



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**“BIORREMEDIACIÓN DE COMPOSTAJE CON PRESENCIA DE  
TRAZAS DE PLAGUICIDAS PROVENIENTES DE RESIDUOS  
ORGÁNICOS DEL MERCADO MAYORISTA DE LA CIUDAD DE  
RIOBAMBA”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO/A EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORES: TALÍA LUZMILA BARRAGÁN RODRÍGUEZ**

**JIMMY ROMARIO CLEMENTE RIVERA**

**DIRECTORA: Dra. JANNETH MARÍA GALLEGOS NÚÑEZ**

Riobamba – Ecuador

2023

**©2023, Talía Luzmila Barragán Rodríguez & Jimmy Romario Clemente Rivera**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotros, TALÍA LUZMILA BARRAGÁN RODRÍGUEZ & JIMMY ROMARIO CLEMENTE RIVERA, declaramos que el presente Trabajo de Titulación es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autores asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 18 de enero de 2023





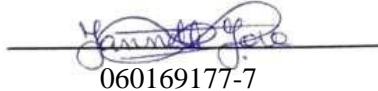
**Talía Luzmila Barragán Rodríguez**  
**060436054-5**



**Jimmy Romario Clemente Rivera**  
**092901312-6**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; tipo: Proyecto de Investigación, **“BIORREMEDIACIÓN DE COMPOSTAJE CON PRESENCIA DE TRAZAS DE PLAGUICIDAS PROVENIENTES DE RESIDUOS ORGÁNICOS DEL MERCADO MAYORISTA DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA”**, realizado por los señores: **TALÍA LUZMILA BARRAGÁN RODRÍGUEZ y JIMMY ROMARIO CLEMENTE RIVERA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Edison Geovanny Orozco Valencia <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 060337846-4	2023-01-18
Dra. Janneth María Gallegos Núñez <b>DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 060101370-9	2023-01-18
Dra. Janneth Lourdes Jara Samaniego <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 060169177-7	2023-01-18

## DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mí, por ser constante en el trabajo que he realizado, a mis abuelitos y a mi madre por su impulso diario a seguir adelante y por preocuparse cada día por mis avances. Gracias a mis mejores amigas por ser un pilar fundamental en mi vida. Y gracias a mi compañero de tesis por no decaer cada vez que se nos cerraba una puerta, y poder encontrar una solución a los problemas suscitados. Gracias a todos los que nos motivaron y alentaron a no rendirnos.

*Talía*

En la vida se puede caminar solo y llegar muchas partes, pero cuando coincides con personas que te ayudan a creer en ti, el camino se hace más placentero. Dedico palabras de agradecimiento a esas personas que se cruzaron en el camino, a familiares y amigos, con cuales siempre brindan ese apoyo que una persona necesita, en especial a mi mamá Gertrudys, mi abuelita Aide y mis hermanas Briceida y Eliana, las que siempre han estado cuando más necesité, a Sebastián, Allan y Marco, amigos con los que sufrimos y gozamos en esta vida estudiantil. Dedico esta tesis especialmente a Talía, la chica que llegó a levantarme cuando todo se derrumbaba, con la que formo equipo de trabajo y equipo de vida, el motorcito que no falla cuando el mío no da más, esa mujer especial que llegó a completar mi vida.

*Jimmy*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios porque él es fuente de inspiración y perseverancia para culminar nuestra carrera, a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por brindar ese apoyo académico a lo largo de todos esos años de estudio, a los maestros que, con sus enseñanzas, forman profesionales competitivos para el país, a nuestras tutoras, las cuales apoyaron con sus conocimientos en la realización de esta tesis, y con mención especial a la Ing. Anita Cunachi, Técnico docente del Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales, la cual nos asesoró día a día en cada duda que surgía, y al Ing. Alex Leguízamo, representante del Comité Europeo para la Formación y la Agricultura, el cual fue el promotor de este Trabajo de Investigación.

*Jimmy & Talía*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1.	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	4
1.1.	<b>Compost .....</b>	4
1.2.	<b>Compostaje .....</b>	4
1.2.1.	<i>Fases del compostaje.....</i>	5
1.2.1.1.	<i>Fase mesófila .....</i>	5
1.2.1.2.	<i>Fase termófila .....</i>	6
1.2.1.3.	<i>Fase de enfriamiento.....</i>	6
1.2.1.4.	<i>Fase de maduración.....</i>	7
1.2.2.	<b>Factores que actúan en el proceso de compostaje .....</b>	7
1.2.2.1.	<i>Factores físicos .....</i>	7
1.2.2.2.	<i>Factores químicos .....</i>	10
1.2.2.3.	<i>Propiedades microbiológicas.....</i>	12
1.2.3.	<b>Plaguicidas .....</b>	12
1.2.3.1.	<i>Impactos del uso de pesticidas.....</i>	12
1.2.3.2.	<i>Propiedades de los plaguicidas .....</i>	13
1.2.3.3.	<i>Tipos de pesticidas .....</i>	14
1.2.3.4.	<i>Pesticidas como contaminantes más frecuentes del compost en estudio .....</i>	14
1.2.4.	<b>Biorremediación.....</b>	15
1.2.4.1.	<i>Tipos de biorremediación .....</i>	16
1.2.5.	<b>Microorganismos biodegradadores de plaguicidas.....</b>	17
1.2.5.1.	<i>Hongos .....</i>	17
1.2.5.2.	<i>Bacterias .....</i>	17
1.2.5.3.	<i>Actinobacterias .....</i>	18

1.2.6.	<i>Pruebas bioquímicas para reconocimiento de microorganismos</i> .....	18
1.2.6.1.	<i>Bacterias</i> .....	18
1.2.6.2.	<i>Actinobacterias</i> .....	19
1.2.7.	<i>Medios de cultivo para determinar la diversidad microbiana del compost</i> .....	19
1.2.7.1.	<i>Agar EMB</i> .....	19
1.2.7.2.	<i>Agar Pseudomonas</i> .....	20
1.2.7.3.	<i>Agar Nutritivo</i> .....	20
1.2.7.4.	<i>Agar GYM</i> .....	20
1.2.7.5.	<i>Agar Sabouraud</i> .....	21
1.2.7.6.	<i>Agar PDA</i> .....	21

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	22
2.1.	<b>Tipo de investigación</b> .....	22
2.2.	<b>Diseño de la investigación</b> .....	22
2.2.1.	<i>Diseño experimental</i> .....	22
2.2.1.1.	<i>Planteamiento de la hipótesis</i> .....	22
2.2.1.2.	<i>Localización del estudio</i> .....	22
2.2.1.3.	<i>Método de muestreo</i> .....	23
2.2.1.4.	<i>Técnica de recolección de datos</i> .....	23
2.2.1.5.	<i>Análisis estadístico inferencial</i> .....	31

## CAPÍTULO III

3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	35
3.1.	<b>Resultados</b> .....	35
3.1.1.	<i>Diversidad microbiana del compost</i> .....	35
3.1.1.1.	<i>Bacterias</i> .....	35
3.1.1.2.	<i>Hongos</i> .....	36
3.1.1.3.	<i>Actinobacterias</i> .....	38
3.1.1.4.	<i>Enterobacterias</i> .....	38
3.1.2.	<i>Microorganismos biodegradadores de plaguicidas</i> .....	40
3.1.2.1.	<i>Pseudomonas spp</i> .....	40
3.1.2.2.	<i>Trichoderma harzianum</i> .....	42
3.1.2.3.	<i>Actinobacterias</i> .....	43



3.1.2.4.	<i>Otros microorganismos.....</i>	45
3.1.3.	<i>Porcentaje de degradación de pesticidas .....</i>	45
3.1.3.1.	<i>Glifosato.....</i>	45
3.1.3.2.	<i>Chlorfenapyr.....</i>	46
3.1.3.3.	<i>Difeconazole.....</i>	47
3.1.3.4.	<i>Tebuconazole .....</i>	47
3.1.4.	<i>Pruebas bioquímicas para el reconocimiento de microorganismos .....</i>	48
3.1.4.1.	<i>Pruebas de motilidad.....</i>	48
3.1.4.2.	<i>Actinobacterias .....</i>	48
3.2.	<b>Discusión .....</b>	49
<b>CONCLUSIONES.....</b>		53
<b>RECOMENDACIONES.....</b>		54
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Conteo de colonias en agar Nutritivo .....	31
<b>Tabla 2-1:</b> Conteo de colonias en agar Pseudomonas .....	32
<b>Tabla 3-1:</b> Conteo de colonias en agar EMB .....	32
<b>Tabla 4-1:</b> Conteo de colonias en agar PDA y agar Sabouraud .....	33
<b>Tabla 5-1:</b> Conteo de colonias en agar GYM.....	33
<b>Tabla 1-3:</b> Diversidad fúngica del compost en función de las características macroscópicas ...	37
<b>Tabla 2-3:</b> Caracterización macroscópica de las colonias bacterianas en agar EMB.....	39
<b>Tabla 3-3:</b> Control de calidad: Microorganismos que crecen en agar EMB .....	39
<b>Tabla 4-3:</b> Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por Pseudomonas spp .....	40
<b>Tabla 5-3:</b> Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por Trichoderma harzianum .....	42
<b>Tabla 6-3:</b> Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por ACP1 .....	43
<b>Tabla 7-3:</b> Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por ACP2 .....	44
<b>Tabla 8-3:</b> Evaluación de motilidad bacteriana a las 18.....	48
<b>Tabla 9-3:</b> Crecimiento de actinobacterias ACP1 Y ACP2.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Fases del compostaje.....	5
<b>Figura 1-2.</b> Relleno Sanitario “San Gerónimo de Porlón”	23

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2.</b> Logaritmo en base 10 de UFC/g compost.....	34
<b>Gráfico 1-3.</b> Glifosato degradado por cada microorganismo	45
<b>Gráfico 2-3.</b> Porcentaje de clorfenapyr degradado por cada microorganismo .....	46
<b>Gráfico 3-3.</b> Porcentaje de difenoconazole degradado por cada microorganismo .....	47
<b>Gráfico 4-3.</b> Tebuconazole degradado por cada microorganismo.....	47

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A.** FORMULACIONES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

**ANEXO B.** ANÁLISIS PREVIOS DE RESIDUALIDAD DE PLAGUICIDAS

**ANEXO C.** VOLUMEN EN MICROLITROS DE CADA PLAGUICIDA PARA EL MEDIO MINERAL

**ANEXO D.** CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE COLONIAS MICROBIANAS PARA LA ELECCIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE PLAGUICIDAS.

**ANEXO E.** CUADRÍCULA DE LA CÁMARA DE PETROFF HOUSSER

**ANEXO F.** CUADRÍCULA DE LA CÁMARA DE NEUBAUER

**ANEXO G.** CÁLCULOS DE LA CANTIDAD EN MICROLITROS DE CADA PLAGUICIDA PARA LOS ENSAYOS CON LOS MICROORGANISMOS DEGRADADORES

**ANEXO H.** CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL EN ppm DE UN VOLUMEN DE 2  $\mu$ L DE CADA PLAGUICIDA

**ANEXO I.** DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL Y FINAL DE PLAGUICIDAS USADOS EN LOS ENSAYOS (AGROLAB COMPANY S.A)

**ANEXO J.** DIÁMETROS DEL CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS DE HONGOS Y ACTINOBACTERIAS

**ANEXO K.** RECUENTO DE ESPORAS EN LA CÁMARA DE NEUBAUER

**ANEXO L.** RECUENTO DE BACTERIAS EN LA CÁMARA DE PETROFF HAUSSER

**ANEXO M.** EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA EN EL LABORATORIO DE CIENCIAS BIOLÓGICA

**ANEXO N.** ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA USADA PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE PESTICIDAS

**ANEXO O.** COTIZACIÓN PARA ANÁLISIS DE PESTICIDAS

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo proponer un procedimiento de biorremediación microbiana para la potenciación del proceso de compostaje a partir de residuos orgánicos con presencia de trazas de plaguicidas provenientes del Mercado Mayorista de la ciudad de Riobamba, para lo cual se utilizaron técnicas microbiológicas para el aislamiento, identificación, purificación, replicación y almacenamiento de los microorganismos usados en biorremediación. En primera instancia se determinó la diversidad microbiana presente en el compost elaborado en San Gerónimo de Porlón, posteriormente dichos microorganismos fueron descritos cualitativamente para elegir a los más frecuentes con la finalidad de someterlos a ensayos con concentraciones conocidas de pesticidas para probar su acción degradadora. En el compost se encontró un promedio de 650 bacterias entre benéficas y patógenas y una escasa cantidad de hongos (25 unidades). Se eligieron a 4 microorganismos para los ensayos con pesticidas, sometiéndoles a concentraciones de 4,68 ppm, 4,4 pm y 4,13 ppm de glifosato, chlorfenapyr y difenoconazole, respectivamente. De los microorganismos, el que degradó la mayor cantidad de glifosato (50,85%) fue la actinobacteria ACPI1, el que degradó la mayor cantidad (52,27%) de chlorfenapyr fue *Pseudomona* spp. y el mayor porcentaje de degradación de difenoconazole (77,96%) se obtuvo con *Pseudomona* spp., según se evidencia en resultados analíticos de Cromatografía de gases-masas (GC-MS) de un laboratorio externo. Estos estudios servirán como base para la potenciación del proceso de compostaje con una bioaumentación de microorganismos en el compost elaborado en San Gerónimo de Porlón.

**Palabras clave:** <COMPOSTAJE>, <BIOAUMENTACIÓN>, <BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL>, <RESIDUOS ORGÁNICOS>, <PESTICIDAS>.

0207-DBRA-UPT-2023



## ABSTRACT

The objective of this study was to propose a microbial bioremediation procedure to enhance the composting process from organic waste with the presence of traces of pesticides from the Wholesale Market of the city of Riobamba, for which microbiological techniques were used for isolation, identification, purification, replication and storage of microorganisms used in bioremediation. In the first instance, the microbial diversity in the compost made in San Gerónimo de Porlón was determined. Later, microorganisms were qualitatively described to choose the most frequent to submit to tests with known concentrations of pesticides to test their degrading action. In the compost, an average of 650 bacteria, between beneficial and pathogenic, and a small number of fungi (25 units) were found. Four microorganisms were chosen for pesticide tests, subjecting them to concentrations of 4.68 ppm, 4.4 pm, and 4.13 ppm of glyphosate, chlorfenapyr, and difenoconazole, respectively. Of the microorganisms, the one that degraded the highest amount of glyphosate (50.85%) was the actinobacteria ACP1, the one that degraded the highest amount (52.27%) of chlorfenapyr was *Pseudomonas* spp. The highest percentage of difenoconazole degradation (77.96%) was obtained with *Pseudomonas* spp., as evidenced by the analytical results of Gas Chromatography-Mass (GC-MS) from an external laboratory. These studies will be a basis for strengthening the composting process with bioaugmentation of microorganisms in the compost made in San Gerónimo de Porlón.

**Keywords:** <COMPOSTING>, <BIOAUGMENTATION>, <ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY>, <ORGANIC WASTE>, <PESTICIDES>.

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a blue oval. The signature appears to read "Paul Obregón".

Ing. Paul Obregón. Mgs

060192712-2

## INTRODUCCIÓN

Riobamba es una de las ciudades que aporta al incremento de la economía del país gracias a su agricultura y ganadería, bien vista por la población ya que aporta productos frescos a los mercados de la ciudad y del centro del país. Sin embargo, las actividades productivas generan residuos que, en muchos casos, no se les da una disposición final adecuada. El Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba (GAD M-Riobamba), en conjunto con el Comité Europeo para la Formación y la Agricultura (CEFA) y la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), en su afán de resolver esta problemática, ha dispuesto que los residuos generados en los mercados, específicamente en el Mercado Mayorista, sean destinados a la elaboración de compost para su posterior aplicación en cultivos orgánicos. Al someter el compost al análisis cuantitativo para verificar su calidad se evidenció la presencia de trazas de plaguicidas de uso agrícola (Glifosato, Difenconazol, Tebuconazole y Clorfenapir), mismos que no han sido eliminados, en su totalidad, con la técnica del compostaje. Se conoce que los plaguicidas en los alimentos son perjudiciales para la salud y, al estar presentes en el compost, vuelven a incorporarse al suelo, afectándolo y reduciendo la calidad de los cultivos.

