavera y otoño es alto, para después haber un descenso en los meses calientes y secos de verano. En otoño, por lo común, hay un incremento en el número de células debido a la humedad y disponibilidad de residuos disponibles (Alexander, 1980).

Así, como se ha mencionado, tales condiciones son las mismas que influyen en el sistema de la cama biológica, ya que ésta emula el microcosmos que existe en un suelo. Además, existe también un efecto provocado por el tipo y cantidad de plaguicida que puede ser vertido en el sistema.

En algunos estudios como los realizados por Karanasios (2012) o Castillo (2007) se han comparado las correlaciones entre la temperatura y la humedad en la biomezcla y sin embargo, a veces, estas condiciones no son precisamente las "adecuadas".

En el experimento de Karanasios *et al* (2012) se emplearon dos tipos de biomezcla, una basada en composta con suelo y otra de paja con suelo. Se les ajustó una humedad a 45 % de su capacidad de retención y se sometieron a temperaturas de 15 y 25 °C. Ambas fueron comparadas en cuanto al rango de degradación de una mezcla de ocho plaguicidas encontrándose en general las mejores eficiencias en aquellas sometidas a temperaturas de 25 °C. La presencia de paja estimuló significativamente la actividad biológica y la degradación de plaguicidas comparado con aquel con composta, pero al igual, al combinarse composta con paja y suelo la degradación se maximizó aún más. Por otro lado, la eficiencia de disipación en el sustrato aumentó al aplicar altas concentraciones de plaguicidas y bajas temperaturas.

Castillo y Torstensson (2007) compararon diferentes combinaciones de paja, turba y suelo para medir las eficiencias aplicando diferentes cantidades de humedad y temperatura (10 y 20 °C). En cuanto a componentes, destacaron en general aquellas combinaciones donde la paja representaba 50 % o más de la mezcla, mientras que en lo referente a humedad, en la mayoría de los casos los mejores resultados se dieron ajustando a un 60 % de CRA. Destaca que, usando la combinación paja:turba:suelo en proporciones 50:25:25 pudo observarse el aumento significativo en la disipación en algunos de los sistemas si se aumentaba de 60 % a 90 % de la CRA. Para todos los tratamientos en general, las mejores eficiencias se dieron a la temperatura de 20 °C.

4. Hipótesis

Las condiciones ambientales extremas de temperatura y humedad afectan negativamente la disipación de plaguicidas en las camas biológicas.

5. Metodología

5.1 Plaguicidas modelo

Para la realización del estudio se utilizó una mezcla de cinco sustancias activas empleadas en la región: glifosato (Volfosato de Velsimex SA de CV), carbofurán (Furadan 350 de FMC-Agroquímica de México S de RL de CV), 2,4-D (Agramina 6 de Velsimex SA de CV), diazinón (Dragón 25E de Agricultura Nacional SA de CV), y atrazina (Sanazina 500 de Velsimex SA de CV).

5.2 Biomezcla

Se preparó una biomezcla cuyos componentes fueron rastrojo de maíz y suelo local agrícola en proporciones de 50:50 en volumen. El rastrojo de maíz se trituró para obtener partículas de aproximadamente 3 mm. El suelo se tamizó a través de una malla número 10 para obtener un material con partículas no mayores a dos milímetros.

Se eligió el rastrojo de maíz como componente de la biomezcla principalmente por ser uno de los materiales más utilizados como sustrato para biocamas debido a su disponibilidad. Este tipo de subproducto vegetal es de los más generados a nivel nacional con aproximadamente 25,500,000 toneladas anuales, ya que el cultivo de maíz ocupa la mayor superficie de México (SAGARPA, 2015). Además de que es un material con alto estado de lignificación (Fuentes *et al*, 2001), lo cual también trae un adecuado medio para el desarrollo de hongos degradadores.

5.2.1 Caracterización de biomezcla

Se realizaron análisis de pH, materia orgánica, nitrógeno, relación C/N, capacidad de intercambio catiónico (CIC), capacidad de retención de agua (CRA), capacidad de campo (CC), densidad y granulometría de la biomezcla.

Para la determinación de pH se empleó el método AS-02 indicado en la NOM-021-RECNAT-2000. La densidad aparente se determinó mediante el método del terrón (basado en el "Ensayo de densidad aparente" de la Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo, USDA, 1999), en donde cuantifica el peso de un volumen conocido de suelo húmedo y luego esa misma muestra se seca en estufa a 110 °C para volver a pesar. Se empleó este mismo método para estimar la densidad aparente de del rastrojo. La densidad real se calculó por medio del método del matraz volumétrico indicado en la NOM-021-RECNAT-2000.

La capacidad de retención de agua (CRA) se realizó siguiendo el método indicado en el "Manual de prácticas de laboratorio de química ambiental" del IPN (Juárez-Juárez, *et al*, 2009), donde se coloca la muestra en un embudo con un filtro de papel, se hacen pasar 200 mililitros de agua en promedio a través de ella, se tapa para evitar evaporación y se deja drenar por 24 horas.

La materia orgánica disponible se midió empleando el procedimiento AS-07 de Walkley & Black indicado, al igual, en la NOM-021-RECNAT-2000. La capacidad de campo se determinó por medio del método gravimétrico, donde una muestra de suelo, y rastrojo en este caso, se lleva a la saturación con agua destilada y se deja drenar por 24 horas. El nitrógeno total se calculó empleando el analizador elemental de suelos Flash2000 de ThermoScientific, donde mediante una pequeña muestra

homogénea de 12 miligramos en promedio de suelo se determina la proporción elemental de N, entre otros elementos. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se realizó mediante el método indicado en la NOM-021-RECNAT-2000.

Al igual, se realizó un análisis de textura de suelo mediante el método indicado en el "Manual de técnicas de análisis de suelos" (IMP-SEMARNAT-INE, 2006), donde una muestra de suelo en solución es pasada por un tamiz de malla 325 (0.037 mm), lo retenido por la malla y la porción aún suspendida en la solución son reservados y secados en una estufa para después pesarse.

5.3 Preparación de las unidades experimentales

Se emplearon pequeñas unidades experimentales consistentes en recipientes de vidrio de 100 ml aproximadamente (frascos gerber) en los cuales se colocaron 2.24 g de biomezcla en promedio (Figura 3). Cada pequeño sistema se cubrió con papel "parafilm" para evitar la pérdida de humedad.



Figura 3. Unidades experimentales empleadas

El suelo empleado para la biomezcla es un suelo agrícola recolectado en un campo de cultivo ubicado en la localidad de Candel, municipio de Mérida, Yucatán. El rastrojo de maíz se recolectó en el mercado público "Lucas de Gálvez" de la ciudad de Mérida, se secó al sol por tres días y se trituró cortando las hojas en partes pequeñas y luego moliendo en una licuadora común (Figura 4).



Figura 4. Suelo agrícola tamizado y rastrojo de maíz triturado empleados en la prueba

5.4 Fase experimental

Se dividió en dos etapas, en la primera se realizó una cinética de disipación de los cinco plaguicidas modelo en condiciones de humedad y temperatura 'ideales' (según las condiciones mencionadas en la bibliografía). En la segunda se evaluó el efecto de las condiciones extremas de humedad y temperatura en la degradación de los plaguicidas.

5.4.1 Primera fase

Se ajustó la capacidad de retención de agua (CRA) al 90 % y se incubó a 30 °C por 45 días. Se determinó la cantidad de plaguicidas presentes a los 3, 7, 10, 15, 19, 23, 27, 30 y 45 días, empleado 8 repeticiones por tiempo muestreado.

Estas determinaciones se hicieron mediante extracción en microondas a los tiempos indicados, basado en el método 3546 de la USEPA. Para realizarlas se emplearon tubos de teflón para extracción en microondas donde se introdujo la biomezcla combinada con sulfato anhidro de sodio para eliminar la humedad presente en la muestra, luego se le adicionó 25 ml de una mezcla de solventes hexano-acetona HPLC 50:50 en volumen (Figura 5). El tiempo de extracción fue de 15 minutos a 800 watts de potencia.



Figura 5. Preparación de las muestras para extracción por microondas

Realizadas las extracciones se dejaron enfriar los tubos, se tomaron 2 mL aproximadamente de cada extracto y se filtraron empleando jeringas de vidrio y filtros de celulosa de 0.45 μm . Estos filtrados se vertieron en pequeños viales de vidrio los cuales se llevaron a análisis de cromatografía (Figura 6).



