



---

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**UNIDAD DE POSTRAGO E INVESTIGACIÓN**

**“DISIPACIÓN DE PLAGUICIDAS EN  
BIOMEZCLAS ORGÁNICAS USADAS COMO  
SUSTRATOS EN CAMAS BIOLÓGICAS”**

**TESIS**

PRESENTADA POR:

**M.I. VIRGILIO RENÉ GÓNGORA ECHEVERRÍA**

EN OPCIÓN AL GRADO DE

**DOCTOR EN INGENIERÍA  
OPCIÓN AMBIENTAL**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2017

Aunque este trabajo hubiere servido para el Examen de Grado y hubiera sido aprobado por el sínodo, solo el autor es responsable de las doctrinas emitidas por él.

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada y el apoyo brindado, para llevar a buen término el Doctorado en Ingeniería Opción Ambiental.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Yucatán por la formación profesional y la facilidad en las instalaciones para el desarrollo del proyecto.

Los resultados de esta investigación se presentaron en diferentes modalidades en congresos varios:

Ponencia: Degradación de plaguicidas en biomezclas orgánicas usadas como sustratos en camas biológicas en el 2º Workshop Latinoamericano sobre Lechos Biológicos (biobed o camas biológicas) realizado en la ciudad de Guatemala, Guatemala el 26 y 27 de Julio del 2013.

Ponencia: Microbial degradation of pesticides in agricultural effluents in rustic devices type biobeds en el 4<sup>th</sup> IWA México Young Water Professionals Conference 2015 realizado en la ciudad de Guanajuato, Guanajuato, México del 27 al 29 de Abril del 2015.

Cartel: Degradación microbiana de plaguicidas presentes en efluentes agrícolas mediante el uso de sistemas rústicos de tipo cama biológica en el XIV Congreso Internacional y XX Congreso Nacional de Ciencias Ambientales, “El aprovechamiento sustentable de los recursos naturales nos beneficia a todos” realizado en la ciudad Puebla, Puebla, México del 3 al 5 de Junio del 2015.

Ponencia: Characterization of microbial diversity present in the pesticide dissipation process in bio-mixtures using novel materials en el 10th ISEB

Conference 2016 realizado en la ciudad de Barcelona, España del 1 al 3 de Junio del 2016.

El presente trabajo fue publicado como artículo de investigación en la revista Environmental Science and Pollution Research con el título “Agricultural effluent treatment in biobed systems using novel substrates from southeastern Mexico: the relationship with physicochemical parameters of biomixtures” DOI 10.1007/s11356-017-8643-z

## Resumen

El mal uso de los plaguicidas en las actividades del campo propicia la contaminación de fuentes de agua para consumo y problemas de salud. Las camas biológicas son una alternativa viable para minimizar la contaminación por plaguicidas producto de las actividades de preparación, uso y mantenimiento de instrumental de aplicación. En este estudio se determinó el uso y manejo de los plaguicidas en una zona agrícola del estado de Yucatán. Se desarrollaron estudios de comportamiento de los plaguicidas en suelo agrícola, composta vegetal, bagazo de henequén, rastrojo de maíz y algas para determinar la fracción volátil, soluble y remanente para diferentes tiempos. Se probaron 12 mezclas de sustratos (biomezclas) para tratar una mezcla de cinco plaguicidas (2,4-acido diclorofenoxiacético “2,4-D”, atrazina, glifosato, carbofuran y diazinon) durante 41 días. Finalmente se realizaron estudios para determinar la diversidad microbiana presente en los procesos de disipación. Los resultados mostraron un problema en el uso y manejo de los plaguicidas que implican un riesgo para la salud de los agricultores y la contaminación del ambiente. Los estudios de comportamiento mostraron que el diazinon y el carbofuran fueron los plaguicidas más volátiles, el glifosato el que tuvo el mayor remanente en los diferentes sustratos y el suelo el sustrato donde el plaguicida se recuperó menos en la solución de  $\text{CaCl}_2$ . Los estudios de disipación corroboraron la eficiencia de las camas biológicas para tratar altas concentraciones de plaguicida en corto tiempo al registrarse disipaciones mayores al 99% a los 41 días. El tiempo, tipo de biomezcla y tipo de plaguicida mostraron ser significativos ( $P < 0.05$ ) en la disipación de los plaguicidas. Los análisis de ADN identificaron la presencia de hongos, bacterias y archaeas; se corroboró la presencia del hongo de pudrición blanca tan citado en los sistemas de cama biológica. En conclusión las nuevas biomezclas fueron eficientes, lo que hace de las camas biológicas sistemas rentables y eficientes para prevenir la contaminación de agua y suelo por plaguicidas en el sureste de México.

**Palabras clave:** Plaguicida, cama biológica, biomezcla, disipación, diversidad microbiana.

## **Abstract**

Misuse of pesticides in farming activities leads to contamination of drinking water sources and is responsible for health problems. The biological beds (biobeds) are a viable option to minimize contamination by pesticide during preparation, use and washing of fumigation instruments. In this study the use and management of pesticides in an agricultural area of Yucatan State was determined. Behavioral studies of pesticides in agricultural soil, compost plant, sisal pulp, corn stover and seaweed to determine the volatile, soluble and remaining fraction were developed. Twelve substrate mixtures (biomixtures) to treat a mixture of five pesticides (2,4-dichlorophenoxyacetic acid "2,4-D", atrazine, glyphosate, carbofuran and diazinon) over a period of 41 days were tested. Finally the microbial diversity in pesticide dissipative processes was determined. The results showed a problem in the use and management of pesticides that represent a risk to the health of farmers and environmental pollution. Behavioral studies showed that diazinon and carbofuran were the most volatile pesticides; glyphosate had the highest remaining fraction. Soil was the substrate where pesticides had the lowest percentage of soluble fraction. Dissipation studies corroborated the efficiency of biological beds due to dissipation of high concentrations of pesticide in a short time when registering dissipations greater than 99% at 41 days. Time, type of biomixture and type of pesticide were statistically significant ( $P < 0.05$ ) in pesticide dissipation. DNA analysis identified the presence of fungi, bacteria and archaea; the presence of white rot fungus which is cited in biological beds was confirmed. In conclusion the new biomixtures were efficient in pesticide dissipation, this makes biobeds an efficient and rentable system to prevent water and soil pollution by pesticides in southeastern Mexico.

**Keywords:** Pesticide, biobed, biomixture, dissipation, microbial diversity.

# Índice

<b>I. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>Objetivos</b>	
Objetivo general.....	4
Objetivos particulares.....	4
<b>II. Marco teórico.....</b>	<b>4</b>
II.1 Los plaguicidas.....	4
II.1.1 Uso de los plaguicidas.....	6
II.1.2 Plaguicidas en el medio ambiente.....	7
II.1.3 Plaguicidas y su impacto en el sureste mexicano.....	8
II.1.4 Plaguicidas y su impacto a la salud.....	9
II.1.5 Contaminación por plaguicidas.....	11
II.1.6 Destino ambiental de los plaguicidas.....	13
II.1.7 Características físico químicas de los plaguicidas modelo.....	15
II.2 Tecnologías para el control y tratamiento de la contaminación por plaguicidas.....	17
II.3 Camas biológica.....	20
II.3.1 Aspectos generales.....	20
II.3.2 Aspectos técnicos.....	22
II.3.3 Antecedentes de la eficiencia en la degradación de plaguicidas.....	27
II.3.4 Diversidad microbiana asociada a la disipación de plaguicidas.....	29
II.3.5 Interpretación de la diversidad microbiana asociada a la disipación de plaguicidas.....	31
<b>III. Metodología.....</b>	<b>33</b>
III.1 Diagnóstico de uso y manejo de plaguicidas en la región.....	33
III.2 Plaguicidas utilizados en el estudio.....	34
III.2.1 Métodos de extracción de plaguicidas.....	34
III.2.2 Método cromatográfico.....	35
III.3 Materiales de la biomezcla.....	37
III.4. Caracterización fisicoquímica de los sustratos.....	38

III.5 Composición de las biomezclas.....	40
III.6 Comportamiento de los plaguicidas en los sustratos de estudio.....	41
III.7 Disipación de los plaguicidas en las camas biológicas.....	43
III.8 Determinación de especies microbianas.....	46
<b>IV. Resultados y discusiones.....</b>	<b>50</b>
IV.1 Estudios de campo y aplicación de encuestas.....	50
IV.2 Caracterización de sustratos.....	52
IV.3 Estudios de comportamiento de plaguicidas.....	54
IV.4 Análisis de residuos de plaguicidas en las biomezclas.....	68
IV.5 Estudios de diversidad microbiana (Análisis de ADN).....	72
<b>V. Conclusiones.....</b>	<b>84</b>
<b>VI. Referencias bibliográficas.....</b>	<b>86</b>
<b>VII. Anexos.....</b>	<b>101</b>

## Lista de tablas

Tabla 1. Fuentes de contaminación del agua por Plaguicidas.....	11
Tabla 2. Mecanismos de destino y transporte de contaminantes en el ambiente..	14
Tabla 3. Biomezclas empleadas como componentes de una cama biológica y los plaguicidas probados que puede degradar.....	23
Tabla 4. Biomezclas empleadas como componentes de una cama biológica y los plaguicidas probados que puede degradar.....	30
Tabla 5. Plaguicidas comerciales empleados.....	34
Tabla 6. Métodos empleados en la caracterización de los sustratos.....	39
Tabla 7. Longitud de onda y límites de detección para micro y macro nutrientes..	40
Tabla 8. Composición porcentual de las diferentes biomezclas de prueba.....	40
Tabla 9. Condiciones de operación de los sistemas a nivel laboratorio en los 41 días del experimento.....	45
Tabla 10. Uso y aplicación de plaguicidas en la zona de estudio.....	50
Tabla 11. Agentes activos y nombre comercial de los plaguicidas empleados en las comunidades de Xoy y San Dionisio.....	51
Tabla 12. Valores de Hm, pH, CR, CC y textura para los sustratos de estudio....	52
Tabla 13. Valores de DA, DR, MO, C, N, C/N y contenido de lignina.....	53
Tabla 14. Valores de pH y Humedad de las mezclas en los sistemas a los 41 días.....	53
Tabla 15. Valores de concentraciones de micro y macro nutrientes en los sustratos de estudio.....	54
Tabla 16. 2,4-D volátil en el tiempo.....	55
Tabla 17. Atrazina volátil en el tiempo.....	55
Tabla 18. Carbofuran volátil en el tiempo.....	55
Tabla 19. Diazinon volátil en el tiempo.....	56
Tabla 20. Glifosato volátil en el tiempo.....	56
Tabla 21. 2,4-D soluble en el tiempo.....	60
Tabla 22. Atrazina soluble en el tiempo.....	60
Tabla 23. Carbofuran soluble en el tiempo.....	60
Tabla 24. Diazinon soluble en el tiempo.....	61

Tabla 25. Glifosato soluble en el tiempo.....	61
Tabla 26. 2,4-D degradado y adsorbido en el tiempo.....	64
Tabla 27. Atrazina degradado y adsorbido en el tiempo.....	64
Tabla 28. Carbofuran degradado y adsorbido en el tiempo.....	64
Tabla 29. Diazinon degradado y adsorbido en el tiempo.....	65
Tabla 30. Glifosato degradado y adsorbido en el tiempo.....	65
Tabla 31. Cantidad remanente de plaguicida a los 20 días.....	69
Tabla 32. Remanente de plaguicidas en las doce mezclas a los 41 días.....	71
Tabla 33. <i>Archaeas</i> identificadas y clasificadas con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas .....	74
Tabla 34. Bacterias identificadas y clasificadas con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas .....	75
Tabla 35. Hongos identificados y clasificados con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas .....	76
Tabla 36. Índices de diversidad de especies para las archaeas identificadas.....	78
Tabla 37. Índices de diversidad de especies para las bacterias identificadas.....	79
Tabla 38. Índices de diversidad de especies para los hongos identificados.....	80

## Lista de figuras

Figura 1. Tipos de contaminación por plaguicidas, difusa (b) y puntual (a y c).....	12
Figura 2. Destino y comportamiento de los plaguicidas en el ambiente.....	14
Figura 3. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del 2,4-D.....	15
Figura 4. Estructura química y propiedades fisicoquímicas de la atrazina.....	15
Figura 5. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del carbofuran.....	16
Figura 6. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del diazinon.....	16
Figura 7. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del glifosato.....	16
Figura 8. Camas biológicas en países latinoamericanos.....	22
Figura 9. Diarama metodológico.....	33
Figura 10. Sistemas para determinar la fracción volátil, soluble, así como degradada y adsorbida de plaguicida en los sustratos de estudio .....	42
Figura 11. Sistemas implementados para determinar la disipación de plaguicidas en las biobed .....	44
Figura 12. Extracciones, sistema de filtrado y viales.....	46
Figura 13. Distribución porcentual según tipo de cultivo empleado por los agricultores en las comunidades de Xoy y San Dionisio en Peto Yucatán.....	50
Figura 14. Porcentaje de plaguicidas volatilizados para los cinco sustratos. <b>(a)</b> 2,4-d; <b>(b)</b> Atrazina; <b>(c)</b> Carbofuran; <b>(d)</b> Diazinon y <b>(e)</b> Glifosato.....	59
Figura 15. Porcentaje de plaguicidas recuperados en solución para los cinco sustratos. <b>(a)</b> 2,4-d; <b>(b)</b> Atrazina; <b>(c)</b> Carbofuran; <b>(d)</b> Diazinon y <b>(e)</b> Glifosato.....	62
Figura 16. Porcentaje de plaguicidas residual para los cinco sustratos. <b>(a)</b> 2,4-D; <b>(b)</b> Atrazina; <b>(c)</b> Carbofuran; <b>(d)</b> Diazinon y <b>(e)</b> Glifosato.....	67
Figura 17. Cinética de disipación de los plaguicidas de estudio en suelo agrícola.....	68
Figura 18. Gráfica de cajas y bigotes para el remanente de plaguicidas en todas las biomezclas a los 20 días (n=180); (+) Mean; (–) Median.....	70
Figura 19. Gráfica de cajas y bigotes para el remanente de plaguicidas en todas las biomezclas a los 41 días (n=180); (+) Mean; (–) Median.....	72
Figura 20. Distribución porcentual del total de microorganismos identificados según reino para cada biomezcla seleccionada.....	73

Figura 21. Gráfica de Escala Multidimensional (MDS) en función a la similitud de Bray Curtis para la diversidad microbiana en las 5 biomezclas de estudio. (a) Archaeas; (b) Bacterias; (c) Hongos. Similitud del 60% (-----). .....	81
Figura 22. Dendrograma para las bacterias identificadas según phylum.....	82

## **I. Introducción.**

La FAO en 2013 estableció que es importante incrementar el rendimiento de los cultivos en un 70% en los próximos 40 años para poder enfrentar la crisis alimentaria que se presenta, esto implica un aumento en la producción del campo y por lo tanto en el uso de tecnologías asociadas a dichas actividades como el uso de agroquímicos, los cuales representan la alternativa más viable para proteger y garantizar las cosechas. Sin embargo la falta de conocimiento acerca del uso y manejo de los plaguicidas, así como el desconocer la correcta disposición de los desechos producto de las actividades que involucran el uso de los mismos, han ocasionado en muchos casos problemas irreversibles como la contaminación de suelos, aguas superficiales y subterráneas.

La contaminación de suelos y aguas por plaguicidas tiene dos fuentes: puntual y difusa. La contaminación difusa es aquella ligada a la lixiviación de plaguicidas aplicados en grandes extensiones, y es consecuencia del uso de dosis inadecuadas así como de las características del suelo y de la proximidad de cuerpos de agua. Este tipo de contaminación es la más conocida e incluso la difusión mediática en torno al tema de plaguicidas siempre alude a dichas fuentes contaminantes. Sin embargo está bien documentado que las fuentes puntuales son la causa principal de la contaminación de suelo y agua por plaguicidas (Mason et al. 1999; Stenvang Helweg 2000 y Müller et al. 2002). La contaminación puntual puede resultar de un equipamiento deficiente, una mala manipulación durante la preparación de las mezclas y de los desechos generados por el lavado de instrumentos de aplicación y otras más de prácticas ilícitas como el vaciado de productos directamente en sumideros o cuerpos de agua superficial.

En el sureste de México el problema de contaminación por plaguicidas es un problema relacionado con la actividad agrícola y el uso sin control de los mismos. El impacto negativo de los plaguicidas es notorio en el ambiente y la salud de especies animales y los habitantes de las zonas agrícolas en el sureste mexicano,

esto al tener antecedentes de la presencia de plaguicidas tales como los organoclorados, organofosforados, carbámicos en el agua de consumo, recursos pesqueros entre otros (Alvarado-Mejía et al. 1994; Cabrera 1996; Gold-Bouch et al. 2005; Ponce-Velez 2012 y Herrera et al. 2013). A los plaguicidas también se le atribuye en el estado de Yucatán varios problemas de salud, como el de fertilidad humana asociado al mal uso e ingesta de plaguicidas por medio del agua de consumo, esto de acuerdo a Pérez et al. (2012). Si bien se sabe que los plaguicidas son causantes de varios de los problemas de contaminación de suelo y agua en zonas agrícolas y de problemas de salud, y que se han encontrado plaguicidas en las aguas de consumo del estado de Yucatán, no se han realizado estudios respecto al impacto de las fuentes difusa y puntual por plaguicidas en dicha problemática.

El uso de las buenas prácticas agrícolas ayuda a reducir la contaminación causada por plaguicidas, entre ellas, la recolecta de efluentes agroquímicos, así como la adecuada disposición y tratamiento permiten evitar la contaminación puntual. Los efluentes recolectados provienen del agua de lavado del equipo de pulverización y recipientes y de los residuos de las mezclas aplicadas. Los sistemas de cama biológica se utilizan para tratar estos efluentes permitiendo el confinamiento y la degradación de los residuos de plaguicidas. Torstensson y Castillo (1997) son los pioneros en estos sistemas, los cuales se consideran de construcción sencilla y económica, se constituyen principalmente de una mezcla de suelo y diferentes materiales. 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 del medio ambiente en que se encuentran. Sin embargo los mecanismos de destino y transporte de los plaguicidas en las camas biológicas deben considerarse para conocer el destino final de los mismos en los procesos de disipación.

Las camas biológicas se emplean eficientemente en varios países de Europa y América. Su construcción y materiales usados en la biomezcla varían de acuerdo

a las necesidades de los usuarios, por ejemplo, volumen de efluentes, sistemas de recolección y lavado, disponibilidad de materiales para la biomezcla, condiciones ambientales etc. Si bien la mezcla más utilizada es suelo, turba y paja (1:1:2) en proporción de volumen, en cada país donde se han instalado estos sistemas los materiales y proporciones de la mezcla varían. En México no existen este tipo de sistemas en uso. Con el entendimiento de que las medidas correctivas son más caras que las preventivas, y que los suelos y cuerpos de agua contaminados representan un riesgo para la salud humana y el medio ambiente, el impulso de tecnologías emergentes en las tareas del campo como prevención y control de la contaminación puntual por plaguicidas debe ser impulsado.

En el sureste mexicano, por ejemplo en Yucatán existen una variedad de materiales con características que podrían favorecer el correcto confinamiento del material contaminado así como la degradación del mismo. Como consecuencia se reduciría la contaminación de las aguas subterráneas en la zona, y por lo tanto los impactos al medio ambiente y la salud disminuirían.

Este estudio propone evaluar el uso de biomezclas compuestas de suelo, composta vegetal, agregados de fibra de desecho de henequén y sargazo, para la degradación de plaguicidas en camas biológicas. Esto se logrará al resolver problemáticas que dan pie a interrogantes tales como ¿el uso de una biomezcla a base de suelo, composta, sargazo y bagazo de henequén-sargazo favorecerá la proliferación de microorganismos degradadores? y ¿aumentará la eficiencia en la capacidad de retención y por ende en la degradación de mezclas de plaguicidas empleados mediante un sistema de cama biológica usando la biomezcla establecida? Todo esto se realizará con la certeza de que los materiales a emplear están disponibles en el entorno y las técnicas y procedimientos metodológicos pueden ser realizados con total veracidad, y que será un parteaguas en la prevención de la contaminación puntual por plaguicidas de suelo y agua en la región.

## **OBJETIVO**

Evaluar el uso de biomezclas compuestas de suelo, composta vegetal, agregados de fibra de desecho de henequén, sargazo y rastrojo de maíz, para la disipación de plaguicidas en camas biológicas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Efectuar un diagnóstico sobre el uso y manejo de plaguicidas en el sitio de estudio.
2. Evaluar el comportamiento de los plaguicidas en los sustratos.
3. Evaluar la eficiencia de la biomezcla en la disipación de plaguicidas en camas biológicas a nivel piloto.

## **II. Marco teórico**

### **II.1 Los plaguicidas**

De acuerdo a la NOM-046-SSA1-1993, los plaguicidas son una amplia gama de sustancias o mezclas de sustancias destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de seres vivos, considerados plagas; incluyendo insectos, hongos bacterias, malezas, roedores, mosquitos, así como especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran en la producción agrícola y forestal.

De conformidad con la Ley General de Salud en su artículo 278, Plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destine 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 (Ley General de Salud, 2014).

Los plaguicidas según la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) pueden clasificarse de acuerdo a: *a)* su formulación en: ingrediente activo, plaguicida técnico y formulado; *b)* según la composición química en: organoclorados, piretroides, organozufrados, organofosforados, clorofenoxi, carbamatos, carboxamidas, tiocarbamatos, ftalimidas, organoestámicos bupiridilos, tricloropicolínico, guanidinas y naftoquinonas, dinitrofenoles, triacinas, derivados de la urea, compuestos del cobre, aceites minerales y derivados de los ácidos tricloroacéticos y tricloropicotínico; *c)* según los organismos que controla: Insecticidas, fungicidas, molusquicidas, ovieidas, acaricidas, nematocidas, avicidas, rodenticidas, bactericidas y herbicidas; *d)* según su modo de acción: de contacto, repelentes, fumigantes, defoliantes, sistémicos y de ingestión; *e)* de acuerdo a su persistencia: ligeramente persistentes (<4 semanas), poco persistentes (4–26 semanas), moderadamente persistentes (27–52 semanas), altamente persistentes (1–20 años) y permanentes (>20 años); *f)* y por último de acuerdo al uso al que se destinan: agrícola, urbano, pecuario, industrial, forestal, para jardinería y doméstico (INECC 2013).

Los plaguicidas forman parte del listado de compuestos orgánicos persistentes (COPs) que para Romero et al. (2009) las características que fundamentan la atención internacional sobre estos compuestos comprenden su:

- Toxicidad y ecotoxicidad: poseen un alto potencial para causar daños a la salud humana y a los ecosistemas.
- Persistencia: debido a su contenido de cloro suelen ser resistentes a la degradación por la luz (degradación fotolítica), química y biológica.
- Capacidad para bioacumularse: poseen una solubilidad alta en lípidos favoreciendo su acumulación en tejidos grasos.

- Capacidad de viajar a grandes distancias: algunos COP son semivolátiles y capaces de evaporarse y movilizarse a gran distancia de la fuente de uso.

### **II.1.1 Uso de los plaguicidas**

Los plaguicidas son contaminantes habitualmente no biodegradables, por lo tanto, sólo una pequeña cantidad de los residuos son tratados actualmente (por la carencia de tecnologías de tratamiento disponibles *in-situ*), existe un gran problema de acumulación de consecuencias no predecibles en un futuro cercano. No obstante, todas las características nocivas de estos compuestos, la venta de plaguicidas en todo el mundo aumenta sustancialmente todos los años, sobre todo en los países en desarrollo (Rodríguez et al. 2004).

Los principales fabricantes de plaguicidas se encuentran en Europa, los Estados Unidos y el Japón, y la mayoría de las empresas, están representadas por la Federación Mundial de Protección de Cultivos (GCPF), (FAO 2000). En América latina los mayores usuarios y por ende los mayores compradores de plaguicidas son Brasil, México, Colombia y Argentina, en ese orden, estos países en conjunto consumen cerca del 90% de los plaguicidas utilizados en el área (INEGI 2006).

En México el volumen de producción de insecticidas y plaguicidas en el 2012 fue de 21,732 toneladas de insecticidas líquidos para uso agrícola, 15,778 toneladas de insecticidas en polvo para uso agrícola y 37,684 toneladas de herbicidas y defoliantes. Solo a enero del 2013 ya se tenía una producción registrada de 1,780 toneladas de insecticidas líquidos, 1,747 toneladas de insecticidas sólidos y 1,235 toneladas de herbicidas y defoliantes (INEGI 2013).

Respecto a los plaguicidas obsoletos de acuerdo al inventario de plaguicidas obsoletos en el 2007 realizado por la Asociación Mexicana de la Industria Fitosanitaria, A.C. (AMIFAC) y la Unión Mexicana de Fabricantes y Formuladores Agroquímicos, A.C. (UMFFAAC) entre otras dependencias gubernamentales, en

México se tiene un total de 26,725 litros, 147, 274, 256 kilos y 500 m<sup>3</sup> de plaguicidas obsoletos, de los cuales Yucatán tenía 851.48 litros y 356.400 kilogramos de plaguicidas obsoletos (Romero et al. 2009).

### **II.1.2 Plaguicidas en el medio ambiente**

Los plaguicidas químicos son sustancias tóxicas utilizadas para matar o controlar plagas como malas hierbas, insectos que amenazan los cultivos agrícolas o transmiten enfermedades a los seres humanos, hongos, roedores y otros organismos nocivos, lo cual ha traído consigo beneficios indudables desde diversas perspectivas, ya sea sanitarias, fitosanitarias, sociales y económicas. Sin embargo, su uso intensivo y ambientalmente descuidado ha traído consigo el empobrecimiento de los suelos, de la biodiversidad, la contaminación de las fuentes de abastecimiento de agua subterráneas y superficiales, incluyendo las aguas costeras y marinas, además de daños a la salud de los trabajadores, consumidores y población en general (Cortinas 1998).

El mal uso de los plaguicidas y el uso excesivo de los mismos, puede terminar contaminando agua, aire y suelo, con efectos adversos en plantas y la vida salvaje, y una pérdida de la biodiversidad en general. En particular los plaguicidas que son introducidos al ambiente de modo incontrolado por derrames y goteos durante la aspersión, lixiviación y vaciado de contenedores, podrían contaminar el suelo y las aguas superficiales y subterráneas. La contaminación del ambiente puede también ocurrir antes y después de la aplicación, cuando se limpian los equipos o simplemente se disponen dichos residuos de modo ilegal (contaminación puntual) (European Commission 2007)

### II.1.3 Plaguicidas y su impacto en el sureste mexicano.

A finales de la década de los 50 e inicio de los 60 del siglo pasado, el impulso de la agricultura en Yucatán trajo consigo el uso de plaguicidas a las actividades cotidianas de los agricultores (Alvarado-Mejía et al. 1994).

Dentro de los plaguicidas empleados se encuentra una marcada tendencia a utilizar los de tipo organofosforado que son muy tóxicos para aves, peces y mamíferos, aunque no se acumulan en el organismo. Por otra parte, el uso de productos organoclorados, principalmente el DDT, se ha usado para el control del mosquito transmisor del paludismo durante las campañas de salud, así como en la agricultura hasta su prohibición en 1991 (Cobos et al. 2001).

Ponce-Vélez (2012) al estudiar el sistema costero Laguna El Yucateco, localizado en el sureste tropical del Golfo de México, encontraron compuestos con potencial carcinogénico como el benzo(a) pireno y el aldrín, así como congéneres de PCB's, catalogados como disruptores endocrinos. Cardeña-Echalaz (2016) reporta en su estudio realizado sobre el uso y aplicación de plaguicidas en zonas agrícolas a cielo abierto y protegidas (casa sombra) en el estado de Yucatán el uso de más de 33 sustancias activas, de las cuales varias ya se encuentran restringidas en México, tales como el dicofol, paraquat y metamidofos, siendo el paraquat el mas empleado.

De resultados de varias investigaciones realizadas en la península de Yucatán se tienen antecedentes sobre el efecto de los plaguicidas en la fauna de la región, como el realizado por Pérez-Cabrera (2003) quien comparó los niveles de actividad de la acetilcolinesterasa entre aves expuestas a plaguicidas con aves capturadas en una zona libre de actividad agrícola, aunque no encontró diferencias significativas en la actividad enzimática de las aves en ambos sitios, sí determinó que al menos dos individuos (*Pitangus sulphuratus* y *Icterus gularis*) presentaron niveles de actividad indicativos de inhibición (42% y 68%,

respectivamente). Del mismo modo en muestreos de huevos en siete campamentos tortugeros, Morales y Cobos (2005) analizaron residuos de DDT en la costa de Campeche, y los resultados revelaron que de 21 nidos analizados 23.81% no revelaron residuos de DDT y DDE, mientras que 76.09% restante presentó residuos de uno de los dos compuestos o ambos contaminantes.