Los plaguicidas han estado presentes desde la aparición de la agricultura. Son productos destinados al cuidado de las cosechas frente a plagas u otros organismos que las dañen. Sin embargo, con el pasar de los años estos agroquímicos se han convertido en un serio problema al bioacumularse en los suelos o, simplemente, quedarse adheridos a la piel de los alimentos cosechados. Estas frutas, vegetales y demás cultivos, están destinados a ser comercializados en los mercados para su venta al público, generando muchos residuos orgánicos: cáscaras, tallos, raíces, hojas y productos en mal estado o de baja calidad. que quedan en los mercados luego de las ventas. Gran parte de estos residuos son arrojados al botadero municipal, una celda emergente o un relleno sanitario, incrementando la contaminación por la presencia de vectores. Entre las opciones de tratamiento de los residuos orgánicos está el compostaje que permite obtener abonos orgánicos, pasando de una economía lineal a una economía circular.

El suelo es un recurso indispensable para el país, por lo cual se busca su conservación y la eliminación de plaguicidas, acusados de ser persistentes en el ambiente, propensos a biomagnificación y potencialmente tóxicos para animales superiores. Al detectarse trazas de plaguicidas en el compost obtenido, se deduce que los residuos orgánicos del mercado mayorista están contaminados. Con la biorremediación propuesta se busca degradar dichos



contaminantes con ayuda de microorganismos, transformándolos en compuestos más simples y de menor peligrosidad, dando solución así a la problemática de estos xenobióticos. La presente investigación, pretende encontrar microorganismos degradadores de plaguicidas como una propuesta para ser incorporados en el proceso de compostaje, buscando potenciar la efectividad de este método, así como la eliminación de dichos xenobióticos. En este sentido, se realizará primero una investigación bibliográfica en busca de los microorganismos deseados, se los aislará en condiciones de laboratorio, se realizarán pruebas de efectividad in vitro de estos microorganismos en ensayos con los pesticidas en cuestión, determinando como paso final su efectividad al momento de degradar pesticidas; esto permitirá obtener cultivos puros para futuros procesos de bioaumentación.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Proponer una técnica de biorremediación para la potenciación del proceso de compostaje a partir de residuos orgánicos con presencia de trazas de plaguicidas provenientes del Mercado Mayorista de la ciudad de Riobamba

### **Objetivos Específicos**

Identificar teorías y conceptos a través de una revisión bibliográfica sobre compostaje, plaguicidas, biorremediación y temas relacionados para la recopilación de información y la construcción de protocolos para la investigación.

Determinar los microorganismos con potencial actividad biodegradadora de pesticidas presentes en el compost.

Demostrar la capacidad de biodegradación de los microorganismos del compost de las biopilas elaboradas a partir de residuos orgánicos y de poda del Mercado Mayorista.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Compost

El compost es un material orgánico estable que se obtiene a través de un proceso biológico por medio de microorganismos en condiciones aeróbicas, es decir con presencia de oxígeno, que contiene nutrientes para las plantas como nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y microelementos (Durmus y Kızılkaya 2022, p. 2). Es el resultado del proceso de compostaje, el producto al ser incorporado al suelo mantiene la fertilidad de éste y mejora la producción de cultivo (Arango y Agudelo 2004, p. 4). El compost se puede utilizar como fertilizante orgánico para los cultivos y también para evitar la erosión del suelo (Velázquez, Hernández y Contreras 2020, p. 2).

La preparación del compost varía dependiendo de la disponibilidad de ingredientes para su producción, de las necesidades o de acuerdo al uso requerido; en este sentido, según la cantidad de desechos orgánicos disponibles, éstos pueden ir o no mezclados con otros materiales orgánicos como el estiércol de cerdos, ganado, etc. La mezcla con otros productos se realiza principalmente por el aporte de nutrientes como el nitrógeno, el carbono, etc.

(Aguirre, Piraneque y Cabarcas 2022, p. 3).

El compostaje, es una estrategia práctica para disminuir los residuos de los vertederos o rellenos sanitarios, ya que los residuos orgánicos en condiciones anaeróbicas se biodegradan lo que conlleva a la proliferación de gases de efecto invernadero que contribuyen al calentamiento global, además se producen lixiviados que se infiltran en el suelo y pueden llegar a cuerpos de agua de consumo humano (Pheakdey et al. 2022, p. 14). Esta tecnología, bien diseñada, puede contribuir a procesos de biorremediación, es decir que se puede hacer compost a partir de material contaminado con agroquímicos, petróleo, entre otros, y mezclar con otros materiales biodegradables.

#### 1.2. Compostaje

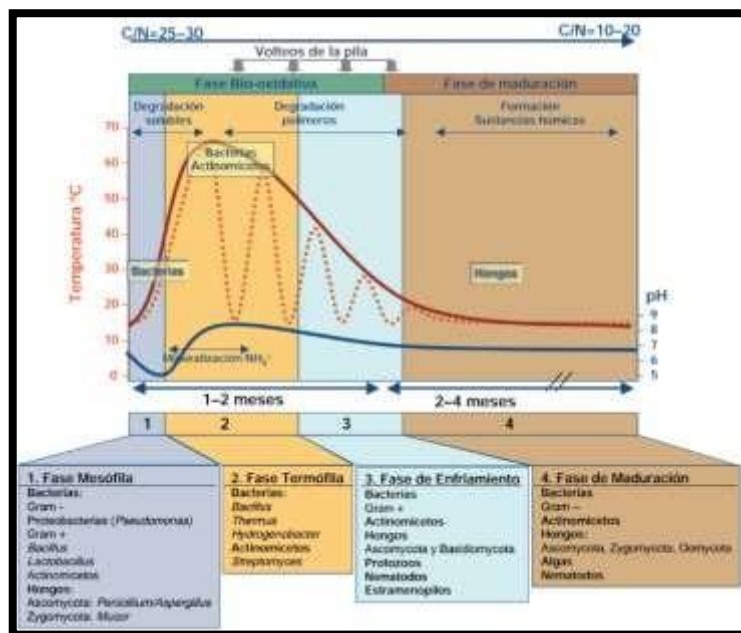
El compostaje es un proceso por el cual el material orgánico de origen vegetal (residuos orgánicos) y animal (estiércoles) se descomponen por la acción de factores biológicos como los microorganismos, los mismos que se encuentran en los desechos orgánicos y el estiércol

(Vázquez et al. 2015, p. 2). Se puede dar tanto en condiciones aerobias como anaerobias (Durmus y Kızılkaya 2022, p. 2). Al darse el proceso de descomposición de los residuos, éstos se transforman en CO<sub>2</sub>, biomasa, energía térmica y material orgánico estable rico en sustancias húmicas como producto final (compost) (Tortarolo et al. 2008, p. 2).

El compostaje se lleva a cabo en condiciones controladas, tales como: la proporción de carbono/nitrógeno de las materias orgánicas, la porosidad, y la población de microorganismos, así como sus condiciones, la temperatura, la humedad, el oxígeno y el pH, que comúnmente tiene rangos ideales para que se dé el proceso de compostaje (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 4).

### 1.2.1. Fases del compostaje

El compostaje se desarrolla siguiendo cuatro fases bien diferenciadas en función de la temperatura generada por la actividad microbiana: fase mesófila, fase termófila, fase mesófila o de enfriamiento y fase de maduración, como se aprecia en la Figura 1-1.



**Figura 1-1.** Fases del compostaje

**Fuente:** (Moreno Casco y Moral Herrero 2007, p. 101)

#### 1.2.1.1. Fase mesófila

La fase mesofílica, es la etapa en la que comienza el proceso de compostaje que consiste en la adaptación de los microorganismos al medio en el que se van a multiplicar y colonizarán los residuos (Ho et al. 2022, p. 4). Esta etapa dura de 24 a 72 horas (Salazar 2014, p. 5). Se inicia con una

temperatura ambiental, la cual incrementará de 20 a 40 °C, mientras el pH va disminuyendo (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino 2020, p. 3). En esta fase se degrada con mayor rapidez el material orgánico más sencillo, es decir, los aminoácidos, los azúcares, el almidón, las proteínas y las grasas, lo que conlleva a una mayor colonización de los microorganismos y a un aumento de temperatura dando paso a la siguiente fase (Salazar 2014, p. 5).

El incremento de temperatura favorece principalmente a bacterias, levaduras, hongos y actinobacterias, que descomponen los enlaces químicos de la materia orgánica liberando así energía metabólica (Ho et al. 2022, p. 4).

#### *1.2.1.2. Fase termófila*

Esta fase se considera como la etapa más importante de compostaje, ya que se degradan las moléculas estructurales de la materia orgánica, como grasas, proteínas, y carbohidratos complejos (incluida la celulosa y hemicelulosa) por acción de microorganismos termófilos (Ho et al. 2022, p. 2). Como consecuencia del intenso trabajo de los microorganismos la temperatura sube de 40°C a 70°C, favoreciendo la muerte de microorganismos patógenos, higienizando el medio con la eliminación de larvas y semillas (Salazar 2014, p. 5).

Cuando se alcanza una temperatura de 65°C se favorece a las poblaciones mixtas de hongos, bacterias y actinobacterias (Ho et al. 2022, p. 3). Se debe realizar volteos continuos para evitar que la temperatura sobrepase los 70°C, puesto que a esa temperatura la mayoría de los microorganismos mueren y no cumplirían con su función de degradar la materia orgánica, resultando un producto final de mala calidad. Además, se debe controlar la humedad de la pila de compostaje, porque al igual que ocurre con la temperatura, los microorganismos dejarán de descomponer la materia orgánica si no encuentran una actividad del agua ( $a_w$ ) apropiada. Dependiendo del material orgánico inicial, la fase termófila puede durar 2 semanas en sistemas acelerados, y de uno a dos meses en sistemas de fermentación lenta (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino 2020, p. 2).

#### *1.2.1.3. Fase de enfriamiento*

En la fase de enfriamiento se agotan los nutrientes ricos en carbono y nitrógeno, por ende, los microorganismos termófilos mueren provocando un descenso de la temperatura que oscila entre los 40°C y 45°C o menor rango (Ho et al. 2022, p. 3). Por lo tanto, los microorganismos mesófilos como bacterias, hongos y actinobacterias vuelven a crecer retomando su actividad microbiana, y el pH del medio disminuye quedando ligeramente alcalino (Ho et al. 2022, p. 3).

Dichos microorganismos se alimentarán de lignina y celulosa de la pila de compostaje que ha quedado de la fase anterior (Salazar 2014, p. 5). El tiempo de enfriamiento de la pila puede durar semanas, lo que a veces se puede confundir con la fase de maduración (Ho et al. 2022, p. 3).

#### *1.2.1.4. Fase de maduración*

La fase de maduración es la última etapa del proceso de compostaje, que consiste en la estabilización y polimerización del compost. La temperatura es similar a la ambiente y desciende el consumo de oxígeno, eliminando así la fitotoxicidad (Salazar 2014, p. 5).

La actividad microbiana disminuye por la escasez de nutrientes, aunque se siguen dando reacciones de condensación y polimerización de carbono, formando ácidos húmicos y fúlvicos (Ho et al. 2022, p. 3).

### *1.2.2. Factores que actúan en el proceso de compostaje*

La actividad microbiana degradadora de la materia orgánica es modulada por factores ecológicos que determinan su crecimiento, supervivencia o muerte en la matriz. Estos factores se detallan a continuación.

#### *1.2.2.1. Factores físicos*

- **Temperatura**

La temperatura, es uno de los factores más importantes del proceso de compostaje, su medición permite definir y detectar en qué fase se encuentra dicho proceso (Tortarolo et al. 2008, p. 2). Se produce un gradiente de temperatura significativo debido a los balances de masa y energía no lineales (Onwosi et al. 2017, p. 3).

La temperatura óptima para el crecimiento de los microorganismos depende de la fase en la que se encuentre el compostaje, es así que en la fase mesófila inicial la temperatura ideal es de 25 a 40 °C y en la fase mesófila es superior a los 45°C (Ho et al. 2022, p. 4). La temperatura afecta la actividad microbiana durante el proceso de biodegradación, y también la supervivencia de los microorganismos patógenos que mueren si la temperatura llega a un rango de 45 a 55°C en un tiempo aproximado de 30 a 60 minutos.

Si la temperatura supera los 60°C una gran parte de microorganismos se destruyen y mueren, además se da la desnaturalización de las proteínas (Ho et al. 2022, p. 4).

Alcanzar el nivel ideal de temperatura en las pilas de compostaje es fundamental para que el proceso sea efectivo (Onwosi et al. 2017, p. 3). Es así que, a una temperatura menor a los 20°C se puede detener el proceso de degradación, si llega a los 60°C se detiene la actividad de los microorganismos mesófilos dando lugar al establecimiento de los termófilos, en contraste, pasa si la temperatura llega a ser mayor que los 82°C donde se dificulta la actividad (Tortarolo et al. 2008, p. 6). Las temperaturas que se encuentran en los 55°C optimizan la sanidad e higienización debido a la muerte de patógenos e inactivación de las larvas y semillas; en el rango de 45-55°C se maximiza el proceso de biodegradación, y entre 35-40°C se favorece a la diversidad de microorganismos (Tortarolo et al. 2008, p. 6).

- **Humedad**

La humedad o la cantidad de agua actúa como medio de transporte y de solubilidad de los nutrientes de la materia orgánica hacia los microorganismos (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 7), además es un punto clave en la tasa de consumo de oxígeno, el espacio de aire libre en la materia particulada, la actividad microbiana y la temperatura del proceso (Onwosi et al. 2017, p. 3). El rango óptimo de la humedad en el medio varía entre 45-60% del peso del compost, en donde los microorganismos realizan sus actividades de manera eficaz (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 7), pero si el porcentaje es menor al 30% el proceso se ralentiza debido a la inoperatividad de los microbios y a la disponibilidad de los nutrientes; si el porcentaje es mayor al 80%, la tasa de difusión de gas y la del consumo de oxígeno se vuelve inapropiada para satisfacer las demandas metabólicas de los microorganismos (Onwosi et al. 2017, p. 3), el proceso se vuelve anaerobio dando como resultado su ralentización, generando malos olores, dando lugar a la liberación de gas metano nocivo

(Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 7).

En el transcurso del compostaje, principalmente en las primeras fases, la temperatura incrementa causando la pérdida de agua, por lo que se debe llevar un control tanto de la temperatura como la de la humedad para poder corregir y mantenerlas en rangos óptimos (Salazar 2014, p. 6). Conviene tener presente que a medida que la temperatura incrementa el contenido de agua disminuye, y si la humedad aumenta la temperatura disminuye (Onwosi et al. 2017, p. 3).

- **Porosidad**

La porosidad, es la cantidad de espacio poroso lleno de aire existente entre las partículas de la matriz, ese factor guarda una relación inversa con el contenido de humedad y con la densidad aparente, de manera que, al aumentar la densidad aparente, la humedad aumenta y la porosidad tiende a disminuir (Ho et al. 2022, p. 6).

El rango óptimo de la porosidad oscila entre el 35% al 60%, para obtener dichos valores es recomendable mezclar partículas de tamaño más grande y más pequeño, incorporando materiales como viruta de madera, periódicos o cartones triturados para mejorar y mantener una porosidad ideal (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 6). Si los valores de porosidad son inferiores a los óptimos la actividad microbiana tiende a ralentizarse, ya que no existe una adecuada circulación de oxígeno lo que limita la liberación de calor y la temperatura tiende a aumentar; caso contrario, si la porosidad sobrepasa lo óptimo conlleva a que la temperatura disminuya, por lo tanto, los microorganismos patógenos no mueren y los demás no realizan sus actividades adecuadamente (Ho et al. 2022, p. 6). No obstante, la porosidad se puede corregir agregando material orgánico como paja, aserrín, cartón triturado o cáscara de arroz (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 9).

- **Tamaño de partícula**

La actividad de los microorganismos ocurre principalmente en la superficie del material a descomponer, es decir que debe tener un tamaño adecuado para un efectivo proceso (Salazar 2014, p. 6). El tamaño ideal de la partícula oscila entre 5-20cm, si el tamaño es menor a 5cm las partículas tienen a compactarse y reduce el espacio vacío por donde circula el oxígeno, también se reduce la humedad promoviendo la inactividad microbiana (Ho et al. 2022, p. 6). Por el contrario, si las partículas sobrepasan el tamaño de 20cm proporcionan suficiente oxígeno, pero limitan el área de superficie para el proceso de descomposición por lo que el proceso será lento (Docampo 2013, p. 3).