Figura 6. Preparación de viales con muestras para cromatografía

5.4.2 Segunda fase

Durante la segunda etapa se evaluó la degradación de la mezcla de plaguicidas con respecto al efecto de la temperatura y la humedad, para esto se empleó un diseño experimental multifactorial, cuyos principales factores fueron la cantidad de agua, medido mediante la capacidad de retención de agua (CRA), y la temperatura, con cinco niveles cada uno. Los niveles de CRA fueron 20, 40, 60, 80 y 100 % y de la temperatura fueron 5, 15, 25, 35 y 45 °C.

Para tal etapa se emplearon incubadoras y el cuarto frío existentes en el laboratorio donde se ajustaron las temperaturas deseadas y se monitorearon constantemente.

Al final, se hicieron extracciones por microondas al tiempo óptimo elegido según la eficiencia en la primera fase.

5.4.3 Método cromatográfico

Para el análisis se empleó un cromatógrafo Thermo Trace GC Ultra, con inyector automatizado Tri Plus y columna Elite-17, 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm. El volumen de la muestra fue de 1 µL.

Método del horno

Temperatura Inicial – 60 °C

Rampa 1: 6 °C hasta 120 °C, se mantuvo durante 2 min.

Rampa 2: 3 °C hasta 200 °C, se mantuvo durante 1 min.

Rampa 3: 10 °C hasta 300 °C, se mantuvo durante 1 min.

Inyector: PTV *splitless*

Gas acarreador: Helio, flujo de 1 mL/min.

Temperatura base: 60 °C

Splitless time: 1 min.

Evaporación: 10 °C/s, 200 °C, 1 minuto.

Transferencia: 10 °C/s, 280 °C, 1 minuto.

Limpieza: 14 °C, 290 °C, 5 minutos.

Detector: ECD-NPD

Temperatura base: 300 °C

Temperatura del detector: 330 °C

Gas make up: nitrógeno, 15 mL/min.

Corriente de referencia: 0.5 mA

5.5 Análisis estadístico y modelo de Gompertz

Al finalizar los experimentos se analizaron los datos por medio de una ANOVA multifactorial y se evaluó el comportamiento de la disipación de cada plaguicida empleando el método del modelo de Gompertz para describir cinéticas. Para estos dos análisis se empleó la aplicación de *Statgraphics Centurion XVI*.

Para el modelo se realizó un análisis de regresión no lineal empleando los datos de las cantidades disipadas. El modelo matemático aplicado fue el correspondiente a la ecuación básica o primaria de Gompertz (Ecuación 1), que en este caso es la indicada para cinéticas de disipación-degradación.

$$y = ae^{(-be^{(-ct)})}$$

Donde:

y = concentración de plaguicida disipado a un tiempo t

t = tiempo

a = concentración máxima disipada

b = constante de integración

c = pendiente de la curva relativa a la tasa de disipación

e = número de Euler (2.718), base de los logaritmos naturales

Ecuación 1. Modelo no lineal de Gompertz

Al igual, con los datos obtenidos en el modelo, se calculó el tiempo de vida media de los plaguicidas (Ecuación 2), así como las velocidades inicial y máxima (Ecuación 3a y 3b, respectivamente).

$$DT50 = \ln\left[\frac{\ln(0.5)}{-b}\right] / (-c)$$

Ecuación 2. Tiempo de vida media, equivale al tiempo en que se tarda en disipar el 50 % del plaguicida en el sustrato.

$$a) V_0 = acbe^{-b}$$

$$b) V_{m\acute{a}x} = \frac{ac}{e}$$

Ecuación 3. La ecuación V_0 (a) indica la velocidad cuando $t=0$ y $V_{m\acute{a}x}$ (b) representa la velocidad al tiempo de inflexión (inicio de fase exponencial).

6. Resultados y discusión

6.1 Caracterización de la biomezcla

Los parámetros analizados en la biomezcla fueron: pH, materia orgánica, nitrógeno orgánico, relación C/N, capacidad de intercambio catiónico, humedad relativa, capacidad de retención de agua, densidad y textura. Estas características fueron cuantificadas para el suelo agrícola y el rastrojo según lo permitieran las características propias de cada uno de los materiales.

Como datos del pH se obtuvieron lecturas de 8.14 y 5.46 para suelo y rastrojo, respectivamente. Los resultados de la determinación de las densidades real y aparente para los dos materiales componentes de la biomezcla se muestran a continuación:

$$DA\text{-suelo} = 0.835 \text{ g/cm}^3$$

$$DA\text{-rastrojo} = 0.238 \text{ g/cm}^3$$

Así también en la densidad real (Figura 7) se muestra:

$$\rho_{\text{suelo}} = 2.15 \text{ g/cm}^3$$

$$\rho_{\text{rastrojo}} = 0.686 \text{ g/cm}^3$$



Figura 7. Pesado y manipulado de matraces para densidad real

La capacidad de retención de agua (CRA) mostró como resultados 64 % y 175 % para el suelo y el rastrojo, respectivamente.



Figura 8. Análisis de capacidad de retención de agua (CRA)

El análisis de materia orgánica disponible en el suelo (Figura 9) dio como resultado un 12 % y un contenido de carbono orgánico del 7 %.



Figura 9. Análisis de determinación de materia orgánica

La humedad relativa se cuantificó por medio del dispositivo ALOGEN MB35, obteniendo un 17 % y 12 % para suelo y rastrojo, respectivamente. En el análisis de determinación de nitrógeno se obtuvo como resultado un contenido de 1.7 %, y haciendo la correlación C/N se puede cuantificar una proporción de 4:1.

En el análisis de capacidad de intercambio catiónico (CIC) se obtuvo una lectura de 40.4 meq/100 g de suelo.

En el análisis de capacidad de campo por medio del método gravimétrico se obtuvo:

CC-suelo= 84 %

CC-rastrajo= 203 %

En el análisis de textura de suelo se consiguieron resultados de un 45.3 % de arena, 36.8 % de arcilla y 10.2 % de limo en el suelo. Con estas proporciones, y según el triángulo de textura, se puede decir que el suelo es de tipo franco arcilloso arenoso.

6.2 Resultados primera fase

Se hizo una comparativa entre los tiempos de muestreo y la disipación de los plaguicidas presentes en la biomezcla. A continuación se muestra de forma gráfica el comportamiento de cada plaguicida remanente en los sistemas en tanto por ciento:

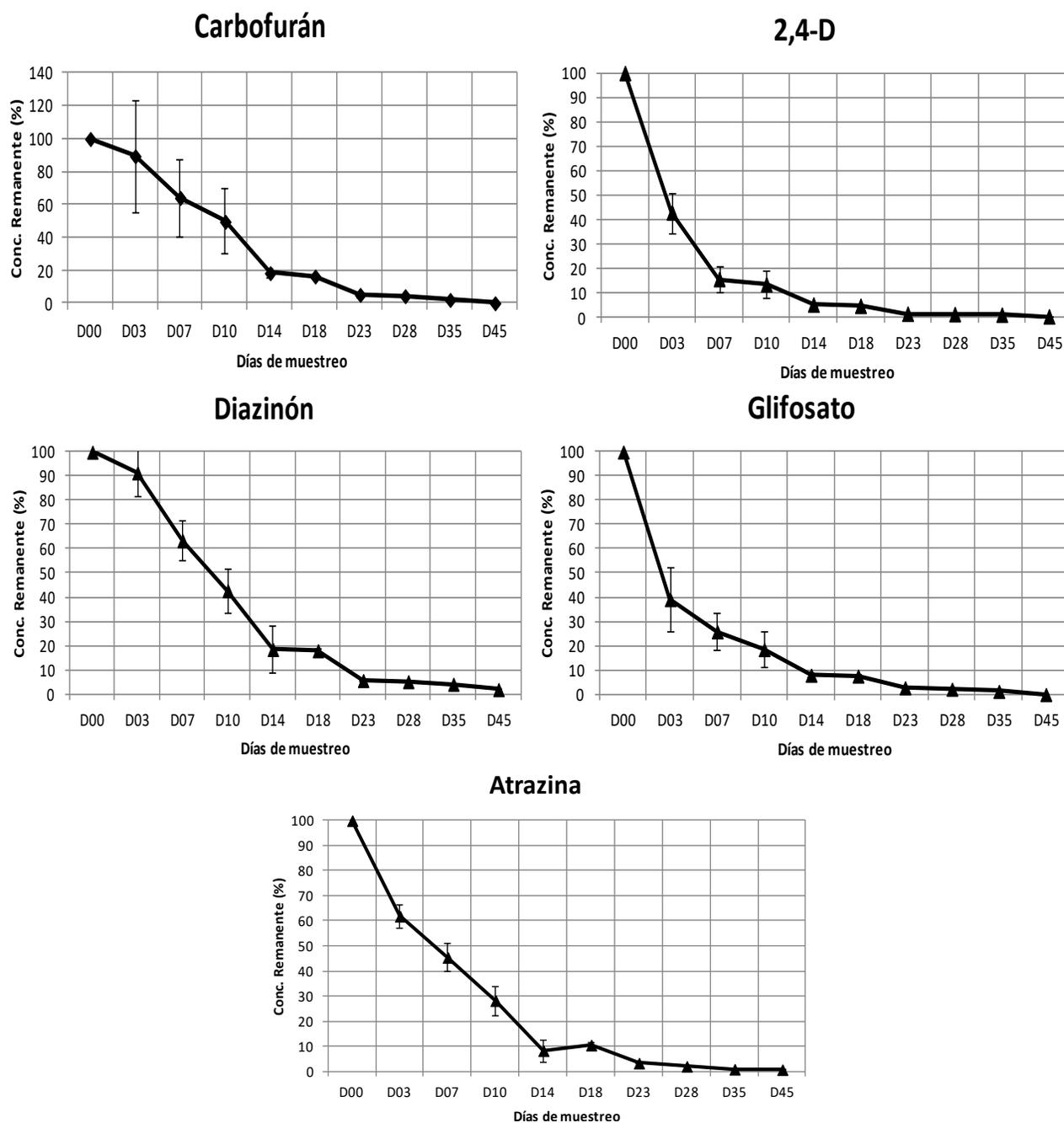


Figura 10. Disipación para cada uno de los plaguicidas presentes en la mezcla evaluada.

6.2.1 Modelo de Gompertz

El modelo, con los cálculos adicionales que a éste conllevan, fue aplicado para cada plaguicida obteniendo los siguientes datos:

$$\text{Función a estimar (Ecuación 1): } y = ae^{(-be^{(-ct)})}$$

Tabla 2. Resultado de las estimaciones realizadas por el modelo de Gompertz por plaguicida.

	R-Cuadrada ajustada (%)	Error estándar del estadístico
Carbofurán	99.2	17.3
	Modelo ajustado: $y = 502.957 \cdot \exp(-4.16692 \cdot \exp(-0.196335 \cdot t))$	
2,4-D	97.5	119.2
	Modelo ajustado: $y = 2310.56 \cdot \exp(-3.07846 \cdot \exp(-0.560999 \cdot t))$	
Diazinón	99.4	25.7
	Modelo ajustado: $y = 869.52 \cdot \exp(-4.53125 \cdot \exp(-0.218926 \cdot t))$	
Glifosato	93.1	64.4
	Modelo ajustado: $y = 749.481 \cdot \exp(-2.89165 \cdot \exp(-0.612189 \cdot t))$	
Atrazina	97.2	63.0
	Modelo ajustado: $y = 1097.74 \cdot \exp(-2.40389 \cdot \exp(-0.212235 \cdot t))$	

El R-cuadrada ajustada indica qué tan bien se acomodan los datos al modelo y el error estándar del estadístico indica, como dice su nombre, el rango de error de los datos. En la Figura 11 se muestran las gráficas que describen el modelo ajustado.

Obtenidas las ecuaciones del modelo ajustado para la disipación de cada plaguicida, se tomaron los datos de éstas para así calcular los tiempos de vida media y velocidad máxima e inicial (Tabla 3).

Tabla 3. Vida media (DT50), velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$) y velocidad inicial (V_0) de cada plaguicida en mg/kg-suelo por día.

	DT50 (días)	$V_{m\acute{a}x}$ (mg/kg-día)	V_0 (mg/kg-día)
Carbofurán	9.14	36.33	6.38
2,4-D	2.66	476.85	183.68
Diazinón	8.58	70.03	9.29
Glifosato	2.33	168.79	73.61
Atrazina	5.86	85.71	50.61

Se observa una velocidad inicial y máxima superior a los demás plaguicidas en el caso del 2,4-D y en segundo lugar el glifosato, lo cual si se compara con los gráficos correspondientes en la Figura 10 se observa que para estos dos plaguicidas existe un inicio en la disipación mucho más rápida que el resto. Este efecto puede deberse a que el 2,4-D y el glifosato son poco persistentes pues pueden degradarse incluso en unos pocos días por diversos mecanismos, dependiendo del entorno (INE, 2015). Gaultier *et al* (2008) evaluaron al 2,4-D en suelos agrícolas hallando cifras de vida media que iban desde 2.09 a 3.83 días, las cuales se acercan a las estimaciones obtenidas en este estudio. Por otro lado Jemutai-Kimosop *et al* (2014) evaluaron la disipación del carbofurán en dos tipos de suelo, uno con historial de aplicación de plaguicidas y otro sin haber sido expuesto a ellos con anterioridad. En este caso, en el suelo con historial de plaguicidas se determinó una vida media del carbofurán de 8 días y en el suelo sin historial de 19 días. Cycoñ *et al* (2009) realizaron diversos ensayos comparando la biodegradación del diazinón con diferentes inóculos de microorganismos hallando cifras de vida media que iban desde los 11 hasta los 47 días. En estos ejemplos se puede observar la similitud que existe en estos parámetros con los obtenidos en este estudio.

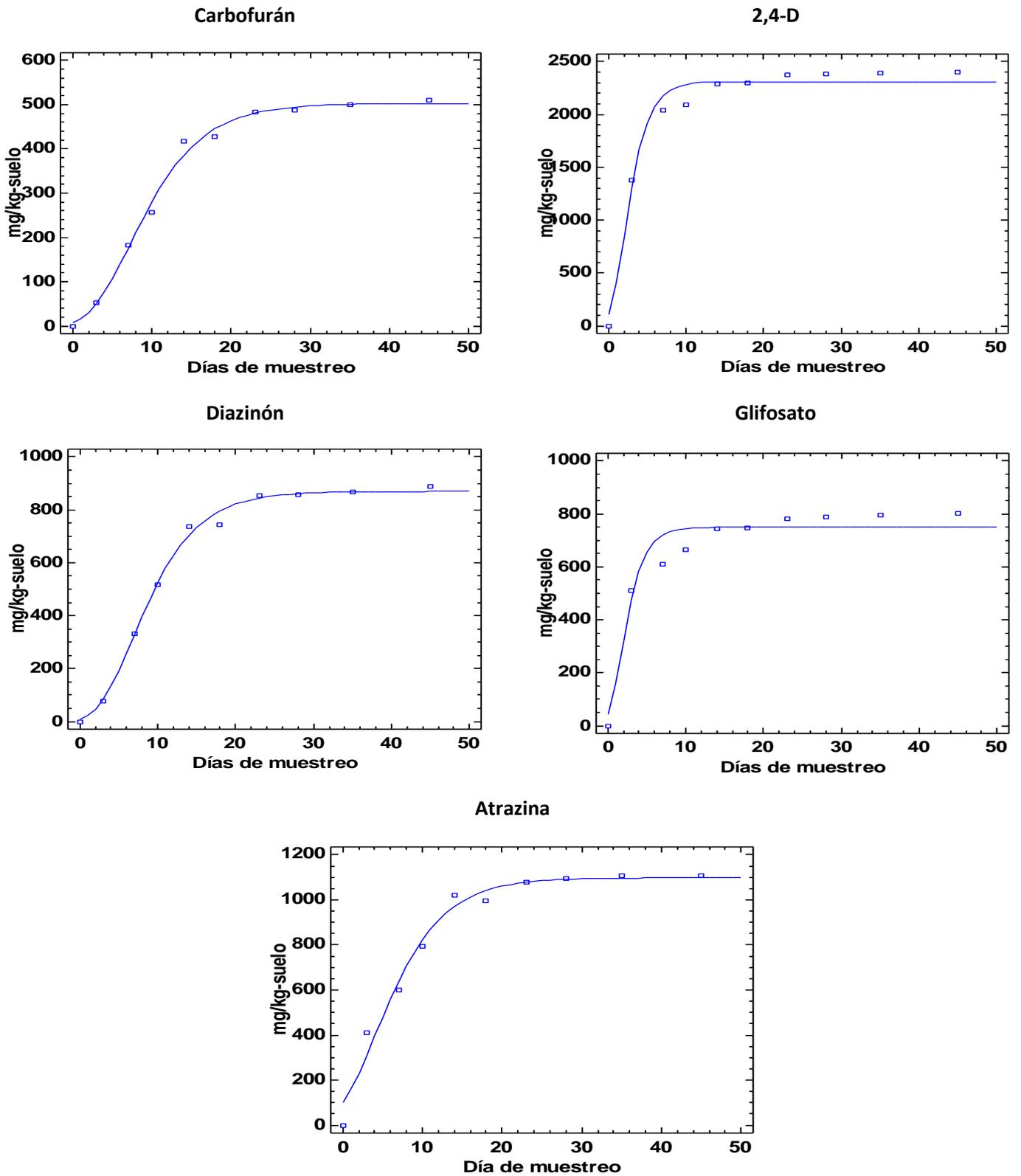


Figura 11. Gráficas de modelo ajustado para cada plaguicida con datos de disipación, como parte del análisis Gompertz