Por su parte Gold-Boucht et al. (2005) en el diagnóstico regional de los contaminantes orgánicos y persistentes (COP) en la zona costera de la península de Yucatán y el sur del Golfo de México, encontró que, en la generalidad, los mayores niveles de los diferentes biomarcadores analizados en este estudio fueron detectados en los peces colectados en la Laguna de Términos durante las dos épocas climáticas de secas y lluvias.

Herrera et al. (2013) encontró DDT, DDE y DDD en el 86%, 100% y 93% de las muestras de pescado respectivamente en una comunidad de Chiapas. También se estimaron las dosis de exposición humana por ingesta, que en el caso del bagre fue mayor a la dosis de referencia para DDT recomendada por la OMS. Se concluyó que pese a la prohibición del uso del DDT en México en salud pública, este todavía se encuentra en la cadena trófica y que la ingesta de peces en comunidades endémicas de paludismo es una fuente de exposición al DDT

#### **II.1.4 Plaguicidas y su impacto a la salud**

El descubrir la presencia y la acumulación de plaguicidas organoclorados en el tejido adiposo tanto de humanos como de animales y su biomagnificación, dio pie a que se les agrupe con el nombre de contaminantes orgánicos persistentes; ya para la década de los setenta estos plaguicidas fueron restringidos y prohibidos. Esta prohibición se ha aplicado fundamentalmente en los usos agrícolas y sanitarios de países del primer mundo y de manera paulatina en países en desarrollo (Waliszewski, 2008). Sin embargo, no así con otros tipos de plaguicidas como los organofosforados, carbamatos etc.

El riesgo de los plaguicidas especialmente de los persistentes, se establece en función a los posibles efectos nocivos que pueden ocasionar en los seres vivos a los cuales no están destinados (Triviño, 1982).

De acuerdo con estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), cada año se presentan en México un promedio de 550 emergencias ambientales asociadas con materiales y residuos peligrosos. Dentro de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados en emergencias ambientales, se encuentran el petróleo y sus derivados (gasolinas, combustóleo, diesel), agroquímicos, gas LP y natural, entre otros (Volke y Velasco 2002). Alvarado-Mejía y González-Navarrete (2007), en el municipio de Muna Yucatán, encontraron que el 20% de una muestra de 100 agricultores sufrían síntomas relacionados con los agroquímicos, entre los síntomas presentados se encuentran el mareo, el vómito o la diarrea, incluso el desmayo.

Cardaña-Echalaz (2016) en su estudio realizado encontró que al menos el 91% de los agricultores encuestados dijeron haber sufrido algún problema de salud desde que usan los plaguicidas. Del mismo modo el 62% dijeron haber tenido algún incidente durante el uso de los plaguicidas. Los síntomas que los agricultores dijeron haber sufrido fueron: erupciones en la piel, vomito, dolor de cabeza, quemaduras en la piel por el contacto con los líquidos, mareos, ojos rojos, diarrea, desmayos, escalofríos e incluso envenenamiento severo durante o en horas posteriores al contacto con dichas sustancias.

Duran-Nah y Collí-Quintal (2000) estiman que de 10,000 a 20,000 decesos ocurren anualmente como consecuencia de la ingesta accidental de plaguicidas (IAP) a escala mundial.

Herrera-Portugal et al. (2008) encontraron una relación directa entre los niveles de DDT y DDE en sangre y la frecuencia de consumo de pescado en las áreas de alta exposición para niños residentes en el estado de Chiapas. Por su parte Pérez

et al. (2012) demostró el impacto en la salud reproductiva de las familias de los agricultores de Muna Yucatán, tanto a nivel de la gestación de las mujeres que son parejas de los agricultores expuestos a plaguicidas, en particular organofosforados, como en la calidad del semen.

### II.1.5 Contaminación por plaguicidas

La contaminación del agua superficial o subterránea por plaguicidas se debe a dos mecanismos únicos que pueden ser llamados como fuentes difusas y fuentes puntuales, las primeras dan lugar a la contaminación cuando los plaguicidas son aplicados por medio de aspersión directamente al campo. La contaminación puntual se debe a derrames accidentales, goteos de plaguicidas o el inadecuado manejo y almacenamiento de los plaguicidas (Carter, 2000).

Tabla 1. Fuentes de contaminación del agua por Plaguicidas

DIFUSAS	PUNTUALES
La aspersión de plaguicidas	Llenado de tanques
Volatilización y precipitación	Goteos
Escorrentía superficial	Derrames por fallas del equipo
Lixiviación	Lavado y disposición de residuos
Flujo de paso	Sumideros y drenajes
Flujo Drenado	Contaminación directa en el sitio
Infiltración de flujo	Descargas autorizadas

Fuente: (Carter et al. 2000)

Carter (2000) define la contaminación difusa y puntual de la siguiente manera:

**Contaminación difusa.** Los plaguicidas son aplicados por los agricultores en el campo o cultivos donde de manera natural la actividad de los microorganismos está presente en el suelo y por lo tanto procesos de degradación y disipación de plaguicidas tienen lugar. La sustancia activa o sus metabolitos tienen la posibilidad de moverse a través del suelo en solución o ser absorbidos por partículas de suelo antes de llegar a las aguas superficiales o subterráneas. Las aguas superficiales y las subterráneas pueden ser gravemente afectadas. La acumulación de

plaguicidas por precipitaciones de plaguicidas también puede ser considerada como una fuente de contaminación difusa.

**Contaminación puntual.** Esta ocurre cuando la contaminación del agua se deriva de una situación localizada, y entra a los cuerpos de agua en un área específica o en un restringido número de locaciones.

Las fuentes puntuales de contaminación existen en forma de descargas aprobadas de plantas de lavado de vegetales, cuando los plaguicidas son aplicados en ciertas zonas por sistemas de aspersión específicos. Otros tipos de contaminación puntual considerados son los derrames, goteos o las descargas de productos, durante la preparación de la mezcla, lavado y disposición directamente sobre el suelo o sistemas de drenaje, los cuales pueden entrar directamente a las aguas superficiales o a las aguas subterráneas (Figura 1a y Figura 1c).

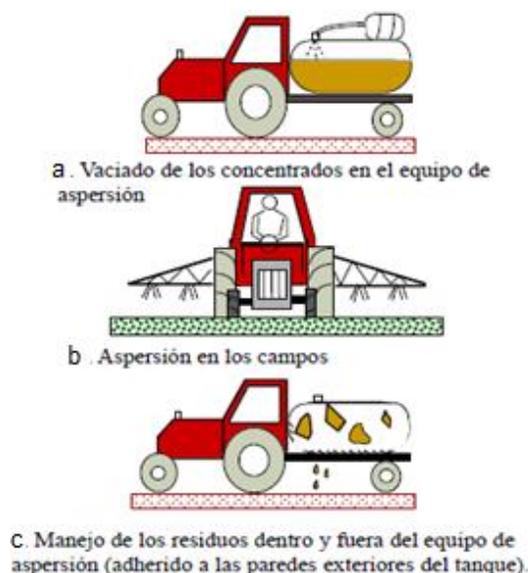


Figura 1. Tipos de contaminación por plaguicidas, difusa (b) y puntual (a y c).

Fuente: (Castillo et al. 2011)

La contaminación puntual es la principal fuente de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas por pesticidas, y es responsable de cerca del 40%

hasta del 90% de la contaminación de dichas aguas (Neumann et al. 2003; Holvoet et al. 2005 y De Wilde et al. 2010)

En el caso específico de Yucatán se tiene que dada La naturaleza cárstica del suelo esto hace que el agua subterránea sea muy vulnerable a la contaminación. En la mayoría de los sistemas de abastecimiento municipales el uso del suelo en los alrededores es principalmente habitacional, agrícola y pecuario, por lo que el uso no controlado de agroquímicos y la disposición inadecuada de los desechos, son las principales fuentes de contaminación del agua subterránea (Pacheco et al. 2004).

### **II.1.6 Destino ambiental de los plaguicidas**

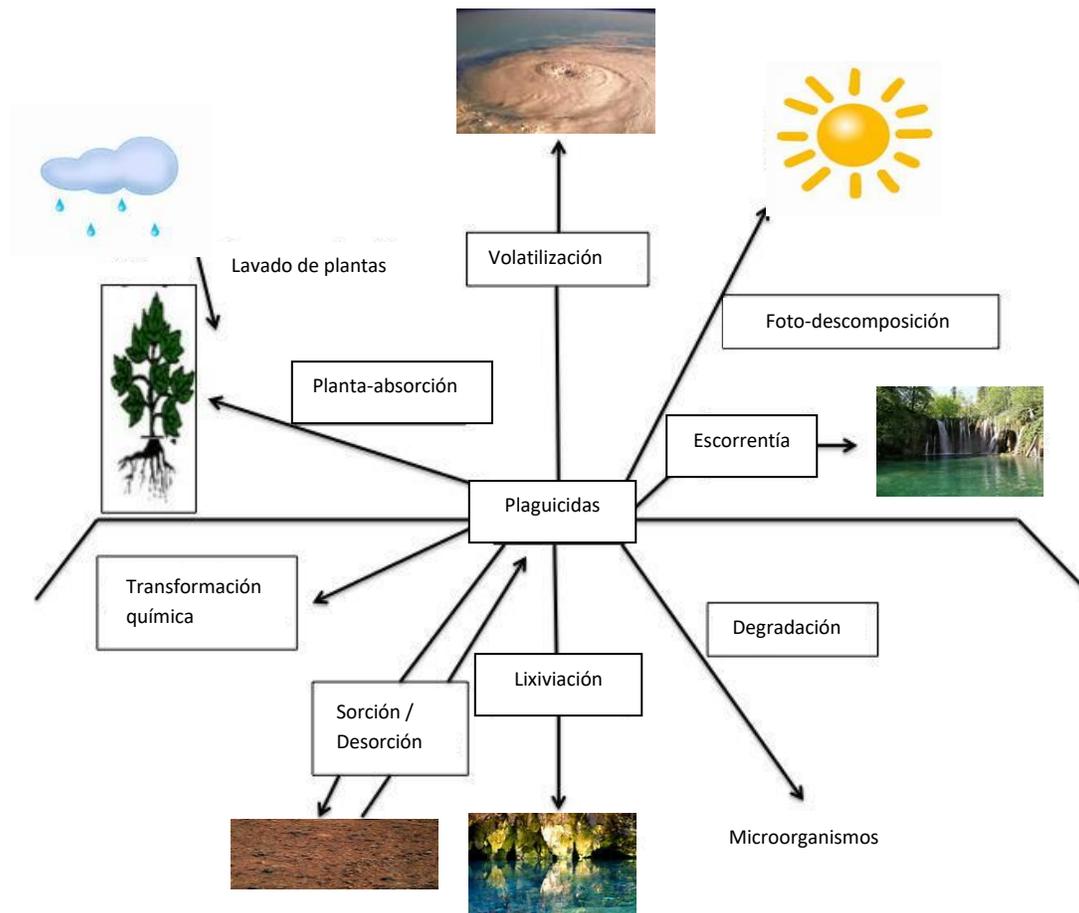
Los plaguicidas se mueven en el ambiente a través de los ciclos biogeoquímicos y pueden acumularse en los organismos (bioacumulación) y pasar a través de la cadena trófica (biomagnificación). De la misma forma, pueden almacenarse en el suelo o en el sedimento de lagos, ríos y cenotes para recircular en el ambiente después de que algún fenómeno natural los removió (Figura 2.) (Cobos et al. 2001).

La forma en que los plaguicidas se mueven en el medio ambiente, desde la fuente emisora hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano o biota reciben el nombre de **mecanismos de transporte**. En el ambiente, el transporte involucra los movimientos de gases, líquidos y partículas sólidas en un medio determinado, así como el movimiento a través de las interfaces entre el aire, el agua, sedimento, suelo, plantas y animales (ATSDR, 1995). En el destino y transporte de las sustancias químicas en el ambiente, entre ellas los plaguicidas, en las diferentes matrices ambientales como aire, suelo y agua por ejemplo, se presentan una variedad de mecanismos que influyen en la disipación de dichas sustancias (Tabla 2).

Tabla 2. Mecanismos de destino y transporte de contaminantes en el ambiente

MATRIZ AMBIENTAL	MECANISMO DE DESTINO Y TRANSPORTE DE CONTAMINANTES
Aire	Fotólisis, reacciones con oxhidrilos, reacciones con ozono, otras reacciones.
Suelo	Fotólisis, hidrólisis, biodegradación, oxidación/reducción.
Agua	Hidrólisis, fotólisis, oxidación/reducción, biodegradación.
Sedimento	Hidrólisis, biodegradación, oxidación/reducción.
Biota	Bioacumulación, metabolismo.

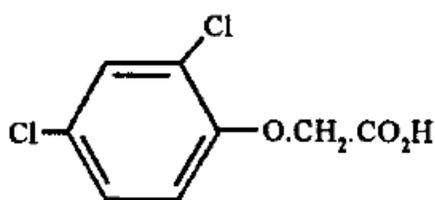
Fuente: (INECC, 2007)

Figura 2. Destino y comportamiento de los plaguicidas en el ambiente.  
Fuente: modificado de (Lyonga 2013)

## II.1.7 Características físico químicas de los plaguicidas modelo

Las características fisicoquímicas de los plaguicidas son de importancia para conocer el modo de acción y destino en el ambiente de los mismos. Dichas características se presentan en las figuras 3, 4, 5, 6 y 7 para los plaguicidas empleados en esta investigación.

### 2,4-D



**Fórmula empírica:**  $C_8H_6Cl_2O_3$

**Peso molecular:** 221.04 g/mol

**Presión de vapor a 20 °C:**  $8.25 \times 10^{-8}$  mm Hg

**Solubilidad en agua a 25 °C:** 900 mg/L

**Punto de fusión:** 138 °C

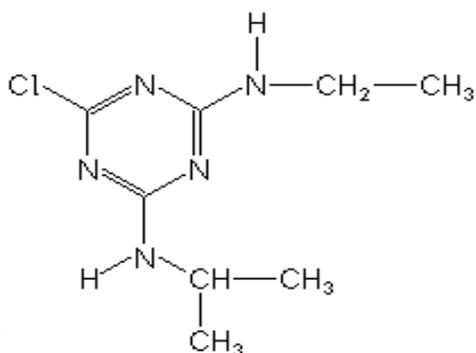
**DT<sub>50</sub> en suelo:** menos 7 días

**Volatilización:** poco volátil

Fuente: (INECC 2016)

Figura 3. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del 2,4-D

### Atrazina



**Fórmula empírica:**  $C_{18}H_{14}ClN_5$

**Peso molecular:** 215.68 g/mol

**Presión de vapor a 25 °C:**  $2.89 \times 10^{-7}$  mm Hg

**Solubilidad en agua a 26 °C:** 34.7 mg/L

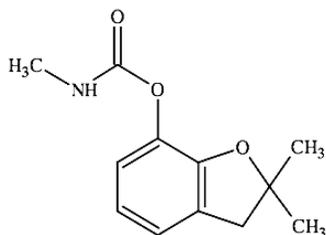
**Punto de fusión:** 175 a 176 °C

**DT<sub>50</sub> en suelo:** 60 a más 100 días a baja temperatura y humedad

**Volatilización:** poco volátil

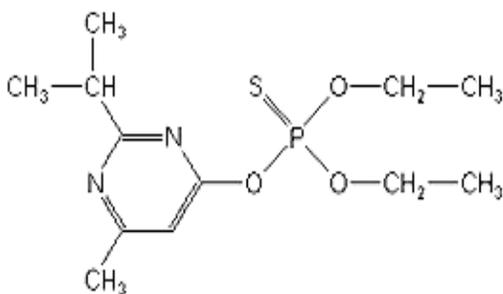
Fuente: (INECC 2016)

Figura 4. Estructura química y propiedades fisicoquímicas de la atrazina

**Carbofuran****Fórmula empírica:**  $C_{12}H_{15}CO_3$ **Peso molecular:** 221.26 g/mol**Presión de vapor a 25 °C:**  $3.4 \times 10^{-6}$  mm Hg**Solubilidad en agua a 25 °C:** 700 mg/L**Punto de fusión:** 151 °C**DT<sub>50</sub> en suelo:** 30 a 120 días**Volatilización:** poco volátil

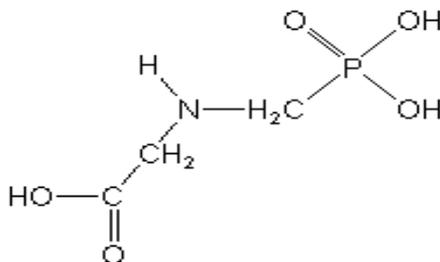
Fuente: (INECC 2016)

Figura 5. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del carbofuran

**Diazinon****Fórmula empírica:**  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ **Peso molecular:** 304.35 g/mol**Presión de vapor a 25 °C:**  $9.01 \times 10^{-5}$  mm Hg**Solubilidad en agua a 25 °C:** 40 mg/L**Punto de fusión:** 151 °C**DT<sub>50</sub> en suelo:** 14 a 28 días a temperatura de 20 °C, humedad del 60% y pH ácido**Volatilización:** poco volátil

Fuente: (INECC 2016)

Figura 6. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del diazinon

**Glifosato****Fórmula empírica:**  $C_3H_7N_2O_5P$ **Peso molecular:** 228.22 g/mol**Presión de vapor a 25 °C:**  $3 \times 10^{-7}$  mm Hg**Solubilidad en agua a 25 °C:** 10500 mg/L**Punto de fusión:** 151 °C**DT<sub>50</sub> en suelo:** 60 días**Volatilización:** NE

Fuente: (INECC 2016)

Figura 7. Estructura química y propiedades fisicoquímicas del glifosato

## **II.2 Tecnologías para el control y tratamiento de la contaminación por plaguicidas.**

Es importante dejar por sentado que las tecnologías consideradas para el control y tratamiento de plaguicidas o residuos contaminantes de los mismos, no consideran como tal la degradación, consideran la “destrucción” de estos mediante el uso una variedad de tecnologías, pero más que una destrucción es en la mayoría de los casos una transformación de una sustancia a otra menos compleja.

De acuerdo con las directrices técnicas para la gestión ambientalmente racional de los compuestos orgánicos persistentes (COP), elaboradas en el marco del Convenio de Basilea, las operaciones de eliminación aceptadas para su destrucción son:

- a) Tratamiento fisicoquímico
  - b) Incineración
  - c) Utilización como combustible (que no sea en la incineración directa) u otros medios de generar energía.
  - d) Recuperación de sustancias orgánicas
  - e) Recuperación de metales y sus compuestos
- (Romero, 2008)

De las tecnologías que se emplean se pueden clasificar según el área donde se emplean, como lo son a nivel industrial-comercial y experimental.

### **Tecnologías a escala industrial-comercial.**

***Incineración de residuos peligrosos.*** El proceso de incineración resulta útil para el tratamiento de cualquier tipo de residuo COP o material contaminado. Los incineradores pueden estar diseñados para tratar residuos de cualquier

concentración y forma física (gases, líquidos, sólidos, fangos y lodos) (Romero 2008).

**Reducción química en fase gaseosa.** Esta tecnología tiene la capacidad de tratar plaguicidas como Lindano, Hexaclorobenceno, DDT, Aldrina, Dieldrina, DDT, BPC, Dioxinas, Furanos y otros COP (Romero 2008).

**Arco de Plasma (Plascon<sup>TM</sup>).** Plascon<sup>TM</sup> es aplicable a plaguicidas como el HCB, aldrin, dieldrin, lindano, 2,4 D, BPC, dioxinas, furanos y otros compuestos industriales como halones (Romero 2008).

**Co-procesamiento en horno de cemento.** Los hornos rotatorios de cemento pueden en principio tratar cualquier residuo COP o material contaminado con estos compuestos. El tratamiento de residuos sólidos presenta ciertas limitaciones tales como que el tratamiento de residuos COP requeriría un constante monitoreo, control del proceso y se originan emisiones adicionales, lo cual incrementaría los costos de su procesamiento significativamente (Romero 2008).

**Geomelt.** La tecnología Geomelt<sup>TM</sup> vitrificación en contenedores (In-container Vitrification-ICV) ha sido utilizada para tratar existencias de plaguicidas como lindano, clordano, DDT, aldrin, dieldrin, endrin y HCB en una planta ubicada en Japón (Romero 2008).

**Oxidación en agua supercrítica (OASC) y oxidación en agua subcrítica (OASBC).** Se considera que la OASC y la OASBC puede ser útil para tratar los diferentes tipos de COP, aunque el contenido orgánico de los desechos está limitado a menos del 20%. Entre los tipos de desechos a los que puede aplicarse esta tecnología están los residuos acuosos, aceites, disolventes y sólidos con un diámetro inferior a 200µm. Entre los plaguicidas tratados con esta tecnología se encuentran el clordano, permetrina, Kelthane y mezclas de 2,4-D y 2,4,5-T (Romero 2008).

**Desalogenación químico-mecánica.** Esta tecnología se emplea principalmente para remediar suelos contaminados con COP y tratar sedimentos contaminados. Los compuestos tratados han sido DDT, Aldrina y Dieldrina. La tecnología ha sido utilizada para el tratamiento de suelo, sedimentos y mezclas de líquidos y sólidos. Los productos secundarios que se forman consisten en sales metálicas y orgánicas no peligrosas. (Romero 2008)

### **Tecnologías a escala experimental.**

**Oxidación electroquímica (CerOx).** Esta tecnología ha sido usada en pruebas piloto para tratar líquidos contaminados con una concentración baja de COP, aunque en teoría se considera su utilidad para tratar cualquier tipo de COP aún a concentraciones altas. Esta tecnología registra una eficiencia máxima del 99.99% en la remoción del clordano en su fase gaseosa (Romero 2008).

**Reducción de metal alcalino.** La tecnología ha sido ampliamente utilizada para tratar aceites contaminados con BPC conteniendo concentraciones hasta 10,000 ppm y para transformadores conteniendo concentraciones mayores a 10,000 mg/kg de BPC. Aunque esta tecnología ha sido desarrollada para el tratamiento de BPC, el Ministerio de Medio Ambiente de Japón reporta haber destruido con éxito existencias de Clordano y Hexaclorobenceno, aunque solo en cantidades mínimas. No existe información adicional sobre el tratamiento de plaguicidas COP con esta tecnología, pero se considera puede tener un potencial alto para el tratamiento de plaguicidas halocarbonados (Romero 2008).

**Deshalogenación auto-propagada a alta temperatura.** Esta tecnología ha sido aplicada para tratar materiales contaminados con HCB, pero tiene potencial para tratar compuestos aromáticos clorados tóxicos. Es una tecnología *ex situ* que se encuentra a nivel experimental. Se carece de los resultados de las pruebas y de cualquier otro avance alcanzado con ésta (Romero 2008).

Más recientemente en el 2011 se tiene la existencia de un método experimental denominado **Degradación Fotocatalítica de Plaguicidas por Dióxido de Titanio y Purificación por Pilares de Arcilla con Titanio**, en el cual el dióxido de titanio se sintetizó por el método sol-gel y la purificación con columnas de arcilla y titanio fue empleada. Los resultados mostraron que los plaguicidas empleados para probar el método fueron degradados eficazmente. La eficiencia de remoción incremento con el contenido de Ti en la arcilla apilada (Addennouri et al. 2011).

Aunque las tecnologías existentes en su mayoría no fueron diseñadas para tratar desechos fitosanitarios como son los plaguicidas y flujos contaminados con los mismos, estas tecnologías se han adaptado para poder resolver esta problemática, pero en su mayoría a escala industrial.

Nuevas tecnologías se están desarrollando en varias partes del mundo para minimizar la contaminación por plaguicidas de suelo y aguas, estas tecnologías van desde la sustitución de los plaguicidas comúnmente empleados en el campo por plaguicidas a base de esencias vegetales y compuestos orgánicos, hasta la biorremediación de suelos y el uso de dispositivos de confinamiento y degradación de plaguicidas y efluentes contaminados como lo es el uso de las camas biológicas o Biobeds por mencionar algunos.

## **II.3 Camas biológicas**

### **II.3.1 Aspectos generales**

Un lecho biológico, biobed o cama biológica es una construcción sencilla diseñada para coleccionar y degradar derrames de plaguicidas (Torstensson, 2000).

Las camas biológicas en su diseño original consisten en un agujero en el suelo de 60 cm de profundidad, el cual está relleno en el fondo por una capa de arcilla,

una biomezcla de paja, suelo y turba y una última capa de césped si fuera el caso (Castillo et al. 2008).

El propósito de una cama biológica es que todos los procesos que involucren los plaguicidas antes de su aplicación en los campos y después de la misma, sean realizados por completo sobre la cama biológica para de esta manera controlar los derrames accidentales, así como las aguas de desecho resultantes de lavar los contenedores y aspersores. La degradación de los plaguicidas es realizada por microorganismos, los cuales se originan, crecen y se reproducen en la biomezcla de manera natural.

Las primeras camas biológicas fueron construidas en Suecia en el año de 1993, y en la actualidad se estima que hay más de 1500 funcionando en dicho país (Castillo et al. 2011). La difusión de estos sistemas en Suecia y otros países europeos se debe principalmente a que son sistemas efectivos, económicos y se han ganado el aprecio de los agricultores, que a su vez han desarrollado diferentes modelos dependiendo de los materiales disponibles en sus granjas o fincas.

Las camas biológicas han recibido una gran atención en otros países por ser sencillas y efectivas. En Europa países como el reino unido (Fogg et al. 2004), Italia (Coppola et al. 2007), Francia (Fournier et al, 2005), Dinamarca (Henriksen et al. 2003), entre otros, están realizando trabajos de adaptación de las Biobeds a las condiciones climatológicas, prácticas agrícolas típicas de cada país y a los materiales orgánicos disponibles para prepara la biomezcla. Y del mismo modo otros países se están sumando al desarrollo de estas tecnologías tales como Perú, Guatemala, Costa Rica, México, Ecuador, Chile Vietnam, India entre otros (Castillo et al. 2008).

Para el 2011 según datos proporcionados en una ponencia de la doctora María del Pilar Castillo, referente al uso de la tecnología de filtración y degradación de

plaguicidas empleando Biobeds, arroja que México si bien tiene investigadores en el área aún no se encuentra registrada una biobed que esté funcionando ya en el campo y al igual que el resto de América se encuentra en fase completamente experimental (Figura 8), muy por el contrario de lo que se puede apreciar en Europa (Castillo et al. 2011)



Figura 8. Camas biológicas en países latinoamericanos.

Fuente: European Biobed Workshop, wageningen. 20th marzo 2013. Jens Husby

### II.3.2 Aspectos Técnicos

#### DISEÑO

El diseño de una cama biológica debe considerar entre otras cosas el material con el cual se construirá la misma, los volúmenes de flujo a tratar, las dimensiones, la ubicación, y los materiales en los cuales se desarrollará el proceso de degradación de los plaguicidas (Goldsworthy y Basford 2007).

La biomezcla constituye el más importante componente de una cama biológica, y su correcta composición es un pre-requisito para la exitosa degradación del contenido de plaguicidas en flujos de agua contaminados (Karanasios et al. 2010a).

La paja ha sido el material lignoceluloso más popular empleado en la biodegradación de plaguicidas. Sin embargo, la gran disponibilidad de materiales alternativos en diferentes regiones, al reducir o no los costos, han dado lugar al remplazo potencial de los materiales. El tipo de material lignoceluloso empleado, depende del tipo de cultivo en cada región (Karanasios et al. 2012). La Tabla 3 presenta algunos de los materiales empleados para tratar plaguicidas.

Tabla 3. Biomezclas empleadas como componentes de una cama biológica y los plaguicidas probados que puede degradar

SUSTRATO	PLAGUICIDA DEGRADADO
Paja y residuos de puerro	Atrazina, carbofuran, cinacina, diuron lenacil, bifentrín y metalaxil.
Bagazo	Glifosato, malation, lamda-cialotrin.
Astillas de coco, paja, astillas de sauce	Linuron, metalaxil, isoproturon y bentazona.
Astillas de coco y paja	Limuron, metalaxil, isoproturon, bentazona y metamitron.
Paja	Azoxiestrobina, bentazona, bromixinil, ioxinil, dimetoato, diuron, fempropimorf, fluazifol-p-butil, glifosato, kresoxim metil, MCPA, mecoprop-P, pirimicarp, propiconazol, propizamida, prosulfocarb, metamitron, cloridazon, metribuzin, metabenziazuron, isoproturon, terbutilazina, linuron, metalaxil, pendimetalin, clorotalonil, epoxiconazol, clorpirifos, deltamitrin, cipermetrin, orto-fenilfenol, tiabendazol y imazalil.
Sarmientos de la uva y cáscaras de limón	Cloririfos, metalaxil, imaxamox, bentazona e isoproturon
Tallos y mazorcas de maíz	Alaclor, acetoclor
Sarmientos de la uva	Clorpirifos y metalaxil
Paja, mazorcas de maíz, cáscaras de limón, residuos de girasol, semillas de uva y hojas de olivo	Clorpirifos, endoxacarp, buprofezin, terbutilazina, metalaxil, metribuzin, azoxystrobin y iprodione
Paja, semillas de uva y tallos de maíz	Clorpirifos, terbutilazina, metribuzin, metalaxil e iprodione.