El tamaño ideal de la partícula ayuda al incremento de la actividad microbiana y la tasa de compostaje, además influye en la porosidad del medio para mantener una aireación y humedad adecuada (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 6).

Cuando el tamaño de las partículas difiere mucho, se debe realizar un proceso de tamizado para separar y corregir el tamaño de las que sobrepasan el tamaño, además este proceso ayuda a separar partículas que no son orgánicas, así como los plásticos (Onwosi et al. 2017, p. 4).



### 1.2.2.2. Factores químicos

- **Relación Carbono/Nitrógeno**

Para obtener un compost de buena calidad debe existir una equivalencia en la concentración de carbono y nitrógeno, por ende, al formar la pila de compostaje se debe añadir materia orgánica de color verde como los restos de poda, restos de comida, y estiércol que son ricos en nitrógeno, el cual es utilizado en la biosíntesis de proteínas, enzimas y ácidos nucleicos, que son necesarios para el crecimiento y funciones celulares de los microorganismos (Azis, Rijal y Suhaimi 2022, p. 5). Mientras que para el contenido de carbono es conveniente utilizar materia orgánica de color marrón, como hojas secas, restos de madera, cartón, aserrín y ramas, dicho componente se consume mucho más rápido que el nitrógeno, por ende, es necesario colocar materia orgánica de color marrón.

Se sabe que un aporte de nitrógeno limitado afecta negativamente al crecimiento microbiano, reduciendo su velocidad, por lo tanto, la descomposición de la materia orgánica se ralentiza (Onwosi et al. 2017, p. 3). Si la relación C/N es muy alta se retarda el proceso de compostaje, y si es demasiado baja impide la descomposición de la materia orgánica (Salazar 2014, p. 5). Se menciona en la investigación de (Ho et al. 2022, p. 5) que si la relación es mayor de lo óptimo, el crecimiento de microorganismos es restringido debido a la escasez de nitrógeno, es decir, los microorganismos al realizar sus procesos metabólicos oxidan el exceso de carbono hasta alcanzar la relación C/N adecuada, lo que provoca la pérdida de nitrógeno, además el tiempo necesario para el proceso de incubación será mayor y se producirá menos humus; mientras tanto, si la relación C/N es baja, el nitrógeno se pierde como  $\text{NH}_3$ , especialmente a altas temperaturas.

La proporción óptima de C/N para el producto terminado es de 15 partes de carbono con una parte de nitrógeno, pero para la proporción de partida (es decir, al armar la pila de compostaje) es recomendable que sea de 25-35:1 (Ho et al. 2022, p. 5), para asegurar que no exista déficit de ninguno de los dos componentes (Docampo 2013, p. 2).

- **pH**

El pH (potencial de hidrógeno) es un parámetro que se toma en cuenta en el proceso de compostaje. Según (Salazar 2014, p. 6) al inicio del proceso, los desechos orgánicos frescos tienen

un pH ligeramente ácido en un rango de 6-7, cuando empiezan las reacciones el pH se acidifica alcanzando valores de 4,5 y 5,5, mientras se avanza a la fase termófila el pH es básico alcanzando valores de 8 y 9, y al finalizar el proceso el pH se neutraliza.

El pH ideal para el crecimiento y desarrollo de las funciones de bacterias y hongos están en un rango de 6-7,5 y 5,5-8 respectivamente, cabe mencionar que un pH menor a 5 inhibe actividad microbiana (Ho et al. 2022, p. 6).

Al inicio del proceso de compostaje el pH se acidifica levemente debido a la degradación de proteínas, ácidos grasos y compuestos ácidos que se volatilizan para formar ácidos orgánicos dando lugar a un pH ligeramente ácido (en donde se degrada la lignina y celulosa), luego estos ácidos se neutralizan convirtiéndose en CO<sub>2</sub> que como consecuencia el pH se eleva, el pH también se vuelve básico debido a la formación de amoníaco (Onwosi et al. 2017, p. 3). Al finalizar el proceso de degradación el pH vuelve a ser casi neutro por la formación de sustancias semejantes al humus que tienen propiedades amortiguadoras, sin embargo, hay ocasiones en donde los ácidos orgánicos en lugar de descomponerse se acumulan durante el proceso de compostaje si se dan condiciones anaeróbicas (Salazar 2014, p. 6).

- **Oxígeno**

La disponibilidad de oxígeno es otro de los parámetros importantes para determinar si el proceso de compostaje ha finalizado (Ho et al. 2022, p. 6). La concentración ideal de oxígeno es del 18 % y mínimo del 5%, en donde los microorganismos realizan su trabajo de manera eficiente, es decir, descomponen la materia orgánica, se acelera la estabilidad y madurez del compost, y se mantiene la temperatura adecuada, si es menor a lo óptimo la actividad microbiana es deficiente, por lo tanto, el proceso de composteo es lento (Ho et al. 2022, p. 6).

Se reitera que el compostaje es un proceso aeróbico que requiere el aporte de oxígeno para que la microbiota realice eficientemente sus actividades, liberando CO<sub>2</sub> y agua (Salazar 2014, p. 6). La tasa de suministro de oxígeno ayuda a mantener la temperatura ideal tanto en la fase mesófila como en la termófila para la degradación del material orgánico, además afecta a la conversión de nitrógeno, es decir, aumenta la concentración de NH<sub>4</sub> y disminuye la concentración de NO<sub>x</sub> (Onwosi et al. 2017, p. 3).

Cuando el proceso de aireación es bajo o nulo afecta directamente la calidad del producto final, así como la pérdida de nitrógeno y el consumo de energía. Cabe destacar que la aireación proporciona el oxígeno necesario para la oxidación de la materia orgánica y evapora el exceso

de agua que hay en el sustrato, también influye en las propiedades bioquímicas, como el contenido de humedad, de materia orgánica, temperatura y pH del compost final (Onwosi et al. 2017, p. 6).

### *1.2.2.3. Propiedades microbiológicas*

En el proceso de compostaje actúan casi toda clase de microorganismos, como bacterias, hongos, actinobacterias, y a veces protozoos y algas, sin embargo, durante la mayor parte del proceso de degradación, existe un mayor porcentaje de bacterias y hongos, los cuales representan un 80% y 90% (Ho et al. 2022, p. 6).

Las bacterias como *Streptococcus sp*, *Bacillus sp*, *Vibrio sp*, y actinobacterias se presentan al quinto o séptimo día después de haber comenzado el proceso de compostaje, dichas bacterias utilizan diversas enzimas para degradar la materia orgánica por oxidación (Ho et al. 2022, p. 6). Como se menciona también hay *Actinomycetes* que son un orden de bacterias no móviles, de forma filamentosa y se encargan especialmente de descomponer los materiales más resistentes, como los almidones, las proteínas y la celulosa, además proporcionan el aroma a tierra al compost. Mientras que los hongos, levaduras y mohos transforman los residuos más difíciles en productos más sencillos para que las bacterias continúen con el proceso de descomposición (Ho et al. 2022, p. 6).

### **1.2.3. Plaguicidas**

Los plaguicidas son compuestos químicos usados para la eliminación de plagas. Se consideran agentes químicos o biológicos que incapacitan, debilitan y matan plagas. Estos plaguicidas se clasifican según la plaga objetivo a la que sean destinados, dividiéndose en varios grupos: insecticidas, herbicidas, rodenticidas, bactericidas, fungicidas y larvicidas (Raffa y Chiampo 2021, p. 3). Además, los plaguicidas se dividen a su vez en subgrupos, por ejemplo, insecticidas que contienen compuestos organoclorados, organofosforados, ésteres de carbamato, piretroides, acetamidas, triazoles, triazinas y neonicotinoides. Estos subgrupos dependen de sus propiedades hidrofóbicas, estructura molecular, propiedades iónicas o no iónicas y modo de acción (Wang et al. 2022, p. 3).

#### *1.2.3.1. Impactos del uso de pesticidas*

La aplicación desmedida de pesticidas repercute en su persistencia en suelos agrícolas, reservorios de aguas y alimentos que poseen cierta residualidad de estos y atentan contra la

salud de los seres humanos. Por ejemplo, en lo referente a la contaminación de suelo, la concentración residual de los pesticidas excede los límites permitidos por los organismos que regulan el ambiente. El parámetro que se puede considerar para evaluar la persistencia de un pesticida en el suelo es el tiempo medio ( $t_{1/2}$ ), es decir, el tiempo necesario para que un compuesto reduzca a la mitad su concentración inicial (Raffa y Chiampo 2021, p. 4).

La exposición humana a los pesticidas puede ocurrir a través de la ingesta de agua y alimentos contaminados, la inhalación de aire contaminado y directamente del uso ocupacional, agrícola y doméstico. Los pesticidas pueden ingresar al cuerpo humano por vías: dérmica, oral, ocular y respiratoria; su toxicidad se relaciona con la estructura de la molécula y sus propiedades electrónicas, la dosis y los tiempos de exposición (Raffa y Chiampo 2021, p. 4).

### *1.2.3.2. Propiedades de los plaguicidas*

- **Volatilidad**

La volatilidad de un pesticida, determinada por la presión de vapor, es la tendencia de un pesticida a cambiar al estado gaseoso. Los pesticidas con alta presión de vapor son más propensos a volatilizarse y escapar a la atmósfera (Joern y Lohman 2019, p. 1).

- **Sorción**

La sorción es la atracción de un pesticida a las superficies inorgánicas y orgánicas del suelo. Cuando los pesticidas se absorben a los suelos, es menos probable que se filtren (Joern y Lohman 2019, p. 1).

- **Solubilidad en agua**

La solubilidad en agua expresa la cantidad de pesticida que se disolverá en una cantidad dada de agua. Los pesticidas con gran solubilidad en agua poseen una menor sorción. Esto los hace más móviles en el ambiente y más fácilmente disponibles para la lixiviación a las aguas subterráneas o para escorrentía con el agua superficial (Joern y Lohman 2019, p. 1).

- **Persistencia de los plaguicidas**

Una de las propiedades de los pesticidas es la persistencia. Esta se refiere a la cantidad de tiempo de un pesticida permanece en el ambiente. La vida media se utiliza para su medición.

Los pesticidas más persistentes que tienen vidas medias más largas pueden representar una mayor amenaza, ya que permanecen por más tiempo. La persistencia es una función de los procesos de degradación química y biológica, que descomponen el pesticida en compuestos menos dañinos (Joern y Lohman 2019, p. 1).

#### *1.2.3.3. Tipos de pesticidas*

Existen diversos pesticidas que se han clasificado según su composición química; estos han sido elaborados para objetivos específicos, otros poseen amplio espectro y pueden usarse contra muchas plagas o enfermedades en las plantas y en el suelo (Ajiboye, Kuvarega y Onwudiwe 2020, p. 3). Los pesticidas mencionados en este trabajo de investigación pertenecen al grupo de insecticidas, herbicidas y fungicidas, cada uno de ellos se describe con más detalle a continuación:

#### *1.2.3.4. Pesticidas como contaminantes más frecuentes del compost en estudio*

- **Glifosato**

Los herbicidas a base de glifosato son herbicidas sistemáticos de amplio espectro y desecantes de cultivos, utilizados principalmente en granos de cereales, maíz y colza. El ácido aminometilfosfonatos (AMPA), metabolito significativo de herbicidas a base de glifosato, posee una vida media de 76 a 240 días, lo que muestra la toxicidad del glifosato materno de tres a seis veces. La presencia de AMPA se reporta comúnmente en aguas dulces, sedimentos y partículas suspendidas, con mayor frecuencia que el glifosato (Tresnakova et al. 2022, p. 2).

El glifosato mata las malas hierbas a través de la inhibición de la enzima 5-enolpiruvylshikimate-3-fosfato sintasa (EPSPS), que también está presente en hongos y bacterias

(Freidenreich et al. 2022, p. 3).

- **Clorfenapyr**

El derivado pirrol 4-bromo-2-(4-clorofenil)-1-etoximetil-5-(trifluorometil) pirrol-3-carbonitril (clorfenapyr) es una sustancia no neurotóxica que induce la fosforilación oxidativa a las mitocondrias e interrumpe la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP) (Skourti, Kavallieratos y Papanikolaou 2020, p. 3).

El clorfenapyr es un nuevo insecticida pirrol, ampliamente utilizado en diferentes productos agrícolas, como el repollo chino, el repollo, los cítricos, la manzana, el té y otras verduras, frutas y otros cultivos, debido a su alta eficiencia y características de amplio espectro. El clorfenapyr tiene una excelente capacidad para el control de varias especies como *Liriomyza* sp., *Frankliniella occidentalis*, *Spodoptera exigua* y *Spodoptera litura*; al ser un pesticida altamente concentrado, puede ser tóxico para los humanos, las aves, los peces y los gusanos de seda, y también puede dañar el ADN del hígado, el bazo y las células renales de los ratones (Li et al. 2022, p. 2).

- **Difenoconazole**

El difenoconazole es un fungicida triazol de amplio espectro perteneciente a la familia de los principales activos azoles que actúan como inhibidores de la biosíntesis de ergosterol, alterando la estructura de la membrana celular fúngica (Pal et al. 2022, p. 3).

Este fungicida podría ser fácilmente absorbido por las raíces de las plantas y entregado a otras partes de las plantas a través del tejido del xilema. El uso de difenoconazole en la agricultura ha aumentado más rápido que el de otros fungicidas por su eficiencia en enfermedades, y generalmente se usa por pulverización o recubrimiento de semillas, así como aplicándolo directamente a las raíces. Sin embargo, los estudios existentes se centran en gran medida en los residuos de difenoconazole en el suelo/cultivos y su efecto contra las enfermedades, mientras que su fitotoxicidad rara vez se ha informado (Liu et al. 2021, p. 2).

- **Tebuconazole**

El tebuconazole, un fungicida triazol quiral de amplio espectro, es uno de los pesticidas más vendidos en el mundo y ampliamente utilizado para controlar muchas enfermedades de hongos de plantas (Wang et al. 2022, p. 3).

Se ha demostrado que su mecanismo de acción inhibe la biosíntesis fúngica de ergosterol a través de la inhibición del citocromo P450 (CYP) 51 (lanosterol 14 alfa-demetilasa) un componente esencial de la integridad de la membrana fúngica. Sin embargo, el uso excesivo de este pesticida causa residualidad en los alimentos, el agua y el suelo, lo que resulta en varios efectos nocivos para la salud humana (Kwon et al. 2021, p. 4).

#### **1.2.4. Biorremediación**

La biorremediación es la eliminación parcial o completa de sustancias tóxicas por parte de microorganismos con su conversión en sus componentes elementales. La biorremediación depende principalmente de la disponibilidad de residuos de plaguicidas y de la capacidad del agente para descomponer estos residuos. Durante el proceso, los pesticidas se transforman en productos de degradación o son completamente mineralizados por microorganismos, que utilizan los compuestos contaminantes como nutrientes para sus reacciones metabólicas (Wang et al. 2022, p. 3).

Varios estudios han demostrado la efectividad de los microorganismos expuestos a entornos con concentraciones de pesticidas. Por ejemplo, para la degradación de glifosato se puede utilizar algunas especies de *Fusarium* (Castro, Joao, Peralba y Ayub 2007, p. 4), para la degradación de glifosato y sus metabolitos se puede hacer uso de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* (Kaczynski et al. 2020, p. 3), para la degradación de tebuconazole se puede usar la bacteria *Serratia marcescens* (Wang et al. 2018, p. 2).

#### 1.2.4.1. Tipos de biorremediación

El aumento en el uso de pesticidas en el campo agrícola ha resultado perjudicial para el suelo, al generar serios problemas de contaminación, trayendo consigo graves problemas a la salud. Es por esto que, con base en investigaciones científicas se fueron generando técnicas que ayudan a la mitigación de los daños ocasionados por estos xenobióticos, ya sea disminuyendo su cantidad o eliminándolos (Gonçalves y Delabona 2022, p. 2). La técnica propuesta en este trabajo de investigación es la bioaumentación, la cual se explica a continuación:

- **Bioaumentación**

El proceso de bioaumentación comprende el uso de cepas microbianas especializadas o consorcios de microorganismos, los cuales pueden ser autóctonos o modificados genéticamente; éstos se introducen en exceso o mayor cantidad a las que se encuentran en el espacio a tratar para mejorar la capacidad de reacción de este frente a un contaminante. Su base principal se centra en aprovechar las capacidades metabólicas de los microbios para transformar los contaminantes en compuestos inofensivos o menos peligrosos. Los microorganismos degradadores se encuentran en la naturaleza, sin embargo, su potencial para degradar y mineralizar los contaminantes objetivos puede estar limitado por su baja población, condiciones desfavorables para su crecimiento y la presencia de moléculas complejas o una mezcla de compuestos que requieren microorganismos o vías específicas (Hawumba et al. 2010, p. 4).