En el caso del glifosato, este se trata de una sustancia si bien más persistente que el 2,4-D, por ejemplo, es fácilmente biodegradado. Gómez-Ortiz *et al* (2015) evaluaron este plaguicida y su disipación en tres tipos de suelo, comparando la presencia de tal sustancia y la influencia de las características del suelo sobre el plaguicida. Los resultados indicaron una mayor persistencia del glifosato en suelos con mayores cantidades de materia orgánica y arcillas, condiciones que en teoría son menos favorables para la degradación microbiana, sin embargo, la estimación de vida media obtenida fue menor a un día, cantidad más pequeña a las de este estudio.

6.2.2 Análisis estadístico

Se realizó un análisis ANOVA con los datos de las concentraciones remanentes con el propósito de evaluar el tiempo óptimo al que se alcanza la mayor disipación. Como en el análisis fue evaluada la mezcla de todos los plaguicidas, estos datos fueron convertidos a proporciones de tanto por ciento con el propósito de homogeneizarlos entre sí y poder realizar una comparación válida.

Tabla 4. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje por tiempo (día)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Día muestreo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
45	5	0.64	X
35	5	1.8	X
28	5	3.0	X
23	5	3.6	X
18	5	11.6	X
14	5	11.6	X
10	5	30.4	X
7	5	42.4	X
3	5	64.6	X
0	5	100.0	X

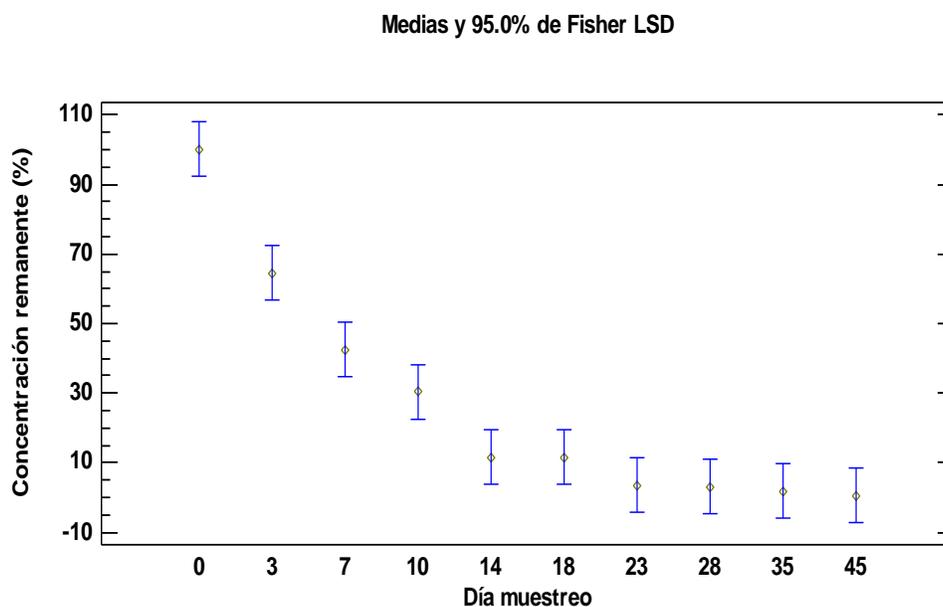


Figura 12. Grafico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los tiempos muestreados

Según los resultados observados del análisis ANOVA en la Tabla 4, los grupos evaluados empiezan a ser homogéneos a partir del día 14, por lo que se puede decir que no existen diferencias estadísticamente significativas en la disipación a partir de tal día y se considera a partir de este el punto donde se alcanza la mayor disipación y por consiguiente el tiempo óptimo, principal objetivo de esta primera etapa.

Así, con estos resultados, se decidió hacer el muestreo de la segunda etapa del experimento para el día 18, considerando esta fecha como adecuado punto de disipación.

6.3 Resultados segunda fase

Se realizó la extracción asistida por microondas siguiendo el mismo procedimiento que para la primera fase. Estas extracciones se realizaron al llegar el día número 18 del experimento.

A continuación en las Figuras 13, 14 y 15 se muestran de forma gráfica los valores medidos de remanentes por cada plaguicida en tanto por ciento:

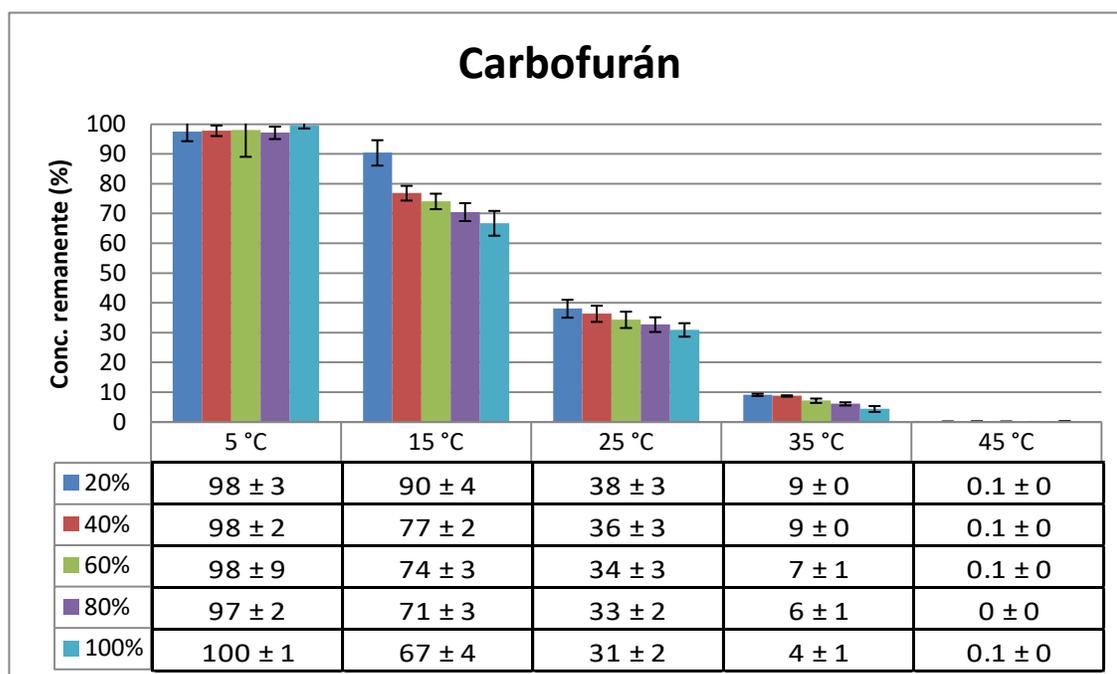


Figura 13. Disipación del carbofurán expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua *versus* temperatura).