Fuente: (Karanasios et al. 2012)

Karanasios et al. (2010b) llegan a la conclusión de que la paja puede ser completamente sustituida en la biomezcla por otros materiales lignocelulosos, los cuales se encuentran disponibles en el sur de Europa donde realizó el estudio. Otros estudios reemplazando la paja por otros materiales lignocelulosos en las biomezclas han reportado altas disipaciones de los plaguicidas en los sistemas de camas biológicas (Torstensson 2000; Pigeon et al. 2005; Castillo y Torstensson 2007; Coppola et al. 2010; Ruiz-Hidalgo et a. 2014; Pinto et al. 2016)

En el estudio realizado por Urrutia et al. (2013) al probar diferentes materiales en sustitución total o parcial de la paja como constituyente de la biomezcla, se encontró que las máximas eficiencias en la degradación de plaguicidas se dieron cuando la paja fue parcial o completamente reemplazada por cascarillas de avena. Eso demuestra lo que otros investigadores como Karanasios et al. (2012) establecen respecto al uso de nuevos materiales en la biomezcla.

En el presente estudio se consideró el uso de suelo agrícola, composta, fibras de desecho de henequén, algas y rastrojo de maíz. Sanjuan-Raygoza y Jasso-Gastinel, (2009) en el estudio “Efecto de la fibra de agave de desecho en el reforzamiento de polipropileno virgen o reciclado” demuestran que la fibra de henequén presenta importantes valores en los aspectos de densidad y contenido de celulosa en cualquiera de sus posibles formas; y de acuerdo a Vischetti et al. (2004), dos de los aspectos más importantes a considerar en el material que se empleara en la biomezcla, son el contenido de carbono, y su densidad, siendo esta última de acuerdo a sus resultados más importante que el contenido de carbono, y dado que el henequén posee una densidad de  $1.5 \text{ g/cm}^3$  y un contenido de holocelulosa del orden del 87.88%, valores mayores a los que contiene la paja comúnmente usada en estos sistemas, esta fibra presenta características por demás óptimas para ser empleada en la biomezcla; a esto se deben añadir el hecho de que es poco soluble en agua y alcohol, y que posea una buena capacidad de retención de líquido, y es por demás importante mencionar que en el ramo de la construcción al usarlo como agregado a materiales para

construcción se encontró que juega un papel importante al funcionar como un buen agente de acoplamiento entre los diversos materiales que se pueden emplear, y este podría ser el caso en los diferentes materiales de la biomezcla. Por su parte la composta contiene una población indígena de bacterias, hongos y actinomicetos. También ha demostrado excelentes características de adsorción con un área superficial bastante grande, alta capacidad de intercambio y nutrientes para la población microbiana, por lo que el ambiente de la composta debe mantenerse para soportar y propiciar el crecimiento máximo de los microorganismos (Epstein, 1997)

De acuerdo a Klaus Lüning (1990), la zona de la península de Yucatán se encuentra dentro de la región tropical del Atlántico Occidental con temperaturas entre los 25-28°C, y se caracteriza por la dominancia de una gran variedad de algas rojas, entre las que se encuentran aquellas que producen coloides de utilidad industrial. Industrialmente dichas algas tienen una gran variedad de aplicaciones, pero se ha visto que los residuos de las algas en la obtención del aligato son un excelente agregado a la composta, ya que poseen microorganismos que al degradar el aligato aportan condiciones óptimas a las compostas, como inmovilizar levaduras y aportan nutrientes (Tang et al. 2009). Considerando lo anterior se tiene que el hecho de tener a la mano algas de desecho secas en las playas que son tratadas como basura y que la biomezcla requiere de las condiciones óptimas para la proliferación de microorganismos degradadores, el uso de esta mezcla de algas coloquialmente llamada sargazo, es una opción muy viable.

Por su parte el rastrojo de maíz, que involucra todas las partes de la planta de maíz cuando esta ya no es útil, se consideró para este estudio, esto ya que el diseño original de una cama biológica emplea como material base la paja de trigo, y científicamente se justifica su uso por su contenido de lignocelulosa; el rastrojo de maíz de acuerdo a Prinsen (2010), tiene un contenido de lignina mayor al

rastrojo de maíz, y a diferencia del trigo el rastrojo de maíz es un material que fácilmente puede disponerse en la región sureste de México.

Si bien los materiales a emplear juegan un papel por demás importante, el correcto monitoreo y control de parámetros como la temperatura (T) en la biomezcla, la humedad (H) de la misma y el pH juegan papeles por demás importantes, que al no ser debidamente controlados pueden llevar a una biomezcla ineficiente

## **CONSTRUCCIÓN**

Los aspectos de construcción a considerarse según Goldsworthy y Basford (2007) son los siguientes:

- Superficie impermeable en el área de manejo.
- Sistema adecuado de drenaje de los flujos contaminados
- El área de la biobed debe estar alejada mínimo 10 metros de conductos de agua, y 50 metros de pozos.
- Los materiales de la Biomezcla deben elegirse correctamente y estar en la proporción adecuada.
- Se deben considerar las áreas de almacenamiento, lavado y llenado de contenedores.

En el mismo tenor Castillo et al. (2011) establecen los siguientes aspectos para una correcta implementación de una biobed de tipo convencional:

- Ubicarla preferiblemente rodeada de suelo activo
- En una superficie un poco más alta del suelo de alrededor
- Tener un pequeño borde alrededor para protegerla de la penetración de agua de lluvia o aguas superficiales
- Ubicar a unos 30 metros de fuentes de agua
- Cercana al almacén de plaguicidas
- Evitar ubicarla muy cerca de una pared con drenaje de lluvia

- La dimensión de la biobed deber ser tal que pueda incluir todo el equipo de aspersión (al menos un metro más ancha alrededor del aspersor, o 50 cm alrededor de la mochila)
- Excavar un hoyo de 70 cm o construir parcialmente sobre el suelo

## **DIMENSIONES**

Para poder dimensionar adecuadamente una Biobed, se deben considerar los siguientes aspectos presentados por Goldsworthy y Basford (2007):

- El tamaño del área de manejo de plaguicidas si esta ya existiera.
- Volumen de los mecanismos de aspersión
- Frecuencia de aspersión
- Cantidad en mm de agua de lluvia en la región.
- Frecuencia de lavado del área, así como de los contenedores y aspersores.

### **II.3.3 Antecedentes de la eficiencia en la degradación de plaguicidas**

Henriksen et al. (1999) en el estudio “lixiviación de plaguicidas de sitios de lavado, y la capacidad de las biocamas para retener plaguicidas”, presentan eficiencias en la remoción de mecoprop hasta de un 98.9% y del isoproturon hasta en un 99.8% empleando en la biomezcla suelo común.

En un estudio de la degradación de plaguicidas por los hongos de pudrición blanca que de forma normal se generan en la biomezcla, se pudieron encontrar máximas degradaciones de atrazina y terbutilazina por arriba del 86% después de 42 días. (Bending, et at. 2002)

Ponce-Caballero (2005) registra eficiencias de más del 99% en la degradación de una mezcla de 14 herbicidas en camas biológicas a nivel experimental, a los 15 meses de la última carga de las sustancias. Algo realmente importante de este caso es el hecho de que se simuló la situación real añadiendo mezclas a la cama

biológica de detergentes y aceites de motor observándose que estas sustancias no afectaron la eficiencia de la degradación de los herbicidas.

En Francia, el bagazo residuo de la caña de azúcar, fue usado como un sustituto de la paja. Esta se mezcló con suelo en proporción 3:1 (bagazo:suelo, v/v) y como resultado la biomezcla fue capaz de degradar más del 99% del malatión y glifosato aplicado, y el 90% de la lambacilotrina durante 6 meses en una *biobed* modificada llamada Phytobac (De Roffignac et al. 2008)

Los sistemas básicos de camas biológicas han demostrado su eficiencia en la degradación de plaguicidas, sin embargo modificaciones de diseño a estos sistemas han registrado cambios importantes en la degradación de plaguicidas, como es el caso de Vischetti et al. (2004), quienes desarrollaron un sistema experimental de cama biológica modificada llamada *biomassbed*, y experimentaron con tres diferentes plaguicidas utilizando cuatro diferentes mezclas de materiales filtrantes orgánicos disponibles en las granjas recirculando los lixiviados por el sistema. Se presentaron diferentes eficiencias para las diferentes mezclas, pero la degradación de plaguicidas en su sistema tipo reactor fue cinco veces más rápida que en los sistemas convencionales. Del mismo modo otros investigadores como Fait et al. (2006) obtuvieron resultados similares a los obtenidos con la *biomassbed* para sistemas similares.

Felgentreu y Bischoff (2006) encontraron que la recirculación de los lixiviados de las camas biológicas, aumentó la eficiencia en la remoción de plaguicidas, y recomendaron que esta práctica sea adoptada. Con la excepción del diurón y el isoproturón, todas las demás sustancias activas probadas fueron adsorbidas o degradadas en la cama biológica con una eficiencia de 99.99%.

Castillo et al. (2008) en el artículo *Biobeds for environmental protection from pesticide use: A review*, proporcionan datos contundentes respecto a la eficiencia de las camas biológicas convencionales (a base de suelo-turba-paja) en un

periodo de un año. Ellos establecen eficiencias que van del 50% hasta casi un 100% en la retención y degradación de varios plaguicidas entre ellos la bentazona, clopiralida, cianacina, ciflutrina, deltametrina, diclorprop, diflufenican, esfenvalerato, etofumesato, fenpropimorfo, fluroxipil, isoproturon, lambda-cihalotrina, linuron, MCPA, mecoprop, metabenzthiazuron, metazaclor, pirimicarbó, propiconazona, terbutilazina, terbutrin, tolifluanida.

Diez et al. (2013) probaron dos materiales lignocelulósicos alternativos, cáscaras de cebada y aserrín de pino, los cuales se evaluaron como sustitutos parciales de paja en la biomezcla. Se evaluó la degradación de una mezcla aplicada en varias ocasiones de seis plaguicidas por parte de estos suplentes. También se evaluó la respiración microbiana y la actividad microbiana por hidrólisis en fluorescencia de diacetato (FDA). Los resultados mostraron que la mayor eficiencia de la degradación se encontró en mezclas que contienen paja y las cáscaras de la cebada. Cada biomezcla probada alcanzó una alta degradación (del 50 al 90%) de todos los pesticidas usados excepto iprodiona. La aplicación repetida de plaguicidas resultó en una desaceleración de la tasa de degradación de todos los tipos de plaguicidas en todas las biomezclas. La actividad de la FDA y la respiración microbiana fueron más altas en las biomezclas que contenían cáscaras de cebada y paja en comparación con la mezcla con aserrín de pino.

### **II.3.4 Diversidad microbiana asociada a la degradación de plaguicidas**

Entre los mecanismos de destino y transporte de los plaguicidas en el ambiente se encuentra la biodegradación, la cual en matrices como suelo, agua o sedimento han sido ampliamente estudiados. En las camas biológicas los microorganismos están presentes en los diversos sustratos, siendo quizá el más conocido el llamado hongo de pudrición blanca, el cual tiene probada eficiencia en la degradación de diversos plaguicidas como el endosulfan (Kullman y Matsumura,

1996), DDT (Arisoy, 1998), clorpirifos (Lopera et al., 2005) y linano (Quintero et al., 2008) entre otros.

Microorganismos como las bacterias, actinomicetos, hongos y algas son las principales responsables de degradar o transformar los plaguicidas en el ambiente (Müller et. al., 2006). Otros estudios de importancia han probado la capacidad degradadora de plaguicidas por la actividad microbiana tanto a nivel laboratorio como de campo (Furukawa (2003); Carrillo-Perez et al., (2004); Sánchez y Henry (2012)).

En lo que respecta a las camas biológicas hay pocos estudios que determinen la diversidad microbiana en la biomezcla. Los hongos no son los únicos responsables de la degradación y mineralización de los plaguicidas, por lo cual es de gran importancia el poder conocer los diversos microorganismos presentes, su función y relación con los diversos sustratos que pueden ser empleados en las biomezclas para la retención y tratamiento de efluentes agrícolas.

La Tabla 4 presenta algunos de los microorganismos reportados para la degradación de los plaguicidas estudiados en la presente investigación en matrices tanto de suelo como de agua.

Tabla 4. Biomezclas empleadas como componentes de una cama biológica y los plaguicidas probados que puede degradar

Plaguicida	Microorganismos degradadores	Referencia
<b>Atrazina</b>	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Arthrobacter aureescens</i>	(Ortiz y Sánchez, 2005) (Singh et al., 2004) (Neumann et al., 2004) (Strong et al., 2002)
<b>Carbofuran</b>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	(Castellanos et al., 2013)
<b>Glifosato</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Burkholderia gladioli</i> y <i>Flavimonas oryzihabitans</i> .	(Martínez-Nieto et al., 2012)
<b>Diazinon</b>	<i>Serratia marcescens</i>	(Cycón et al., 2013)
<b>2,4-D</b>	Actinomiceto CCT 4916	(Caracciolo, et al., 2001) (Esposito, 1998)

### II.3.5 Interpretación de la diversidad microbiana asociada a la disipación de plaguicidas

Conocer la diversidad microbiana en una cama biológica no es suficiente, el correcto manejo de datos y la interpretación de la información son importantes.

Para evaluar la diversidad en sus diferentes componentes y niveles o escalas, los índices de diversidad alfa, beta y gama ayudan a resumir información en un solo valor y permiten unificar cantidades para realizar comparaciones. Sin embargo, para la aplicación de índices es necesario conocer los supuestos en los que están enmarcados para que la información generada a través de éstos pueda ser utilizada para interpretar correctamente el comportamiento de la biodiversidad (Villareal et al., 2004).

Whittaker (1972) establece que la **diversidad alfa** es la riqueza de especies de una comunidad particular considerada homogénea, la **diversidad beta** es el grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades, por su parte la **diversidad gamma** la define como la riqueza de especies del conjunto de comunidades que integran un paisaje, esta es resultado tanto de las diversidades alfa como de las diversidades beta

Los métodos existentes para medir la diversidad alfa o local pueden clasificarse como de **índices directos** dentro de los cuales podemos nombrar la *Riqueza de especies*, *Margalef*, *Rarefacción*, *Coleman* y *Michaellis-Menten*; **Curvas de acumulación de especies**, **modelos lineales**, **métodos no paramétricos** tales como *Chao2*, *Jackknife* y *Bootstarp*; **Índices de abundancia proporcional** como el de *Simpson*, y los índices de equidad como el de *Shanon-Wiever* entre otros (Villareal et al., 2004).

Los métodos para cuantificar la diversidad beta se pueden dividir en dos clases: de **similitud** **disimilitud** y los de **recambio/reemplazo de especies**. La

diversidad beta también se puede analizar a través de métodos de **clasificación o de ordenación**, los cuales se basan en análisis de matrices ya sea a partir de datos cualitativos o cuantitativos. Los **métodos cualitativos** normalmente empleados para determinar la diversidad beta son el índice de *Jaccard* y de *Soreman*; entre los **métodos cuantitativos** se encuentran el *índice de Soreman cuantitativo* y el *índice de Morisita-Horn* (Villareal et al., 2004).

Por su parte la diversidad gamma o de la riqueza regional de especies teniendo varias comunidades se puede analizar mediante la aplicación del llamado *índice gamma*. Este índice se define como el producto de la diversidad alfa promedio, la diversidad beta promedio y la dimensión de la muestra que se considera como el número total de comunidades (Villareal et al., 2004).

### III. Metodología

El estudio se estructuró para tener una duración de 24 meses, durante los cuales se desarrollaron una serie de actividades que se describen en la Figura 9.

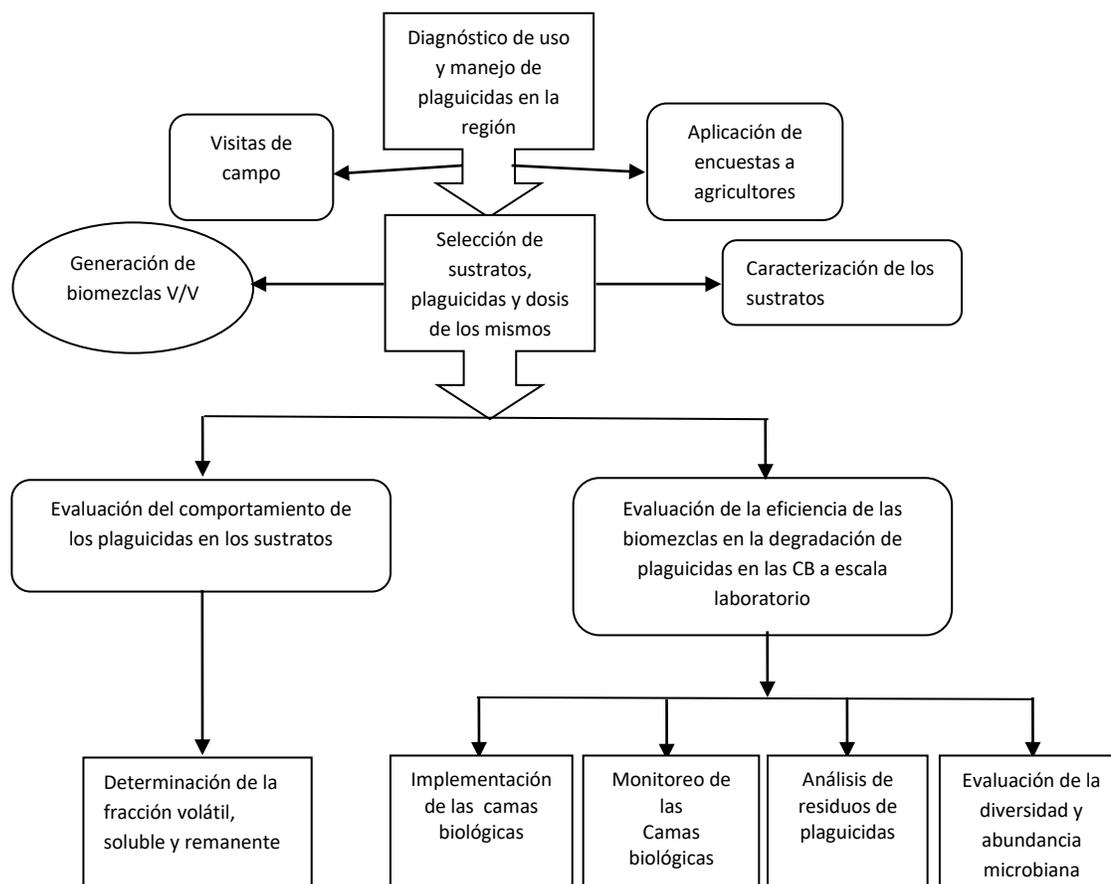


Figura 9. Diagrama metodológico.

#### III.1 Diagnóstico de uso y manejo de plaguicidas en la región

Para dicho diagnóstico se aplicaron 21 encuestas a agricultores de la zona sur del estado de Yucatán correspondientes a los municipios de Tixmehuac y las poblaciones de Xoy y San Dionisio en Peto Yucatán (**Anexo A**). Se determinaron los principales tipos de plaguicidas que se emplean, dosis utilizada, métodos de preparación y aplicación de mezclas, manejo de residuos y equipo de protección.

Se empleó una encuesta modificada tomando como base la aplicada por el programa de voluntariado para la prevención de la contaminación por plaguicidas de la Universidad de Wisconsin.

## III.2 Plaguicidas utilizados en el estudio

Con base en el diagnóstico realizado se seleccionaron cinco plaguicidas para ser empleados en este estudio. La Tabla 5 muestra la descripción de los plaguicidas comerciales empleados.

Tabla 5. Plaguicidas comerciales utilizados

PLAGUICIDA COMERCIAL	FABRICANTE	SUSTANCIA ACTIVA	CONCENTRACIÓN
Agramina 6	Velsimex	2,4-D	81% equivalente a 720 g/L
Furadan 350L	FMC	Carbofuran	33.21% equivalente a 350 g/L
Sanazina	Velsimex	Atrazina	43% equivalente a 500 g/L
Diazinon Dragón 25E	Dragón	Diazinon	25% equivalente a 229 g/L
Velfosato	Velsimex	Glifosato	41% equivalente a 360 g/L

### III.2.1 Métodos de extracción de plaguicidas

**Extracción sólido-líquido.** Se realizó mediante el método de extracción asistida por microondas de la guía 3546 de la EPA (EPA 2000).

La muestra se colocó en tubos de teflón con igual cantidad de sulfato de sodio anhidro previamente activado a 440°C por 4 horas (Marmolejo, 1999); enseguida se adicionaron 25 mL de una solución de hexano-acetona en proporción 1:1 (v/v). Las condiciones de operación del microondas fueron: potencia de 800 W al 80% y temperatura de 110°C mantenida durante 15 min. Se tomaron 2 mL del extracto obtenido y se filtraron empleando un tamiz de fluorisil con poro de 0.45 µm directo a un vial de vidrio y se almacenó a 4°C hasta su análisis.

La eficiencia en la extracción del método se validó mediante las pruebas de recobro para los cinco plaguicidas comerciales empleados en la investigación. Los resultados mostraron porcentajes de recobro de 91±2% para el carbofuran, 88±6%

para el 2,4-D,  $94\pm 4\%$  para el diazinon,  $96\pm 7\%$  para el glifosato y  $91\pm 7\%$  para la atrazina.

**Extracción fase sólida.** Se realizó mediante el método establecido en la guía 106 de la OCDE. Se emplearon columnas de octadecil C18 marca JT Baker de 100 mg las cuales fueron activadas empleando 1 mL de diclorometano, metanol y agua HPLC en este orden. El sustrato fue lavado con 10 mL de  $\text{CaCl}_2$  0.01 M mediante agitación circular manual durante 60 s y se dejó reposar por 10 min para separar las dos fases. Se tomaron 2 mL de la solución de lavado y se pasaron por una columna de octadecil C18. Para la recuperación de los plaguicidas se utilizaron 2 mL de diclorometano como solvente de arrastre. El diclorometano se evaporó en un rotovapor a  $30^\circ\text{C}$  (Yamato RE200). El residuo se reconstituyó en 1 mL de hexano, y se homogenizó por agitación mecánica (Vortex Genie-2, Scientific Industries) y ultrasonido por 15 s (Biosonic UC125) para cada proceso, repitiendo el ciclo dos veces. El solvente se transfirió a un vial de vidrio y se almacenó a  $4^\circ\text{C}$  hasta su análisis.

La eficiencia en la extracción del método se validó mediante las pruebas de recobro para los cinco plaguicidas comerciales empleados en la investigación. Los resultados mostraron porcentajes de recobro de  $92\pm 0.1\%$  para el carbofuran,  $92\pm 0.2\%$  para el 2,4-D,  $89\pm 1\%$  para el diazinon,  $84\pm 1\%$  para el glifosato y  $84\pm 0.3\%$  para la atrazina.

### III.2.2 Método cromatográfico

La determinación de las concentraciones de los remanentes que se encuentren en las muestras se llevó a cabo mediante el análisis con cromatógrafo de gases. Este procedimiento se describe a continuación:

Se empleó un cromatógrafo gases-masas marca Thermo Scientific Trace GC Ultra 1300, acoplado a un detector de captura de electrones (ECD) en tándem con un

detector nitrógeno-fósforo (NPD). Con una columna capilar marca Perkin Elmer<sup>R</sup> Elite-17, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm utilizando como gas de arrastre helio BIP a una presión constante de 100 kPa. El horno operó mediante una rampa de temperatura, iniciando a 70°C, manteniéndose un minuto y realizando incrementos posteriormente de 9°C/min hasta 200°C, la temperatura se mantuvo dos minutos y posteriormente se realizaron incrementos de 1.5°C/min hasta 220°C manteniendo esta temperatura por un minuto. Finalmente, la temperatura presentó incrementos de 3°C/min hasta alcanzar los 290°C, esta temperatura se mantuvo por 1 min. Dicho cromatógrafo cuenta un inyector (PTV) en modo *splitless* con temperatura inicial de 80°C manteniéndose por 0.3 min, durante la fase de evaporación se incrementa a 260°C con aumentos de 10°C/s manteniéndose por 2 minutos, la fase de transferencia se incrementó hasta 300°C con incrementos de 13.5°C /s y una fase de limpieza hasta los 320°C con aumentos de 15.5°C/s manteniéndose por 5 minutos; el volumen de muestra fue de 5 µL. El cromatógrafo cuenta con un automuestreador marca Thermo Scientific modelo TRIPLUS. El detector ECD tuvo una temperatura base de 300°C y temperatura del detector de 330°C, con una corriente de 0.5 nA, amplitud de pulso de 50 V, pulso de banda de 1 µs y nitrógeno como *make up* a un flujo de 15mL/min. El NPD trabajó a una temperatura de 330°C, con flujo de aire de 50 mL/min y nitrógeno como *make up* a 50 mL/min, con voltaje de polarización de 50 V y corriente de 4 A.

La cuantificación de los plaguicidas se realizó de la siguiente manera:

Se utilizaron soluciones patrón de 50, 500, 1000, 1500 y 2000 ppb, siendo preparadas a partir estándares *Pesticide Mix* marca Sigma-Aldrich que contenía cada uno de los compuestos a analizar a concentración de 2000 µg/L y pureza del 99.9%, diluidos en tolueno y hexano en proporción 1:1. A cada solución patrón de 1ml se le agregó 20 ml de estándar interno (OVEX). Posteriormente a partir de la información obtenida del análisis de los puntos de la curva de calibración, las concentraciones de los analitos presentes en las muestras se calcularon empleando la siguiente ecuación:

$$[X] = \left( \frac{Ax}{As} \right) [S] (FR) \dots\dots\dots(1)$$

Donde [X] es la concentración de plaguicidas en µg/L, [S] la concentración de OVEX en µg/L, AX es el área de pico de analito, AS el área de pico de OVEX en µg/L y FR el factor de respuesta. La identificación del tiempo de retención se realizó mediante un detector másico marca Thermo Scientific modelo ITQ900. Para la detección de plaguicidas se empleó un detector de captura de electrones (ECD).

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del método cromatográfico en µg/L para los plaguicidas empelados fueron, para el carbofuran (LD: 0.086± 0.003 y LC: 0.140± 0.19), 2,4-D (LD: 0.071± 0.045 y LC: 0.103± 0.059), diazinon (LD: 0.044± 0.025 y LC: 0.076± 0.048), glifosato (LC: 0.212± 0.034 y LD: 0.162± 0.047) y atrazina (LD: 0.163± 0.071 y LC: 0.174± 0.069).

### III.3 Materiales de la biomezcla

El estudio propuso el uso de materiales de la región que pudieran ser utilizados como sustratos de la biomezcla empleada en las camas biológicas. Los sustratos elegidos fueron:

- Suelo: se utilizó un suelo de tipo agrícola, con historial de tratamiento de plaguicida, el cual se tomó de una parcela en el municipio de Baca Yucatán.
- Composta: se empleó vermicomposta de la planta productora Abono Maya, localizada al sur del municipio de Mérida Yucatán.

- Henequén: se empleo bagazo de fibra de henequén, el cual se tomo de la planta desfibadora San Carlos, localizada en el municipio de Baca Yucatán.
- Algas: las algas comúnmente llamadas sargazo por la población en Yucatán se pueden ver flotando en las orillas de la playa en determinadas épocas del año; las algas fueron tomadas de la línea costera que va de Chuburna Puerto a Telchac Puerto, esto se justifica por la similitud de las algas en ese transecto costero según lo establece Silveira et. al., (2010).
- Rastrojo de maíz: el uso de rastrojo de maíz se justifica no solamente por su fácil disponibilidad en Yucatán y específicamente en la zona de estudio, sino por su contenido de lignina superior al de la paja de trigo (Prinsen, 2010) la cual es normalmente usada en el diseño original y cuya propiedad como material lignoceluloso juega un papel importante en la degradación de plaguicidas. El rastrojo fue tomado de una pequeña plantación de maíz en el municipio de Xoy Yucatán.