### ***1.2.5. Microorganismos biodegradadores de plaguicidas***

#### ***1.2.5.1. Hongos***

Los hongos son importantes agentes geoactivos, desempeñan papeles geológicos muy importantes en varios procesos, por ejemplo, en la descomposición de la materia orgánica, el ciclo biogeoquímico, la biotransformación de elementos, las transformaciones de metales y minerales, la biometeorización y la formación del suelo (Ceci et al. 2020, p. 3).

Algunas de las ventajas de utilizar hongos para la biorremediación, son la producción de enzimas y alta tolerancia a concentraciones elevadas de contaminantes químicos, así como su capacidad de penetración en el suelo, a través de una red de micelio, por otra parte, sus hifas demuestran un crecimiento indeterminado, debido a la disponibilidad de nutrientes en el sustrato (Gonçalves y Delabona 2022, p. 3).

La degradación fúngica es promovida por su flexibilidad enzimática involucrada en procesos degradativos. Estos microorganismos también pueden influir en las propiedades del suelo, modificando la permeabilidad de éste y la capacidad de intercambio iónico. Los hongos pueden ser mejores degradadores que las bacterias por sus características, tales como: la bioactividad específica, la morfología del crecimiento y la alta resistencia incluso a altas concentraciones de contaminantes (Raffa y Chiampo 2021, p. 4).

Un enfoque común en el tema de biodegradación es utilizar tanto hongos como bacterias para mejorar la degradación, se conoce que los hongos pueden transformar los plaguicidas en una forma más fácil y accesible para las bacterias (Raffa y Chiampo 2021, p. 4).

#### ***1.2.5.2. Bacterias***

Se sabe que las bacterias se encuentran entre la diversidad microbiana más explorada y estudiada para los procesos de biorremediación. Las bacterias poseen una alta capacidad para degradar una variedad de tóxicos, principalmente debido a la presencia de genes catabólicos y a su aptitud para soportar condiciones ambientales extremas (Hlihor et al. 2022, p. 3).



Varias cepas han sido identificadas como capaces de degradar pesticidas presentes en los suelos. Cada bacteria tiene una especificidad que la hace particularmente adecuada para un proceso degradativo. Las condiciones operativas, como la temperatura, el pH, el contenido de agua y los tipos de contaminantes, afectan a la adaptación, el desarrollo y a la función de una cepa bacteriana. En muchos casos, la degradación se facilita cuando se emplea un consorcio bacteriano en lugar de un cultivo puro aislado. En la naturaleza las bacterias coexisten y dependen unas de otras para su viabilidad. En las vías metabólicas de degradación de plaguicidas, cada bacteria puede generar metabolitos que pueden ser utilizados como sustratos por otros microorganismos

(Raffa y Chiampo 2021, p. 3).

#### *1.2.5.3. Actinobacterias*

Las actinobacterias (anteriormente denominadas actinomicetos) son bacterias morfológicamente complejas, dependiendo del taxón expresan diversas morfologías como bastoncillos ramificados, estructuras miceliales complejas, cuerpos de esporas, bastoncillos móviles o inmóviles. Se conoce que esas bacterias filamentosas degradan pesticidas y su actividad no está limitada a un género o familia en particular (De Schrijver y De Mot 1999, p. 2).

La mayoría de las actinobacterias degradadoras son saprófitas que se encuentran en el suelo o que proceden de él (McCarthy y Williams 1992, p. 2), es decir, están adaptados para su rápido crecimiento, por lo que se estudian para la biorremediación de plaguicidas de estructuras químicas muy diferentes (Gonçalves y Delabona 2022, p. 3).

#### *1.2.6. Pruebas bioquímicas para reconocimiento de microorganismos*

##### *1.2.6.1. Bacterias*

- **Pruebas de motilidad**

La motilidad se define como el movimiento de las células debido a un mecanismo de autopropulsión, mediante este movimiento pueden cambiar de un ambiente con condiciones desfavorables a otro con nuevos recursos, pudiendo acceder a nutrientes y a nichos específicos (Palma et al. 2022, p. 4).

La prueba de motilidad se utiliza para determinar si un microorganismo posee la capacidad de movilizarse o no. Los microorganismos móviles poseen flagelos que les permiten moverse a un punto diferente al de su inoculación. Generalmente, las bacterias móviles son bacilos, aunque también se pueden encontrar cocos móviles. Para la realización de esta prueba se prepara un medio semisólido en un tubo y con la ayuda de una aguja se inocular el microorganismo en estudio en el centro del medio (Tankeshwar 2022, p. 1).

#### *1.2.6.2. Actinobacterias*

- **Morfología macroscópica**

Para la caracterización macroscópica de las actinobacterias se utilizan medios de cultivo específicos para observar la morfología colonial, la aparición o no de micelio aéreo y la pigmentación que adoptan (Rodríguez y Tipán 2011, p. 49).

- **Morfología microscópica**

Esta prueba se lleva a cabo en las actinobacterias que son más representativas, es decir, los más frecuentes o los que demuestren un buen crecimiento en los medios de cultivos usados en la prueba macroscópica (Rodríguez y Tipán 2011, p. 50).

- **Prueba de crecimiento en aminoácidos**

Se conoce que los aminoácidos son unos de los sustratos más nutritivos para el crecimiento de los actinobacterias. El ensayo se realiza en un medio basal específico, suplementando con aminoácidos brindando al microorganismo fuentes de carbono y nitrógeno para su desarrollo (Rodríguez y Tipán 2011, p. 51).

#### *1.2.7. Medios de cultivo empleados para determinar la diversidad microbiana del compost*

##### *1.2.7.1. Agar EMB*

El agar Eosina y azul de metileno (EMB) es un medio de cultivo diferencial que es utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales, y enterobacterias (Britania 2021, p. 1).

La formulación de EMB contiene azul de metileno y eosina que permiten la diferenciación de organismos fermentadores de lactosa y no fermentadores, estos componentes inhiben

parcialmente el crecimiento de bacterias Gram positivas. El uso de lactosa y sacarosa permite detectar coliformes que fermentan la sacarosa más fácilmente que la lactosa (Condalab 2018, p. 1).

#### *1.2.7.2. Agar Pseudomonas*

El agar Pseudomonas es un medio de cultivo utilizado para el aislamiento selectivo, detección e identificación de especies de *Pseudomonas* (Dickinson y Becton 2003, p. 1). La selectividad del agar Pseudomonas se debe a la presencia de cetrimida (amonio cuaternario) que inhibe el crecimiento de bacterias diferentes a *Pseudomonas*. La peptona suministra carbono y nitrógeno para el crecimiento y desarrollo (Britania 2021, p. 1).

#### *1.2.7.3. Agar Nutritivo*

El agar nutritivo es un medio de cultivo sólido utilizado frecuentemente para propósitos generales, así como, para el aislamiento y recuento de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales. En agar nutritivo pueden crecer todo tipo de microorganismos, tales como: hongos, bacterias, y levaduras que no requieren elementos especiales para su nutrición. Además, no contiene inhibidores del desarrollo bacteriano, por ende, crecerán bacterias patógenas y saprófitas (Laboratorio Medibac 2015, p. 1).

Normalmente se utiliza para mantener cepas, para subcultivos, para purificar los aislamientos, previa aplicación de pruebas bioquímicas, y como base para preparar agar sangre. También se usa para la multiplicación de microorganismos para producir vacunas y antígenos en general, en pruebas de sensibilidad y resistencia (PanReac Química 2020, p. 2).

#### *1.2.7.4. Agar GYM*

El agar GYM se denomina así por su contenido de glucosa, extracto de levadura y extracto de malta, como fuente de carbono, que favorecen el incremento del crecimiento de Actinobacterias (Dickinson 2007, p. 2). El contenido de extracto de malta proporciona un ambiente ácido y los nutrientes necesarios para el metabolismo de las actinobacterias (Laboratories HiMedia 2015, p. 1). El contenido de extracto de malta proporciona un ambiente ácido y los nutrientes necesarios para el metabolismo de las actinobacterias (Laboratories HiMedia 2015, p. 1). También se lo conoce como agar *Streptomyces*, experimentos de reisolamiento y selección por resistencia a antibióticos

(López y Lemus 2019, p. 3).

#### *1.2.7.5. Agar Sabouraud*

El agar Sabouraud es un medio de cultivo sólido enriquecido que se utiliza especialmente para el aislamiento, identificación y cultivo de hongos y levaduras, tanto patógenos como no patógenos (Laboratorio Britania 2017, p. 2). Se utiliza principalmente en las industrias de alimentos, de cosméticos y farmacéutica, para comprobar su saneamiento (Laboratories Bio-Rad 2019, p. 2).

La dextrosa del medio es el carbohidrato fermentable que aporta la fuente de energía para el metabolismo de los hongos, presenta un pH ligeramente ácido que inhibe el crecimiento de varias especies bacterianas, formación de esporas (conidios y esporangios), y también la formación de pigmentos tanto de levaduras como de mohos (Valtek Diagnostics 2020, p. 1). La adición de ciertos antibióticos, como cloranfenicol, estreptomina o penicilina, restringen el crecimiento bacteriano y mejora su selectividad al excluir a la microbiana acompañante de la muestra

(Laboratories Bio-Rad 2019, p. 2).

#### *1.2.7.6. Agar PDA*

El Agar Papa Dextrosa (PDA) es un medio de cultivo ideal para hongos y levaduras, porque permite la esporulación. También pueden crecer bacterias, pero si requiere que sea más selectivo se usan antibióticos (DIBICO 2012, p. 2). La mezcla de dextrosa y papa es excelente para la obtención de energía y crecimiento de hongos (Gil 2015, p. 4). El agar PDA se usa para el recuento de colonias de hongos, el medio permite observar la pigmentación característica en dermatofitos (Insumolab 2015, p. 2). Ese medio se usa principalmente en las áreas farmacéutica, alimentaria, clínica y cosmética, así como en fitopatología, para determinar si existen hongos que infectan con mayor frecuencia a los vegetales (Gil 2015, p. 4).

## CAPÍTULO II

### **2. MARCO METODOLÓGICO**

#### **2.1. Tipo de investigación**

El presente proyecto es de tipo experimental, debido a la manipulación deliberada de variables para obtener ciertos resultados que contribuyan a la investigación.

#### **2.2. Diseño de la investigación**

##### ***2.2.1. Diseño experimental***

###### *2.2.1.1. Planteamiento de la hipótesis*

La biorremediación de pesticidas presentes en el compost se logra a través de la inoculación de microorganismos capaces de degradar dichos contaminantes.

###### *2.2.1.2. Localización del estudio*

El relleno sanitario de Porlón se localiza en la parroquia Cubijés, ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo. Se encuentra a una altura de 2720,5 msnm y en las siguientes coordenadas WGS84: Este 767.652,641; Norte: 9'815.770,82.



**Figura 1-2** Relleno Sanitario “San Gerónimo de Porlón”

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

#### *2.2.1.3. Método de muestreo*

No probabilístico dirigido. Este tipo de muestreo supone un procedimiento de selección orientado por las características de la investigación, más que por un criterio estadístico de generalización.

Se asegurará la homogeneidad de las muestras mediante el uso del método de cuarteo, en el cual se divide a la pila de compostaje en 4 bloques, y de cada bloque se toma una muestra, posteriormente las muestras recolectadas se mezclan para obtener una muestra representativa y homogénea con un peso mayor en 5 veces a la unidad de análisis.

#### *2.2.1.4. Técnica de recolección de datos*

- **Diversidad microbiana del compost**

Para mayor comprensión se recomienda revisar el ANEXO L, donde se esquematiza el procedimiento usado en esta investigación.

- **Recolección de las muestras de compost**

Las muestras fueron tomadas por el técnico de la Municipalidad de Riobamba, encargado del monitoreo y producción del compost elaborado en el relleno sanitario de San Gerónimo de Porlón, aplicando el método de cuarteo en pilas de compost conformadas por 12 toneladas del producto.

- **Aislamiento de microorganismos del compost por la técnica de dilución en placa**

El homogeneizado de la muestra se preparó adicionando 10g de compost a 90mL de agua destilada esterilizada por autoclavado a 121°C por 15 minutos, la suspensión se agitó a 1200 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 minutos. El homogeneizado corresponde a la primera dilución o dilución  $10^{-1}$ .

Para las diluciones seriadas consecutivas de orden 10 se esterilizaron por autoclavado 18 tubos tapa rosca con 9 mL de agua destilada cada uno, luego se dejó enfriar y se inocularon 1000 uL del homogeneizado al primer tubo con diluyente, rotulándose como dilución  $10^{-2}$ , de esta dilución se tomó 1000 uL y se inoculó al segundo tubo con diluyente, formando la dilución  $10^{-3}$ , se continuó el mismo procedimiento hasta llegar a la dilución  $10^{-10}$ . Estas diluciones se realizaron por duplicado.

- **Inoculación en medios de cultivo selectivos y Agar nutritivo**

Se prepararon 6 medios de cultivo selectivos para determinar la diversidad microbiana del compost, con base en la recuperación de hongos, bacterias Gram negativas, *Pseudomonas spp* y actinobacterias. Los medios fueron: PDA, Sabouraud, EMB, agar Pseudomonas, agar GYM, y agar Nutritivo. De cada medio se prepararon 500 mL, se corrigió el pH, luego se autoclavaron a 121°C por 15 minutos. Posteriormente se añadió los antibióticos respectivos como agentes selectivos, según el caso. Las formulaciones de los agares se encuentran en el **ANEXO A**.

Cada medio de cultivo se vertió en 19 cajas Petri incluida la placa de control, se dejó enfriar y solidificar, posteriormente se inocularon 100 uL de cada dilución preparada anteriormente, extendiendo el inóculo con un dispersor en toda la superficie del medio.

- **Monitoreo del crecimiento microbiano**

El monitoreo del crecimiento desarrollado en las placas Petri se llevó a cabo a partir de las 24 horas desde su inoculación hasta las 72 horas a temperatura ambiente, las placas que mostraron un número superior a 300 unidades formadoras de colonias fueron descartadas.

- **Recolección de datos**

Los datos fueron recopilados usando el software Excel y se utilizaron tablas para su organización.

- **Ensayos con los agentes contaminantes del compost**

Para realizar los ensayos con los compuestos contaminantes, se consideraron los análisis previos de residualidad del compost que se produce en el Relleno Sanitario de Porlón, los datos permitieron observar cuáles contaminantes presentan mayor concentración. Los análisis previos del compost se realizaron en un laboratorio externo; estos se aprecian en el **ANEXO B**.

- **Adaptación in vitro de los microorganismos del compost frente a los pesticidas contaminantes**

La experimentación se llevó a cabo con 3 concentraciones diferentes de pesticidas, para la primera concentración (C1) se usó 90mL de medio mineral con 10 gramos de compost y 1g/L de glifosato, se agitó a 150 rpm por 72h a temperatura ambiente, posteriormente se realizaron diluciones seriadas de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$  y se sembraron en medios PCA y PDA por duplicado con 100uL de inóculo en cada caja Petri.

En la segunda concentración (C2) se usaron 100 mL de medio mineral con 3g/L de glifosato con 5mL de inóculo de la solución anterior (es decir de la concentración de 1g/L), se agitó a 150 rpm por 72 h a temperatura ambiente, posteriormente se realizaron diluciones seriadas de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$  y se sembraron en medios PCA y PDA por duplicado con 100uL de inóculo en cada caja Petri.

En la tercera concentración (C3) se usaron 100mL de medio mineral con 6g/L de glifosato con 5mL de inóculo de la solución anterior (es decir de la concentración de 3g/L), se agitó a 150 rpm por 72 h a temperatura ambiente, posteriormente se realizaron diluciones seriadas de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$  y se sembraron en medios PCA y PDA por duplicado con 100uL de inóculo en cada caja Petri.

El proceso anterior se aplicó por igual para los tres plaguicidas restantes: chlorfenapyr, difenoconazole y tebuconazole.

La formulación del medio mineral está en el **ANEXO A**.