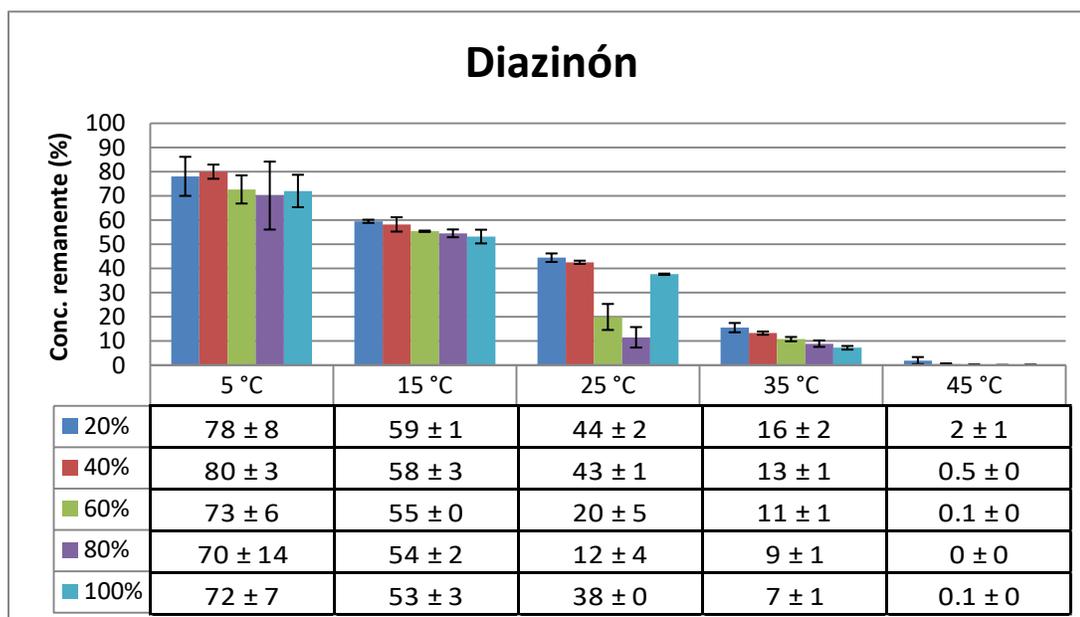
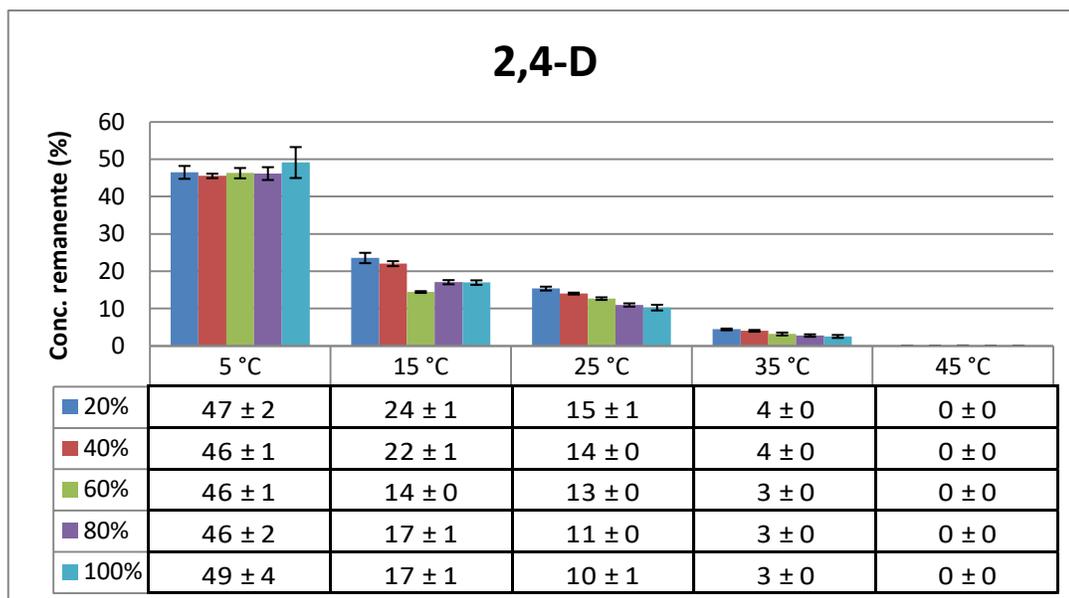


Figura 14. Disipación de 2,4-D y diazinón expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua *versus* temperatura).

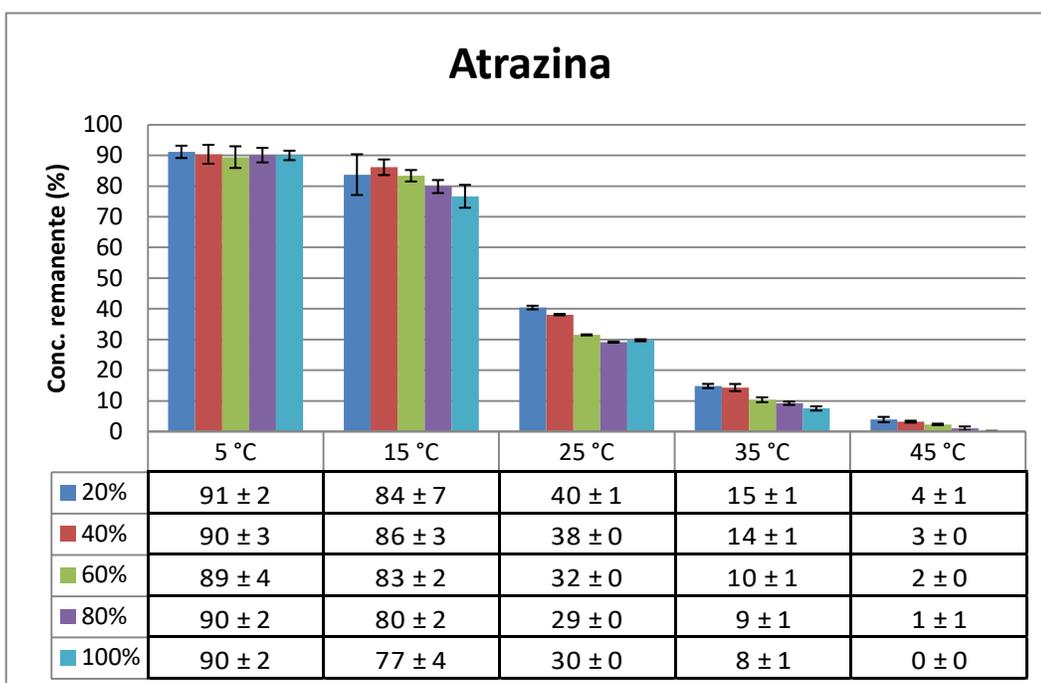
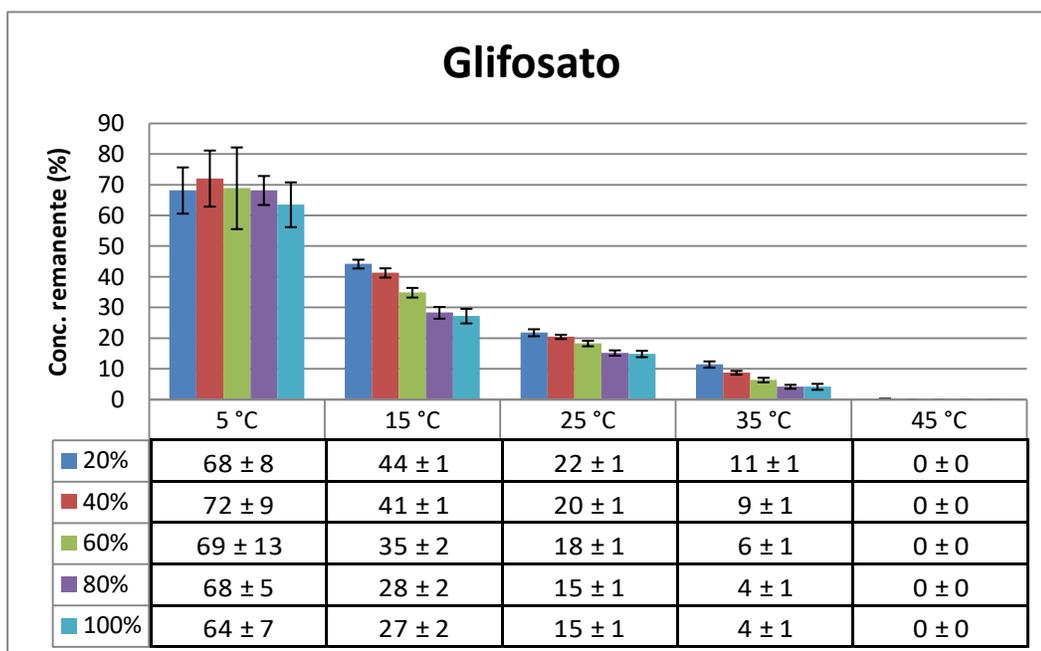


Figura 15. Disipación de glifosato y atrazina expresado en tanto por ciento a las condiciones del experimento (capacidad de retención de agua *versus* temperatura).