### **III.4 Caracterización fisicoquímica de los sustratos**

Los parámetros determinados fueron: pH, carbono orgánico, materia orgánica, nitrógeno orgánico, relación C/N, humedad, densidad aparente y real, capacidad de retención de agua y de campo (para suelo y composta) y el contenido de lignina. Del mismo modo se realizaron estudios de granulometría para el suelo y la composta. La Tabla 6 presenta los métodos empleados en la caracterización fisicoquímica de los sustratos.

Tabla 6. Métodos empleados en la caracterización de los sustratos

ANÁLISIS	MÉTODO
Densidad aparente (DA)	Método del nucleador (Estrada y Álvarez, 2011)
Densidad real (DR)	Método matraz volumétrico (Estrada y Álvarez, 2011)
Carbono orgánico (CO) y materia orgánica (MO)	Digestión húmeda + colorimetría (Estrada y Álvarez, 2011)
Nitrógeno total (N)	Nitrógeno Kjeldahl (Fernández et al, 2006)
Contenido de lignina (Composta y sustratos vegetales)	Método ANKON (Estrada y Álvarez, 2011)
Humedad (H)	Empleando el dispositivo <b>ALOGEN MB35</b> , 10 min a 110°C
Ph	❖ NOM-021-SEMARNAT-2000 para suelo y composta. ❖ NMX-F-317-S-1978 para los sustratos restantes.
Capacidad de campo (CC) (Suelo y composta)	Métodos de análisis de suelos (Cassel y Nielsen, 1996)
Capacidad de retención de agua (CRA)	Manual de prácticas de laboratorio de química ambiental II (Biotecnología-IPN)
Textura (Suelo y composta)	Método de Bouyocus (Estrada y Álvarez, 2011)
Determinación de micro y macronutrientes (Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, K, Na Y Mg)	Espectrofotometría de absorción de atómica y métodos de análisis de tejido vegetal (Sadzawka et. al., 2006)

NOTAS: El nitrógeno total se realizó empleando el equipo micro-Kjeldahl marca Büchi; En la determinación de micro y macronutrientes en los sustratos vegetales y composta se agrego ácido fosfórico para garantizar la completa digestión.

De modo complementario se determinaron los micro y macro nutrientes más importantes presentes en los cinco sustratos de estudio. Los nutrientes determinados por espectrofotometría de absorción atómica fueron: Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Na, Mg y K. La Tabla 7 muestra las condiciones de operación del espectrofotómetro para cada metal.

Tabla 7. Longitud de onda y límites de detección para micro y macro nutrientes

	Cr	Cu	Fe	Mn	Zn	Ca	Na	Mg	K
<b>λ</b>									
<b>Longitud de onda</b>	357.9 Nm	324.8 nm	248.3 nm	279.5 nm	213.9 nm	422.7 nm	330.3 nm	202.6 nm	769.9 nm
<b>Límites de detección</b>	0.3-10 ppm	0.2-10 ppm	0.3-15 ppm	0.1-5 ppm	0.1-2 ppm	4-20 ppm	5-50 ppm	2-14 ppm	0.5-5 ppm

### III.5 Composición de las biomezclas

La composición porcentual V/V de las diferentes biomezclas de sustratos se presenta en la Tabla 8.

Tabla 8. Composición porcentual de las diferentes biomezclas

CLAVE	COMPOSICIÓN EN SUSTRATOS	PORCENTAJE V/V (%)
M1	<i>suelo agrícola</i>	100
M2	<i>suelo agrícola / composta</i>	50-50
M3	<i>suelo agrícola / bagazo de henequén</i>	50-50
M4	<i>suelo agrícola / algas</i>	50-50
M5	<i>suelo agrícola / rastrojo de maíz</i>	50-50
M6	<i>suelo agrícola / composta / henequén</i>	50-25-25
M7	<i>suelo agrícola / composta / algas</i>	50-25-25
M8	<i>suelo agrícola / composta / rastrojo de maíz</i>	50-25-25
M9	<i>suelo agrícola / henequén / algas</i>	50-25-25
M10	<i>suelo agrícola / henequén / rastrojo de maíz</i>	50-25-25
M11	<i>suelo agrícola / algas / rastrojo de maíz</i>	50-25-25
M12	<i>suelo agrícola / composta / henequén/algas /rastrojo de maíz</i>	50-12.5-12.5-12.5-12.5

Nota: las biomezclas se generaron en proporción volumen/volumen según los diseños originales de cama biológica.

## **III.6 Comportamiento de los plaguicidas en los sustratos de estudio**

Estudios de comportamiento de los plaguicidas fueron realizados para los cinco sustratos empleados, esto con la finalidad de saber el porcentaje de plaguicida disipado mediante los mecanismos de evaporación-volatilización, fracción soluble, así como la fracción degradada y adsorbida.

### **Implementación de los sistemas**

Tres gramos de cada sustrato equivalentes a 1.65 g, 1.26 g, 0.66 g y 0.62 g peso seco para el suelo, composta, bagazo de henequén y algas respectivamente (rastrajo de maíz un gramo equivalente a 0.47 g peso seco) fueron puestos en el interior de frascos de vidrio con capacidad de 100 mL (90 sistemas en total). 1 mL de una solución a 10 mg/L para todos los plaguicidas empleados se aplicó a cada sistema. El equivalente de plaguicida aplicado fue de 10 µg para cada plaguicida. Una trampa de sílica consistente en dos gramos de sílica en pellets previamente activada y una malla de fibra de algodón como soporte (Figura 10) se empleó para capturar el plaguicida volátil. Previo a la implementación de los sistemas y la activación de la sílica, tanto los pellets de sílica como la malla de algodón fueron lavados en una mezcla de hexano-acetona 1:1 en proporción V/V para eliminar la existencia de silicatos que puedan ocasionar interferencia en la determinación de los plaguicidas por el método cromatográfico. El experimento se realizó para los tiempos de contacto con la mezcla de plaguicidas de 2, 6, 12, 24, 48 y 72 horas para todos los sustratos; todos los sistemas se implementaron por triplicado para cada tiempo. Las condiciones de operación de los sistemas fueron de  $29.6 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $58.5 \pm 5.8\%$  para la temperatura y la humedad respectivamente.

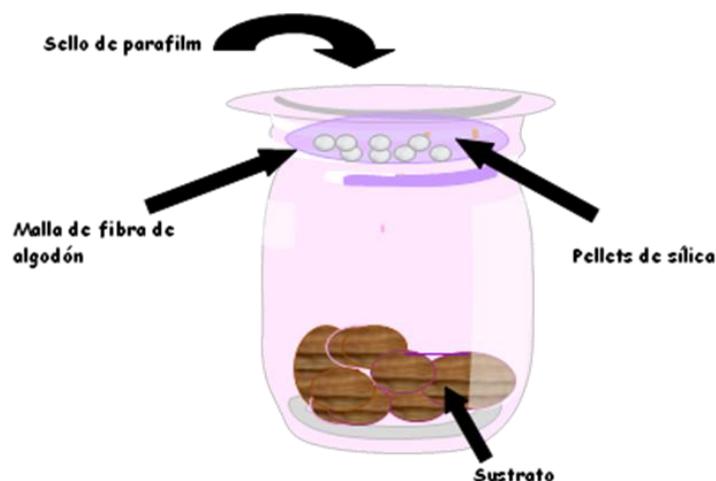


Figura 10. Sistemas para determinar la fracción volátil, soluble, así como degradada y adsorbida de plaguicida en los sustratos de estudio

### **Análisis y extracción de plaguicidas**

Al término de cada tiempo de contacto los sistemas se desarmaron, sometiendo la sílica y la malla a extracción asistida con microonda para determinar la fracción arrastrada por evaporación-volatilización del plaguicida. Al sustrato en los frascos de vidrio se le realizó un lavado con 10 ml de una solución  $\text{CaCl}_2$  a 0.01 M sin someter a agitación mecánica en shaker para evitar desorción forzada. El  $\text{CaCl}_2$  posterior al lavado fue sometido a una extracción fase sólida. Los métodos de extracción empleados corresponden a los descritos en la sección III.2.1. Por balance de masas entre la cantidad inicial aplicada menos la parte volátil y la parte recuperada en la solución de  $\text{CaCl}_2$  se determinó el plaguicida remanente que permaneció en el sustrato, el cual puede considerarse como adsorbido el plaguicida que se adsorbió, degradado o transformado.

Posterior al experimento de comportamiento y los resultados de los análisis cromatográficos, las cinéticas de volatilización, adsorción y plaguicida no adsorbido para los tiempos de estudio fueron determinados; lo anterior con la finalidad de poder describir de una mejor manera el destino de los plaguicidas en el ambiente.

### **III.7 Disipación de los plaguicidas en las camas biológicas**

#### **Análisis preliminar**

Previo a la implementación de las camas biológicas en el laboratorio, se realizó un estudio de disipación de los plaguicidas a nivel microcosmos con el suelo agrícola, esto con la finalidad de conocer el comportamiento de los plaguicidas y determinar los tiempos de muestreo para los sistemas pilotos de cama biológica. Para dicho experimento se seleccionaron los tiempos de 1, 3, 7, 10, 14, 18, 22 y 41 días para análisis de residuos de plaguicidas. Se implementaron 64 sistemas (8 replicas por tiempo) con un total de 3 g de suelo equivalente a 1.66 g peso seco en cada sistema; 0.5 mL de una solución de los cinco plaguicidas de prueba a concentraciones de 10800 mg/L, 25000 mg/L, 4600 mg/L, 3436 mg/L y 3600 mg/L para 2,4-D, atrazina, carbofuran, diazinon y glifosato respectivamente, esto equivalente a 3253.01 mg/kg, 7512.12 mg/kg, 1385.54 mg/kg, 2253.012 mg/kg y 1084.34 mg/kg de suelo para 2,4-D, atrazina, carbofuran, diazinon y glifosato respectivamente. Las concentraciones fueron seleccionadas según el uso real en el campo. Todos los sistemas se ajustaron al 90% de su capacidad de retención de agua. Las condiciones de operación fueron de  $29.6\pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $58.5\pm 5.8\%$  para la temperatura y la humedad respectivamente.

#### **Implementación de las camas biológicas**

Se implementaron setenta y dos camas biológicas a nivel laboratorio, seis para cada una de las doce mezclas, estas fueron almacenadas en el laboratorio como se muestra en la Figura 10. Cada sistema fue implementado considerando la proporción V/V como se muestra en la Tabla 6 del apartado **III.5**. Cada sistema consistió en un volumen total de  $500\text{ cm}^3$  el cual se determino mediante el uso de tazas medidoras. Los sistemas se implementaron 7 días previos al suministro de la mezcla de plaguicidas (Figura 11).



Figura 11. Sistemas implementados para determinar la disipación de plaguicidas en las biobed

### **Puesta en marcha y monitoreo de las camas biológicas**

Posterior a los 7 días de la implementación, al día cero se suministro la mezcla de los plaguicidas a cada cama biológica. Para determinar las concentraciones de cada plaguicida en la mezcla se tomó en cuenta la cantidad de plaguicida comercial empleada para preparar una mochila de aspersion de 20 litros según lo establecido por los estudios de campo donde se determinaron las dosis de plaguicidas a emplear. Al día cero se aplicó una cantidad de 100 ml de la mezcla de cinco plaguicidas modelo a todos los sistemas, su humedad se completo al 90% de la capacidad de retención de agua para cada biomezcla, la Tabla 9 muestra las características de operación de los sistemas.

Tabla 9. Condiciones de operación de los sistemas a nivel laboratorio en los 41 días del experimento.

<b>CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LOS SISTEMAS</b>	
<b>Cantidad total de sustrato en cada sistema</b>	500 cm <sup>3</sup>
<b>Plaguicidas aplicados y concentraciones de los mismos</b>	<b>100 ml de mezcla de:</b> CARBOFURAN – 1145 ppm (114.5 mg/500 cm <sup>3</sup> ) 2,4-D – 5400 ppm (540 mg/500 cm <sup>3</sup> ) DIAZINON – 1718 ppm (171.8 mg/500 cm <sup>3</sup> ) GLIFOSATO – 1800 ppm (180 mg/500 cm <sup>3</sup> ) ATRAZINA – 12500 ppm (1250 mg/500 cm <sup>3</sup> )
<b>Humedad de las mezclas al inicio del experimento</b>	90% de su CRA
<b>Temperatura ambiente de operación</b>	29.64 ± 1.96 °C
<b>Humedad ambiente de operación (HR)</b>	58.51 ± 5.76 %

\*CRA: Capacidad de retención de agua; \*HR: Humedad relativa. Nota: la temperatura ambiente y la HR fueron medidos mediante un sensor HOBO

La carga de plaguicidas aplicada fue solamente una al día cero, esto para un periodo de 41 días y dos muestreos, a los 20 y 41 días. Las extracciones de plaguicidas se realizaron inmediatamente a la toma de muestras de cada mezcla empleando el método de extracción sólido-líquido como se describe en la sección **III.2.1**. Un ejemplo de las extracciones mediante este método se puede ver en la Figura 12.



Figura 12. Extracciones, sistema de filtrado y viales.

El monitoreo de las camas biológicas consideró no solamente los muestreos en los periodos establecidos, si no también garantizar la humedad del sistema, esto se logró añadiendo semanalmente durante el tiempo del experimento 40 mL de agua destilada a cada sistema. Del mismo modo los parámetros pH y humedad de todas las mezclas se determinó a los 41 días.

### III.8 Determinación de especies microbianas

Para la determinación de la diversidad microbiana se realizó una extracción de ADN, cuantificación de la calidad del mismo y el estudio de secuenciación (Illumina Miseq). Los pasos a seguir se explican a continuación:

**Extracción de ADN.** La extracción de ADN se realizó de acuerdo al protocolo utilizado por Rojas (Rojas-Herrera et al. 2008) con leves modificaciones. Dada la naturaleza de las muestras, previo a la extracción de ADN se realizaron 8 lavados como método de limpieza. Se tomaron 0.5 g de cada muestra (4 muestras en total

por sextuplicado) y colocaron en tubos eppendorf, se añadió 1 ml de buffer TEN, homogenizó en vortex por 1 minuto y centrifugó 10 min a 10 000 xg a 4°C descartando el sobrenadante después de cada lavado. Las muestras se congelaron a -20°C, la extracción se realizó a las 24 horas del proceso de lavado. Para la extracción se añadió 1mL de buffer TEN a las muestras, se agitaron en vortex por 30 seg, posteriormente se añadió 20 µl de solución *lizosima chicken egg white* (20 mg/ml en buffer TEN) y se incubaron a 37°C por una hora, agitando suavemente durante 10 min. Se incubaron 10 min en un baño de hielo/alcohol seguido de 5 min en un baño de agua a 65°C, este paso se repitió 5 veces. Enseguida se añadieron 100 µL de dodecil sulfato sódico al 20%, se agito en vortex por 1 min y se incubó 30 min a 30°C. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo eppendorf, se añadió 500 µl de acetato de potasio 5 M, se incubó 5 min a 65°C y 20 min en un baño de hielo. Se centrifugó 30 min a 20,000 xg a 4°C y se transfirió el sobrenadante a otro tubo eppendorf. Se añadió 200 µL de una suspensión de SiO<sub>2</sub> y se agitó por inversión 3 min. Posteriormente se lavó la pastilla 2 veces con 1 mL de etanol al 70% (sin agitación) y se centrifugó cada vez durante 2 min a 16,000 xg a temperatura ambiente. Se dejó evaporar el etanol durante 15 min manteniendo el tubo eppendorf abierto. La pastilla se resuspendió en 50 µl de agua destilada estéril, se incubó 5 min a 55°C con agitación ocasional, se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo eppendorf (cuidando de no tomar sílice) y se guardó en congelación.

**Cuantificación de ADN.** Se tomó 1 µL del ADN extraído y la lectura se realizó en un espectrofotómetro Nanodrop (Thermo Scientiphic) a 260 y 280 nm, para su cuantificación y evaluación de pureza.

**Secuenciación Illumina MiSeq.** 50 µL de ADN extraído de las muestras de sustrato, se enviaron a secuenciar al servicio externo *Research and Testing Laboratory* de Lubbock, Texas. La base de datos derivada de este análisis se analizó con el clasificador de la base de datos del *Ribosomal Database Project*

(RDP). Las secuencias de bases y los porcentajes obtenidos de especies se ordenaron y clasificaron por muestra de estudio.

### **Determinación de índices de diversidad de especies**

Para un análisis más a detalle de la diversidad de especies presentes en las biomezclas seleccionadas se calcularon los índices alfa de diversidad de Simpson para la dominancia, y Shanon-Wiener para la equidad de especies. Para la diversidad beta se calculó el índice de similitud de Bray Curtis. Finalmente, el índice gamma en función a la riqueza de especies. Todos los índices fueron realizados para archaeas, bacterias y hongos empleando el Software Primer 6.1.16 + Permanova 1.0.1(Primer-E®) según las fórmulas presentadas por Moreno (2001). Con este índice a una distancia genética del 3% se determinó la similitud taxonómica de comunidades entre las diferentes biomezclas, realizando un análisis *dendrograma* y un *heat map*.

Las expresiones matemáticas empleadas para el cálculo de dichos índices se presentan a continuación:

#### **Índices de diversidad Alfa**

##### ***Índice de Simpson***

$$\lambda = \sum p_i^2 \dots\dots\dots(2)$$

$p_i$ : abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

##### ***Índice de Shannon-Wiener***

$$H = -\sum p_i \ln(p_i) \dots\dots\dots(3)$$

La equidad real de una muestra (E) se calcula mediante la expresión  $E = H_{\max} - H$  donde  $H_{\max} = \ln(S)$

$p_i$ : abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

$H_{\max}$ : Equidad ideal o máxima

$S$ : Número total de especies presentes en cada muestra

### Índice de diversidad Beta

#### Índice de Similitud de Bray Curtis

$$I_s = \frac{2a}{2a + b + c} \dots\dots\dots(4)$$

$a$  = número de especies presentes en ambas muestras

$b$  = número de especies presentes en el sitio A

$c$  = número de especies presentes en el sitio B

#### Índice de diversidad Gama

Este índice se calcula en base a la riqueza de especies.

$$Gamma = Alfa\_promedio \div Beta \dots\dots\dots(5)$$

$$Beta = \sum_j q_j (S_T - S_j) \dots\dots\dots(6)$$

$q_j$  = peso proporcional de la muestra  $j$ , basado en su área o cualquier otra medida de importancia relativa.

$S_T$  = Número total de especies registradas en el conjunto de muestras.

$S_j$  = Número de especies registradas en la muestra  $j$ .

## IV. Resultados y discusiones

### IV.1 Estudios de campo y aplicación de encuestas

La zona de estudio considerada corresponde al sur del estado de Yucatán, abarcándose los municipios de Peto y Tixmehuac. De las 21 encuestas aplicadas y las visitas al sitio, los datos relevantes para el presente estudio se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Uso y aplicación de plaguicidas en la zona de estudio.

MUNICIPIO	SUPERFICIE CULTIVADA	CULTIVOS PREDOMINANTES	PLAGUICIDAS EMPLEADOS	FRECUECNCIA DE APLICACIÓN
PETO (Poblados de Xoy y San Dionisio)	De 1 a 4 Hectáreas	Hortalizas, maíz, tubérculos varios y leguminosas de la región	Paraquat, malation, glifosato, carbofuran, 2,4-D, diazinon, lindano y extractos orgánicos	Semanalmente
TIXMEHUAC	72 Hectáreas	Hortalizas, papaya y pitahaya		

NOTAS: En Tixmehuac solo se aplicó una encuesta pero esta corresponde al principal productor de la zona; Los plaguicidas más empleados son los herbicidas.

La Figura 13 muestra la distribución en la actividad agrícola según el tipo de cultivo en las dos comunidades de estudio en Peto Yucatán. Respecto al gran productor en Tixmehuac, este emplea la agricultura por riego.

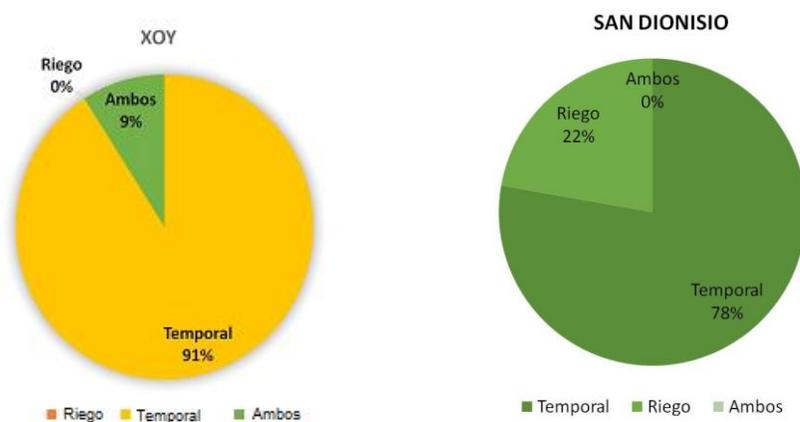


Figura 13. Distribución porcentual según tipo de cultivo empleado por los agricultores en las comunidades de Xoy y San Dionisio en Peto Yucatán.

La Tabla 11 presenta las sustancias activas y las marcas comerciales de las mismas empleadas en la zona de estudio según las encuestas aplicadas. Es importante hacer notar que, aunque no fueron mencionados en las encuestas, en la visita de campo se noto la presencia de contenedores vacios de plaguicidas tales como el lindano y diazinon. Plaguicidas como el paraquat son empleados cotidianamente, esto a pesar de estar en la lista de plaguicidas restringidos (INE 2010)

Tabla 11. Agentes activos y nombre comercial de los plaguicidas empleados en las comunidades de Xoy y San Dionisio

<b>XOY</b>	
<b>NOMBRE COMERCIAL</b>	<b>AGENTE ACTIVO</b>
Herbipol	2,4-D AMINA NO. 6 > Polaquimia:2,4-D, Sal dimetilamina 70%.
Secamax	Glifosato: Sal monoamónica de glifosato
Fuego	Paraquat
Lorsban	Clorpirifos etil: (O,O-dietil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinil) fosforotioato)
Tamaron	Metamidofos: O,S-Dimetil fosforoamidotioato.
Tordon 101	picloram, 2-4 D
Esteron	Acido 2,4-D:
Malation	Malation
Novapro	Clorpirifos etil
Furadan	Carbofuran
Monitor	Clorpirifos etil
Full-Mina	Acido 2,4-D
Cubridor	Clorotalonil: Tetracloroisofita Ionitrilo
Manzate	Mancozeb
Nuvacron	Monocrotophos
Secador	Paraquat
<b>SAN DIONISIO</b>	
<b>NOMBRE COMERCIAL</b>	<b>AGENTE ACTIVO</b>
Cinnamix	Aceites esenciales extraídos de plantas tropicales 8.00%
Biogarlic	Extracto orgánico de especies botánicas (Alomonas). Y jabón potásico de Higuierilla.
Bayfolan	Nutriente vegetal foliar
Humitron	Composición: ácidos húmicos 12.00%.
Secamax	Glifosato: Sal monoamónica de glifosato
Eco720	Clorotalonil
Ridomil	Metalaxil-M: (R)-2-[(2,6-dimetil-fenil)-metoxiacetilamino]-ácido propiónico metil éster

Nota: Plaguicidas mencionados solamente en las encuestas aplicadas.

De los estudios de campo se determinó que los plaguicidas de prueba que se emplearon en el proyecto fueron: glifosato, carbofuran, 2,4-D, diazinon y lindano, sin embargo, este último se suplió por la atrazina ya que el lindano a partir del año 2015 ya no se vende en las agropecuarias.

Respecto a la protección que los agricultores emplean, se observó una deficiencia de la misma. La protección comúnmente empleada para la aplicación de plaguicidas se limita a trapos, camisas o pañuelos para protegerse nariz y boca; del mismo modo no se usan los trajes especiales, en su lugar se sustituyen con camisas de manga larga y bolsas de nylon para protegerse la espalda de posibles derrames mientras se realiza la aplicación.

## IV.2 Caracterización de sustratos

De la caracterización de los sustratos empleando los métodos presentados en la Tabla 4 del apartado III.4 los resultados se presentan en las Tablas 12 y 13.

Tabla 12. Valores de Hm, pH, CR, CC y textura para los sustratos de estudio.

SUSTRATO	HUMEDAD (Hm)	pH	<sup>a</sup> CRA	<sup>b</sup> CC	TEXTURA
<b>SUELO</b>	44.65 ± 1.13%	7.25 ± 0.02	154%	150.89%	Franco Arenoso
<b>COMPOSTA</b>	57.90 ± 4.34%	7.85 ± 0.06	285%	114.22%	Franco Arenoso
<b>ALGAS</b>	79.48 ± 0.22%	7.48 ± 0.04	530%	---	---
<b>BAGAZO DE HENEQUÉN</b>	77.58 ± 0.33%	8.34 ± 0.26	715%	---	---
<b>RASTROJO DE MAÍZ</b>	52.63 ± 16.75%	7.85 ± 0.01	1,270%	---	---

Nota: La CRA está dada en función al peso seco de cada sustrato, por lo que dicho parámetro considera la humedad natural del sustrato. (a) Capacidad de retención de agua; (b) Capacidad de campo.

Tabla 13. Valores de DA, DR, MO, C, N, C/N y contenido de lignina para los sustratos de estudio.

SUSTRATO	DENSIDAD APARENTE (DA)(g/cm <sup>3</sup> )	DENSIDAD REAL (DR)(g/cm <sup>3</sup> )	<sup>a</sup> MO%	<sup>b</sup> C %	<sup>c</sup> N%	<sup>d</sup> C/N	LIGNINA%
<i>Suelo</i>	0.55	1.22	35.51	20.60	1.71	12.06	---
<i>Composta</i>	0.50	1.11	44.00	25.52	0.83	30.60	20.84
<i>Algas</i>	0.08	1.16	61.78	35.83	2.17	18.15	7.13
<i>Bagazo de henequén</i>	0.12	0.53	72.48	42.04	0.83	53.86	11.75
<i>Rastrojo de maíz</i>	0.04	0.30	87.89	50.98	0.75	73.49	6.46

(a) Materia orgánica; (b) Carbono total; (c) Nitrógeno total; (d) Relación carbono nitrógeno.

La Tabla 14 presenta los valores de pH y Humedad de las mezclas al término del experimento. La Tabla 15 muestra las concentraciones de los micro y macro nutrientes de interés. Es importante notar que al inicio del experimento todas las mezclas se llevaron al 90% de su capacidad de retención de agua, y que aun cuando semanalmente se les añadían 40 ml de agua destilada al menos la mitad de estas perdió más del 50% de su humedad.

Tabla 14. Valores de pH y Humedad (H) de las mezclas en los sistemas a los 41 días

BIOMEZCLA	pH	H%	BIOMEZCLA	pH	H%
<b>M1</b>	7.75 ± 0.53	77 ± 0.37	<b>M7</b>	7.65 ± 0.22	70 ± 0.20
<b>M2</b>	7.59 ± 0.36	66 ± 0.40	<b>M8</b>	7.67 ± 0.50	65 ± 0.38
<b>M3</b>	7.34 ± 0.53	52 ± 0.25	<b>M9</b>	7.37 ± 0.81	52 ± 0.42
<b>M4</b>	7.62 ± 0.86	65 ± 0.16	<b>M10</b>	7.63 ± 0.66	48 ± 0.31
<b>M5</b>	7.63 ± 0.75	56 ± 0.46	<b>M11</b>	7.60 ± 0.34	44 ± 0.21
<b>M6</b>	7.61 ± 0.27	64 ± 0.34	<b>M12</b>	7.52 ± 0.09	36 ± 0.24

Tabla 15. Concentraciones de micro y macro nutrientes en los sustratos de estudio ( $\mu\text{g/g}$ )

SUSTRATO	Cr	Cu	Fe	Mn	Zn	Ca	Na	K	Mg
<i>Suelo</i>	1.57 $\pm 1.48$	29.35 $\pm 2.45$	1,376.47 $\pm 94.20$	60.13 $\pm 4.53$	61.76 $\pm 8.88$	66,246.41 $\pm 13,157.04$	364.71 $\pm 721.60$	693.59 $\pm 404.43$	2,281.05 $\pm 136.30$
<i>Composta</i>	1.72 $\pm 1.60$	21.03 $\pm 1.10$	470.24 $\pm 27.28$	214.29 $\pm 1.98$	125.86 $\pm 5.29$	10,410.71 $\pm 682.85$	1,652.78 $\pm 3,944.07$	3,0107.50 $\pm 1,342.71$	753.31 $\pm 164.30$
<i>Algas (sargazo)</i>	0.93 $\pm 8.91$	5.77 $\pm 1.96$	55.09 $\pm 54.76$	8.63 $\pm 1.15$	20.18 $\pm 1.87$	3,676.49 $\pm 1,108.86$	3,255.68 $\pm 2,587.58$	1,287.93 $\pm 530.49$	1,109.12 $\pm 129.37$
<i>Bagazo de henequén</i>	No detectado	3.39 $\pm 0.72$	21.24 $\pm 26.30$	4.65 $\pm 1.15$	21.24 $\pm 4.15$	4,929.63 $\pm 1,922.99$	908.85 $\pm 525.24$	No detectado	422.23 $\pm 409.01$
<i>Rastrojo de maíz</i>	1.20 $\pm 3.88$	3.79 $\pm 0.60$	178.80 $\pm 44.87$	39.88 $\pm 3.99$	178.80 $\pm 1.69$	1,529.41 $\pm 199.31$	No detectado	10,917.47 $\pm 592.19$	1,248.92 $\pm 92.94$

NOTAS: Los valores de las concentraciones de Cr y K para el bagazo de henequén, así como el valor de la concentración de Na para el rastrojo de maíz se encuentran fuera del rango de detección.