Los cálculos de la cantidad en microlitros de cada plaguicida se muestran en el **ANEXO C**.

- **Monitoreo del crecimiento en las cajas Petri**

El monitoreo del crecimiento desarrollado en las placas Petri se llevó a cabo a partir de las 24 horas desde su inoculación hasta las 72 horas a temperatura ambiente, las placas que mostraron un número superior a 300 unidades formadoras de colonias fueron descartadas.

- **Recolección de datos**

Los datos fueron recopilados usando el software Excel, donde se utilizaron tablas para su organización.

- **Determinación de microorganismos degradadores de plaguicidas**

Para elegir cuáles microorganismos utilizar en el ensayo de degradación se tabularon los datos con información sobre la morfología macroscópica de las colonias formadas, donde se describen características tales como color, forma, relieve, entre otras, mencionando el medio de cultivo y la concentración de cada pesticida (**ANEXO D**); con estos datos se aplicaron filtros para conocer los microorganismos más frecuentes, es decir, los que mostraban las mismas características, esto en el caso de las bacterias. Para el caso de los hongos, las cepas degradadoras de plaguicidas se seleccionaron con base en información bibliográfica, estos hongos se aislaron del compost y se identificaron en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

- **Aislamiento de bacterias degradadoras de plaguicidas a partir del medio mineral**

Como se mencionó anteriormente, se realizó la tabulación y filtración de datos para el reconocimiento de las bacterias más repetitivas, en donde se encontró dos bacterias: la primera presentó coloración blanca con borde transparente, de forma circular, con borde entero y elevación convexa, de textura lisa y consistencia suave, presentó transparencia frente a la luz, mostró fluorescencia bajo luz UV, y se etiquetó como *Pseudomona*,

Por otra parte, otro aislamiento tipificado como colonia blanca y posteriormente etiquetada como Gram negativa debido a la respuesta negativa a prueba de tinción Gram, presentó las siguientes características: con forma circular y coloración blanca, con borde entero y elevación elevada, de textura lisa y consistencia suave, y con transparencia opaca.

- **Aislamiento de hongos y actinobacterias del compost**

En el presente estudio se emplearon hongos aislados del compost y de material vegetal, en agar PDA y agar Sabouraud e identificados en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, las cepas fueron:

- *Aspergillus niger*: caracterizado por presentar colonias con micelio aéreo granular y esporulación de color negro y rápida.
- *Aspergillus* spp: que forma colonias planas, de textura aterciopelada, esporulación verdosa grisácea con hendiduras en el agar por el consumo de ciertos nutrientes.
- *Trichoderma harzianum*: este hongo no se encontró en el compost, la cepa proviene de un estudio anterior sobre una muestra de suelo de bosque de San Francisco de Chambo, se utilizó por sus propiedades biodegradadoras de contaminantes

Las actinobacterias se aislaron mediante siembra por estrías en superficie de agar selectivo suplementado con acronistina para el control de hongos. Se utilizaron dos actinobacterias con características diferenciales en cuanto en color y forma de la colonia en Agar GYM, y se los etiquetó como:

- ACP1: Actinobacteria del compost de Porlón 1
- ACP2: Actinobacteria del compost de Porlón 2

- **Recuento de microorganismos degradadores en el compost para preparar las concentraciones como inoculantes**

### **Conteo de bacterias**

El conteo de bacterias se realizó mediante recuento directo al microscopio, usando la cámara de Petroff Housser en la que se colocó una gota de la suspensión bacteriana y se cubrió con el cubrecámara sin formar burbujas, se observó con el objetivo de 40x. La cuadrícula de la cámara se muestra en el **ANEXO E**. La cámara consta de 25 cuadrados grandes, los cuales tienen 16 cuadrados pequeños, el conteo se realizó dentro del cuadro grande (16 cuadrados pequeños), pero no se toman en cuenta las células que se encuentran en la frontera de cada cuadro grande.

La fórmula para determinar el número de células por mililitro es la siguiente:

$$\#células \text{ por mililitro} = N \times 25 \times 50 \times 10^3$$

Donde:

N: promedio de células contadas

25: número de cuadros grandes o número por mm<sup>2</sup>

50: número por mm<sup>3</sup>

10<sup>3</sup>: número por cm<sup>3</sup> o mL

### **Conteo de esporas de hongos y actinobacterias**

El conteo de esporas tanto de hongos como de actinobacterias se realizó en la cámara de Neubauer (hemocitómetro), para el efecto, se colocó una gota de suspensión de esporas y se colocó el cubrecámaras sin formar burbujas, se observó al microscopio con 40x. La cuadrícula de la cámara se muestra en el **ANEXO F**.

La cámara consta de 4 cuadrados grandes en las esquinas y un cuadro en el centro. Para su conteo se puede elegir entre dos opciones: contar las esporas presentes en los cuatro cuadrantes externos, o contar las esporas contenidas en el cuadrante central; debido a esto las fórmulas para conocer el número de esporas difiere.

El conteo se realizó en el cuadrante del centro, el cual consta de 25 cuadrados, y la fórmula para el cálculo es la siguiente:

$$\#células \text{ por mililitro} = (N \times 10^4 \times 90) \text{ cel/mL}$$

Donde:

N: promedio de células presentes en un mm<sup>2</sup> (0,1U)

90: factor de dilución

10<sup>4</sup>: conversión de 0,1u/L a 1 mL

- **Ensayos de BactoAgar con cada plaguicida y los microorganismos**

Para el desarrollo de los ensayos se calculó los microlitros de cada plaguicida que se debían usar en 500ml de Bactoagar, dichos cálculos constan en el **ANEXO G**.

Como se observa, la cantidad de microlitros que se debían usar era demasiado pequeña, por ende, se optó por colocar 2U del plaguicida en 500MI de Bactoagar, dichos cálculos constan en el **ANEXO H**.

Es así como, en el caso de glifosato se preparó 500 mL de Bactoagar estéril por autoclavado a 121°C durante 15 minutos, en el agar a 45°C se colocó 2  $\mu$ L de glifosato y se agitó, posteriormente se vertió en 20 cajas tripetri y se dejó solidificar. Se usaron cajas tripetri para poder realizar los ensayos por triplicado. Finalmente, se colocó 50  $\mu$ L de inóculo del microorganismo con  $5,25 \times 10^7$  cel/mL en cada compartimento de la caja tripetri, y se incubó a temperatura de  $26^\circ\text{C} \pm 2$  por 15 días. Los datos se recolectaron diariamente midiendo el diámetro de la colonia del microorganismo, en el caso de los hongos. El mismo procedimiento se aplicó para realizar los ensayos de los plaguicidas restantes.

La solución del inóculo de cada microorganismo se realizó en 9 mL de agua destilada estéril, colocando una colonia pura del microorganismo y agitando para obtener una mezcla homogénea.

- **Ensayos de BactoAgar con los 4 plaguicidas y los microorganismos**

Se prepararon 500 mL de Bactoagar estéril por autoclavado a 121°C durante 15 minutos, luego se dejó enfriar y se colocó 2  $\mu$ L de cada plaguicida, es decir, 2  $\mu$ L de glifosato, chlorfenapyr, tebuconazol y difenoconazole, y se agitó. Posteriormente se vertió en 20 cajas tripetri y se dejó solidificar. Finalmente, se colocó 50  $\mu$ L de inóculo microbiano en cada compartimento de la caja tripetri, y se incubó a temperatura de  $26^\circ\text{C} \pm 2$  por 15 días. Los datos se recolectaron diariamente midiendo el diámetro de la colonia, en el caso de los hongos.

- **Pruebas aplicadas a los microorganismos degradadores**

**Pruebas macroscópicas:**

- **Bacterias**

*Pseudomona*: Se realizó un cultivo puro en Agar Pseudomona para observar el color y forma de la colonia.

Colonia blanca: Se realizó un cultivo puro en Agar PCA para observar el color y forma de la colonia.

- **Hongos**

Se realizaron cultivos puros en Agar PDA para caracterizar a las especies fúngicas mediante la morfología macroscópica y microscópica de las colonias, lo cual comprende en el primer caso, el examen visual de las colonias respecto a la forma, borde, tamaño, textura, consistencia, color, pigmentos difusibles en el anverso y reverso de la placa, mientras el examen microscópico revela el tipo de hifas, esporulación y otras estructuras celulares.

- **Actinomicetos**

Se realizaron cultivos puros en Agar GYM para observar el color, forma y colores difusibles de la colonia.

### **Pruebas microscópicas:**

- **Bacterias**

#### Tinción Gram

Se preparó un frotis bacteriano colocando una gota de agua en un portaobjetos, a la que se adicionó material bacteriano y se diseminó en la mitad de la placa, se dejó secar, posteriormente se fijó en la flama, a continuación, se adicionaron los colorantes: crista violeta, durante 1 minuto, solución de I-IK (yodo-yoduro de potasio), 1 minuto de colorante alcohol-acetona, 5 minutos, y safranina 5 minutos, respetando sus tiempos, orden y enjuagado entre cada reactivo. Finalmente se dejó secar y se observó al microscopio con la lente de 100x añadiendo aceite de inmersión.

### **Pruebas bioquímicas:**

- **Actinobacterias**

#### Prueba de aminoácidos

Se realizó la prueba con 8 aminoácidos: cisteína, glicina, tirosina, urea, arginina, asparagina, ácido aspártico, y ácido glutámico.

Se prepararon 100 mL de medio Basal (su formulación está en el **ANEXO A**) para 0,1g de cada aminoácido, pero de la glicina se colocó 6,71g y de tirosina 3g porque son productos

comerciales. Posteriormente, los 100 mL se vertieron en dos cajas tripetri, en el primer compartimento se colocó 50  $\mu\text{L}$  de inóculo de la actinobacteria ACP1, en el segundo compartimento se colocó 50  $\mu\text{L}$  de inóculo del actinobacteria ACP2, y el último compartimento se tomó como control.

Para la toma de datos se hizo el monitoreo del crecimiento a las 72h y a las 168h.

#### 2.2.1.5. Análisis estadístico inferencial

Para realizar el análisis estadístico, se llevó un control de crecimiento de microorganismos en los diferentes agares selectivos ya mencionados para que sea más fácil conocer el porcentaje de bacterias, hongos, actinobacterias, *Pseudomonas*, y enterobacterias que se encuentran en el compost en estudio. A continuación, se muestran las respectivas tablas de datos, y sus gráficas.

**Tabla 1-2:** Conteo de colonias en agar Nutritivo

Dilución	24 h		48 h		72 h	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
10-1	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10-2	98	87	>300	242	>300	242
10-3	3	7	30	35	54	51
10-4	0	0	6	4	6	4
10-5	0	0	1	1	1	1
10-6	0	0	0	0	0	0
10-7	0	0	0	0	0	0
10-8	0	0	0	0	0	0
10-9	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	8,9x10 <sup>4</sup>		3,4x10 <sup>5</sup>		5,3x10 <sup>5</sup>	

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

**Tabla 2-2:** Conteo de colonias en agar Pseudomonas

Dilución	24 h		48 h		72 h	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
10-1	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10-2	206	166	>300	>300	>300	>300
10-3	4	3	50	46	80	68
10-4	0	0	3	4	7	5
10-5	0	0	1	0	1	0
10-6	0	0	0	0	0	0
10-7	0	0	0	0	0	0
10-8	0	0	0	0	0	0
10-9	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	1,7x10 <sup>5</sup>		4,7x10 <sup>5</sup>		7,3x10 <sup>5</sup>	

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

**Tabla 3-2:** Conteo de colonias en agar EMB

Dilución	24 h		48 h		72 h	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
10-1	226	145	>300	>300	>300	>300
10-2	10	9	37	19	154	96
10-3	0	0	4	2	26	16
10-4	0	0	0	0	2	1
10-5	0	0	0	0	0	0
10-6	0	0	0	0	1	0
10-7	0	0	0	0	0	0
10-8	0	0	0	0	0	0
10-9	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	1,8x10 <sup>4</sup>		2,8x10 <sup>4</sup>		1,3x10 <sup>5</sup>	

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

**Tabla 4-2:** Conteo de colonias en agar PDA y agar Sabouraud

Dilución	15 días	
	R1	R2
10-1	16	11
10-2	9	26
10-3	0	0
10-4	0	1
10-5	0	0
10-6	0	0
10-7	0	1
10-8	0	0
10-9	0	0
<b>TOTAL</b>	2,9x10 <sup>3</sup>	

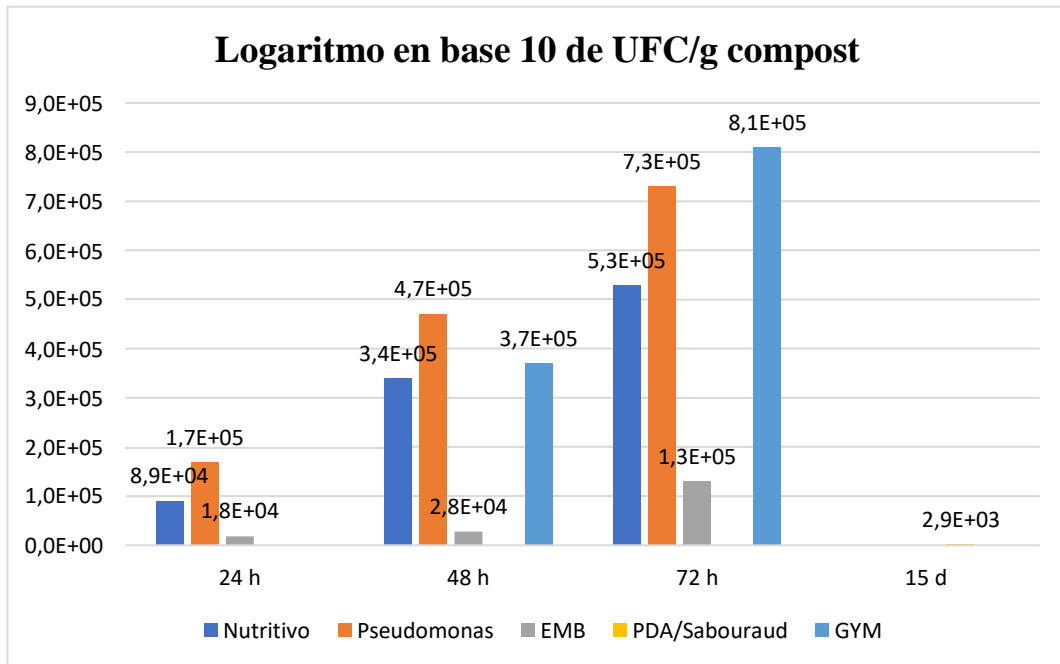
Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

**Tabla 5-2:** Conteo de colonias en agar GYM

Dilución	24 h		48 h		72 h	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
10-1	0	0	>300	>300	>300	>300
10-2	0	0	>300	181	>300	>300
10-3	0	0	43	40	75	68
10-4	0	0	15	11	24	11
10-5	0	0	0	1	2	2
10-6	0	0	0	0	0	0
10-7	0	0	1	0	1	0
10-8	0	0	0	0	0	0
10-9	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>			3,7x10 <sup>5</sup>		8,1x10 <sup>5</sup>	

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.





**Gráfico 1-2.** Logaritmo en base 10 de UFC/g compost

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2022

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados

##### *Diversidad microbiana del compost*

##### *3.1.1.1. Bacterias*

Como se mencionó en el apartado 1.1.1.4. Técnica de recolección de datos – diversidad microbiana del Compost, se realizaron diluciones seriadas de orden  $10^{-2}$  hasta  $10^{-10}$  del compost, las cuales fueron cultivadas en agar Nutritivo y agar Pseudomonas. En los días posteriores, se llevó un control donde se registró el incremento de colonias de microorganismos que aparecieron en cada uno de los medios de cultivo. Esto se realizó a las 24, 48 y 72 horas, como se observa en las tablas, **Tabla 1-2** y **Tabla 2-2**, se puede apreciar la evolución a través del tiempo de las colonias microbianas; la población de bacterias viables es mayor a la población de bacterias Gram negativas desarrolladas en EMB debido a que la primera agrupa a las segundas; sin embargo, la población de *Pseudomonas* resulta más elevada debido al uso de un medio de cultivo selectivo para este grupo, el cual permitió mayor recuperación en comparación al Agar Nutritivo.