En general, los cinco plaguicidas evaluados presentan una tendencia de disipaciones mayores según va aumentando la temperatura, todos ellos con un comportamiento muy similar entre los diferentes niveles de humedad aplicada. Esto puede deberse a que al aumentar la temperatura se incrementa la actividad microbiana y por lo tanto también la disipación. Diez (2010) ya menciona que Taylor y Spencer (1990) dijeron que la humedad juega un papel más significativo que la temperatura del suelo en cuanto al comportamiento de plaguicidas, pero por otro lado, Bromilow *et al* (1999) observaron que la humedad del suelo no influye en la degradación de tales, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

Es de notarse el descenso hasta casi el 50 % en las concentraciones del plaguicida 2,4-D en el primer día de muestreo, esto puede deberse a que de los cinco plaguicidas es el menos persistente y muy susceptible a la disipación y degradación biológica. Por el contrario, el carbofurán y atrazina son los más persistentes y se puede evidenciar al haber cuantificado desde un 90 al 100 % de las concentraciones iniciales en el primer muestreo (día 3).

6.3.1 Análisis estadístico

Se realizó un análisis ANOVA donde se compararon los datos en tanto por ciento de la mezcla para evaluar los efectos de la temperatura y la humedad aplicados.

A continuación se muestra lo referente al comparativo entre los niveles de humedad del experimento (CRA):

Tabla 5. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje para los diferentes niveles de humedad (CRA)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>CRA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	25	30.656	3.19007	X
80	25	30.12	3.19007	X
60	25	31.7	3.19007	X
40	25	34.952	3.19007	X
20	25	36.12	3.19007	X

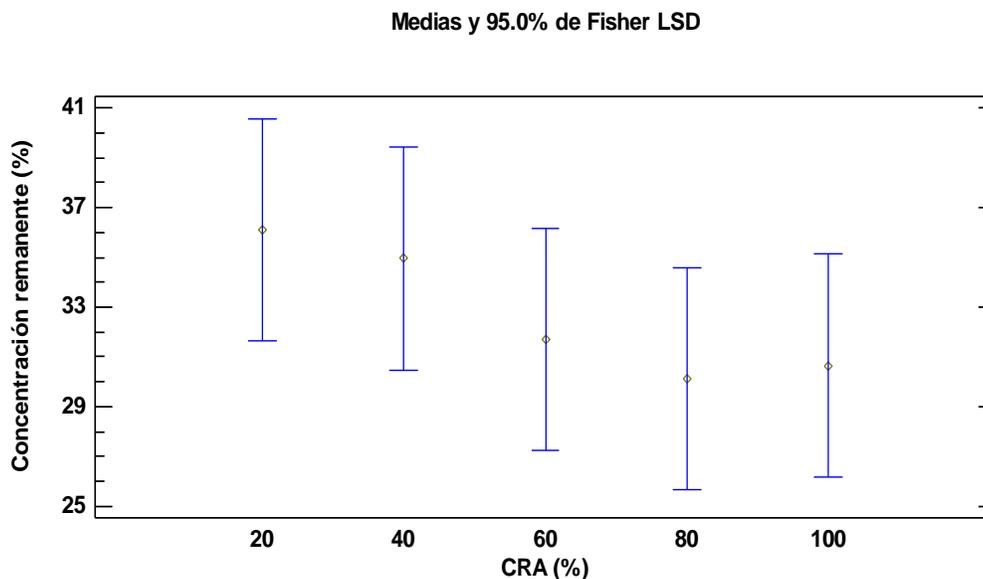


Figura 16. Grafico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los diferentes niveles de humedad aplicados

Según el análisis ANOVA se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos observados a las condiciones de humedad aplicadas. Por lo tanto, el efecto de la humedad en la disipación no puede ser considerado relevante en el experimento, factor que contrasta con otros estudios donde por ejemplo se han registrado las mejores rangos de disipación a una CRA de 60 %, comparado con otros 30 y 90 % de CRA; estas dos últimas humedades son consideradas condiciones de ambientes pocos adecuados para la actividad microbiana ya que hubieron menores eficiencias de degradación (Castillo y Torstensson, 2007). En otro estudio, se evaluó la degradación de cipermetrina en donde la vida media de tal plaguicida disminuyó al aumentar la CRA de 40 a 60 % ya que al incrementar la cantidad de agua igual puede disminuir la adsorción del plaguicida en las partículas de suelo y beneficiando la biodisponibilidad para los microorganismos (Ismail *et al*, 2012).

Tabla 6. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de plaguicidas remanentes, en porcentaje para los diferentes niveles de temperatura aplicados

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Temp</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
45	25	0.548	3.19007	X
35	25	7.92	3.19007	X
25	25	26.04	3.19007	X
15	25	53.48	3.19007	X
5	25	75.56	3.19007	X

Medias y 95.0% de Fisher LSD

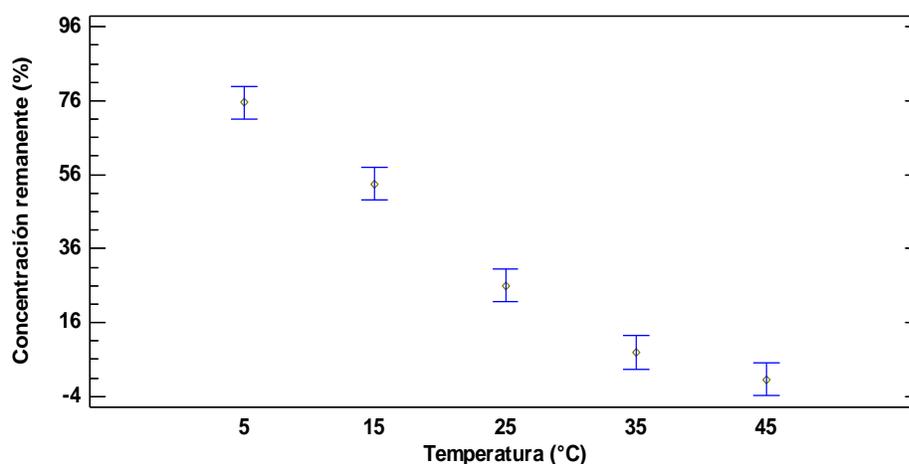


Figura 17. Gráfico ANOVA de la disipación de las concentraciones de la mezcla de plaguicidas a los diferentes niveles de temperatura aplicados

Según este ANOVA se observa que existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de temperatura aplicados en el experimento, a excepción de las correspondientes a 35 y 45 °C, los cuales son estadísticamente iguales. Esto indica que el efecto causado por la temperatura puede ser considerado más importante que aquel que pudiese causar el nivel de humedad, que en este estudio resultó irrelevante.

Existe una evidente tendencia en la disminución de las cantidades de plaguicidas conforme aumenta la temperatura, lo cual coincide con la mayoría de los estudios realizados en los que se compara tal efecto sobre la disipación. Hay evidencia que las tasas de disipación de plaguicidas aumentan a mayores temperaturas para la mayoría de dichas sustancias, probablemente como respuesta al aumento en la actividad biológica (Ismail *et al*, 2012).

Chowdhury *et al* (2008) mencionan a Jitender *et al* (1993) que registraron experimentos en los cuales evaluaron la disipación de tiobencarbo y *butachlor* a 25 y 35 °C por 90 días y observaron una correlación directa entre la temperatura y la concentración de estas sustancias, menor temperatura, mayor concentración. Ismail *et al* (2012) registraron una disminución en la vida media de cipermetrina de 5.46 a 3.25 semanas al aumentar la temperatura de 25 a 35 °C bajo las cuales se evaluó la degradación de tal sustancia. Por otro lado, Zhu *et al* (2004) igual reportan un aumento en la degradación de fipronil al pasar de 25 a 35 °C en un sustrato compuesto de suelo arcilloso. Sin embargo, en este caso en particular se empleó un medio estéril y otro no estéril. En aquel no estéril se encontraron residuos de 8 y 6 % de fipronil a 25 y 35 °C respectivamente; y cerca de 48 y 46 % fue encontrado como residuo en los sustratos estériles. Lo cual sugiere que aunque la temperatura y la actividad microbiológica tienen influencia, otros procesos pueden haber sido considerados, entre ellos la volatilización.