### IV.3 Estudios de comportamiento de plaguicidas

Los estudios de comportamiento de plaguicidas fueron realizados para determinar el destino ambiental de los plaguicidas en los cinco sustratos empleados en los experimentos de disipación de plaguicidas; Este experimento consideró determinar la parte volátil (extracción sólido-líquido), la parte disponible en solución (extracción fase solida) y remanente en el sustrato (balance de masa).

#### Plaguicida volátil

Las Tablas 16, 17, 18, 19 y 20 presentan la cantidad de plaguicida volatilizado en todos los sustratos de prueba.

Tabla 16. 2,4-D volátil en el tiempo

2,4-D VOLATIL ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.320 $\pm$ 0.029	0.847 $\pm$ 0.027	0.924 $\pm$ 0.010	1.201 $\pm$ 0.015	0.925 $\pm$ 0.010
6	1.710 $\pm$ 0.009	0.966 $\pm$ 0.013	1.108 $\pm$ 0.029	1.695 $\pm$ 0.016	1.471 $\pm$ 0.066
12	2.283 $\pm$ 0.047	1.191 $\pm$ 0.032	1.428 $\pm$ 0.042	1.723 $\pm$ 0.012	1.154 $\pm$ 0.024
24	2.389 $\pm$ 0.064	1.407 $\pm$ 0.045	1.423 $\pm$ 0.019	1.673 $\pm$ 0.018	1.635 $\pm$ 0.015
48	2.294 $\pm$ 0.018	1.728 $\pm$ 0.025	1.384 $\pm$ 0.010	1.911 $\pm$ 0.018	1.730 $\pm$ 0.015
72	2.351 $\pm$ 0.083	2.087 $\pm$ 0.022	1.139 $\pm$ 0.113	1.934 $\pm$ 0.003	1.920 $\pm$ 0.074

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.048  $\mu\text{g}$

Tabla 17. Atrazina volátil en el tiempo

ATRAZINA VOLATIL ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.197 $\pm$ 0.097	0.975 $\pm$ 0.090	0.943 $\pm$ 0.001	1.054 $\pm$ 0.018	0.899 $\pm$ 0.015
6	1.522 $\pm$ 0.107	1.353 $\pm$ 0.072	1.140 $\pm$ 0.046	1.278 $\pm$ 0.004	0.897 $\pm$ 0.034
12	1.847 $\pm$ 0.075	1.474 $\pm$ 0.094	1.625 $\pm$ 0.030	1.406 $\pm$ 0.047	1.030 $\pm$ 0.126
24	2.035 $\pm$ 0.016	1.367 $\pm$ 0.010	1.549 $\pm$ 0.047	1.364 $\pm$ 0.043	0.985 $\pm$ 0.024
48	1.967 $\pm$ 0.028	1.337 $\pm$ 0.029	1.622 $\pm$ 0.015	1.419 $\pm$ 0.011	1.339 $\pm$ 0.059
72	2.280 $\pm$ 0.022	1.429 $\pm$ 0.019	1.620 $\pm$ 0.039	1.479 $\pm$ 0.025	1.285 $\pm$ 0.014

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.21  $\mu\text{g}$

Tabla 18. Carbofuran volátil en el tiempo

CABOFURAN VOLATIL ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.473 $\pm$ 0.197	1.665 $\pm$ 0.104	1.428 $\pm$ 0.027	1.092 $\pm$ 0.210	1.974 $\pm$ 0.275
6	2.157 $\pm$ 0.434	1.874 $\pm$ 0.233	1.965 $\pm$ 0.429	1.296 $\pm$ 0.152	2.609 $\pm$ 1.041
12	2.519 $\pm$ 0.445	2.228 $\pm$ 0.226	2.374 $\pm$ 0.306	1.623 $\pm$ 0.074	2.778 $\pm$ 0.442
24	2.321 $\pm$ 0.200	2.491 $\pm$ 0.370	3.102 $\pm$ 0.863	2.102 $\pm$ 0.312	2.876 $\pm$ 0.282
48	3.525 $\pm$ 0.405	2.562 $\pm$ 0.283	3.105 $\pm$ 0.286	2.207 $\pm$ 0.443	3.011 $\pm$ 0.212
72	3.738 $\pm$ 0.474	2.912 $\pm$ 0.284	3.137 $\pm$ 0.593	2.305 $\pm$ 0.503	3.431 $\pm$ 0.054

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.82  $\mu\text{g}$

Tabla 19. Diazinon volátil en el tiempo

TIEMPO (horas)	DIAZINON VOLATIL ( $\mu\text{g}$ )				
	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.139 $\pm$ 0.027	2.311 $\pm$ 0.129	1.199 $\pm$ 0.022	1.169 $\pm$ 0.011	2.132 $\pm$ 0.070
6	1.411 $\pm$ 0.034	2.715 $\pm$ 0.030	1.200 $\pm$ 0.026	1.764 $\pm$ 0.036	2.563 $\pm$ 0.063
12	1.897 $\pm$ 0.055	2.672 $\pm$ 0.038	1.418 $\pm$ 0.019	2.674 $\pm$ 0.036	2.987 $\pm$ 0.041
24	1.982 $\pm$ 0.030	2.712 $\pm$ 0.063	2.858 $\pm$ 0.179	2.547 $\pm$ 0.031	3.356 $\pm$ 0.104
48	4.856 $\pm$ 0.086	3.253 $\pm$ 0.024	4.213 $\pm$ 0.119	2.506 $\pm$ 0.025	4.762 $\pm$ 0.065
72	5.118 $\pm$ 0.113	3.861 $\pm$ 0.134	4.698 $\pm$ 0.096	2.683 $\pm$ 0.111	4.659 $\pm$ 0.068

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=11.81  $\mu\text{g}$

Tabla 20. Glifosato volátil en el tiempo

TIEMPO (horas)	GLIFOSATO VOLATIL ( $\mu\text{g}$ )				
	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	0.370 $\pm$ 0.005	0.110 $\pm$ 0.001	0.351 $\pm$ 0.007	0.477 $\pm$ 0.023	0.632 $\pm$ 0.065
6	0.410 $\pm$ 0.010	0.161 $\pm$ 0.005	0.640 $\pm$ 0.025	0.514 $\pm$ 0.014	0.739 $\pm$ 0.020
12	0.526 $\pm$ 0.020	0.135 $\pm$ 0.005	0.866 $\pm$ 0.023	0.536 $\pm$ 0.010	0.916 $\pm$ 0.031
24	0.617 $\pm$ 0.009	0.679 $\pm$ 0.053	0.745 $\pm$ 0.011	0.598 $\pm$ 0.030	0.963 $\pm$ 0.034
48	0.818 $\pm$ 0.011	1.149 $\pm$ 0.016	1.120 $\pm$ 0.019	0.787 $\pm$ 0.012	1.156 $\pm$ 0.016
72	0.934 $\pm$ 0.005	1.141 $\pm$ 0.016	1.101 $\pm$ 0.037	0.703 $\pm$ 0.008	1.189 $\pm$ 0.011

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=9.28  $\mu\text{g}$

La Tabla 16 muestra que la mayor cantidad de 2,4-D volátil se presentó en el suelo y la composta y la menor en el henequén al máximo tiempo de análisis, sin embargo este plaguicida tuvo importantes valores de volatilización para todos los sustratos, y el pH más alcalino en todos los sustratos parece ser la causa; esto se sustenta con lo establecido por Johnson et al. (1995), quienes establecen que el 2,4-D en suelos con pH más alcalinos ( $\text{pH} > 7$ ) está más disponible a fenómenos tales como la volatilización. La atrazina por su parte fue más volátil en el suelo y menos en las algas (Tabla 17). Hansen et al. (2013) establecen que la volatilización es el mecanismo de transporte menos importante para la atrazina; sin embargo, la volatilización de la atrazina fue corroborada (10-22.35%) en todos los sustratos en un periodo máximo de 3 días. Estos valores son incluso mayores a los reportados por Gish et al. (2011) de 12% a los 5 días, esto se puede atribuir

a que la atrazina empleada se encontraba en solución con agentes que incrementan su solubilidad, así como las condiciones ambientales de temperatura. El carbofuran como se muestra en la Tabla 18 fue más volátil en el suelo y las algas, y menos en el rastrojo, alcanzando una volatilización superior al 37% en suelo. Howard (1991) establecen que la volatilización no es un mecanismo de transporte para el carbofuran, sin embargo, a 35°C su pérdida por evaporación es posible; incluso a nivel laboratorio reportan volatilizaciones de este plaguicida de 5.8%. Otros investigadores como Banicha et al. (2012) reportan volatilizaciones del carbofuran de 18% y 5.6% en suelos inundados y no inundados. Estas marcadas diferencias de lo reportado en la bibliografía y lo obtenido en laboratorio pueden atribuirse a las características del suelo y los diferentes sustratos, así como a las características del plaguicida comercial empleado, muy diferente a los plaguicidas modelo comúnmente empleados en estudios de laboratorio.

Para el caso del diazinon la máxima volatilización se presentó en el suelo y mínima en el rastrojo (Tabla 19). Finalmente, el glifosato presentó su máxima volatilización en las algas y la mínima en el suelo (Tabla 20).

Es de importancia notar que algunos plaguicidas presentaron una disminución en la cantidad volátil según el sustrato de origen; el 2,4-D presentó una disminución a las 72 horas en el henequén, la atrazina en el henequén y las algas, el diazinon en las algas, y el glifosato en la composta, henequén y el rastrojo. Esto puede deberse a un proceso de saturación de la trampa de sílica y consecuente desorción del plaguicida de la trampa.

La Figura 14 muestra las cinéticas de volatilización de los plaguicidas para cada sustrato de estudio. Se puede observar como el diazinon fue el plaguicida que presentó la mayor volatilización, alcanzándose una volatilización máxima de dicho plaguicida de 43.4% de la concentración inicial en suelo a las 72 horas; por su parte el glifosato presentó la menor volatilización, siendo el rastrojo el sustrato con el menor porcentaje volatilizado (7.6%) a las 72 horas. De acuerdo al fabricante el diazinon empleado puede volatilizarse hasta en un 70% a 25°C, muy superior al

registrado en la investigación, pero al mismo tiempo la investigación registra volatilizaciones superiores en un 22% a las reportadas por Reddy y Michel (1999) en suelos empleados en procesos de compostaje. Para el caso del glifosato la volatilización no es considerada un medio de transporte (Schuette 1998; Tu et al. 2001), sin embargo, en este estudio se observó la volatilización de dicho plaguicida, incluso superior a otros plaguicidas; sin embargo todo parece indicar que el destino de este plaguicida fue la adsorción, degradación o transformación del mismo, lo cual se puede observar en los valores obtenidos en la fracción remanente (Tablas 26-30).

Lo anterior parece indicar que el estudio de la volatilización es más complejo, ya que tanto el sustrato, tiempo de exposición y el plaguicida afectan directamente este fenómeno de transporte. Del estudio de análisis de varianza multifactorial al 95% de confianza (ANOVA), se pudo comprobar que tanto el sustrato, el plaguicida y el tiempo de exposición fueron estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ) sobre la fracción volátil, presentado la siguiente relación de significancia: PLAGUICIDA ( $F=203.06$ ) > TIEMPO ( $F=83.33$ ) > SUSTRATO ( $F=13.20$ ), lo que indica que hay que prestar atención al tipo de plaguicida empleado.

El análisis de correlación de Spearman entre las fracciones volátil, soluble y, la degradada y adsorbida de los plaguicidas mostró que para una confianza del 95% la fracción soluble se correlaciona significativamente con las fracciones volátil ( $r=-0.42$ ) y remanente ( $r=-0.89$ ). Esto coincide con lo reportado por del Puerto et al. (2014), quienes establecen que la volatilización de los plaguicidas, por ejemplo en el suelo depende entre otras cosas de la solubilidad del plaguicida en el agua, las condiciones del ambiente y la naturaleza de los sustratos orgánicos presentes en el. Otros estudios han demostrado que la volatilización de los plaguicidas es mayor cuando el suelo contiene humedades cercanas al 100% (Spencer y Cliath 1973), esto coincide con el hecho de que las mayores volatilizaciones para esta investigación se presentaron en los sustratos con los contenidos de humedad más altos después de la aplicación de los plaguicidas.

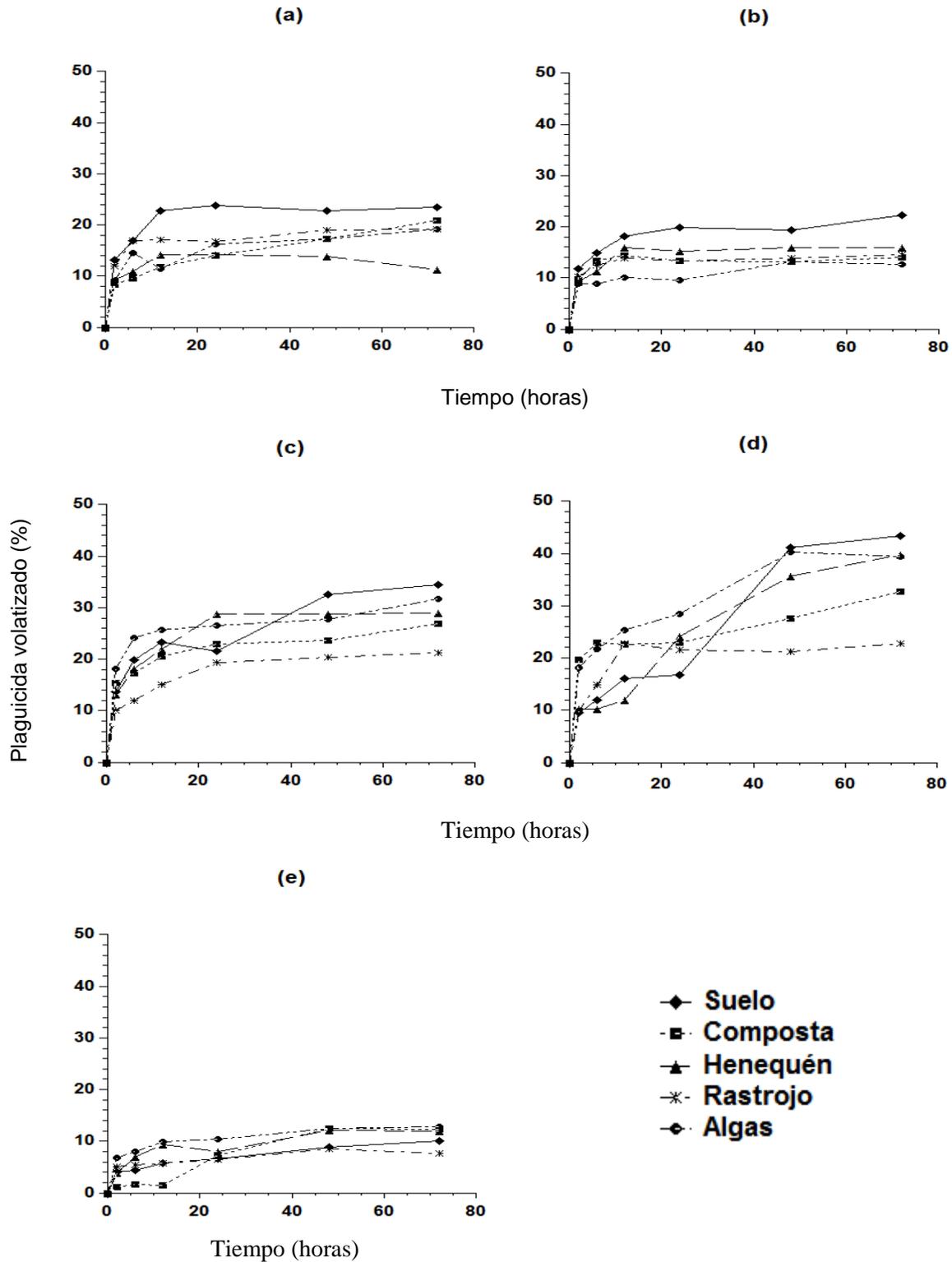


Figura 14. Porcentaje de plaguicidas volatilizados para los cinco sustratos. **(a)** 2,4-d; **(b)** Atrazina; **(c)** Carbofuran; **(d)** Diazinon y **(e)** Glifosato.

### Plaguicida soluble

Las tablas 21, 22, 23, 24 y 25 presentan la cantidad de plaguicida solubilizado en  $\text{CaCl}_2$  después de los tiempos de contacto para todos los sustratos de prueba.

Tabla 21. 2,4-D soluble en el tiempo

2,4-D soluble ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	8.477±0.222	8.784±0.321	9.074±0.110	8.750±0.128	9.083±0.111
6	6.091±0.055	8.342±0.133	8.601±0.263	7.306±0.095	7.975±0.452
12	5.267±0.207	7.297±0.273	6.874±0.292	7.084±0.071	5.808±0.213
24	4.066±0.268	6.109±0.323	6.801±0.135	7.023±0.107	5.236±0.089
48	2.567±0.078	5.860±0.148	6.746±0.073	7.075±0.094	5.047±0.085
72	2.484±0.357	5.854±0.106	6.198±1.000	7.112±0.018	5.078±0.386

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.048  $\mu\text{g}$

Tabla 22. Atrazina soluble en el tiempo

ATRAZINA soluble ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	7.547±0.829	7.533±0.940	9.242±0.009	8.282±0.175	8.435±0.170
6	7.444±0.715	5.165±0.545	8.867±0.416	7.824±0.035	7.496±0.385
12	5.290±0.417	3.452±0.648	5.242±0.186	7.133±0.341	6.970±1.249
24	3.670±0.080	3.232±0.077	4.734±0.310	4.549±0.320	5.647±0.244
48	3.314±0.145	3.079±0.225	3.769±0.097	4.561±0.082	5.083±0.447
72	2.830±0.099	2.973±0.134	3.559±0.245	4.496±0.176	4.468±0.114

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.21  $\mu\text{g}$

Tabla 23. Carbofuran soluble en el tiempo

CARBOFURAN soluble ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	7.755±0.157	9.155±0.073	9.083±0.022	8.998±0.225	8.803±0.163
6	5.797±0.235	8.417±0.146	7.646±0.256	8.629±0.137	7.136±0.467
12	4.931±0.207	7.885±0.119	6.446±0.151	8.294±0.053	5.455±0.186
24	4.489±0.101	6.641±0.174	6.325±0.326	7.408±0.174	5.358±0.115
48	4.544±0.135	6.606±0.129	6.498±0.108	6.771±0.235	4.746±0.082
72	4.534±0.148	6.517±0.114	6.607±0.221	6.426±0.255	4.758±0.018

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.82  $\mu\text{g}$

Tabla 24. Diazinon soluble en el tiempo

TIEMPO (horas)	DIAZINON soluble ( $\mu\text{g}$ )				
	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	7.990 $\pm$ 0.277	7.957 $\pm$ 0.659	9.224 $\pm$ 0.216	9.338 $\pm$ 0.112	8.932 $\pm$ 0.387
6	6.504 $\pm$ 0.285	7.567 $\pm$ 0.129	8.532 $\pm$ 0.258	7.737 $\pm$ 0.243	7.328 $\pm$ 0.289
12	5.117 $\pm$ 0.341	6.302 $\pm$ 0.168	6.858 $\pm$ 0.156	6.223 $\pm$ 0.160	6.014 $\pm$ 0.160
24	4.279 $\pm$ 0.181	5.722 $\pm$ 0.273	5.953 $\pm$ 0.739	4.817 $\pm$ 0.144	5.439 $\pm$ 0.366
48	4.062 $\pm$ 0.208	5.347 $\pm$ 0.089	5.106 $\pm$ 0.333	4.847 $\pm$ 0.120	4.304 $\pm$ 0.162
72	4.000 $\pm$ 0.261	4.478 $\pm$ 0.409	5.099 $\pm$ 0.241	4.329 $\pm$ 0.488	4.075 $\pm$ 0.173

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=11.81  $\mu\text{g}$

Tabla 25. Glifosato soluble en el tiempo

TIEMPO (horas)	GLIFOSATO soluble ( $\mu\text{g}$ )				
	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	7.656 $\pm$ 0.132	8.470 $\pm$ 0.105	8.594 $\pm$ 0.183	8.348 $\pm$ 0.448	7.683 $\pm$ 0.956
6	5.529 $\pm$ 0.217	7.526 $\pm$ 0.311	5.080 $\pm$ 0.365	7.632 $\pm$ 0.254	6.246 $\pm$ 0.246
12	3.530 $\pm$ 0.361	5.147 $\pm$ 0.344	5.032 $\pm$ 0.247	5.822 $\pm$ 0.170	5.065 $\pm$ 0.315
24	3.196 $\pm$ 0.137	3.940 $\pm$ 0.721	4.112 $\pm$ 0.133	4.988 $\pm$ 0.472	4.460 $\pm$ 0.323
48	2.765 $\pm$ 0.121	1.957 $\pm$ 0.132	3.677 $\pm$ 0.156	3.908 $\pm$ 0.145	4.141 $\pm$ 0.124
72	1.470 $\pm$ 0.048	1.818 $\pm$ 0.129	3.515 $\pm$ 0.313	3.700 $\pm$ 0.107	3.949 $\pm$ 0.089

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=9.88  $\mu\text{g}$

La Tabla 21 muestra que la mayor cantidad de 2,4-D arrastrado en la solución de  $\text{CaCl}_2$  se presentó en el suelo y la composta y la menor en el henequén al máximo tiempo de análisis. La atrazina por su parte fue más soluble cuando se encontraba en el rastrojo o las algas (Tabla 22). El carbofuran como se muestra en la Tabla 23 fue arrastrado en la solución de  $\text{CaCl}_2$  cuando estaba depositado en la composta, henequén y rastrojo. Para el caso del diazinon la máxima cantidad arrastrada en la solución se presentó en el henequén (Tabla 24). Finalmente, el glifosato presentó su máxima solubilidad en  $\text{CaCl}_2$  cuando se encontraba depositado en las algas, esto a partir de las 48 y 72 horas (Tabla 25).

La Figura 15 presenta las cinéticas de plaguicidas recuperado en solución solubilidad de  $\text{CaCl}_2$  para los tiempos de estudio en los diferentes sustratos.

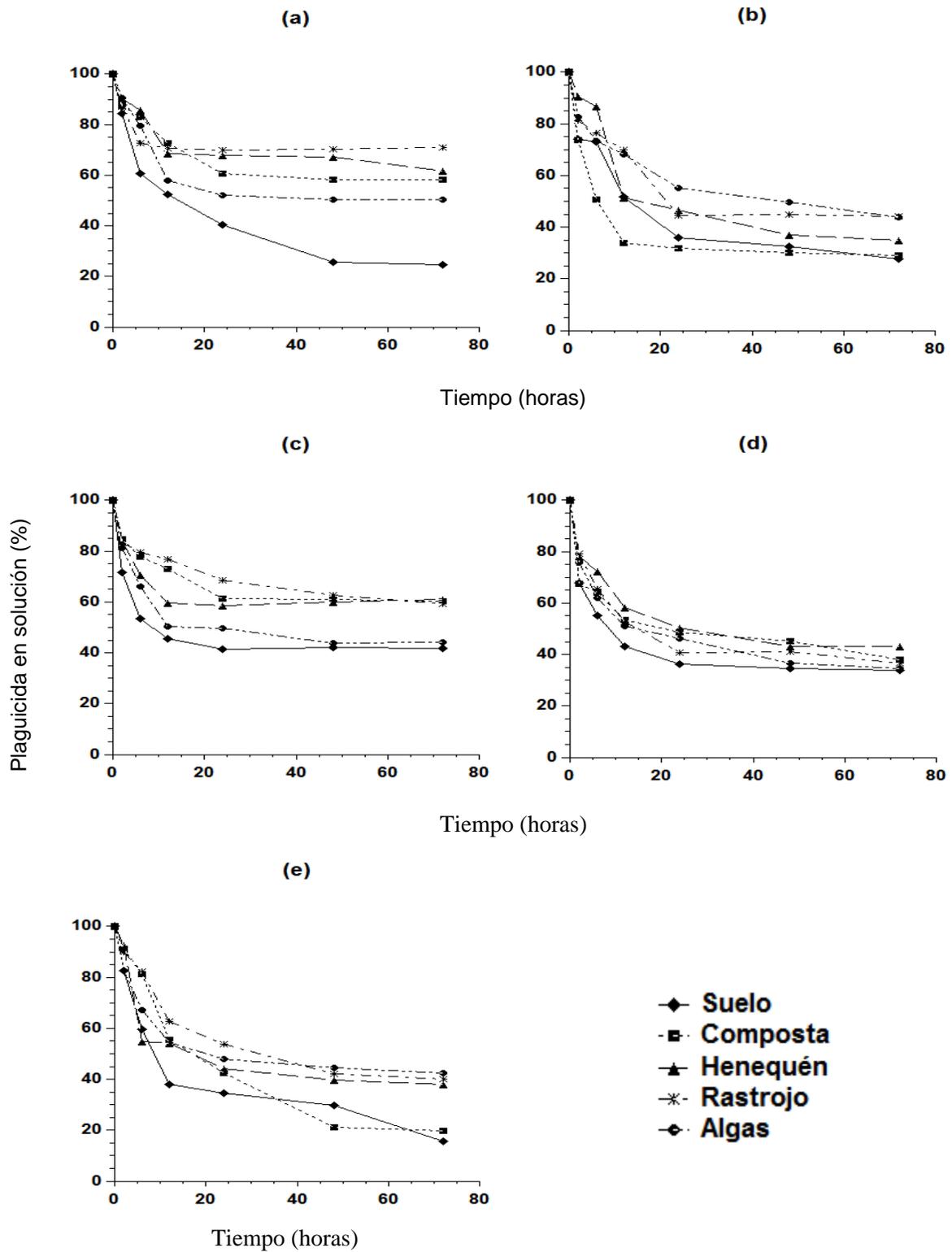


Figura 15. Porcentaje de plaguicidas recuperados en solución para los cinco sustratos. **(a)** 2,4-d; **(b)** Atrazina; **(c)** Carbofuran; **(d)** Diazinon y **(e)** Glifosato.

De las cinéticas se puede observar que el suelo tuvo tendencia a disminuir la cantidad de plaguicida recuperado en la solución de  $\text{CaCl}_2$  para casi todos los plaguicidas excepto para el 2,4-D donde la composta fue quien tuvo la tendencia a disminuir la cantidad de dicho plaguicida para solubilizarse. Esto puede asociarse a la afinidad que ciertos plaguicidas muestran a ser adsorbidos y por lo tanto permanecer en ciertos sustratos a pesar de los lavados con  $\text{CaCl}_2$ .

El estudio de análisis de varianza multifactorial al 95% de confianza (ANOVA) mostró que al igual que en la fracción volátil, el sustrato, plaguicida y tiempo de exposición fueron estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ) sobre la fracción soluble; sin embargo la relación de significancia para este caso fue: TIEMPO ( $F=308.25$ )>SUSTRATO ( $F=63.24$ )>PLAGUICIDA ( $F=56.39$ ). Lo anterior se puede observar en la Figura 15, donde, en todos los sustratos la fracción soluble disminuía en el tiempo para todos los plaguicidas.

Adicionalmente una correlación de Spearman mostró que la fracción soluble presenta una correlación estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ;  $r = -0.88$ ) con la fracción degradada y adsorbida; esto coincide con lo reportado por algunos autores que establecen que la solubilidad de un plaguicida está relacionada con su adsorción y persistencia, y que cuanto más soluble es un plaguicida, más probable es que se degrade químicamente, y que los plaguicidas menos solubles tienen un mayor potencial contaminante (Cabildo et al. 2008; CICOPLAFEST 1998). Para esta investigación el caso mas especial fue el 2,4-D, el cual fue el plaguicida que mejor se recupero en la solución de  $\text{CaCl}_2$ , y cuyo comportamiento coincide completamente con lo reportado por la PPDB (2016) que lo clasifican junto con el glifosato como los plaguicidas más solubles de los empleados en esta investigación.