Como se puede observar en la **Tabla 1-2** el mayor crecimiento se dio en las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , en las restantes hay un crecimiento nulo, es decir, que la cantidad y diversidad de las colonias bacterianas es mínima. De igual manera, la **Tabla 2-2** muestra que el mayor crecimiento se dio en las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ , en las restantes hay un crecimiento nulo, es decir, que la cantidad y diversidad de las colonias bacterianas es mínima.

En un estudio realizado por (Biyada et al. 2020, p. 5) sobre la evolución de la composición microbiana y actividades enzimáticas durante el compostaje de residuos textiles se encontraron bacterias de los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Flavobacterium* y *Microbacterium* en gran cantidad.

Según (Palaniveloo et al. 2020, p. 2) se encontró *Pseudomonas* en la etapa termófila, pero no en la etapa de maduración y estabilización, mientras que en el compost donde se analizó la diversidad microbiana se encontró en la última etapa de estabilización.

### *3.1.1.2. Hongos*

Se realizó una caracterización macroscópica de los hongos que se encontraron tanto en Agar PDA como en Agar Sabouraud, como se muestra en la Tabla 1-3

**Tabla 1-3:** Diversidad fúngica del compost en función de las características macroscópicas

DIVERSIDAD FÚNGICA DEL COMPOST							
DILUCIÓN (REPETICIÓN)	CÓDIGO	DIVERSIDAD	ABUNDANCIA	MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA			
				COLOR	PIGMENTACIÓN	BORDES	RELIEVE
10 – 1 (1)	7	6	7	Gris azulado	café oscuro	Ovalado	Plano
	8		2	Verde grisáceo	café oscuro	Irregular leve	Plano
	6		2	Naranja pardo	café anaranjado	Circular	Plano
	11		1	Blanco	café rojizo	Irregular	Plano
	10		1	Blanco con gris verdoso	Café claro	Ovalado	Cóncavo
	12		3	Rosa pálido	Ninguna	Irregular	Plano
10 -1 (2)	16	2	1	Blanco	Morado oscuro	Irregular	Plano
	17		10	Verde oliva claro	Café oscuro	Circular	Cóncavo
10 -2 (1)	9	3	3	Beige con tonos lilas amarillos y grises	Negra y café	Irregular	Plano
	14		1	Blanco con tonos beige	Café	Circular	Plano
	15		5	Blanco con tonos grises	Ninguna	Irregular	Cóncavo
10 – 2 (2)	1	5	2	Blanco	Ninguna	Irregular	Irregular
	2		13	Salmón	Ninguna	Irregular	Cóncavo
	3		2	Blanco	Ninguna	Circular	Plano
	4		5	Café claro	Ninguna	Irregular	Irregular
	5		4	Gris	Ninguna	Circular	Cóncavo
10 – 4 (2)	13	1	1	Verde oscuro – Negro	Ninguna	Circular	Irregular leve
10 – 7 (2)	18	1	1	Blanco con negro	Ninguna	Ovalado	Plano

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

Como se observa, existe escasa variedad y cantidad de hongos en el compost; se conoce que no todos los que se encontraron son benéficos, tanto para el suelo como para los cultivos al momento de la aplicación de dicho abono orgánico, puesto que, al realizar observaciones al microscopio de los cultivos puros de cada hongo, se identificó que los microorganismos con los códigos 3, 9, 11, 15, 17, 10, y 14 son del género *Fusarium*, el código 2 pertenece a *Aspergillus* sp, el código 13 es del grupo dematiáceo y el código 18 corresponde a *Aspergillus niger*, caracterizado por el típico color negro de su esporulación.

(Escobar, Mora y Romero 2012, p. 1) Escobar y Romero en su estudio sobre el análisis microbiano del compost, reportan la presencia de población de hongos del género *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Rizhopus*, siendo los más frecuentes *Aspergillus* y *Penicillium*.

En un estudio realizado por (Palaniveloo et al. 2020, p. 2) se observó la presencia del hongo del género *Fusarium* en la etapa mesofílica pero no en la etapa de maduración o enfriamiento, debido a que en la etapa termófila ese género se eliminó. Mientras que (Biyada et al. 2020, p. 2) en su estudio sobre la evolución de la composición microbiana y actividades enzimáticas durante el compostaje de residuos textiles en la comunidad fúngica reporta: *Ascomycota*, *Mucoromycota*, *Basidiomycota*, *Rozellomycota* y *Mortierellomycota*.

#### 3.1.1.3. Actinobacterias

Uno de los géneros de actinobacterias que más se han encontrado en análisis microbiano del compost en la etapa de termófila y de enfriamiento son los *Streptomyces*, los cuales son capaces de degradar la lignina y la celulosa siendo un proceso muy importante en la descomposición de la materia orgánica, así también, las sustancias que secretan son capaces de inhibir el crecimiento de patógenos tanto de vegetales como de humanos, así lo menciona (Mironov et al. 2021, p. 3).

Según (Biyada et al. 2020, p. 2) menciona que existen varias especies del filo Actinobacteria presentes en el compost que son capaces de degradar la celulosa, como los *Micromonospora* y *Thermobifida*, ya que, usan la celulosa para su crecimiento.

#### 3.1.1.4. Enterobacterias

Se realizó una caracterización macroscópica de las colonias bacterianas como se muestra en la Tabla 2-4:

**Tabla 2-3:** Caracterización macroscópica de las colonias bacterianas en agar EMB

Colonia	Características macroscópicas	Posible microorganismo
1	Colonias verdosas con brillo metálico	<i>Escherichia coli</i>
2	Colonias rosa-púrpura confluyente	<i>Klebsiella</i> spp
3	Colonias mucoides negra con matices azulados	<i>Enterobacter</i> spp
4	Colonias transparentes-incoloras	<i>Salmonella</i> spp <i>Shigella</i> spp <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus</i> spp

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

Para corroborar los resultados obtenidos se consultó la sección Control de Calidad de algunos laboratorios que formulan el agar EMB, donde (Laboratorio Britania 2021, p. 1) y (Becton Dickinson 2013, p. 1) describen los microorganismos encontrados como se aprecia en la Tabla :

**Tabla 3-3:** Control de calidad: Microorganismos que crecen en agar EMB

Microorganismo	Crecimiento	Característica de la colonia*
<i>Escherichia coli</i>	Satisfactorio	Colonias grandes, color negro azulado, brillo verde metálico
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Satisfactorio	Mucosas confluentes, con centro oscuro
<i>Proteus mirabilis</i>	Satisfactorio	Incoloras
<i>Salmonella</i>	Satisfactorio	Colonias grandes, desde incoloras hasta color ámbar
<i>Shigella flexneri</i>	Satisfactorio	Incoloras
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Satisfactorio	Incoloras

Fuente: (Laboratorio Britania 2021, p. 1) y (Becton Dickinson 2013, p. 1) \* Características especificadas por el fabricante

Es probable que las bacterias no benéficas mencionadas anteriormente se encuentren en el compost por una insuficiente gestión de las fases del compostaje, donde se presume que la temperatura no fue la adecuada para destruir estos contaminantes en la fase termófila.

### 3.1.2. Microorganismos biodegradadores de plaguicidas

Para conocer la efectividad de los microorganismos seleccionados para la biodegradación de plaguicidas se necesitan pruebas analíticas que demuestren con mayor exactitud el poder biodegradador. Se contrató a un laboratorio externo para realizar esta fase. Los respectivos análisis se efectuaron en el laboratorio Agrolab Company, donde fueron utilizadas técnicas analíticas como cromatografía de gases y espectrometría de masas, los cuales se encuentran en el ANEXO I, y un resumen por microorganismo con los resultados, que se muestran a continuación:

#### 3.1.2.1. *Pseudomonas spp*

**Tabla 4-3:** Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por *Pseudomonas spp*

Microorganismo	Molécula	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Porcentaje de degradación (%)
<i>Pseudomona</i>	Glifosato	4,68	3,2	31,62
	Chlorfenapyr	4,4	2,1	52,27
	Difenoconazole	4,13	0,91	77,96
	Tebuconazole	4,04	5	inconsistencia
	(4) Plaguicidas glifosato	4,68	4	14,53
	(4) Plaguicidas Chlorfenapyr	4,4	0,88	80
	(4) Plaguicidas difenoconazole	4,13	0,91	77,97
	(4) Plaguicidas tebuconazole	4,04	2,2	45,54

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

Como se observa en la **Tabla 4-3**, cuando los pesticidas actúan por separado se obtuvo una degradación del 31,62 % de glifosato, 52,27 % para chlorfenapyr, y 77,96% de difenoconazole, mientras que cuando los 4 plaguicidas están mezclados se obtuvo el 14, 53 % para glifosato, 80% para chlorfenapyr, 77,97% para difenoconazole, y 45,54% para tebuconazole. Los

pesticidas usados en esta investigación se degradan mejor estando en conjunto con otros, pero otros no, como es el caso del glifosato.

Las bacterias del género *Pseudomonas* spp son empleadas ampliamente para procesos de biorremediación de contaminantes, entre estos los pesticidas. Uno de los más usados es el glifosato, el cual se ha sometido a diversos ensayos de degradación con microorganismos. Un estudio realizado por (Ezaka et al. 2019, p. 6), donde se utilizó *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus cereus* por separado y en cultivo mixto, con diferentes concentraciones de glifosato, registró porcentajes de degradación de 76,11%, 85,8%, y 75,8% respectivamente utilizando 3,1 mg/mL, cuando usaron 7,2 mg/mL obtuvieron valores de 84,9%, 72,7%, y 66,4% respectivamente, y finalmente usando una concentración de 14,4 mg/mL se obtuvo el 47,15% para *Pseudomonas aeruginosa*, 57,26% para *Bacillus cereus* y 55,7% para el cultivo mixto. Como se aprecia, la tasa de degradación disminuye cuando la concentración de glifosato aumenta, exceptuando el caso de *P. aeruginosa* que mostró mayor degradación a 7,2 mg/mL en comparación con las otras concentraciones, además existió variación en los productos de degradación obtenidos, resultando así la transformación o descomposición total de algunos de los productos encontrados en las muestras iniciales en comparación con los productos recuperados al final del experimento. Comparando los porcentajes de degradación obtenidos en esta investigación con los del estudio antes mencionado, se observa que se obtuvieron valores relativamente más bajos en comparación con los expuestos por (Ezaka et al. 2019, p. 6).

En la investigación realizada por (Castrejón-Godínez et al. 2021<sup>a</sup>, p. 7) se alude que *Pseudomonas* sp y *Bacillus* sp son los más utilizados para biodegradar glifosato presente en cuerpos de agua o en el suelo, puesto que utilizan al glifosato como única fuente de fósforo, aunque lo ideal es que lo utilicen como fuente de carbono para un proceso más efectivo de biodegradación. *Pseudomonas* sp. PG2982 utiliza la enzima C-P liasa para romper el enlace carbono-fósforo, dando como producto sarcosina, a esto le sigue la división de la sarcosina en glicina y formaldehído, luego estos compuestos se metabolizan en otros procesos de biosíntesis, como la oxidación del formaldehído a CO<sub>2</sub>, siendo compuestos menos tóxicos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2020, p. 174).



### 3.1.2.2. *Trichoderma harzianum*

**Tabla 5-3:** Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por *Trichoderma harzianum*

Microorganismo	Molécula	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Porcentaje de degradación (%)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Glifosato	4,68	3,9	16,67
	Chlorfenapyr	4,4	2,3	47,27
	Difenoconazole	4,13	1,1	73,37
	Tebuconazole	4,04	5,6	Inconsistencia
	(4) Plaguicidas glifosato	4,68	5,3	Inconsistencia
	(4) Plaguicidas Chlorfenapyr	4,4	0,04	99,10
	(4) Plaguicidas difenoconazole	4,13	0,5	87,90
	(4) Plaguicidas tebuconazole	4,04	1,7	57,92

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

Como se aprecia en la **Tabla 5-3**, el hongo *Trichoderma harzianum* ha influido en las concentraciones de pesticidas a los que ha sido expuesto, notándose una reducción de éstas al transcurrir 15 días contados desde el inicio del ensayo. Diversas investigaciones confirman la efectividad de *Trichoderma harzianum* para degradar pesticidas. En Polonia, el grupo de investigación de (Podbielska et al. 2020, p. 6), utilizó el mismo hongo para degradar el fungicida Penthiopyrad, pesticida de amplio espectro que es utilizado para controlar enfermedades en cultivos de cereales, papas, legumbres, manzanas y hortalizas. Los autores del artículo mencionan que la concentración inicial de este pesticida fue de  $106,7 \pm 5,4$  ppm de Penthiopyrad; al transcurrir 14 días desde la inoculación de *Trichoderma harzianum*, la concentración disminuyó hasta  $42,9 \pm 7,6$  ppm. Otra investigación realizada en Italia por (Daccò et al. 2020, p. 1) confiere al género *Trichoderma* resistencia a la mayoría de agroquímicos, metales pesados, pesticidas e hidrocarburos aromáticos policíclicos y, apuntando al microorganismos de interés, *T. harzianum* puede reducir significativamente benceno, tolueno, etilbenceno, isómeros del xileno y alquilbencenos; esto aporta consistencia a esta investigación ya que, pesticidas como

glifosato, difenoconazole, tebuconazole y clorphenapyr presentan estos componentes en su estructura química, pudiendo ser degradados por *T. harzianum*. Para (Castrejón-Godínez et al. 2021b, p. 12), el hongo mencionado posee un gran poder biodegradador. En México se expuso a *T. harzianum* a concentraciones iniciales de 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm de glifosato a nivel de laboratorio, transcurridos cierto número de días el hongo exhibió una efectividad de 78,1% para degradar el pesticida.

### 3.1.2.3. Actinobacterias

**Tabla 6-3:** Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por ACP1

Microorganismo	Molécula	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Porcentaje de degradación (%)
ACP1	Glifosato	4,68	2,3	50,85
	Chlorfenapyr	4,4	2,8	36,36
	Difenoconazole	4,13	2	51,57
	Tebuconazole	4,04	8,4	Inconsistencia
	(4) Plaguicidas glifosato	4,68	2,3	50,85
	(4) Plaguicidas Chlorfenapyr	4,4	1,4	68,18
	(4) Plaguicidas difenoconazole	4,13	1,3	68,52
	(4) Plaguicidas tebuconazole	4,04	3,3	18,31

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

**Tabla 7-3:** Porcentaje de biodegradación de plaguicidas por ACP2

Microorganismo	Molécula	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Porcentaje de degradación (%)
ACP2	Glifosato	4,68	3,7	20,94
	Chlorfenapyr	4,4	2,7	38,63
	Difenoconazole	4,13	1,6	61,26
	Tebuconazole	4,04	6,3	Inconsistencia
	(4) Plaguicidas glifosato	4,68	4,7	Inconsistencia
	(4) Plaguicidas Chlorfenapyr	4,4	0,19	95,68
	(4) Plaguicidas difenoconazole	4,13	0,28	93,22
	(4) Plaguicidas tebuconazole	4,04	1,5	62,87

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

En la **Tabla 6-3** y la **Tabla 7-3** se observan datos numéricos donde las actinobacterias ACP1 y ACP2 demuestran su poder biodegradador frente a los pesticidas con los que se está trabajando en esta investigación. Para corroborar los resultados obtenidos se realizó una revisión bibliográfica donde diversos autores afirman la efectividad al usar actinobacterias en la biodegradación de plaguicidas. En China, (Lin et al. 2011, p. 8) realizaron una experimentación en donde se expuso a ciertas especies de actinobacterias a concentraciones de cipermetrina; ellos recalcan que el microorganismo cumple su función degradadora cuando se les somete a temperaturas óptimas que oscilan entre 26°-28°C y un pH de 7-8, obteniendo una degradación del 90% del contaminante en un lapso de 24 horas. Mencionan también que la degradación fue completa cuando la actinobacteria fue expuesta a concentraciones bajas de cipermetrina (20 y 50 mg/L); mientras que al aumenta la concentración (150-250 mg/L), el microorganismo tarda más tiempo (48 h) en degradar de manera incompleta el plaguicida.

En Bélgica, (Schrijver y Mot 1999, p. 9) un estudio realizado con varias especies de actinobacterias, comprobó su acción biodegradadora frente a lindano, clordano y metoxiclor; se colocó una concentración de 1,66 mg/L de cada compuesto, pasados varios días se realizaron pruebas analíticas para cuantificar la concentración final de cada pesticida, arrojando los siguientes resultados: entre 0,30-0,72 mg/L para lindano, 0,01-1,20 mg/L para metoxiclor y 0,107 µg/L

para clordano, demostrándose una vez más que las actinobacterias cumplen un rol fundamental en la degradación de pesticidas con diferentes formulaciones.