También, el aumento de la temperatura puede mejorar la solubilidad de los plaguicidas, aumentando su disponibilidad para los microorganismos; sin embargo, existe un inconveniente, la volatilidad de los plaguicidas. En esta situación, los plaguicidas usados para este estudio presentan un grado de volatilidad media (según hojas técnicas INE, 2015), pero la estabilidad para mantenerse en estado líquido de la mayoría de estas sustancias disminuye conforme aumenta la temperatura. Por lo tanto es muy probable que si bien existió mayor degradación microbiana por el aumento de la temperatura, también existió volatilización que no fue cuantificada.

7. Conclusiones

Se evaluó la disipación de la mezcla de plaguicidas bajo condiciones ambientales consideradas como ideales para la actividad microbiana y mediante un análisis estadístico se determinó que la disipación óptima de estas sustancias se alcanza a partir del día 14. Al día 45 de la cinética se registró la desaparición del 99 % de los plaguicidas presentes en la biomezcla.

Al evaluar la disipación de los plaguicidas bajo diferentes condiciones ambientales se observó que al aumentar la temperatura, la concentración de estas sustancias disminuía, llegándose a cuantificar valores menores a 1 mg/kg de suelo a 45 °C para cuatro de los plaguicidas, a excepción de la atrazina. Este efecto puede ser debido a la actividad microbiana que se ve intensificada, sin embargo no se descarta la volatilización de cierta proporción de plaguicidas.

Por otro lado, los diferentes porcentajes de humedad utilizados para el estudio no mostraron diferencias significativas sobre la disipación de los cinco plaguicidas.

Referencias

- Abraham W.R., Nogales B., Golyshin P.N., Pieper D.H., Timmis K.N. (2002). Polychlorinated biphenyldegrading microbial communities and sediments. "Current Opinion in Microbiology" 5, 246-253.
- Alexander, M. (1980). Introducción a la microbiología de suelos, 2ª Ed., Libros y Editoriales S. A., México DF.
- Antonious, G.F. (2012). On-farm bioremediation of dimethazone and trifluralin residues in runoff water from an agricultural field. "Journal of Environmental Science and Health, Part B", 47, 608–621.
- Castrejón-Godínez, M. L.; Sánchez-Salinas, E.; Ortiz-Hernández, M.L., (2008a). Caracterización e identificación de consorcios bacterianos capaces de crecer sobre plaguicidas organofosforados. En "Memorias de la Red de Ciencias Ambientales, 2008". Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Castrejón-Godínez, M. L.; Sánchez-Salinas, E.; Ortiz-Hernández, M.L., (2008b). Crecimiento de bacterias aisladas de suelos agrícolas sobre plaguicidas organofosforados como sustrato. En "Memorias de la Red de Ciencias Ambientales, 2008". Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Castillo, M.d.P., Torstensson, L., Stenström, J. (2008). Biobeds for environmental protection from pesticide use: A review. "Journal of Agricultural and Food Chemistry" 56, 6206 6219.
- Castillo, M.d.P.; Torstensson, L. (2007). Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 55, 5725-5733.
- Catálogo de Plaguicidas 2004, Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST), México.
- Caz-Macz, G.L.F. (2011). Manual: implementación de camas biológicas o biodep dirigido a agricultores de la Aldea Santa Lucía Lachuá Cobán, Alta Verapaz. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Humanidades.
- Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M., Sanyal, N., (2008). Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. "Indian Journal of Microbiology" 48,114–127.
- Coppola, L., Castillo, M. d. P., Monaci, E., Vischetti, C. (2007). Adaptation of the biobed composition for chlorpyrifos degradation to southern Europe conditions. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 55, 396–401.

- Cycoń, M., Wójcik, M., Piotrowska-Seget, S. (2009). Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia sp.* and *Pseudomonas sp.* and their use in bioremediation of contaminated soil. "Chemosphere", 76 494–501.
- CYTED VIII-G (2001). Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea. En "Usos de óxidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones ambientales y ópticas", Blesa, M. A. (Ed). Red del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), Buenos Aires, Argentina.
- de Wilde, T., Spanoghe, P., Debaer, C., Ryckeboer, J., Springael, D., Jaeken, P. (2007). Overview of on-farm bioremediation systems to reduce the occurrence of point source contamination. "Pest Management Science", 63, 111–128.
- Diez M.C. (2010). Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants "Journal of Soil Science and Plant Nutrition" 10, 244-267.
- Fogg, P., Boxall, A.B.A., Walker, A. (2001) Biobeds: the development and evaluation of a biological system for the disposal of pesticide waste and washings. "Ministry of Agriculture Fisheries and Food Project: PL0543". UK: Cranfield Centre for EcoChemistry.
- Fuentes, J., Magaña, C., Suárez, L., Peña, R., Rodríguez, S., Ortiz-de la Rosa, B. (2001). Análisis químico y digestibilidad "in vitro" de rastrojo de maíz (*Zea mays L.*). "Agronomía Mesoamericana" 12(2), 189-192
- Gaultier, J., Farenhorst, A., Cathcart, J., Goddard, T., (2008). Degradation of [carboxyl-¹⁴C] 2,4-D and [ring-U-¹⁴C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content. "Soil Biology & Biochemistry" 40, 217–227.
- García-Calvo, E., Fernández-Alba, A.R., Rodríguez, R. (1998). Alternativas técnicas para la eliminación de plaguicidas en el medio ambiente. En "IV Seminario Internacional sobre Residuos de Plaguicidas", Valverde-García, A. (Ed.). Instituto de Estudios Almerienses, Almería, España. Pág. 141-155.
- Gómez Ortiz, A.M., Bedmar, F., Costa, J.L. (2015). Persistencia de glifosato en suelos molisoles y ultisoles de Argentina. En "XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Microbiología", Buenos Aires, Argentina.
- Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo (1999), Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (USDA).
- Harms H., Schlosser D., Wick L.Y. (2011). Untapped potential: Exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. "Nature Reviews: Microbiology" 9, 177-192.

- Hatzinger, P.B., Alexander M. (1995). Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. "Environmental Science Technoloy" 29, 537–545.
- Hussain S., Siddique T., Saleem M., Arshad M., Khalid A. (2009). Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. "Advances in Agronomy" 102, 159-200.
- Ismail, B.S., Mazlinda, M., Zuriati, Z. (2012). Effects of temperature, soil moisture content and soil type on the degradation of cypermethrin in two types of malaysian agricultural soils. "World Applied Sciences Journal" 17/(4), 428-432.
- Jemutai-Kimosop, S., Orata, F.O., K'Owino, I.O., Getenga, Z.M. (2014). The dissipation of carbofuran in two soils with different pesticide application histories within Nzoia River Drainage Basin, Kenya. "Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology" 92, 616–620.
- Juárez-Juárez, M., Franco-Hernández, M.O., Jaéns-Contreras, T., Ascencio-Rasgado, V.P. (2009). Manual de prácticas de laboratorio de Química Ambiental II. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Karanasios, E.; Karpouzas, D.E.; Tsiropoulos, N.G. (2012). Key parameters and practices controlling pesticide degradation efficiency of biobed substrates. "Journal of Environmental Science and Health, Part B" 47, 589–598.
- Karanasios, E; Tsiropoulos, N.; Karpuzas, D.; Menkissoglu-Spiroudi, U. (2010). Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: Evaluation for use in biobed systems. "Chemosphere" 80, 8, 914-921.
- Ley General de Salud (2015), Secretaría de Salud, México.
- Liang W.Q, Wang Z.Y., Li H., Wu P.C., Hu J.M., Luo N., Cao L.X., Liu Y.H. (2005). Purification and characterization of a novel pyrethroid hydrolase from Aspergillus niger ZD11. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 7415-7420.
- Lo que debe saber sobre plaguicidas, Serie Plaguicidas Vol. 1 (1996) Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología. México DF.
- Malato-Rodríguez, S.; Blanco-Gálvez, J.; Estrada-Gasca, C.; Bandala, E. (2004). Degradación de plaguicidas. En "Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea", Capítulo 12, Blesa, M.A. y Sánchez, B. (Eds.). Editorial CIEMAT, Madrid, España.
- Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación (2006), Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), Secretaría de Medio Ambiente y