### Plaguicida degradado y adsorbido

Las tablas 26, 27, 28, 29 y 30 presentan la cantidad de plaguicida degradado y adsorbido.

Tabla 26. 2,4-D degradado y adsorbido en el tiempo

2,4-D degradado y adsorbido ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	0.250 $\pm$ 0.006	0.417 $\pm$ 0.013	0.049 $\pm$ 0.001	0.096 $\pm$ 0.001	0.096 $\pm$ 0.000
6	2.247 $\pm$ 0.012	0.740 $\pm$ 0.010	0.339 $\pm$ 0.009	1.046 $\pm$ 0.010	1.046 $\pm$ 0.027
12	2.498 $\pm$ 0.052	1.560 $\pm$ 0.042	1.746 $\pm$ 0.051	1.241 $\pm$ 0.009	1.241 $\pm$ 0.066
24	3.593 $\pm$ 0.096	2.531 $\pm$ 0.082	1.823 $\pm$ 0.025	1.351 $\pm$ 0.014	1.351 $\pm$ 0.028
48	5.187 $\pm$ 0.040	2.460 $\pm$ 0.036	1.917 $\pm$ 0.014	1.061 $\pm$ 0.010	1.061 $\pm$ 0.028
72	5.213 $\pm$ 0.185	2.107 $\pm$ 0.022	2.711 $\pm$ 0.270	1.002 $\pm$ 0.002	1.002 $\pm$ 0.117

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.048  $\mu\text{g}$

Tabla 27. Atrazina degradado y adsorbido en el tiempo

ATRAZINA degradado y adsorbido ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.466 $\pm$ 0.119	1.702 $\pm$ 0.157	0.025 $\pm$ 0.000	0.874 $\pm$ 0.015	0.876 $\pm$ 0.015
6	1.243 $\pm$ 0.087	3.692 $\pm$ 0.197	0.203 $\pm$ 0.008	1.108 $\pm$ 0.004	1.817 $\pm$ 0.068
12	3.073 $\pm$ 0.126	5.284 $\pm$ 0.335	3.343 $\pm$ 0.061	1.672 $\pm$ 0.056	2.210 $\pm$ 0.270
24	4.505 $\pm$ 0.035	5.611 $\pm$ 0.042	3.927 $\pm$ 0.119	4.297 $\pm$ 0.134	3.578 $\pm$ 0.085
48	4.928 $\pm$ 0.070	5.794 $\pm$ 0.127	4.819 $\pm$ 0.046	4.230 $\pm$ 0.034	3.788 $\pm$ 0.166
72	5.100 $\pm$ 0.049	5.808 $\pm$ 0.076	5.030 $\pm$ 0.121	4.235 $\pm$ 0.073	4.458 $\pm$ 0.050

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.21  $\mu\text{g}$

Tabla 28. Carbofuran degradado y adsorbido en el tiempo

CARBOFURAN degradado y adsorbido ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.592 $\pm$ 0.023	0.000 $\pm$ 0.000	0.309 $\pm$ 0.001	0.730 $\pm$ 0.015	0.043 $\pm$ 0.001
6	2.866 $\pm$ 0.062	0.529 $\pm$ 0.007	1.210 $\pm$ 0.029	0.895 $\pm$ 0.011	1.075 $\pm$ 0.046
12	3.370 $\pm$ 0.064	0.708 $\pm$ 0.008	2.000 $\pm$ 0.028	0.903 $\pm$ 0.004	2.587 $\pm$ 0.045
24	4.010 $\pm$ 0.037	1.688 $\pm$ 0.027	1.393 $\pm$ 0.042	1.310 $\pm$ 0.021	2.587 $\pm$ 0.027
48	2.751 $\pm$ 0.034	1.653 $\pm$ 0.020	1.217 $\pm$ 0.012	1.842 $\pm$ 0.040	3.062 $\pm$ 0.023
72	2.548 $\pm$ 0.035	1.392 $\pm$ 0.015	1.076 $\pm$ 0.022	2.089 $\pm$ 0.049	2.631 $\pm$ 0.004

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=10.82  $\mu\text{g}$

Tabla 29. Diazinon degradado y adsorbido en el tiempo

DIAZINON degradado y adsorbido ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	2.676 $\pm$ 0.063	1.536 $\pm$ 0.086	1.382 $\pm$ 0.025	1.297 $\pm$ 0.012	0.741 $\pm$ 0.024
6	3.889 $\pm$ 0.094	1.523 $\pm$ 0.017	2.072 $\pm$ 0.045	2.304 $\pm$ 0.048	1.914 $\pm$ 0.047
12	4.791 $\pm$ 0.138	2.829 $\pm$ 0.040	3.529 $\pm$ 0.047	2.907 $\pm$ 0.039	2.804 $\pm$ 0.038
24	5.544 $\pm$ 0.085	3.371 $\pm$ 0.078	2.993 $\pm$ 0.187	4.441 $\pm$ 0.054	3.010 $\pm$ 0.093
48	2.886 $\pm$ 0.051	3.205 $\pm$ 0.024	2.487 $\pm$ 0.070	4.451 $\pm$ 0.045	2.739 $\pm$ 0.038
72	2.687 $\pm$ 0.060	3.466 $\pm$ 0.120	2.008 $\pm$ 0.041	4.794 $\pm$ 0.198	3.072 $\pm$ 0.045

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=11.81  $\mu\text{g}$

Tabla 30. Glifosato degradado y adsorbido en el tiempo

GLIFOSATO degradado y adsorbido ( $\mu\text{g}$ )					
TIEMPO (horas)	SUELO	COMPOSTA	HENEQUEN	RASTROJO	ALGAS
2	1.254 $\pm$ 0.018	0.700 $\pm$ 0.008	0.335 $\pm$ 0.007	0.455 $\pm$ 0.022	0.965 $\pm$ 0.099
6	3.341 $\pm$ 0.078	1.594 $\pm$ 0.053	3.559 $\pm$ 0.140	1.134 $\pm$ 0.031	2.295 $\pm$ 0.061
12	5.223 $\pm$ 0.203	3.999 $\pm$ 0.148	3.382 $\pm$ 0.090	2.922 $\pm$ 0.054	3.299 $\pm$ 0.112
24	5.466 $\pm$ 0.081	4.660 $\pm$ 0.362	4.424 $\pm$ 0.063	3.694 $\pm$ 0.188	3.857 $\pm$ 0.134
48	5.697 $\pm$ 0.074	6.175 $\pm$ 0.088	4.482 $\pm$ 0.075	4.585 $\pm$ 0.072	3.983 $\pm$ 0.053
72	6.877 $\pm$ 0.036	6.321 $\pm$ 0.088	4.664 $\pm$ 0.157	4.876 $\pm$ 0.056	4.141 $\pm$ 0.040

\*Cantidad inicial aplicada: Teórica=10  $\mu\text{g}$ ; Real=9.88  $\mu\text{g}$

La Tabla 26 muestra que la mayor cantidad de 2,4-D degradado y adsorbido se presentó en el suelo con una tendencia generalizada para todos los tiempos de muestreo. La atrazina por su parte presentó su mayor degradado y adsorbido en la composta, esto para todos los tiempos de análisis (Tabla 27). El carbofuran como se muestra en la Tabla 28 presentó inflexiones en las cantidades de plaguicida degradado y adsorbido para el suelo (24 h), composta (24 h), henequén (12 h) y algas (48 h). Para el caso del diazinon se presenta la misma tendencia que para el carbofuran con excepción de las algas cuya inflexión para la máxima cantidad de plaguicida se da a las 24 h (Tabla 29). Finalmente, el glifosato presentó su mayor degradado y adsorbido en el suelo para todos los tiempos de análisis (Tabla 30).

La Figura 16 muestra las cinéticas de plaguicida degradado y adsorbido para todos los sustratos estudiados. Es importante notar que el suelo presentó la mayor

degradación y adsorción en el tiempo para todos los plaguicidas excepto la atrazina donde la composta presento los máximos valores.

Comparando con los demás plaguicidas el glifosato fue el que más se degradó y adsorbió en todos los sustratos. Según Busse et al. (2001) y Gimsing et al. (2004), el glifosato no es un plaguicida considerado como peligroso debido a su alta adsorción y su rápida degradación relativa. Con esto se puede inferir que una gran cantidad de este plaguicida fue adsorbida y otra se degradó, lo que se corrobora con los valores más altos de la fracción degradada y adsorbida entre todos los plaguicidas. El caso de la atrazina y el diazinon son similares. Como se informó anteriormente, la fracción soluble y la fracción degradada y adsorbida están bien correlacionadas, pero no esta última con la fracción volátil ( $P > 0,05$ ;  $r = -0,04$ ).

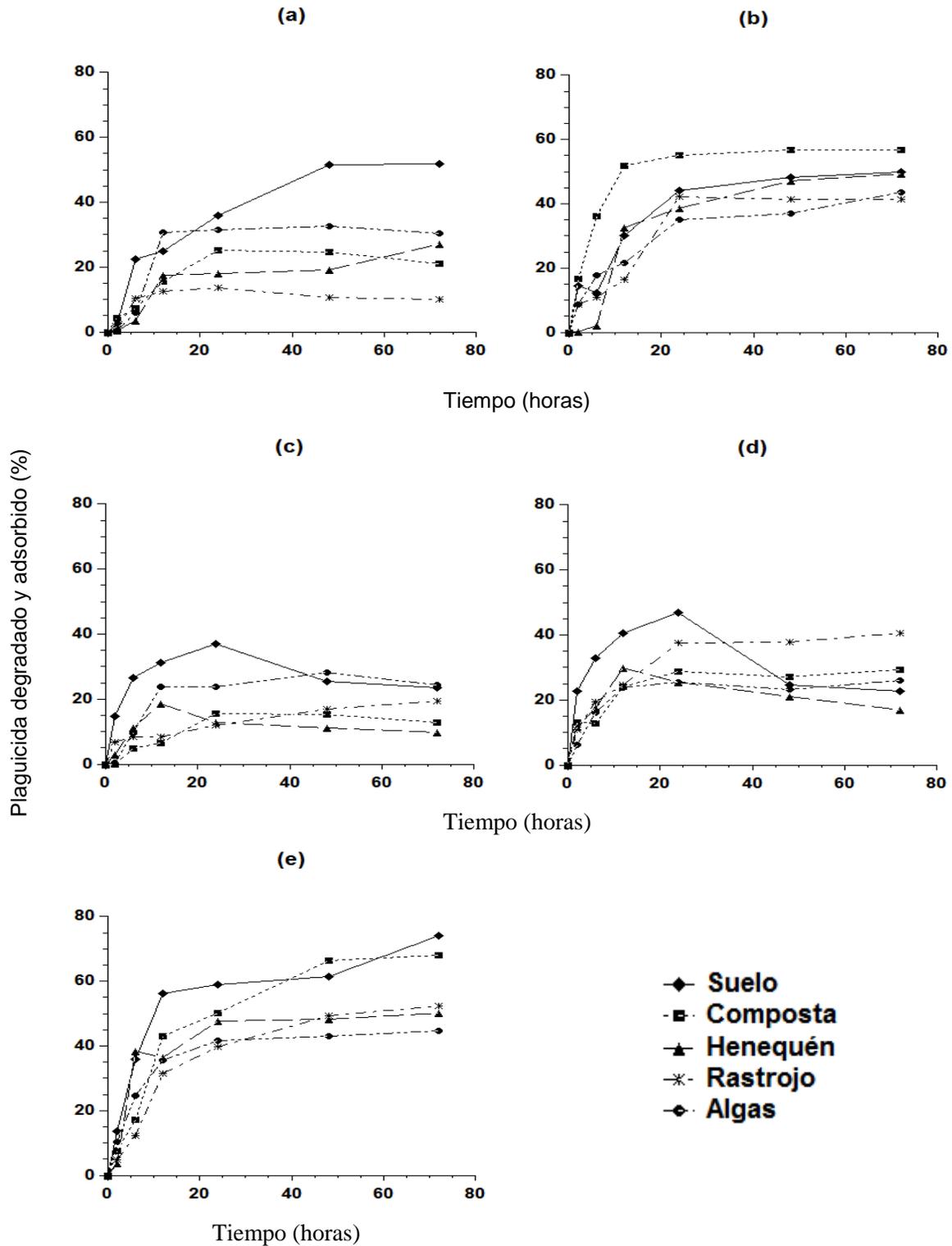


Figura 16. Porcentaje de plaguicidas degradado y adsorbido para los cinco sustratos. **(a)** 2,4-D; **(b)** Atrazina; **(c)** Carbofuran; **(d)** Diazinon y **(e)** Glifosato.

## IV.4 Análisis de residuos de plaguicidas en las biomezclas

### Estudio preliminar

La Figura 17 muestra el comportamiento de los plaguicidas a través del tiempo para el suelo agrícola. El tiempo de 18 días fue suficiente para disipar más del 90% de la concentración inicial aplicada de cada plaguicida. Análisis de varianza multifactorial ANOVA al 95% de confianza para determinar el efecto del tiempo, el tipo de plaguicida y la concentración inicial del mismo, mostró que tanto el tiempo ( $P < 0.05$ ) como el tipo de plaguicida ( $P < 0.05$ ) fueron significativos en la disipación del plaguicida, no así la concentración inicial ( $P > 0.05$ ). De lo anterior los tiempos de 20 y 41 días fueron seleccionados para los estudios de disipación de plaguicidas para las 12 biomezclas de prueba.

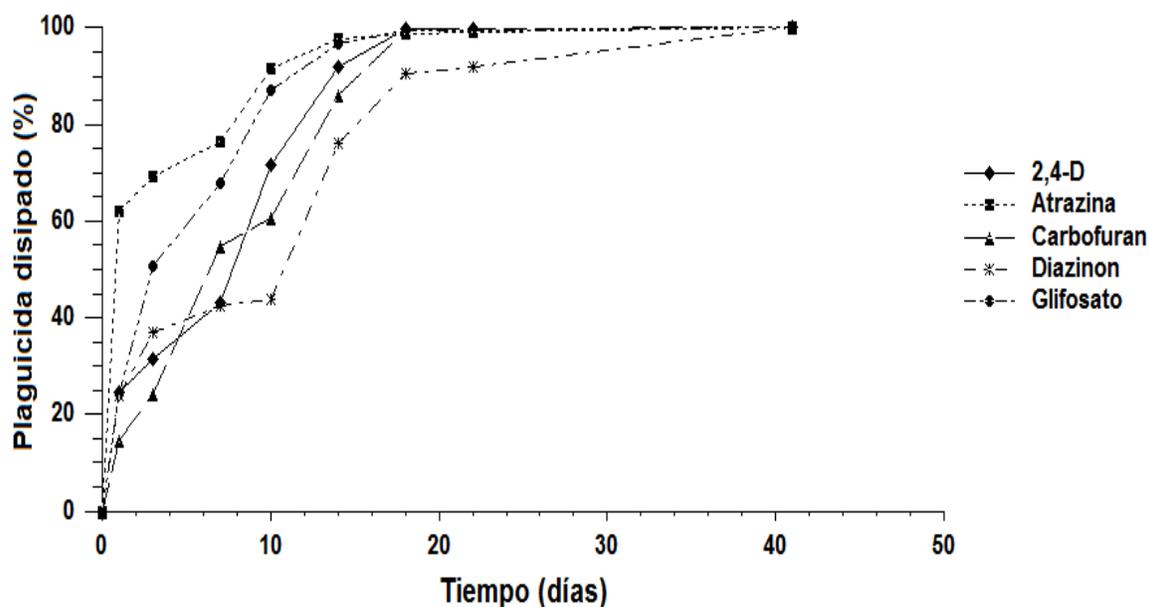


Figura 17. Cinética de disipación de los plaguicidas de estudio en suelo agrícola

### Disipación de los plaguicidas en las camas biológicas

Las Tablas 31 y 32 muestran los resultados de los análisis cromatográficos realizados para los muestreos y extracciones a los 20 y 41 días respectivamente.

Tabla 31. Cantidad remanente de plaguicida a los 20 días

Biomezcla	Concentración de plaguicida remanente ( $\mu\text{g}/500\text{cm}^3$ de biomezcla)				
	2,4-D	CARBOFURAN	ATRAZINA	DIAZINON	GLIFOSATO
<b>M1</b>	1.28 $\pm$ 0.16	1.26 $\pm$ 0.06	4.29 $\pm$ 0.05	3.38 $\pm$ 0.09	3.14 $\pm$ 0.09
<b>M2</b>	0.35 $\pm$ 0.03	1.28 $\pm$ 0.05	2.87 $\pm$ 0.06	2.17 $\pm$ 0.08	2.02 $\pm$ 0.05
<b>M3</b>	0.25 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.06	2.56 $\pm$ 0.08	2.08 $\pm$ 0.03	0.90 $\pm$ 0.10
<b>M4</b>	0.27 $\pm$ 0.02	0.83 $\pm$ 0.05	2.82 $\pm$ 0.28	2.34 $\pm$ 0.04	2.04 $\pm$ 0.05
<b>M5</b>	0.13 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.01	1.29 $\pm$ 0.05	0.72 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.04
<b>M6</b>	0.15 $\pm$ 0.02	0.67 $\pm$ 0.06	2.51 $\pm$ 0.12	1.75 $\pm$ 0.041	1.45 $\pm$ 0.10
<b>M7</b>	0.15 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.04	1.72 $\pm$ 0.01	1.11 $\pm$ 0.1	0.72 $\pm$ 0.08
<b>M8</b>	0.27 $\pm$ 0.04	0.37 $\pm$ 0.10	1.67 $\pm$ 0.01	1.12 $\pm$ 0.22	0.87 $\pm$ 0.04
<b>M9</b>	0.39 $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.04	3.69 $\pm$ 0.04	2.90 $\pm$ 0.04	2.80 $\pm$ 0.07
<b>M10</b>	0.24 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.01	1.70 $\pm$ 0.06	1.17 $\pm$ 0.02	0.92 $\pm$ 0.04
<b>M11</b>	0.17 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.04	2.23 $\pm$ 0.67	2.30 $\pm$ 0.01	1.53 $\pm$ 0.05
<b>M12</b>	0.13 $\pm$ 0.01	0.98 $\pm$ 0.04	2.78 $\pm$ 0.12	2.74 $\pm$ 0.09	1.91 $\pm$ 0.13

\*Concentración inicial ( $\text{mg}/500 \text{ cm}^3$ ) de 2,4-D=540; carbofuran=114.5; atrazina=1250; diazinon= 171.8 y glifosato=180

La Tabla 31 muestra los remanentes de los plaguicidas a los 20 días del experimento, estas cantidades son por mucho menores a las concentraciones iniciales aplicadas. Porcentualmente, a los 20 días la disipación de los plaguicidas fue superior al 98% de la concentración inicial en todas las mezclas, sin embargo el diazinon y el glifosato presentaron los mayores remanentes entre todos los plaguicidas. Una prueba múltiple de rangos al 95% de confianza a los 20 días mostro cuatro grupos homogéneos, Grupo 1: M3, M5, M6, M7, M8 y M10; Grupo 2: M3, M6, M7, M8, M10 y M11; Grupo 3: M2, M3, M4, M6, M9 y M11, y Grupo 4: M1, M2, M9 y M12. De estos grupos las mezclas que conforman el grupo 1 coinciden con aquellas que registraron los valores más bajos de remanentes de plaguicidas, siendo estos inferiores al 0.6% de la cantidad total aplicada para todos los plaguicidas combinados ( $\text{Co}=2.26 \text{ g}$ ) (Figura 18).

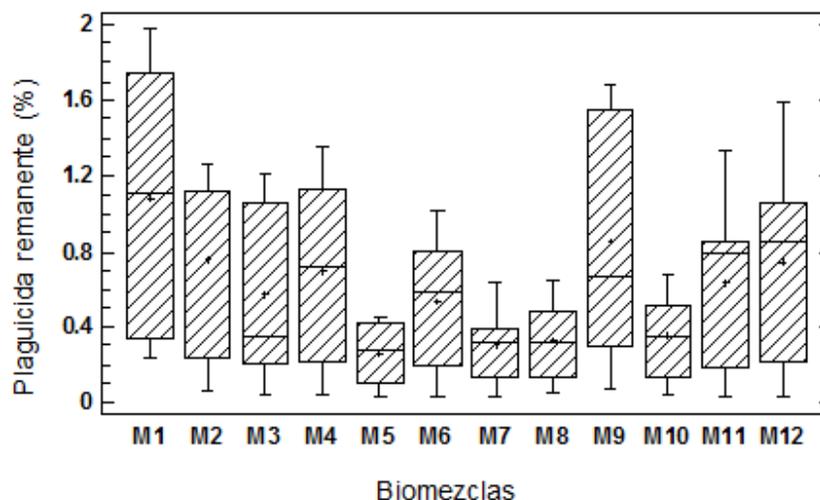


Figura 18. Gráfica de cajas y bigotes para el remanente de plaguicidas en todas las biomezclas a los 20 días (n=180); (+) Media; (-) Mediana.

A los 41 días el comportamiento de disipación de los plaguicidas siguió en tendencia decreciente, sin embargo, la disipación entre los 20 y 41 días no fue tan marcada porcentualmente como si lo fue del día cero al día 20.

La Tabla 32 presenta los remanentes de cada plaguicida aplicado a los doce sistemas de cama biológica a los 41 días. El carbofuran y la atrazina fueron los únicos plaguicidas que fueron detectados en todas las mezclas. El glifosato por su parte es quizá el plaguicida más sobresaliente, ya que no se detectó en ninguna de las doce mezclas, por lo que podríamos asumir una completa disipación. de Roffignac et al. (2008) reportan una degradación del 99% para el glifosato a seis meses usando una mezcla de bagazo de caña de azúcar y suelo en proporción 3:1 (v/v); en esta investigación la biomezcla M3 fue similar (suelo-bagazo de henequén, 1:1; v/v), sin embargo 41 días fue suficiente para disipar prácticamente todo el glifosato aplicado, este corto tiempo puede deberse a las diferencias en la proporción del suelo entre las dos biomezclas, los parámetros fisicoquímicos y la acción de los microorganismos presentes.

Tabla 32. Remanente de plaguicidas en las doce mezclas a los 41 días.

Biomezcla	Concentración de plaguicida remanente ( $\mu\text{g}/500 \text{ cm}^3$ )				
	2,4-D	CARBOFURAN	ATRAZINA	DIAZINON	GLIFOSATO
<b>M1</b>	0.29+0.02	0.73±0.08	2.29±0.08	0.13±0.04	ND
<b>M2</b>	0.13±0.01	0.80±0.11	1.40±0.17	0.16±0.04	ND
<b>M3</b>	0.13±0.03	0.11±0.05	1.35±0.04	0.17±0.03	ND
<b>M4</b>	0.11±0.01	0.50±0.08	1.40±0.12	ND	ND
<b>M5</b>	ND	0.10±0.02	0.62±0.00	0.08±0.01	ND
<b>M6</b>	ND	0.49±0.13	1.17±0.05	ND	ND
<b>M7</b>	ND	0.17±SD	0.89±0.13	ND	ND
<b>M8</b>	ND	0.13±0.01	0.79±0.03	ND	ND
<b>M9</b>	0.21±0.04	0.28±0.10	1.97±0.07	0.14±0.03	ND
<b>M10</b>	ND	0.19±0.06	0.92±0.04	ND	ND
<b>M11</b>	0.13±0.02	0.18±0.06	1.12±0.06	ND	ND
<b>M12</b>	ND	0.14±0.01	1.42±0.10	0.06±0.01	ND

\*Concentración inicial ( $\text{mg}/500 \text{ cm}^3$ ) de 2,4-D=540; carbofuran=114.5; atrazina=1250; diazinon=171.8 y glifosato=180. ND: no detectado; SD: sin desviación estándar.

Las mezclas M5, M6, M7, M8, M10 y M12 presentan los menores remanentes porcentuales para todos los plaguicidas a los 41 días, sin embargo una prueba múltiple de rangos al 95% mostró dos grupos homogéneos, Grupo 1: M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 y M12 y Grupo 2: M1, M2, M4, M6 y M9, siendo este último grupo el que mostró los mayores remanentes de plaguicida respecto de la cantidad total aplicada para todos los plaguicidas combinados ( $\text{Co}=2.26 \text{ g}$ ) (Figura 19).

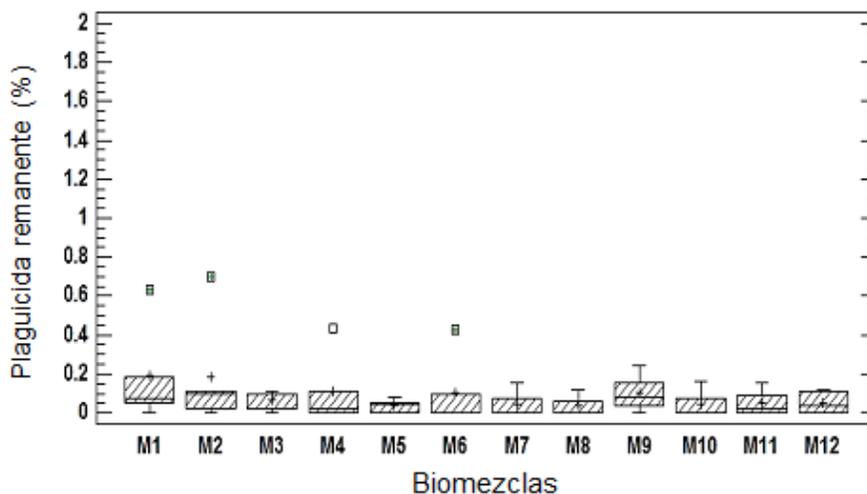


Figura 19. Gráfica de cajas y bigotes para el remanente de plaguicidas en todas las biomezclas a los 41 días (n=180); (+) Media; (-) Mediana.

Los resultados anteriores muestran que los sistemas de cama biológica tuvieron altas disipaciones de plaguicidas a los 20 y 41 días (mayores del 98% y 99% respectivamente), lo que coincide con las disipaciones promedio del 90% para varios plaguicidas (incluyendo atrazina) en dispositivos de cama biológica reportadas por varios investigadores (Ponce-Caballero 2005; Castillo et al. 2008, de Roffignac et al., 2008); esto sustenta el hecho de que los nuevos materiales en las biomezclas aumentan la disipación, incluso en tiempos más cortos.

De todo lo anterior sobresale el hecho de que a los 20 días un equivalente a 2252.75 mg del total de plaguicidas aplicados fue disipado, de este modo la contaminación de  $22.53 \times 10^6$  litros de agua se evitó, esto de acuerdo a la norma de la Comunidad Europea (2006/118/EC, 2008/105/EC) que establece un límite de referencia de 0.1 mg/L para cualquier plaguicida en agua de consumo.

#### IV.5 Estudios de diversidad microbiana (Análisis de ADN).

Del estudio de disipación de los plaguicidas en las 12 biomezclas, y de acuerdo a la prueba múltiple de rangos, se seleccionaron las mezclas M5, M7, M8 y M10 para

la extracción de ADN y estudios de secuenciación; adicionalmente los mismos análisis se realizaron en la mezcla M1 (suelo).

La Figura 20 presenta la distribución de secuencias y porcentaje de los microorganismos identificados según el reino.

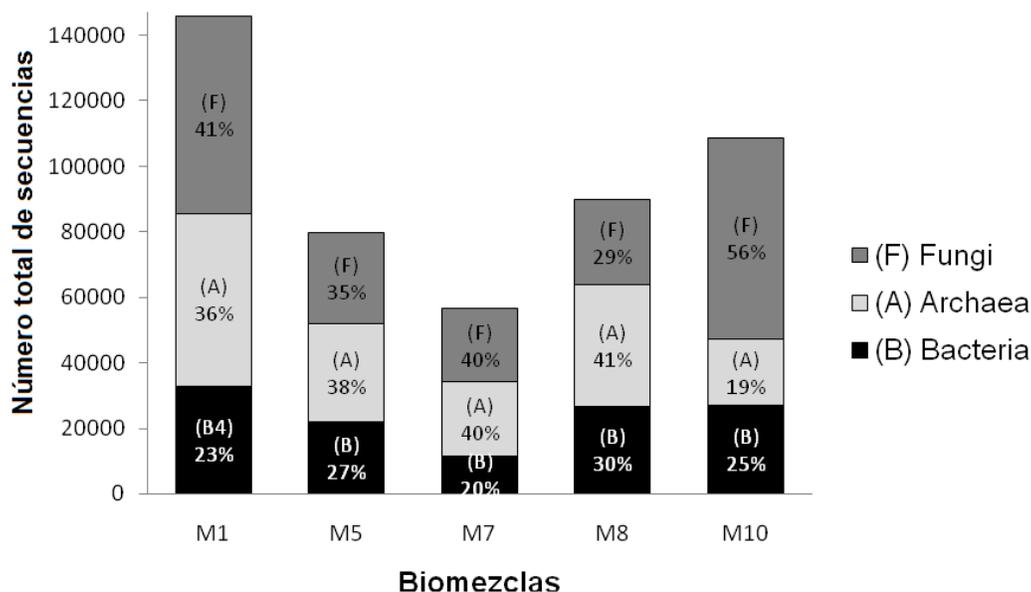


Figura 20. Distribución porcentual del total de microorganismos identificados según reino para cada biomezcla seleccionada.