#### 3.1.2.4. Otros microorganismos

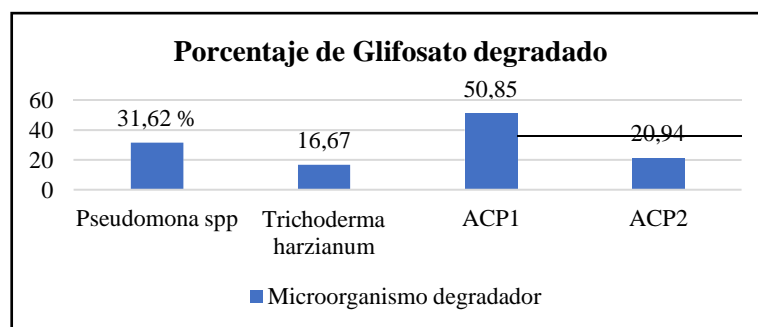
Para comprobar que otros microorganismos sirven como biorremediadores, se llevó un control de crecimiento de diámetro de la colonia, por ende, estas muestras no se llevaron a un análisis para conocer su concentración final del pesticida por cuestiones económicas. El registro del crecimiento diametral se realizó de los 3 hongos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus* spp y *Trichoderma harzianum*) y de las dos actinobacterias. Los registros se encuentran en el ANEXO J.

- ***Aspergillus niger* y *Aspergillus* spp**

Según (Castrejón-Godínez et al. 2021a, p. 4) en el caso de los hongos existen investigaciones limitadas con respecto a la biodegradación de pesticidas, es así como los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* tienen la capacidad de degradar el herbicida glifosato usándolo como fuente de carbono, nitrógeno o fósforo. Las especies que presentaron menor eficiencia en la degradación del glifosato fueron *Trichoderma* sp. *Aspergillus flavus* EFB01 y *Aspergillus* 2B112, los de degradación intermedia fueron *Aspergillus oryzae* AM1 y *Penicillium* 4<sup>a</sup>21, y las especies que mostraron valores mayores de eficiencia en la degradación fueron *Aspergillus oryzae* A-F02, *Trichoderma harzianum* MT871998, *Trichoderma gamsii* P2-18, *Aspergillus fumigatus* FJTA-31052, *Penicillium simplicissimum* SNB-VECD11G, *Aspergillus niger* APBDSDF96, *Aspergillus flavus* JN-YG-3-5 y *Aspergillus niger* MT871999; es decir que el género *Aspergillus* es una de las mejores opciones para la biorremediación de glifosato.

#### 3.1.3. Porcentaje de degradación de pesticidas

##### 3.1.3.1. Glifosato

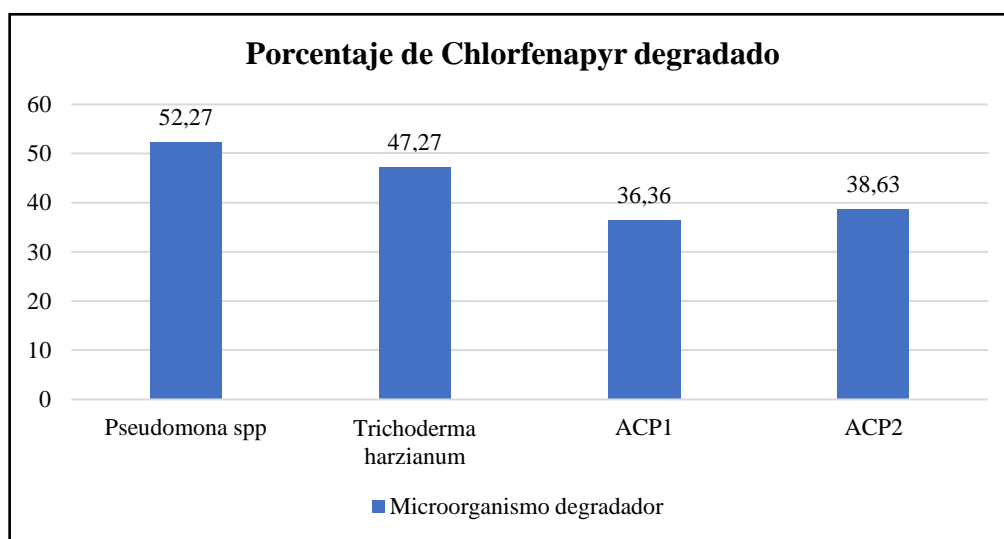


**Gráfico 1-3.** Glifosato degradado por cada microorganismo

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

En la **Gráfica 1-3**, se muestra los porcentajes de degradación de los microorganismos frente al pesticida glifosato. Se observa que la actinobacteria codificada como ACP1 mostró el mayor porcentaje de degradación frente a la bacteria *Pseudomona* spp, a la actinobacteria ACP2 y el hongo *Trichoderma harzianum*. Los porcentajes de degradación oscilan entre 50,85 %, siendo este el mayor, hasta 16,67% como menor.

### 3.1.3.2. Chlorfenapyr

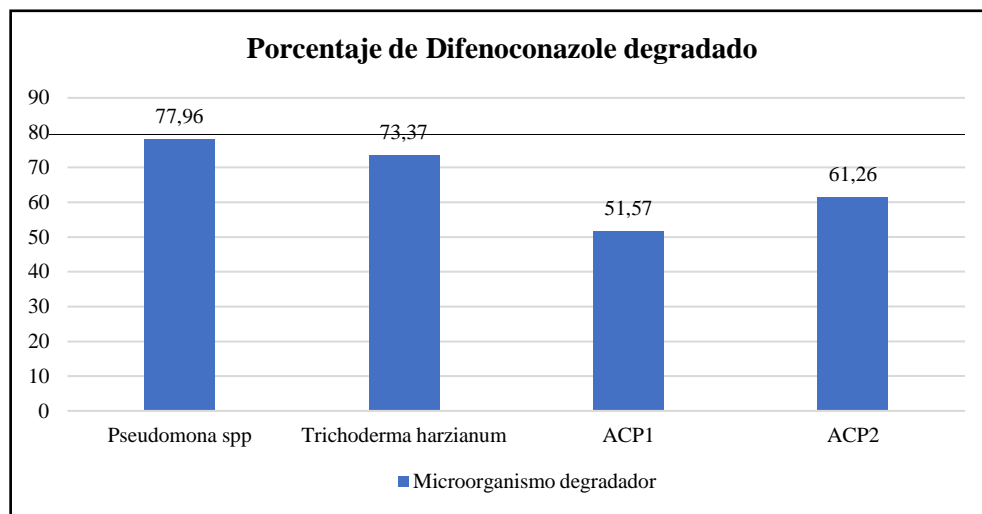


**Gráfico 2-3.** Porcentaje de clorfenapyr degradado por cada microorganismo

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

En la **Gráfica 2-3**, se muestra los porcentajes de degradación de los microorganismos utilizados frente al pesticida chlorfenapyr. Se observa que la bacteria codificada como *Pseudomona* spp. mostró el mayor porcentaje de degradación en comparaciones a las actinobacterias ACP1 y ACP2 y el hongo *Trichoderma harzianum*. Los porcentajes de degradación oscilan entre 52,27 %, siendo este el mayor, hasta 36,36% como menor.

### 3.1.3.3. Difeconazole

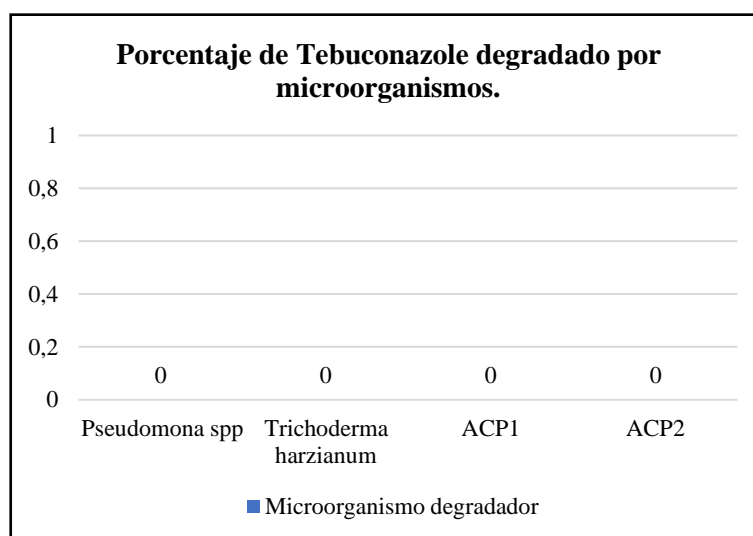


**Gráfico 3-3.** Porcentaje de difenoconazole degradado por cada microorganismo

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

En la **Gráfica 3-3**, se muestra los porcentajes de degradación de los microorganismos utilizados frente al pesticida difenoconazole. Se observa que la bacteria etiquetada como *Pseudomona* spp. mostró el mayor porcentaje de degradación en comparaciones a las actinobacterias ACP1 y ACP2 y el hongo *Trichoderma harzianum*. Los porcentajes de degradación oscilan entre 77,96 %, siendo este el mayor, hasta 51,57 % como menor.

### 3.1.3.4. Tebuconazole



**Gráfico 4-3.** Tebuconazole degradado por cada microorganismo

Realizado por: Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2023.

En la gráfica se observa que ningún microorganismo presenta acción degradado frente a tebuconazole. Los análisis para la cuantificación de la concentración final de los pesticidas fueron realizados en un laboratorio externo, como se mencionó en secciones anteriores. Los microorganismos crecieron en el medio basal enriquecido con el pesticida, reforzando la idea de que consumieron parte del tebuconazole para su desarrollo, es decir, degradándolo. Sin embargo, los resultados entregados por el laboratorio externo arrojaron concentraciones mayores a las concentraciones iniciales, generando inconsistencias en este apartado por el indebido tratamiento que se le dio al momento de cuantificar las concentraciones finales.

### 3.1.4. Pruebas bioquímicas para el reconocimiento de microorganismos

#### 3.1.4.1. Pruebas de motilidad

**Tabla 8-3:** Evaluación de motilidad bacteriana a las 18 horas y 24 horas

Bacteria	Motilidad (18 h)	Motilidad (24 h)
Pseudomona	+	+
Gram negativa	+	+
Control	-	-

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2022.

Se conoce que la motilidad que presentan las bacterias es una característica que les permite trasladarse a entornos más favorables para su supervivencia, crecimiento y posible colonización. Se emplea agar semisólido donde se verá la dispersión bacteriana en torno al inóculo, si el microorganismo posee motilidad. En la Tabla 11-3 se observa que las bacterias etiquetadas como *Pseudomona* spp. y Gram negativa arrojaron resultados positivos en la prueba aplicada, confirmando que en el ambiente pueden moverse a otros entornos favorables para su nutrición y crecimiento (Palma et al. 2022, p. 2).

#### 3.1.4.2. Actinobacterias

- **Pruebas de crecimiento en aminoácidos**

Para la identificación de los microorganismos de los cuales se presumió que pertenecen al Filo y clase Actinobacteria, se aplicó otra prueba que consistió en la inoculación de estas bacterias encontrados en el compost en medio basal enriquecido con aminoácidos. Posteriormente, se

registró el crecimiento de los microorganismos en estudio, como se observa en la siguiente tabla:

**Tabla 9-3:** Crecimiento de actinobacterias ACP1 Y ACP2

Aminoácidos	Actinobacterias (72 h)			Actinobacterias (168 h)		
	ACP1	ACP2	Control	ACP1	ACP2	Control
Urea	1	1	0	1	1	1
Ácido glutámico	1	1	0	1	1	1
Ácido aspártico	1	1	1	1	1	1
Asparagina	1	1	1	1	1	1
Arginina	1	1	0	1	1	0
Cisteína	0	0	0	0	0	0
Glicina	0	0	0	0	0	0
Tirosina	0	0	0	0	0	0

**Realizado por:** Barragán, Talía & Clemente, Jimmy, 2022.

Se evidenció que en gran parte de las pruebas realizadas existió crecimiento del microorganismo, sin embargo, en algunos aminoácidos no hubo aparición. Esta situación se debe por el uso de aminoácidos comerciales que en su formulación contenían más compuestos. En las pruebas positivas se observó un leve aclaramiento del medio de cultivo utilizado, según (Uzcátegui-Negrón et al. 2009, p. 1), los aminoácidos son aprovechados como fuente de carbono y nitrógeno para el desarrollo de las actinobacterias.

### 3.2. Discusión

Esta investigación tuvo como propósito la biodegradación in vitro de pesticidas utilizando bacterias, hongos y *Actinomyces*. En México, un grupo de investigadores conformados por (Gutiérrez et al. 2020, p. 2), utilizan tecnologías de degradación como la bioestimulación y la bioaumentación, siendo la segunda la que recomienda la suspensiones microbianas al suelo o al entorno donde se pretenda realizar una biorremediación.

Como se observa en el apartado 3.3, se muestra el porcentaje de biodegradación de pesticidas que alcanzaron los microorganismos en estudio. Así, en el caso del glifosato, el microorganismo que obtuvo mejor resultado es el actinomiceto ACP1 (50,85%), seguido de *Pseudomonas* sp (31,62%), ACP2 (20,94), y por último *Trichoderma harzianum* (16,67%). En el estudio de (Ermakova et al. 2010, p. 1) se realizó la biodegradación de glifosato con cepas bacterias



de *Achromobacter* sp. Kg 16 (VKM B-2534D) y *Ochrobactrum anthropi* GPK 3 (VKM B-2554D) teniendo alta viabilidad en suelos con contenidos de glifosato 10 veces más altas que la dosis recomendada, proporcionando una tasa de biodegradación de dos a tres veces más alta comparada con la de los microorganismos autóctonos, además se observó que de 1 a 2 semanas de la inoculación de las cepas bacterianas al suelo contaminado con glifosato la toxicidad integral y fitotoxicidad disminuyó.

(Xu et al. 2019, p. 1) indica que con *Providencia rettgeri* GDB1 autóctona de un suelo contaminado con glifosato (Taiwán) se obtuvo el 71,4% de eficiencia de biodegradación, mientras que (Manogaran et al. 2017, p. 1) mencionan que aislaron siete cepas microbianas de diferentes sitios contaminados con glifosato, de las cuales solo dos cepas identificadas como *Burkholderia vietnamiensis* y *Burkholderia* sp. degradaron el 91% y 74% de 50 ppm de glifosato. Se puede mencionar varios microorganismos bacterianos que degradan glifosato, así tenemos, *Alcaligenes spec.* (Lerbs, Stock y Parthier 1990, p. 1), *Rhodococcus soli* G41 (Nguyen et al. 2022, p. 1), *Bradyrhizobium jicamae* y *Bradyrhizobium elkanni* (Hernández Guijarro, De Gerónimo y Erijman 2021, p. 1), *Lysinibacillus sphaericus* (Pérez Rodríguez et al. 2019, p. 1), *Bacillus subtilis* Bs-15 (Yu et al. 2015, p. 1), *Erwinia billingiae* B105, *Pseudomonas fragi* B328 y B295, y *Pseudomonas* sp. 1 (cepa B93) (Nunes 2021, p. 1), *Burkholderia cepacia* y *Escherichia coli* (Montaluisa Álvarez y Rojas Chávez 2019, p. 1), *Microbacterium* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* sp, y *Arthrobacter* sp (Andrighetti 2011, p. 1), *Chryseobacterium* sp. Y16C, *Bacillus aryabhatai*, *Pseudomonas azotofromans* y *Sphingomonas pseudosanguini* (Zhang et al. 2022, p. 1) entre otros. En tanto en el caso de los hongos, (Carranza et al. 2019, p. 1) realizaron ensayos in vitro de degradación de glifosato con *Aspergillus oryzae* y las cepas AM1 y AM2, la cepa AM1 degradó el 50% de 10 mM de glifosato siendo la más efectiva; (Castro, Joao V., Peralba y Ayub 2007, p. 1) investigaron la biodegradación de glifosato por medio de un hongo filamentoso del género *Fusarium*, donde al adicionar el herbicida no se inhibió el crecimiento de las cepas ni a concentraciones altas, es así que la biodegradación se dio mejor en un biorreactor que en el agitador, alcanzando hasta el 41% de reducción del glifosato en el quinto día; (Arfarita et al. 2013, p. 1) aislaron una cepa de *Trichoderma viridae* FRP3 a la cual sometieron a concentraciones de glifosato evaluando el perfil de crecimiento y la concentración de fósforo total en el medio de cultivo, mostró crecimiento disminuyendo así la concentración total de fósforo, indicando que puede poseer mecanismos de degradación del herbicida. Entre otros microorganismos fúngicos biodegradadores de glifosato se encuentra *Trichoderma* sp. 2(cepas F54) (Nunes 2021, p. 1), *Penicillium notanum* (Bujacz et al. 1995, p. 1), *Aspergillus* spp. (Carranza et al. 2017, p. 1), *Fusarium verticillioides* C-2 (Guo et al. 2022, p. 1), *Penicillium chrysogenum* (Klimek et al. 2001, p. 1), *Fusarium solani* (cepas H30 y H50) y *Fusarium oxysporum* (Cepa 80) (Krzysko-Lupicka y Sudol 2008, p. 1),

*Purpureocillium lilacinum* (Spinelli et al. 2021, p. 1). Comparando los resultados obtenidos en esta investigación con los diferentes estudios previos de otros autores, se puede apreciar cierta diferencia, ya que los porcentajes obtenidos son menores a los de otros estudios, tanto con bacterias como con hongos.