- Recursos Naturales (SEMARNAT), Instituto Nacional de Ecología (INE). México.
- Megharaj M., Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Naidu R. (2011). Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. "Environment International" 37, 1362-1375.
- NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Ortiz-Hernández, M.L., Sánchez-Salinas, E., Castrejón Godínez, M.L., Dantan-González, E., Popoca-Ursino, E.C. (2013). Mechanisms and strategies for pesticide biodegradation: opportunity for waste, soils and water cleaning. "Revista Internacional de Contaminación Ambiental" 29 (Número especial sobre plaguicidas) 85-104.
- Rodríguez-Cruz, S., Jones, J., Bending, G.; (2006). Field-scale study of the variability in pesticide biodegradation with soil depth and its relationship with soil characteristics. "Soil Biology and Biochemistry" 38, 2910-2918.
- Romero, E.; Salido, A.; Cifuentes, C.; Fernández-Bayo, J.D.; Nogales, R., (2006). Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. "International Journal Environmental Analytical Chemistry" 86, 289–297.
- Sánchez-Rosario, Y., Sánchez, J., Vázquez-Duhalt, R., Andrade-Gallegos, R.H. (2011). Producción y caracterización de la fenol oxidasa de *Scytalidium thermophilum*. "Revista Mexicana de Micología" 34, 31-42.
- Scott C., Pandey G., Hartley C.J., Jackson C.J., Cheesman M.J., Taylor M.C., Pandey R., Khurana J.L., Teese M., Coppin C.W., Weir K.M., Jain R. K., Lal R., Russell R.J., Oakeshott J.G. (2008). The enzymatic basis for pesticide bioremediation. "Indian Journal of Microbiology" 48, 65-79.
- Spanoghe, P., Maes, A., Steurbaut, W. (2009). Limitation of point source pesticide pollution: results of bioremediation system. "Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences" 74/2.
- Tortella, G.R., Mella-Herrera, R.A., Sousa, D.Z., Rubilar, O., Briceño, G., Parra, L., Diez, M.C. (2013). Carbendazim dissipation in the biomixture of on-farm

biopurification systems and its effect on microbial communities. "Chemosphere" 93, 1084–1093.

USEPA (2015). What is a pesticide?. Disponible en: <http://www2.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients> Recuperado 23 de nov. 2015.

Vischetti, C., Capri, E., Trevisan, M., Casucci, C., Perucci, P. (2004). Biomassbed: A biological system to reduce pesticide point contamination at farm level. "Chemosphere" 55, 823–828.

Vidales-Olivo, A., Leos-Magallanes, M., Campos-Sandoval, M.G. (2010). Extracción de grasas y aceites en los efluentes de una industria automotriz. "Conciencia Tecnológica" 40, 29-34. Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Aguascalientes, México

Wilhelm, W. W., Johnson, J.M.F., Karlen, D.L., Lightle, D.T. (2007). Corn Stover to Sustain Soil Organic Carbon Further Constrains Biomass Supply. "Agronomy Journal" 99, 6, 1665-1667.

Zhu, G., Wu, H., Guo, J., Kimaro, F.M.E. (2004). Microbial degradation of fipronil in clay loam soil. "Water, Air, and Soil Pollution" 153, 35–44.

Anexo

A

En la siguiente tabla se muestra la disipación de las concentraciones de plaguicidas en mg/kg de suelo en los días de muestreo de la primera fase del experimento.

Tiempos (día)	Concentraciones remanentes (mg/kg-suelo)				
	Carbofurán	2,4-D	Diazinón	Glifosato	Atrazina
0	511.2	2399.2	905.4	745.7	1138.9
3	457.6 ±173.6	1027.8 ±197.5	827.9 ±88.6	291.8 ±100.3	704.8 ±51.2
7	328.3 ±119.2	373.4 ±131.9	574.0 ±76.1	192.8 ±58.2	517.9 ±64.6
10	254.3 ±101.4	321.0 ±136.4	387.4 ±82.9	138.1 ±53.2	322.1 ±66.5
14	94.7 ±13.4	122.5 ±10.6	167.8 ±16.3	59.5 ±6.7	94.7 ±9.4
18	84.3 ±5.2	110.2 ±6.8	163.1 ±6.0	56.9 ±5.0	120.0 ±10.6
23	27.4 ±6.7	32.5 ±1.5	51.7 ±4.3	20.7 ±1.5	38.1 ±1.9
28	23.3 ±1.3	28.0 ±1.6	47.4 ±1.9	16.4 ±1.4	23.5 ±1.2
35	11.6 ±3.2	22.6 ±0.8	37.7 ±2.2	9.8 ±2.1	10.3 ±1.4
45	1.3 ±0.8	6.0 ±3.8	18.0 ±11.3	0.0 ±0	7.4 ±3.1

B

En la siguiente tabla se muestran las concentraciones remanentes en mg/kg de suelo cuantificados a los 18 días de la segunda fase del experimento a las diferentes condiciones de humedad y temperatura.

Temp.	5 °C	15 °C	25 °C	35 °C	45 °C
CRA	Carbofurán				
20%	498.4 ±16.2	462.1 ±21.8	194.6 ±15.3	46.8 ±2.0	0.5 ±0.8
40%	500.1 ±9.1	392.9 ±12.7	186.0 ±13.9	44.9 ±1.2	0.7 ±0.9
60%	501.4 ±45.9	378.8 ±13.3	175.6 ±14.0	36.8 ±3.8	0.5 ±0.8
80%	496.5 ±10.7	360.5 ±15.4	167.4 ±12.6	31.4 ±2.7	0.1 ±0.1
100%	509.3 ±5.2	341.3 ±21.3	158.3 ±11.6	22.6 ±5.0	0.6 ±1.2
	2,4-D				
20%	1121.3 ±41.5	568.5 ±33.4	371.0 ±12.4	107.2 ±5.7	0.8 ±2.0
40%	1098.4 ±14.4	531.9 ±16.1	338.8 ±6.1	98.2 ±5.6	0.2 ±0.6
60%	1116.2 ±33.3	348.6 ±5.6	306.2 ±8.4	77.6 ±9.3	1.1 ±2.7
80%	1113.5 ±41.4	412.1 ±13.6	265.0 ±10.6	67.7 ±7.9	0.1 ±0.1
100%	1184.8 ±100.0	409.6 ±14.5	248.0 ±18.5	61.8 ±9.6	0.0 ±0.0
	Diazinón				
20%	706.5 ±73.0	538.2 ±6.0	402.2 ±15.9	140.5 ±17.5	17.3 ±13.2
40%	724.0 ±26.5	526.7 ±26.8	385.0 ±6.0	120.0 ±6.0	4.2 ±2.5
60%	657.5 ±52.7	501.1 ±2.5	180.5 ±48.6	97.5 ±48.6	1.1 ±2.1
80%	634.6 ±127.1	493.3 ±14.7	104.3 ±38.4	80.5 ±38.4	0.2 ±0.5
100%	651.7 ±60.7	481.3 ±25.6	340.2 ±2.5	65.2 ±2.5	0.8 ±0.6

Temp.	5 °C	15 °C	25 °C	35 °C	45 °C
CRA	Glifosato				
20%	547.9 ±60.6	355.3 ±11.5	175.5 ±9.1	92.3 ±8.2	1.1 ±1.7
40%	579.2 ±73.4	332.1 ±12.0	164.7 ±5.6	70.7 ±4.9	0.1 ±0.1
60%	553.8 ±106.9	280.3 ±12.6	147.2 ±7.1	51.6 ±5.9	0.0 ±0.0
80%	547.9 ±38.0	227.8 ±15.3	122.5 ±6.9	34.1 ±5.2	0.0 ±0.0
100%	510.6 ±58.7	219.1 ±19.1	119.9 ±8.3	34.0 ±7.8	0.0 ±0.0
	Atrazina				
20%	1017.3 ±22.4	934.4 ±74.1	450.9 ±17.5	165.5 ±7.8	43.5 ±9.8
40%	1008.5 ±34.4	961.3 ±28.5	425.3 ±34.2	159.9 ±13.1	35.9 ±3.5
60%	998.1 ±39.4	930.4 ±20.8	351.6 ±14.7	115.5 ±8.9	26.0 ±2.7
80%	1005.4 ±26.6	891.2 ±23.6	325.2 ±13.7	103.0 ±6.0	11.0 ±7.3
100%	1004.3 ±17.2	855.6 ±41.6	332.0 ±16.9	83.9 ±7.7	1.7 ±0.9