De la gráfica anterior se puede observar como el mayor número de secuencias identificadas se presentó en la mezcla M1 (suelo). Porcentualmente la biomezcla M10 tiene la mayor presencia de hongos, y la M8 de archaeas y bacterias. Es importante notar que las biomezclas M1, M7 y M10 presentan el mayor porcentaje de hongos entre las biomezclas de estudio; sin embargo, M7 y M10 son aquellas que en su composición incluyen los sustratos con el mayor contenido de lignina, tales como la composta (M7) y el bagazo de henequén y rastrojo de maíz (M10). El alto porcentaje de hongos en el suelo (M1) se puede atribuir a su origen agrícola, lo que implica un alto contenido de partículas vegetales y coincide con su alto contenido de materia orgánica.

Las Tablas 33, 34, y 35 muestran las especies de archaeas, bacterias y hongos con presencia mayor o igual al 1% en las cinco biomezclas estudiadas.

Tabla 33. *Archaeas* identificadas y clasificadas con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas

ARCHAEAS				
M1	M5	M7	M8	M10
---	<i>Candidatus Nitrososphaera Gargensis</i> (5.3%)	<i>Candidatus Nitrososphaera gargensis</i> (3.1%)	<i>Candidatus Nitrososphaera gargensis</i> (7.5%)	<i>Candidatus Nitrososphaera gargensis</i> (8%)
---	<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i> (26.8%)	---	---	---
---	---	<i>Methanobrevibacter sp.</i> (1.8%)	---	---
---	<i>Methanolinea sp.</i> (3.1%)	---	---	---
---	<i>Natronomonas sp.</i> (55.2%)	<i>Natronomonas sp.</i> (27%)	<i>Natronomonas sp.</i> (58.5%)	<i>Natronomonas sp.</i> (61.4%)
---	<i>Nitrososphaera Viennensis</i> (10.7%)	<i>Nitrososphaera viennensis</i> (63.1%)	<i>Nitrososphaera viennensis</i> (33.3%)	<i>Nitrososphaera viennensis</i> (29.7%)
<i>Nitrososphaera sp.</i> (11%)	---	---	---	---

Tabla 34 Bacterias identificadas y clasificadas con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas

BACTERIA				
M1	M5	M7	M8	M10
<i>Acidobacterium sp</i> (2.9%)	---	---	---	---
---	<i>Altererythrobacter sp.</i> (1.1%)	---	---	---
<i>Bacillus sp</i> (3.6%)	<i>Bacillus sp.</i> (1.3%)	<i>Bacillus sp.</i> (1.4%)	<i>Bacillus sp.</i> (1%)	---
<b><i>Brevundimonas sp</i> (3.6%)</b>	<b><i>Brevundimonas sp.</i> (6.5%)</b>	<b><i>Brevundimonas sp.</i> (1.9%)</b>	<b><i>Brevundimonas sp.</i> (3.5%)</b>	<b><i>Brevundimonas sp.</i> (9.6%)</b>
<i>Burkholderia sp</i> (6.5%)	---	---	---	---
---	<i>Cellvibrio sp.</i> (1.3%)	---	---	<i>Cellvibrio sp.</i> (9.3%)
<i>Gemmatimonas sp</i> (1.4%)	---	---	---	---
---	<i>Luteimonas sp.</i> (2.6%)	---	<i>Luteimonas sp.</i> (1.6%)	<i>Luteimonas sp.</i> (4%)
---	<i>Lysobacter sp.</i> (1.5%)	---	---	---
---	---	---	---	<i>Microvirga sp.</i> (1.2%)
---	<i>Novosphingobium sp.</i> (2.4%)	---	<i>Novosphingobium sp</i> (1.1%)	---
---	---	<i>Oceanibaculum pacificum</i> (1.9%)	---	---
---	<i>Parapedobacter pyrenivorans</i> (1.5%)	---	---	<i>Parapedobacter pyrenivorans</i> (1%)
---	---	---	---	<i>Pedobacter sp.</i> (1%)
---	<i>Phaeospirillum sp.</i> (1.4%)	---	---	<i>Phaeospirillum sp.</i> (1.4%)
<i>Phenylobacterium sp</i> (2.3%)	<i>Phenylobacterium sp.</i> (1.2%)	---	---	---
<b><i>Pseudomonas sp</i> (7.9%)</b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i> (9.5%)</b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i> (19.7%)</b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i> (9.2%)</b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i> (15.2%)</b>
---	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (3.4%)	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (8.7%)	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (2.4%)	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (2.8%)
---	---	---	---	<i>Pseudomonas indoloxydans</i> (1%)
---	---	---	---	<i>Pseudoxanthomonas sp.</i> (1.9%)
---	<i>Rhizobium sp.</i> (1.3%)	---	---	<i>Rhizobium sp.</i> (1.7%)
---	<i>Steroidobacter sp.</i> (1.2%)	---	---	---
---	<i>Sphingobacterium sp.</i> (1.2%)	---	---	---
<b><i>Sphingomonas sp</i> (1.6%)</b>	<b><i>Sphingomonas sp.</i> (3.2%)</b>	<b><i>Sphingomonas sp.</i> (1.5)</b>	<b><i>Sphingomonas sp.</i> (8.9%)</b>	<b><i>Sphingomonas sp.</i> (2.1%)</b>
<i>Sphingobium quisquiliarum</i> (3.3%)	---	---	---	---
---	<i>Sphingobium sp.</i> (1.5%)	---	<i>Sphingobium sp</i> (3.1%)	---
---	<i>Sphingopyxis macrogoltabida</i> (2.3%)	<i>Sphingopyxis macrogoltabida</i> (6.4%)	<i>Sphingopyxis macrogoltabida</i> (3.2%)	<i>Sphingopyxis macrogoltabida</i> (2.3%)
---	---	<i>Sphingopyxis sp.</i> (1.2%)	---	---
---	<i>Variovorax defluvi</i> (1.2%)	---	---	---
---	<i>Xanthomonas sp.</i> (1.5%)	---	<i>Xanthomonas sp.</i> (2%)	<i>Xanthomonas sp.</i> (1.5%)

Nota: en negrita bacterias comunes a todas las biomezclas

Tabla 35. Hongos identificados y clasificados con presencia mayor o igual al 1% en las biomezclas seleccionadas

HONGOS				
M1	M5	M7	M8	M10
---	---	---	<i>Acremonium glaucum</i> (1.5%)	---
---	---	<i>Aspergillus gracilis</i> (1.1%)	---	---
---	---	<i>Aspergillus penicillioides</i> (3%)	---	---
---	---	<i>Cenococcum geophilum</i> (1.6%)	---	---
---	---	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (3.7%)	---	---
<i>Candida cf neerlandica</i> (4.2%)	---	---	---	---
<i>Clavispora lusitaniae</i> (69.7%)	<i>Clavispora lusitaniae</i> (9.1%)	<i>Clavispora lusitaniae</i> (65.5%)	<i>Clavispora lusitaniae</i> (9.9%)	---
<i>Geotrichum candidum</i> (7.9%)	---	---	---	---
<i>Fusarium solani</i> (9%)	---	<i>Fusarium solani</i> (5.4%)	---	---
<i>Fusarium sp</i> (1.6%)	---	---	---	---
<i>Kluyveromyces marxianus</i> (4.6%)	---	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (1.9%)	---	---
---	---	<i>Phoma herbarum</i> (1.1%)	---	---
---	---	---	<i>Pleosporales sp.</i> (1.3%)	---
---	---	<i>Saccharomyces sp.</i> (1.9%)	---	---
---	<b><i>Thielavia hyalocarpa</i> (87.1%)</b>	<b><i>Thielavia hyalocarpa</i> (1.13%)</b>	<b><i>Thielavia hyalocarpa</i> (81.2%)</b>	<b><i>Thielavia hyalocarpa</i> (98.6%)</b>
---	---	<i>Verticillium leptobactrum</i> (1.4%)	---	---

Nota: en negrita el hongo de pudrición blanca

Un análisis según el género y la especie de los microorganismos, mostró que *Archaeas* como las *Natronomonas sp* (presente en M5, M8 y M10), *Nitrososphaera viennensis* (M7) y *Nitrososphaera sp* (M1) fueron las especies identificadas con mayor abundancia para dichas biomezclas; es importante notar que no hubieron especies de *Archaeas* con presencia mayor o igual al 1% comunes a las cinco biomezclas (Tabla 33). Del mismo modo bacterias como las *Pseudomonas sp* (M1, M5, M7, M8 y M10) y los hongos *Thielavia hyalocarpa* (M5, M8 y M10) y *Clavispora lusitaniae* (M1 y M7) fueron las especies más predominantes para las biomezclas citadas. Lo anterior muestra coincidencias con lo reportado por Neumann *et al.*, (2004) para el caso de las *Pseudomonas sp* en la degradación de atrazina. Bacterias como la *Flavobacterium sp*, la cual fue identificada en este estudio con una abundancia menor al 1% en todas las biomezclas ha sido reportada por Ortiz y Sánchez (2005) como una bacteria con capacidad de degradar el plaguicida atrazina en suelo. Del mismo modo los análisis de las secuencias de ADN corroboraron la presencia del hongo *Thielavia hyalocarpa* en las cuatro mezclas con sustratos adicionados al suelo (M5, M7, M8 y M10), este hongo pertenece a los llamados hongos de pudrición blanca, los cuales han sido asociados a los procesos de degradación de plaguicidas en distintos tipos de cama biológica (*biobed*) (Castillo *et al.*, 2008). Esto corrobora la importancia de la adición de sustratos con contenidos importantes de lignina para favorecer la presencia del hongo de pudrición blanca, y así favorecer la degradación de los plaguicidas por esta vía. Adicionalmente es importante mencionar que bacterias predominantes (>1%) como la *Brevundimonas sp*, *Pseudomonas sp* y la *Sphingomonas sp* se identificaron en las cinco biomezclas estudiadas (Tabla 34). Respecto a los hongos con abundancia mayor al 1%, al igual que con las *Archaeas* no se encontró especie alguna común a las cinco biomezclas (Tabla 35).

Para complementar y entender mejor la diversidad microbiana identificada, los índices alfa, beta y gama de diversidad de especies fueron determinados para *Archaeas*, bacterias y hongos (tablas 36, 37 y 38).

Tabla 36. Índices de diversidad de especies para las archaeas identificadas

Biomezcla	Índice Alfa		
	Simpson ( $\lambda$ ) (dominancia)	Shanon-Wiener (H)	
		Equidad	Diferencia de H con equidad ideal
M1	$\lambda=0.7513$	H=0.5455	2.2877
M5	$\lambda=0.3727$	H=1.2300	1.2549
M7	$\lambda=0.5057$	H=0.9101	1.1613
M8	$\lambda=0.4623$	H=0.8937	1.0522
M10	$\lambda=0.4759$	H=0.8914	1.3058
Índice Beta			
Interacciones	Bray Curtis ( $I_s$ )% (similitud)		
M1-M5	$I_s=41.4$		
M1-M7	$I_s=40$		
M1-M8	$I_s=33.33$		
M1-M10	$I_s=46.15$		
M5-M7	$I_s=80$		
M5-M8	$I_s=73.68$		
M5-M10	$I_s=85.71$		
M7-M8	$I_s=93.33$		
M7-M10	$I_s=94.12$		
M8-M10	$I_s=87.5$		
Gamma diversidad (en función a la riqueza de especies)			
Alfa diversidad %		Beta diversidad %	
46		54	

De la tabla anterior en función a los diversos índices calculados se puede observar que en relación a la alfa diversidad, la dominancia en función al índice de Simpson muestra que la biomezcla M1 (suelo) presento la mayor dominancia de especies, correspondiendo una relación de dominancia de  $M1 > M7 > M10 > M8 > M5$ . El índice de Shanon-Wiener por su parte en relación a la equidad ideal, mostro que la biomezcla M8 presento la máxima equidad de especies con una relación de equidad con las demás biomezclas de  $M8 > M7 > M5 > M10 > M1$ . El índice beta de similitud de Bray Curtis mostró que las dos biomezclas con la mayor similitud de especies fueron la M7 y M10 (94.12%), mientras que la menor similitud se presentó entre las biomezclas M1 y M8 (33.33%). Finalmente, el índice gama en relación a la riqueza de especies muestra que la alfa diversidad explica el 46% de

la diversidad de archaeas para las cinco biomezclas contra un 54% de la diversidad beta.

Tabla 37. Índices de diversidad de especies para las bacterias identificadas

Biomezcla	Índice Alfa		
	Simpson ( $\lambda$ ) (dominancia)	Shanon-Wiener (H)	
		Equidad	Diferencia de H con equidad ideal
<b>M1</b>	$\lambda=0.044$	H=4.112	1.7601
<b>M5</b>	$\lambda=0.033$	H=4.250	1.5760
<b>M7</b>	$\lambda=0.112$	H=3.247	2.2903
<b>M8</b>	$\lambda=0.042$	H=4.005	1.8210
<b>M10</b>	$\lambda=0.0500$	H=3.987	1.8241
Interacciones	Índice Beta		
	Bray Curtis ( $I_s$ )% (similitud)		
<b>M1-M5</b>	$I_s=43.8$		
<b>M1-M7</b>	$I_s=41.4$		
<b>M1-M8</b>	$I_s=44.1$		
<b>M1-M10</b>	$I_s=41.5$		
<b>M5-M7</b>	$I_s=76.6$		
<b>M5-M8</b>	$I_s=88.8$		
<b>M5-M10</b>	$I_s=89.7$		
<b>M7-M8</b>	$I_s=78.6$		
<b>M7-M10</b>	$I_s=73.5$		
<b>M8-M10</b>	$I_s=85.0$		
Gamma diversidad (en función a la riqueza de especies)			
Alfa diversidad %		Beta diversidad %	
54		46	

De la Tabla 37 se observa que en relación a la alfa diversidad para las bacterias, la dominancia en función al índice de Simpson fue mayor para la biomezcla M7, correspondiendo una relación de dominancia de  $M7 > M10 > M1 > M8 > M5$ . El índice de Shanon-Wiener mostró que la biomezcla M5 presentó la máxima equidad de especies en función a la equidad ideal, esto con una relación de equidad con las demás biomezclas de  $M5 > M1 > M8 > M10 > M7$ . El índice beta de similitud de Bray Curtis mostró que las dos biomezclas con la mayor similitud de especies fueron la M5 y M10 (89.7%), mientras que la menor similitud se presentó entre las biomezclas M1 y M7. Finalmente, el índice gama en relación a la riqueza de

especies muestra que la alfa diversidad explica el 54% de la diversidad de bacterias para las cinco biomezclas contra un 46% de la diversidad beta.

Tabla 38. Índices de diversidad de especies para los hongos identificados

Biomezcla	Índice Alfa		
	Simpson ( $\lambda$ ) (dominancia)	Shanon-Wiener (H)	
		Equidad	Diferencia de H con equidad ideal
<b>M1</b>	$\lambda=0.505$	H=1.153	1.412
<b>M5</b>	$\lambda=0.774$	H=0.542	2.984
<b>M7</b>	$\lambda=0.488$	H=1.434	2.255
<b>M8</b>	$\lambda=0.694$	H=0.795	2.944
<b>M10</b>	$\lambda=0.9745$	H=0.975	1.733
Interacciones	Índice Beta		
	Bray Curtis ( $I_s$ )% (similitud)		
<b>M1-M5</b>	$I_s=17.02$		
<b>M1-M7</b>	$I_s=13.95$		
<b>M1-M8</b>	$I_s=18.18$		
<b>M1-M10</b>	$I_s=21.423$		
<b>M5-M7</b>	$I_s=50.00$		
<b>M5-M8</b>	$I_s=78.95$		
<b>M5-M10</b>	$I_s=61.22$		
<b>M7-M8</b>	$I_s=55.56$		
<b>M7-M10</b>	$I_s=44.44$		
<b>M8-M10</b>	$I_s=49.12$		
Gamma diversidad (en función a la riqueza de especies)			
Alfa diversidad %		Beta diversidad %	
42		58	

Para los hongos, en la Tabla 38 se puede observar que la dominancia en función del índice de Simpson fue mayor para la biomezcla M10, correspondiendo una relación de dominancia de  $M10 > M5 > M8 > M1 > M7$ . El índice de Shanon-Wiener mostró que la biomezcla M1 presento la máxima equidad de especies en función a la equidad ideal con una relación de equidad con las demás biomezclas de  $M1 > M10 > M7 > M8 > M5$ . El índice beta de similitud de Bray Curtis mostró que las dos biomezclas con la mayor similitud de especies fueron la M5 y M8 (78.95%), mientras que las mezclas con la menor similitud fueron M1 y M7 (13.95%). Finalmente, el índice gama en relación a la riqueza de especies muestra que la

alfa diversidad explica el 41.88% de la diversidad de bacterias para las cinco biomezclas contra un 52.12% de la diversidad beta.

En la Figura 21 se puede observar que para un 60% de similitud, a excepción de la biomezcla M1 (suelo), todas las demás biomezclas son similares respecto a las especies microbianas para archaeas y bacterias, mientras que para los hongos al 60% de similitud solamente las biomezclas M5 y M8 mostraron similitud. Lo anterior muestra como la adición de un sustrato al suelo afecta directamente en la diversidad microbiana de las biomezclas.

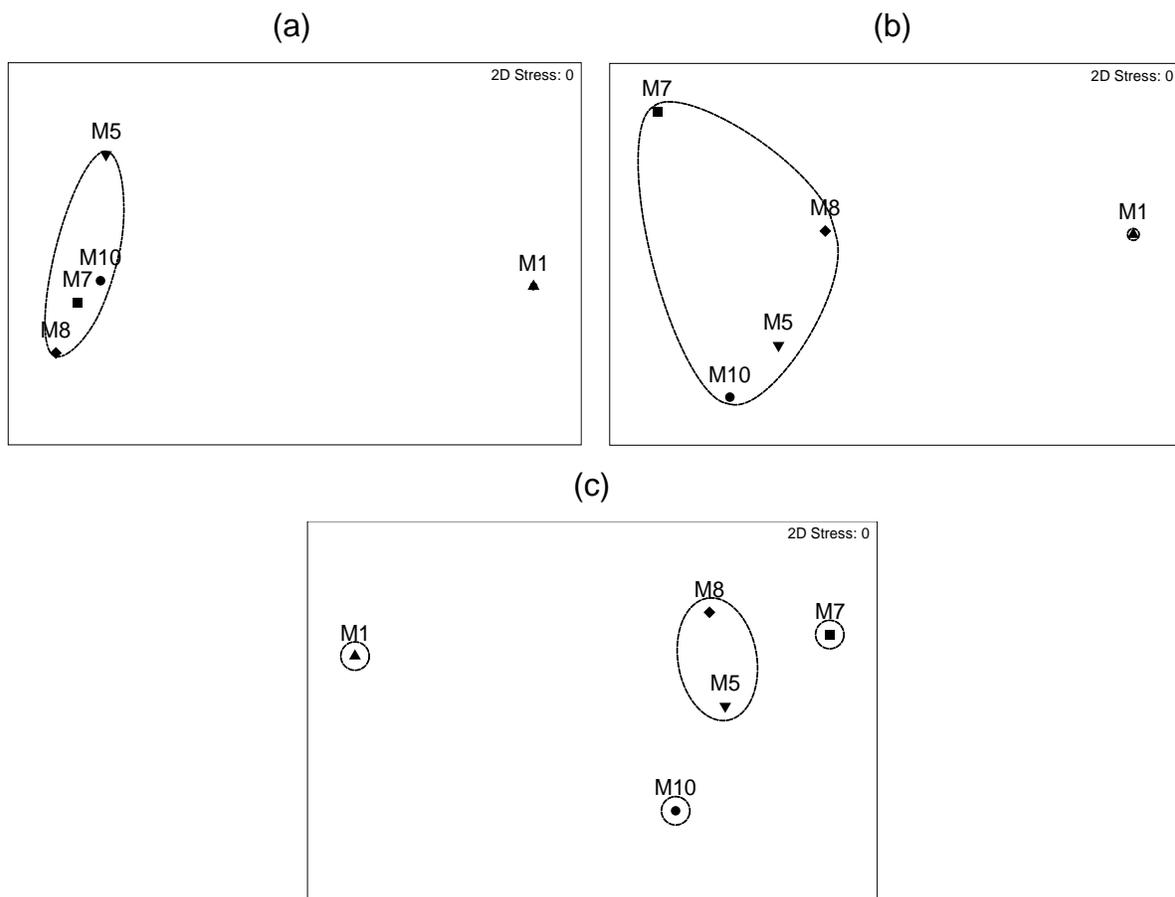


Figura 21. Gráfica de Escala Multidimensional (MDS) en función a la similitud de Bray Curtis para la diversidad microbiana en las cinco biomezclas de estudio. (a) Archaeas; (b) Bacterias; (c) Hongos. Similitud del 60% (-----).

Realizando un análisis de los microorganismos identificados según “phylum se puede ver que para las archaeas solamente se presentaron tres phylum, el *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* y el *Thaumarchaeota*. Para el caso de las bacterias

se identificaron 19 diferentes *phylum*. De un análisis cluster según la similitud de Bray Curtis empleando el software Primer 6.1.16 + Permanova 1.0.1. (Primer-E®), se pudieron observar que todas las *phylum* presentan una similitud de presencia en las biomezclas del 20%, mientras que la máxima similitud (100%) se presentó en 12 *phylum* (Figura 22), lo que representa el 63% de las bacterias según *phylum* presentes en las cinco biomezclas analizadas.

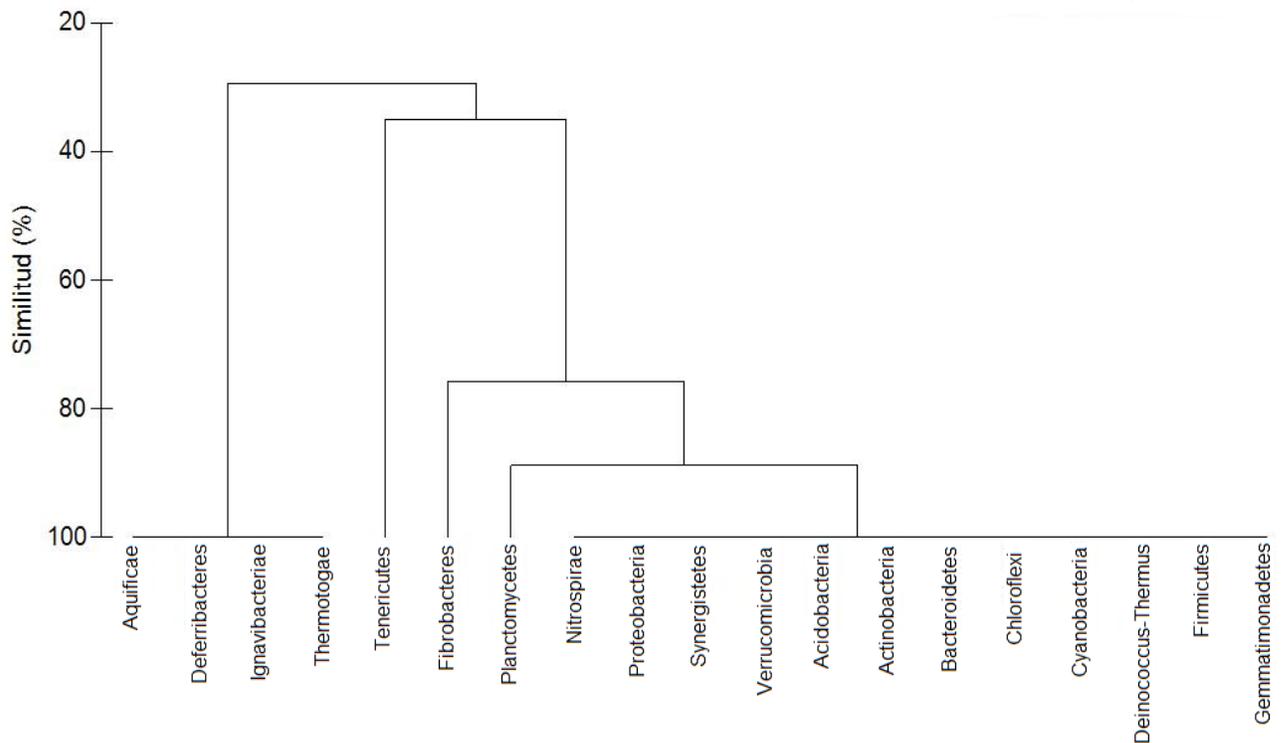


Figura 22. Dendrograma para las bacterias identificadas según *phylum*.

Del mismo modo para los hongos, al igual que con las archaeas, se identificaron una cantidad pequeña de *phylum*, solamente tres, los cuales son *Ascomycota*, *Basidiomycota* y *Fungi*.

## V. CONCLUSIONES

De los estudios de campo se pudo corroborar el uso variado de agroquímicos, así como deficiencias importantes en el uso y manejo de los plaguicidas. La agricultura convencional (temporal) predominó. Plaguicidas como el paraquat que está controlado en México se siguen usando de forma cotidiana. Del mismo modo en la mayoría de los casos sus fuentes de agua (pozos) se localizan dentro del área de cultivo.

De los estudios de disipación de plaguicidas en las 12 biomezclas, se observó que a los 41 días del tiempo que tardó el experimento todas las mezclas fueron eficientes registrando una disipación mayor al 99% para todos los plaguicidas utilizados siendo la M5 (suelo/rastrojo) la más eficiente. El glifosato fue el único plaguicida que se disipó en su totalidad en todas las biomezclas.

Los análisis estadísticos corroboraron que el tipo de biomezcla es significativo sobre la disipación de los plaguicidas, lo cual establece que este aspecto debe ser tomado en cuenta al implementar un sistema de cama biológica.

Los estudios de comportamiento de los plaguicidas mostraron una relación importante entre la parte volátil y la soluble de los plaguicidas, ya que mientras la parte soluble disminuye en el tiempo, la volátil aumenta, esto corrobora que la volatilización es uno de los mecanismos de disipación de los plaguicidas.

Los experimentos de comportamiento mostraron que todos los plaguicidas presentan una volatilización considerable que va del 10 al 43% de la cantidad inicial aplicada a las 72 horas, siendo el diazinon el plaguicida que presentó la mayor volatilización en el suelo. Respecto a la fracción soluble del plaguicida se encontró que la tendencia fue decreciente en el tiempo, esto asociado a la fracción volátil y la fracción degradada y adsorbida en el sustrato; el 2,4-D fue el plaguicida que presentó la máxima solubilidad a las 72 horas en el rastrojo de maíz, al

registrarse un 71% de la cantidad inicial aplicada en la solución de lavado. La fracción degradada y adsorbida, después del lavado, mostró que el glifosato fue el plaguicida más degradado y adsorbido al registrar un 70% de la cantidad inicial aplicada en dicha fracción a las 72 horas, sin embargo las cinéticas para la fracción del plaguicida degradado y adsorbido en todos los sustratos mostraron una tendencia a incrementar en el tiempo, de lo que se concluye que una importante cantidad del plaguicida puede ser degradado (biológica o químicamente) y adsorbido, lo que apoya la función degradadora de los sistemas de cama biológica.

Los análisis de diversidad microbiana corroboraron la presencia del hongo de pudrición blanca reportado en los sistemas de cama biológica originales con los sustratos originales. Se pudo observar que las bacterias fueron el tipo de microorganismo más diverso según especie. Sin embargo, según su presencia las archaeas fueron más abundantes; la presencia de una cantidad por demás abundante de microorganismos, aunado con los estudios de comportamiento de los plaguicidas en los sustratos sustenta la disipación de los plaguicidas por la vía degradadora en las camas biológicas.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

Abdennouri M., Baalala M., Galadi A., M. El Makhfouk, Bensitel M., Nohair K, Sadiq M., Boussaoud A., Barka N. (2011). Photocatalytic degradation of pesticides by titanium dioxide and titanium pillared purified clays. "Arabian Journal of Chemistry", 2011.

Alvarado-Mejía J., Cobos-Gasca V., Gonzales-Navarrete L. (1994). Insecticidas y herbicidas de mayor uso en los horticultores de Yucatán implicaciones a la salud y el ambiente. "Revista Biomédica", 5(4), 180-190.

Alvarado-Mejía J., González-Navarrete R. L. (2007). Plaguicidas daños neurológicos y cáncer. En "II Congreso Nacional sobre Investigación, Salud y Sociedad". Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi, Mérida, Yucatán.

Arisoy, M. (1998). Biodegradation of chlorinated organic compounds by white-rot fungi. B. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 60(6): 872-876.

Benicha M., Mrabet R. and Azmani A., (2011). Biodegradation and dissipation of <sup>14</sup>C carbofuran in clay soil from Loukkos perimeter, Northwestern Morocco. "Journal of Soil Science and Environmental Management", 2(12), 404-410.

Bending D., Friloux M., Waler A. (2002). "FEMS Microbiology Letters" 212, 59-63.

Busse M.D., Ratcliff AW, Shestak C.J. and Powers R.F. (2001). Glyphosate toxicity and effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. "Soil Biol Biochem", 33:1777–1789.

Cabildo Miranda M.d.P, Clamunt Villespí R.M., Cornago Ramírez M.d.P., Escolástico León C., Esteban Santos S., Farrán Morales M.A., García Fernández

M.A., López García C., Pérez Esteban J., Pérez Torralba M., Santa María Gutierrez D. and Sanz del Castillo D., (2008) Reciclado y Tratamiento de Residuos. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Madrid, España.

Caracciolo, A. B., Giuliano, G., Di Corcia, A., Crescenzi, C. and Silvestri, C. (2001). Microbial degradation of terbuthylazine in surface soil and subsoil at two different temperatures. En *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 67: 815-820.

Cardeña-Echalaz F. V. (2016). Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en dos tipos de agricultura: al aire libre (milpa) y protegida (casa sombra e invernadero) en diferentes localidades en el estado de Yucatán, México. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ingeniería. Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán.

Carter A. (2000). How pesticides get into water and proposed reduction measures. "Pesticide Outlook" 11, 149-156.

Carrillo-Pérez Esther, Ruiz-Manríquez Arturo y Yeomans-Reina Haydée (2004). Aislamiento, Identificación y Evaluación de un Cultivo Mixto de Microorganismos con Capacidad para Degradar DDT. Rev. Int. Contam. Ambient. 20 (2) 6975.

Cassel D. K. y Nielsen D. R. Field Capacity and Available Water Capacity. In: Klute A. (Ed.) 1996. Methods of Soil Analysis, Part 1: Physical and Mineralogical Methods. Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.

Castellanos Rozo José, Sánchez Nieves Jimena, Uribe Vélez Daniel, Moreno Chacón Leonardo y Melgarejo Muñoz Luz Marina (2013). Characterization of Carbofuran Degrading Bacteria Obtained from Potato Cultivated Soils with

Different Pesticide Application Records. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 66(1): 6899-6908.

Castillo MdP., Torstensson L. (2007). Effect of biobed composition moisture and temperature on the degradation of pesticides. "J. Agric Food Chem". 55, 5725-5733.

Castillo M.P., Torstenssen L., Stenstöm J. (2008). Camas biológicas, Biotecnología para la preservación del medio ambiente de la contaminación por plaguicidas. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 56, 6206-6219.

Castillo M. P., Torstenssen L., Stenstöm J. (2011). Biobeds (lechos biológicos), una contribución sueca para un medio ambiente mejor, Ponencia. Consultado el 15 de octubre de 2013. [biobeds-angol-111116-2-dra-m-del-pilar-c.pdf](#)

CICOPLAFEST, Catálogo Oficial de Plaguicidas, 1998.

Cobos V. M., Barrientos R., Chi C. (2012). Los plaguicidas y su impacto sobre la fauna silvestre de la Península de Yucatán. "Bioagrocencias", 4(2), 4-9.

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.

Coppola L, Castillo MdP, Vischetti C. (2010). Degradation of isoproturon and bentazona in peat -and compost- based biomixtures. "Pest Manag Sci". 67, 107-113.

Cortinas C. (1998). Manejo nacional de plaguicidas químicos: tendencias mundiales. "Gaceta Ecológica, INE-SEMARNAP", No. 48.

Cycón M, Zmijowska A, Wójcik M, Piotrowska Z., (2013) Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading *Serratia marcescens* to remove other organophosphorus pesticides from soils. "J Environ Manage" 117, 7–16.

del Puerto Rodríguez A.M., Suárez Tamayo S., and Palacio Estrada D.E. (2014) Effects of pesticides on health and the environment. "Rev Cub Hig Epidemiol". 52(3). [http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol52\\_3\\_14/hig10314.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol52_3_14/hig10314.htm)

de Roffignac L., Cattan P., Mailloux J., Herzog D., Bellec F. (2008). Efficiency of a bagasse substrate in a biological bed system for the degradation of glyphosate, malathion and lambda-cyhalothrin under tropical climate conditions. "Pesticide Management Science" 64, 1300-1313.

De Wilde T., Spanoghe P., Sniegowski K., Ryckeboer J., Jaeken P., Springael D. (2010). Transport and degradation of metalaxyl and isoproturon in biopurification columns inoculated with pesticide-primed material. "Chemosphere", 78, 56-60.

Diez M. Cristina, Tortella Gonzalo R., Briceño Gabriela, Castillo María del Pilar, Díaz Jorge, Palma Graciela, Altamirano Carolina, Calderón Carolina, Rubilar Olga (2013). Influence of novel lignocellulosic residues in a biobed biopurification system on the degradation of pesticides applied in repeatedly high doses. "Electronic Journal of Biotechnology", ISSN: 0717-3458.

Durán-Nah J. J., Collí-Quintal J. (2000). Intoxicación aguda por plaguicidas. "Salud Publica México", 42 (1), 53-55.

EPA (2000). Método 3546. Consultado el 18 de octubre de 2013. <http://www.epa.gov/sw-846/pdfs/3546.pdf>

Epstein E. (1997). The science of composting. "TECNOMIC publication". USA.

Esposito Elisa, Paulillo Sara M. and Manfio Gilson P. (1998). Biodegradation of Herbicide Diuron in Soil by Indigenous Actinomycetes. Chemosphere, Vol. 37, 541-548.

Estrada Medina Héctor, Álvarez Rivera Oscar O. (2011). Manual de técnicas del Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Agua (LASPA). Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

European Commission (2007). EU Policy for a sustainable use of pesticides, the story behind the Strategy. “European Communities”. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2007.

European Union EU (2006) Directive 2006/118/EC of The European Parliament and of the Council of December 12, 2006, on the protection of groundwater against pollution and deterioration.

European Union EU (2008) Directive 2008/105/EC of The European Parliament and of the Council of December 16, 2008, on environmental quality standards in the field of water policy.

FAO 2000. Estudio de referencia sobre el problema relacionado con la existencia de plaguicidas caducados. “Colección FAO: eliminación de plaguicidas”, No. 9.

Fait G, Nicelli M, Capri E, Trevisan M. (2006). A biological system to mitigate the pesticide point contamination. “Pesticide behaviour in soils, water and air”, Warwick, UK, 27–29 March 2006.

Felgentreu, D., Bischoff, G. (2006). Studies on inactivation of waste water and residual liquids containing plant protection products by Biobeds. “Pesticide Behaviour in soils, water and air”, Warwick, UK, No. A10.

Fernández Linares Luis Carlos, Rojas Avelizapa Norma Gabriela, Roldán Carrillo Teresa Guadalupe, Ramírez Islas Martha Elena, Zegarra Martínez Héctor Gustavo, Uribe Hernández Raúl, Reyes Ávila Romeo Jesús, Hernández David Flores, Arce Ortega Juan Manuel. (2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la biorremediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. ISBN 968-489-039-7.

Fogg P., Boxall B. A. (2004). Leaching of pesticides from Biobeds: Effect of Biobeds Depth and water loading. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 52, 6217-6227.

Fogg P., Boxall B.A., Walker A., Jukes A. (2004). Effect of different soil textures on leaching potential and degradation of pesticides in biobeds. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 52(20), 6217-1227.

Fournier J.-C., Martin-Laurent F., Catroux G. (2005) Detoxifying plant health product effluents from farms. "Available by INRA". [http://www.international.inra.fr/press/detoxifying\\_plant\\_health](http://www.international.inra.fr/press/detoxifying_plant_health).

Furukawa K. (2003). Super bugs for bioremediation. Trends Biotechnology 21(5): 187-190.

Gimsing A.L, Borggaard O.K. and Bang M. (2004). Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish surface soils. "Eur J Soil Sci", 55:183–191.

Gish, T.J., Preuger, J.H., Daughtry, C.S.T., Kustas, W.P., McKee, I.G., Russ. A.I.d Hatfield, J.L. (2011). Comparison of field scale herbicide runoff and volatilization losses: An eight year field investigation. "Journal of Environmental Quality", 40: 1432-1442.

Gold-Bouchot G., Zapata P., Ceja M., Rodas O., Domínguez M., Río M., Rodríguez F., Ku C., Espínola P. (2005). Diagnóstico regional de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en la zona costera de la península de Yucatán y el Sur del Golfo de México, Informe Final. “Departamento de Recursos del Mar, Cinvestav Unidad Mérida”.

Goldsworthy P., Basford B. (2007). Biobeds—Regulatory Update. “A clear solution for farmers. England catchment sensitive farming delivery initiative”. Environment Agency’s Agricultural Waste line for advice.

Hansen A.M., Treviño-Quintanilla L.G., Márquez-Pacheco H., Villada-Canela M., González-Márquez L.C., Guillén-Garcés R.A. and Hernández-Antonio A. (2013). Atrazina: un herbicida polémico. “Rev. Int. Contam. Ambie”, 29: 65-84.

Henriksen V. V., Blinder A., Nielsen M., Laursen B., Spliid H., Helweg A. (1999). Leaching of pesticides from washing – sites and capacity of Biobeds to retain pesticides. “Danish Plant Protection conference 1999; Pesticides and Environment”, DJF Reporte Markbrug. 9, 47-63.

Henriksen V.V., Helweg A., Spliid N.H., Felding G., Stenvang L. (2003). Capacity of model biobeds to retain and degrade mecoprop and isoproturon. “Pest Management Science”. 59, 1076-1082.

Herrera-Portugal C., Franco-Sánchez G., Zelada-Castillo V., Schlottfeldt-Trujillo Y., Rodríguez-Feliciano M.A., Barrientos-Becerra H. (2008). Niveles de plaguicidas organoclorados (DDT y DDE) en niños de comunidades endémicas de paludismo en Chiapas, México. “Revista Latinoamericana de Recursos Naturales”, 4 (3), 349-356.

Herrera Silveira Jorge, Morales Ojeda Sara y Ramírez Ramírez Javier. (2010). Plantas Marinas. “Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán”, CICY, PPD, FMAM, CONABIO, SEDUMA. ISBN 978-607-78723-05-CZ; 196-200.

Herrera C., Franco G., Bermúdez G., Schlottfedt Y., Barrientos H. (2013). Niveles de DDT y metabolitos (DDE y DDD) en peces de consumo humano en una comunidad endémica de paludismo en Chiapas, México. “Higiene y Sanidad Ambiental”, 13 (4), 1080-1085.

Holvoet K., Van Grinsven A., Seuntjens P., Vanrolleghem P. A. (2005). Sensitivity analysis for hydrology and pesticide supply towards the river in SWAT. “Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C”, 30, 518–526.

Howard Philip H. (1991). Handbook of Environmental Fate and Exposure Data: For Organic Chemicals. “Tylor & Francis Group”. Boca Raton, Florida, USA.

Husby H. (2013). Biobed workshops and biobeds in the world. “European Biobed Workshop, Wageningen”. Bayer CropScience.

INECC (2013). Plaguicidas. Instituto Nacional de Ecología. Consultado el 31 de octubre del 2013. <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/768-sqre-plaguicidas>

INECC (2007). Peligrosidad y riesgo de las sustancias químicas. Instituto Nacional de Ecología. Consultado el 18 de mayo del 2016. <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/314/peligrosidad.html>

INEGI (2006). El sector alimentario en México. Serie de estadísticas sectoriales. Edición 2006. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI).

INEGI (2013). Boletín de información oportuna del sector alimentario. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), No. 332.

Johnson W.G., Lavy T.L. and Gbur E.E. (1995). Sorption, mobility, and degradation of triclopyr and 2,4-D on four soils. "Weed Sci", 43:678-684.

Juárez Juárez Minerva, Franco Hernández Marina Olivia, Jaens Contreras Teresa y Ascencio Rasgado Valeria Palmira. (2009). Manual de prácticas de laboratorio de Química Ambiental II. Instituto Politécnico Nacional.

Karanasios E., Tsiropoulos N. G., Karpouzas D. G., Ehalotis C. (2010a). Degradation and adsorption of pesticides in Compost – Based biomixtures as potential substrates for Biobeds in southern Europe. "Journal of Agricultural and Food Chemistry", 58, 9147-9156.

Karanasios E., Tsiropoulos N. G., Karpouzas D. G., Menkissoglu U. (2010b). Novel biomixture based on local mediterranean lignocellulosic materias: evaluation for use biobed systems. "Chemosphere", 80, 914-921.

Karanasios E., Tsiropoulos N. G., Karpouzas D. G. (2012). On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. "Biodegradation", 23, 787-802.

Kullman, S.W. and F. Matsumura. (1996). Metabolic pathways utilized by Phanerochaete chrysosporium for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. Applied and Environmental Microbiology 62(2): 593-600.

Ley General de Salud (2014). Ley General de Salud, capítulo XII, plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias toxicas o peligrosas. Artículo 278.

Lopera, M.M., G. Peñuela, M. Damínguez y G. Mejía. (2005). Evaluación de la degradación del plaguicida clorpirifos en muestras de suelo utilizando el hongo

Phanerochaete chrysosporium. Revista Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia 33: 58-69.

Lyonga Ngombe D. L. (2013). Biodeb a New Approach to Pesticide Rinsate Disposal. Tesis de grado de maestro. University of Saskatchewan.

Mason, P.J., Foster, I.D.L., Carter, A.D., Walker, A., Higginbotham, S., Jones, R.L., Hardy, I.A (1999). Relative importance of point source contamination of surface waters: river Cherwell catchment monitoring study. En XI Pesticide Chemistry Conference, Cremona, Italy, September 1999; La Golardica Pavese: Pavia, Italy, 1999; pp 405-412.

Morales-Rodríguez M., Cobos-Gasca, V. (2005). DDT y derivados en huevos de la tortuga de Carey *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766), en las costas del estado de Campeche, México. En “Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias”, 2da Edición. Univ. Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, 237-248.

Müller Karin, Bach Martin, Hartman Holger, Spiteller Michael and Frede Hans-George (2002). Point and Non-point source pesticides contamination in the Zwester Ohm catchment, Germany. “Published in J. Environ. Qual. 31: 309-318”

Neumann M., Liess M., Schulz R. (2003). A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to pesticide contamination. “Chemosphere”, 51, 509–513.

NOM-046-SSA1-1993 (1993). Norma Oficial mexicana NOM-046-SSA1-1993, “Plaguicidas-productos para uso doméstico-etiquetado”.

NOM-021-SEMARNAT-2000. (2002). Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.

NMX-F-317-S-1968. (1978). Determinación de pH en alimentos. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.

Ortíz Hernández Ma. Laura y Sánchez Salinas Enrique (2005). Bacterias aisladas de Suelos Agrícolas: un Potencial para la Degradación de Plaguicidas Organofosforados. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.

Pérez Herrera Norma E., Alvarado Mejía Jorge A., Castillo Burguete María Teresa., González Navarrete Rosa Leticia., Quintanilla Vega María Betzabet (2012). Efectos reproductivos en agricultores expuestos a plaguicidas en Muna, Yucatán. "Género, Ambiente y Contaminación por Sustancias Químicas. SEMARNAT", primera edición 2012, 72-94.

Pérez-Cabrera, S.I. (2003). Comparación de los niveles de colinesterasa en aves paserines expuestas a plaguicidas organofosforados en la unidad hortícola Santa Cruz Pachón de Motul con respecto a las de la reserva ecológica Cuxtal en Yucatán, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán.

Pigeon O., Vleeschouwer Cd., Cors F., Weickmans B., Ryckel Bd., Pussemier L., Debongnie P., Culot M. (2005). Development of biofilters to treat the pesticides wastes from spraying applications. "Commun. Agric. Appl. Biol. Sci". 70, 1003-1012.

Pinto A.P., Rodrigues S.C., Caldeira A.T., Teixeira D.M. (2016). Exploring the potential of novel biomixtures and *Lentinula edodes* fungus for the degradation of

selected pesticides. Evaluation for use in biobed systems. "Science of the Total Environment". 541, 1372-1381.

Ponce-Caballero M. (2005). Degradación microbiana de residuos fitosanitarios en dispositivos rústicos de tipo cama biológica: Biobacs. Tesis de doctorado. Universidad de Bourgogne.

Ponce-Vélez G., Vázquez A., Díaz-González G., and García-Ruelas C. (2012). Contaminantes orgánicos persistentes en núcleos sedimentarios de la Laguna El Yucateco, Tabasco en el sureste del Golfo de México. "Hidrobiológica", 22(2), 161-173.

PPDB: Pesticide Properties DataBase 7.0. University of Hertfordshire, UK. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/>. Consulted: August, 16, 2016.

Prinsen Pepijin. (2010). Composición química de diversos materiales lignocelulosos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Trabajo fin de Masters. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla; Consejo Superior de Investigación Científica (CSIC).

Quintero, J.C., M.T. Moreira, G. Feijoo and J.M. Lema. (2008). Screening of white rot fungal species for their capacity to degrade lindane and other isomers of hexachlorocyclohexane HCH. Ciencia e Investigación Agraria 35(2): 159-167.

Reddy C.A. and Michel F.C. Jr (1999). Fate of xenobiotics during composting, in *8th International Symposium on Microbial Ecology, Halifax, Canada, 1999.*

Rodríguez S. M., Gálvez J. B., Gasca A. E., Bandala E. R., Peñuela G. A. (2004). Degradación de Plaguicidas. En: "Eliminación De Contaminantes Por Fotocatálisis Heterogénea". Ed. CYTED , España, 2004, 331 – 349.

Romero T. (2008). Technical Assistance to facilitate action on the implementation of Stockholm Connection on Persistent Organic Pollutants (POPs). Informe final de proyecto. SEMARNAT-ONUDI.

Romero T., Cortinas C., Gutiérrez V. J. (2009). Diagnóstico Nacional de los Contaminantes Persistentes en México. Primera edición, INE-SEMARNAT.

Ruiz-Hidalgo K., Chin-Pampillo J.S., Masís-Mora M., Carazo R.E., Rodríguez-Rodríguez C.E. (2014). Degradation of carbofuran by *Trametes versicolor* in rice husk as a potential lignocellulosic substrate for biomixtures: From mineralization to toxicity reduction. "Process Biochemistry". 49, 2266-2271.

Sánchez Díazgranados José Gregorio y Henry López Carlos Andrés (2012). Degradación del Aldrín por *Bacillus Licheniformis*, Aislado del Agua y Sedimento de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 17 n.º 1: 67 – 76.

Sadzawka R. Angélica, Carrasco R. María Adriana, Demanet F. Rolando, Flores P. Hugo, Grez Z. Renato, Mora G, María de la Luz y Neaman Alexander. (2007). Método de Análisis de Tejidos Vegetales, segunda edición. Centro Regional de Investigación la Platina, Santiago de Chile.

Sanjuan-Raygoza R.J., Jasso-Gastinel C.F. (2009). Efecto de la fibra de agave de desecho en el reforzamiento de polipropileno virgen o reciclado. "Revista Mexicana de Ingeniería Química", 8 (3), 319-327.

Schuette J. (1998). Environmental Fate of Glyphosate. Environmental Monitoring & Pest Management Department of Pesticide Regulation Sacramento. CA 95824-5624.

Singh, P., Suri, C. R. and Cameotra, S. S., (2004). Isolation of a member of Acinetobacter species involved in atrazine degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 317: 697-702.

Spencer W.F. and Cliath M.M. (1973). Pesticide Volatilization as Related to Water Loss From Soil. "J. Environ. Quality", 2(2): 284-289.

Stenvang L., Helweg A. (2000). Minimizing pollution risk at filling and washing sites for sprayers. "17<sup>th</sup> Danish Plant Protection Conference", Overview/environment/weeds. DJF-Report, 23, 73-77.

Strong, L. C., Rosendahl, C., Johnson, G., Sadowsky, M. J. and Wackett, L. P. (2002). Arthrobacter aurescens TC1 metabolizes diverse s-triazine ring compounds. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 5973-5980.

Tang J.C., Tanigucho H., Zhou Q., Nagata S. (2009). Isolation and Characterization of Alginate degrading Bacteria for Disposal of Seaweeds Waste. "Letters in Applied Microbiology", 48, 38-43.

Torstensson L. and Castillo, M.d.P. (1997). Use of biobeds in Swiden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. "Pesticide Outlook". 8, 24-27.

Torstensson L. (2000). Experiences of Biobeds in Practical use in Sweden. "Pesticide Outlook – October 2000", The Royal society of Chemistry.

Triviño, I.A. (1982). Contaminación de leche materna, tejido adiposo de mujeres y leche de vaca por plaguicidas de alto poder residual. "Boletín del Instituto de Salud Pública de Chile" 23, 90-99.

Tu M., Hurd C. and Randall J.M. (2001). Weed Control Methods Handbook, The Nature Conservancy. "http://tncweeds.ucdavis.edu, version: April 2001". Consulted august 14 2016.

Urrutia C., Rubilar O., Tortella G. R., Diez M. C. (2013). Degradation of pesticides mixture on modified matrix of a biopurification system with alternatives lignocellulosic wastes. "Chemosphere" 92, 1361-1266.

Villareal H., Umaña A.M., Ospina M. Humberto M., Gast F., Fagua G., escobar F. córdoba S., y Alvarez M., (2004). Manual de Métodos para el Desarrollo de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogota Colombia. 236p.

Vischetti C., Capri E., Trevisan M., Casucci C., Perucci P. (2004). Biomassbed: a biological system to reduce pesticide point contamination al Farm level. "Chemosphere" 55, 823-828.

Waliszewski S.M., Mójica García X., Infanzón R.M., Barradas Dermitz D.M., y Carvajal Zarrabal O., (2008). Uso de ácido sulfúrico en las determinaciones de plaguicidas organoclorados. 1. Calidad químico-analítica de la precipitación de grasas por el ácido sulfúrico concentrado en muestras de alto contenido de lípidos. "Revista internacional de contaminación ambiental" 24, 33-38.

Whittaker R.H., (1972) Evolution and Measurement of Species Diversity. TAXON 21 (2/3): 213-251.

## Anexo A

### Encuesta a Agricultores

#### Estudio sobre el Uso y Manejo de Plaguicidas en las Zonas Agropecuarias del Estado de Yucatán

Fecha: /\_\_/\_\_/ - /\_\_/\_\_/ - 2014 Encuestador: \_\_\_\_\_

Lugar de Encuesta: \_\_\_\_\_ Localidad del encuestado: \_\_\_\_\_

Unidad Agrícola: \_\_\_\_\_ Parcela: \_\_\_\_\_

#### DATOS DEL ENCUESTADO

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: /\_\_/\_\_/ Sexo: M /\_\_/ F /\_\_/

Ocupación: \_\_\_\_\_ Tel/ Cel: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_

Nivel educativo: Ninguno /\_\_/ Primaria /\_\_/ Secundaria /\_\_/ Técnico /\_\_/

Otro /\_\_\_\_\_/

Idioma de alfabetización: Español /\_\_/ Maya /\_\_/

***1. Lea cuidadosamente cada una de las preguntas y conteste lo que se le pide.***

#### PERCEPCIÓN DEL USO DE LOS PLAGUICIDAS

1. ¿Qué tipo de cultivo desarrolla?

TEMPORAL  RIEGO

2. ¿Cuántas hectáreas cultiva?

\_\_\_\_\_

3. ¿Qué es lo que cultiva?

\_\_\_\_\_

4. ¿Cuáles son las plagas más frecuentes en su cultivo?

---

5. ¿Recuerda el nombre de los plaguicidas que ha utilizado?

---

6. ¿Qué cantidad de plaguicida utiliza por hectárea?

---

7. Indique la cantidad de plaguicida empleada por cada litro de agua:

---

8. ¿Por qué emplea esos plaguicidas?

---

9. ¿Quién le recomienda el uso de los plaguicidas?

---

10. ¿Qué tipo de bomba utiliza para aplicar esos plaguicidas?

Bomba de mochila /\_\_\_\_/ bomba manual (ULV) /\_\_\_\_/ Otros (especifique el nombre) \_\_\_\_\_ (Aquí se utilizara una guía grafica para la identificación del equipo utilizado por los trabajadores)

#### **PERCEPCIÓN DE LOS RIESGOS DE LOS PLAGUICIDAS EN LA SALUD**

11. ¿Cuánto tiempo lleva utilizando plaguicidas? \_\_\_\_\_

12. ¿Cree que corre riesgos cuando se expone a estos productos químicos?

SI  NO

13. ¿Qué miembros de la familia participan en las actividades del campo?

---

14. ¿Ha tenido algún incidente relacionado con el uso de estos productos?

SI  NO

En caso afirmativo: Especifique el tipo de incidente: \_\_\_\_\_

15. ¿Cuál considera la forma de contacto con plaguicidas más peligrosa para la salud?

	Muy Tóxico	Tóxico	Poco tóxico	No tóxico
Contacto con la Piel				
Inhalación				
Ingestión				
Contacto con los ojos				

### MANEJO DE LOS PLAGUICIDAS

16. ¿Utiliza algún tipo de equipo de protección durante las actividades de preparación y aplicación de plaguicidas?

SI  NO

17. ¿Usted que utiliza?

Guantes /\_\_\_/ botas /\_\_\_/ delantales /\_\_\_/ trajes de protección /\_\_\_/ gafas /\_\_\_/ máscara respiratoria /\_\_\_/ mascarilla antipolvo /\_\_\_/ otros /\_\_\_\_\_/

Si NO utiliza, ¿por qué? \_\_\_\_\_

18. ¿Cómo prepara las mezclas de los plaguicidas?

---

19. ¿Dónde prepara las mezclas de los plaguicidas?

---

20. ¿Lee primero las etiquetas del producto antes de mezclar, aplicar o almacena plaguicidas?

SI  NO

21. ¿Recuerda el color del bote que utilizo como plaguicida?

ROJO

AMARILLO

AZUL

VERDE

22. ¿almacena plaguicidas en su propiedad?

SI  NO

Si contesto SI, ¿Dónde?

Casa principal Cocina Patio Milpa Otro: \_\_\_\_\_

23. ¿Tiene usted envases de plaguicidas que están dañados, goteando u oxidados?

SI  NO

24. ¿Mezcla, aplica o almacena plaguicidas en un área de menos de 46 metros de cualquier suministro de AGUA POTABLE?

SI  NO

25. ¿Dónde realiza la mezcla de los plaguicidas?

Tambos o Cubetas

Sarteneja

Rotoplas

26. ¿Llena el tanque del aspersor con agua directamente de la llave?

SI  NO

27. ¿Llena usted el tanque del aspersor con una manguera?

SI  NO

Si contesto SI, ¿sumerge la manguera dentro de la mezcla durante el llenado?

SI  NO

28. ¿Se le ha derramado el líquido con plaguicida mientras prepara las mezclas o mientras llena el tanque del aspersor o rociador?

SI  NO

29. ¿Enjuaga usted el tanque del aspersor cerca de un suministro de llave o pozo?

SI  NO

Si contesto NO, ¿Dónde los enjuaga?

---

30. ¿Dónde tira el agua de lavado?

---

31. ¿Realiza el triple lavado de los botes vacíos de plaguicidas?

SI  NO

Si contesto SI, ¿Donde los lava y donde tira el agua de lavado?

---

---

32. ¿Qué hace con los botes vacíos de plaguicidas?

---

33. ¿Ha tomado algún curso de capacitación para uso, manejo y aplicación de plaguicidas?

SI  NO

Si contesto SI, ¿hace cuánto tiempo? \_\_\_\_\_

34. ¿Cómo adquiere los productos que utiliza?

En el mercado local /\_\_\_/ Agropecuaria establecida /\_\_\_/ A través del Gobierno/\_\_\_/

Otros \_\_\_\_\_

**PERCEPCIÓN DE LOS RIESGOS PARA EL MEDIO AMBIENTE**

35. ¿Hay alguna fuente de agua (pozo o cenote) próxima a sus campos de cultivo?

SI  NO

36. ¿Para qué utiliza la fuente de agua?

Consumo personal (beber, lavado personal)

Preparación de muestras y Lavado de material

Riego

37. ¿Ha observado que mueran o desaparezcan insectos u otros animales desde que utiliza los plaguicidas?

SI  NO

En caso afirmativo, ¿Cómo cuáles?

---

38. ¿Cree que esos productos un riesgo para el medio ambiente?

SI  NO

¿Por qué? 

---