Con respecto al insecticida chlorfenapyr, el microorganismo que alcanzó mayor porcentaje de biodegradación es la bacteria *Pseudomonas* con el 52,27%, seguido del hongo *Trichoderma harzianum* con el 47,27%, y los actinomicetos ACP2 con el 38,36% y el ACP1 con el 36,36%. Contrastando nuestros resultados con artículos científicos, se puede mencionar a (Wu et al. 2020, p. 1), quienes realizaron ensayos de biodegradación con la bacteria *Rhodopseudomonas capsulata*, de aguas residuales mixtas que contenían chlorfenapyr, mencionando que anteriormente hay escasos estudios sobre la biodegradación de este insecticida. El ensayo lo realizaron en un fotorreactor con el agua residual mezclada con 0,16g/L de concentración inicial de *Rhodopseudomonas capsulata* por 5 días, con 3 concentraciones del chlorfenapyr más el grupo control, 3mg/L, 7,5 mg/L, y 15mg/L, por triplicado. En la concentración 3mg/L a los 5 días se obtuvo una tasa de eliminación del 100% del chlorfenapyr, observaron que después del día 1 de la inoculación de la bacteria las 3 concentraciones iban disminuyendo. En otro estudio se utilizó la técnica de nano-fitorremediación, en donde (Romeh y Ibrahim Saber 2020, p. 1) utilizaron nanopartículas circulares de Fe-Fe0 con diámetros de 2,46 nm-11,49 nm, mientras que las nanopartículas de ipomoea-plata (Ip-Ag 0) y bráscica-plata (Br-Ag 0) tenían forma circular, hexagonal triangular y bastoncillo con tamaños que oscilaban entre 6,27 y 21,23 nm en Ip-Ag0, y en Br-Ag0 entre 6,05-15,02 nm, después de 24 h de tratamiento con Fe-Fe0, Ip-Ag 0 y Br-Ag 0 soportados con carbón activado, el chlorfenapyr en solución acuosa se redujo al 86%, 79,70 y 79,70% respectivamente; mientras que al acompañar dichas nanopartículas con *Plantago major*, se consiguieron valores más altos de reducción del chlorfenapyr, de 93,7%, 91,3% y 92,92% respectivamente.

El fungicida difenoconazole se redujo en un 77,96 con la bacteria *Pseudomonas* siendo el porcentaje más alto, 73,37% con *Trichoderma harzianum* seguido de los actinomicetos ACP2 con 61,26% y ACP1 51,57%, obteniendo valores relativamente altos en comparación con los otros pesticidas. (Yeon et al. 2022, p. 1) estudiaron la biodegradación de difenoconazole con la bacteria *Sphingomonas hystidinilytica* (Cepa C8-2) y el efecto sobre la reproducción de las lombrices de tierra y la restauración de la actividad microbiana, en el estudio se consiguió la degradación del fungicida; la cepa C8-2 aplicada a suelos contaminados con difenoconazole impidió la disminución de la reproductividad de las lombrices de tierra, la actividad fúngica y las actividades de *Arthrobacter* y *Humicola*, por medio de la degradación del fungicida, es decir,

que el metabolito producido por la biodegradación no tiene efectos tóxicos sobre los organismos de suelo. Mientras que (Cheng et al. 2017, p. 1), realizaron ensayos con biocarbón a base de tallos de tabaco, que aplicaron en 4 concentraciones 0% (control), 1,0%, 2,5% y 5% (p/p) en un suelo con y sin plantas de tabaco (K326). Luego de 90 días de incubación, el difenoconazole se degradó el 99% tanto en los suelos plantados como en no plantados, pero con la concentración al 5% solo se degradó el 88% con la planta de tabaco, y el 83% en ausencia de esta, es decir que mientras se aumenta la cantidad de biocarbón al suelo, aumenta la persistencia del fungicida y la absorción de las plantas disminuye. Es así, que al aplicar biocarbón en suelos plantados, aumenta la abundancia relativa media de *Sphingomonadaceae* en un 18% y *Pseudomonadaceae*, en un 63 %, mientras que en ausencia de plantas aumentaron en un 46% y 110% respectivamente, las cuales son degradadoras de difenoconazole, es decir que el biocarbón aumenta la disponibilidad de las bacterias, cambia las propiedades del suelo, y reduce la biodisponibilidad del difenoconazole de suelos contaminados.

Respecto a la biodegradación del tebuconazol, los resultados obtenidos son inconsistentes como se muestra en el Gráfico 4-3, por lo tanto, se omite la comparación con otras investigaciones.

## CONCLUSIONES

- Los resultados expuestos del estudio in vitro orientan a usar la bioaumentación como técnica de biorremediación para solucionar el problema de la contaminación del compost con pesticidas.
- La revisión de literatura contribuyó a la elaboración de un protocolo adecuado para la determinación in vitro de microorganismos degradadores de pesticidas en compost, resaltando a *Pseudomonas* sp., *Actinomyces* y *Trichoderma harzianum*, que dan porcentajes altos de degradación y son mencionados en investigaciones sobre suelos realizadas por otros autores.
- Una vez reconocido un estimado de la biodiversidad del compost en base al estudio de características fenotípicas y a la adaptación de la microbiota en caldos enriquecidos con pesticidas, se concluye que *Pseudomonas* presenta el mayor potencial de bioactividad degradadora de los pesticidas ensayados, seguida de Actinobacterias, y *Trichoderma harzianum*
- La capacidad biodegradadora de los microorganismos fue demostrada mediante ensayos in vitro. Los resultados de los ensayos sobre medio basal fueron evidenciados por técnicas analíticas de vanguardia (GS-MS) ejecutadas en un laboratorio externo certificado.

## RECOMENDACIONES

- Para aplicar la técnica de bioaumentación, la inoculación de los microorganismos a la biopila de compost debe respetar las etapas que este presenta. Así, *Pseudomonas* spp. debe inocularse en la etapa mesófila y *Trichoderma harzianum*, ACP1 y ACP2 deben inocularse en la etapa termófila del proceso de compostaje.
- Para la producción en masa de *Trichoderma harzianum* se recomienda utilizar el olote de maíz (inflorescencia femenina) como sustrato para su crecimiento.
- Es importante continuar con las investigaciones referentes a la biodegradación de Tebuconazole.

## BIBLIOGRAFÍA

**AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2020.** Glyphosate | Toxicological Profile | ATSDR. [en línea]. S.l.: [Consulta: 26 septiembre 2022]. Disponible en: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=1488&tid=293>.

**AGUIRRE, S., PIRANEQUE, N. y CABARCAS, D., 2022.** Compost de cáscara de naranja: una alternativa de aprovechamiento y reciclaje de materia orgánica en la Región Caribe de Colombia. *Entramado* [en línea], vol. 18, no. 1. ISSN 1900-3803. DOI 10.18041/1900-3803/ENTRAMADO.1.8063. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S190038032022000100216&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S190038032022000100216&lng=en&nrm=iso&tlng=es) [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1900-38032022000100216&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1900-38032022000100216&lng=en&nrm=iso&tlng=es).

**AJIBOYE, T.O., KUVAREGA, A.T. y ONWUDIWE, D.C., 2020.** Recent Strategies for Environmental Remediation of Organochlorine Pesticides. *Applied Sciences*, vol. 10, no. 18, pp. 6286. ISSN 2076-3417. DOI 10.3390/app10186286.

**ANDRIGHETTI, M.S., 2011.** Biodegradação de glifosato por bactérias isoladas de solos cultivados com macieira com diferentes históricos de aplicação deste herbicida. En: Accepted: 2012-05-22T01:35:11Z [en línea], [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/49067>.

**ARANGO, G. y AGUDELO, L., 2004.** Valor biológico de las cucarachas en el compost. *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 1, no. 1, pp. 96-98. ISSN 1794-4449.

**ARFARITA, N., IMAI, T., KANNO, A., YARIMIZU, T., XIAOFENG, S., JIE, W., HIGUCHI, T. y AKADA, R., 2013.** The Potential use of Trichoderma Viride Strain FRP3 in Biodegradation of the Herbicide Glyphosate. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, vol. 27, no. 1, pp. 3518-3521. ISSN 1310-2818. DOI 10.5504/BBEQ.2012.0118.

**AZIS, F.A., RIJAL, M. y SUHAIMI, H., 2022.** Patent Landscape of Composting Technology: A Review. *Inventions 2022, Vol. 7, Page 38*, vol. 7, no. 2, pp. 38. ISSN 2411-5134. DOI 10.3390/INVENTIONS7020038.

**BECTON DICKINSON, 2013.** *BD EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar), Modified* [en línea]. 2013. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8765>.

**BIOMÉRIEUX, 2010.** Sistema Api 20 E. *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 53, no. 9, pp. 168-169. ISSN 1098-6596.

**BIYADA, S., MERZOUKI, M., DĚMČENKO, T., VASILIAUSKIENĖ, D., URBONAVIČIUS, J., MARČIULAITIENĖ, E., VASAREVIČIUS, S. y BENLEMLIH, M., 2020.** Evolution of Microbial Composition and Enzymatic Activities during the Composting of Textile Waste. *Applied Sciences*, vol. 10, no. 11, pp. 3758. ISSN 2076-3417. DOI 10.3390/app10113758.

**BRITANIA, L., 2021.** Pseudomonas Agar P. [en línea], Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60707c8c5f5c2.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707c8c5f5c2.pdf).

**BUJACZ, B., WIECZOREK, P., KRZYSKO-LUPICKA, T., GOLAB, Z., LEJCZAK, B. y KAVFARSKI, P., 1995.** Organophosphonate Utilization by the Wild-Type Strain of *Penicillium notatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, no. 8, pp. 2905-2910. DOI 10.1128/aem.61.8.2905-2910.1995.

**CARRANZA, C.S., BARBERIS, C.L., CHIACCHIERA, S.M. y MAGNOLI, C.E., 2017.** Assessment of growth of *Aspergillus* spp. from agricultural soils in the presence of glyphosate. *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 49, no. 4, pp. 384-393. ISSN 0325-7541. DOI 10.1016/j.ram.2016.11.007.

**CARRANZA, C.S., REGÑICOLI, J.P., ALUFFI, M.E., BENITO, N., CHIACCHIERA, S.M., BARBERIS, C.L. y MAGNOLI, C.E., 2019.** Glyphosate in vitro removal and tolerance by *Aspergillus oryzae* in soil microcosms. *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 12, pp. 7673-7682. ISSN 1735-2630. DOI 10.1007/s13762-019-02347-x.

**CASTREJÓN-GODÍNEZ, M.L., TOVAR-SÁNCHEZ, E., VALENCIA-CUEVAS, L., ROSAS-RAMÍREZ, M.E., RODRÍGUEZ, A. y MUSSALI-GALANTE, P., 2021a.** Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. *Microorganisms*, vol. 9, no. 11, pp. 2322. ISSN 2076-2607. DOI 10.3390/microorganisms9112322.

**CASTREJÓN-GODÍNEZ, M.L., TOVAR-SÁNCHEZ, E., VALENCIA-CUEVAS, L., ROSAS-RAMÍREZ, M.E., RODRÍGUEZ, A. y MUSSALI-GALANTE, P., 2021b.**

Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. *Microorganisms*, vol. 9, no. 11, pp. 2322. ISSN 2076-2607. DOI 10.3390/microorganisms9112322.

**CASTRO, Joao, PERALBA, M. y AYUB, M., 2007.** Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, vol. 42, no. 8, pp. 883-886. ISSN 03601234. DOI 10.1080/03601230701623290.

**CASTRO, Joao V., PERALBA, M.C.R. y AYUB, M.A.Z., 2007.** Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, vol. 42, no. 8, pp. 883-886. ISSN 0360-1234. DOI 10.1080/03601230701623290.

**CECI, A., SPINELLI, V., MASSIMI, L., CANEPARI, S. y PERSIANI, A.M., 2020.** Fungi and arsenic: Tolerance and bioaccumulation by soil saprotrophic species. *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 10, no. 9, pp. 3218. ISSN 20763417. DOI 10.3390/app10093218.

**CHENG, J., LEE, X., GAO, W., CHEN, Y., PAN, W. y TANG, Y., 2017.** Effect of biochar on the bioavailability of difenoconazole and microbial community composition in a pesticide-contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, vol. 121, pp. 185-192. ISSN 0929-1393. DOI 10.1016/j.apsoil.2017.10.009.

**CONDALAB, L., 2018.** Agar Eosina y Azul de Metileno (EMB). , pp. 2.

**DACCÒ, C., NICOLA, L., TEMPORITI, M.E.E., MANNUCCI, B., CORANA, F., CARPANI, G. y TOSI, S., 2020.** Trichoderma: Evaluation of Its Degrading Abilities for the Bioremediation of Hydrocarbon Complex Mixtures. *Applied Sciences*, vol. 10, no. 9, pp. 3152. ISSN 2076-3417. DOI 10.3390/app10093152.

**DE SCHRIJVER, A. y DE MOT, R., 1999.** Degradation of Pesticides by Actinomycetes. *Critical Reviews in Microbiology*, vol. 25, no. 2, pp. 85-119. ISSN 1040-841X. DOI 10.1080/10408419991299194. DIBICO, 2012. AGAR DE DEXTROSA Y PAPA. , pp. 3-4.



**DICKINSON, B., 2007.** *ISP Medium 1 - ISO Medium 2 - ISP Medium 4* [en línea]. 2007. S.l.: s.n. Disponible en: [https://legacy.bd.com/europe/regulatory/assets/ifu/difco\\_bbl/277210.pdf](https://legacy.bd.com/europe/regulatory/assets/ifu/difco_bbl/277210.pdf).

**DICKINSON y BECTON, C., 2003.** BD Pseudomonas Agar P. [en línea], Disponible en: <http://www.bd.com>. DOCAMPO, R., 2013. Compostaje y compost. , pp. 5.

DURMUS, M. y KIZILKAYA, R., 2022. The Effect of Tomato Waste Compost on Yield of Tomato and Some Biological Properties of Soil. *Agronomy 2022, Vol. 12, Page 1253*, vol. 12, no. 6, pp. 1253. ISSN 2073-4395. DOI 10.3390/AGRONOMY12061253.

**ERMAKOVA, I.T., KISELEVA, N.I., SHUSHKOVA, T., ZHARIKOV, M., ZHARIKOV, G.A. y LEONTIEVSKY, A.A., 2010.** Bioremediation of glyphosate-contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 88, no. 2, pp. 585-594. ISSN 1432-0614. DOI 10.1007/s00253-010-2775-0.

**ESCOBAR, N., MORA, J. y ROMERO, N., 2012.** Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de Cundinamarca. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, vol. 16, no. 1, pp. 75-88. ISSN 0123-3068.

**EZAKA, E., AKINTOKUN, A.K., AKINTOKUN, P.O., TAIWO, L., UTHMAN, A., OYEDELE, O. y ALUKO, O., 2019.** Glyphosate Degradation by Two Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) Isolated from Rhizosphere of Maize. *Microbiology Research Journal International*, pp. 1-11. DOI 10.9734/mrji/2018/v26i630081.

**FREIDENREICH, A., CHANDA, S., DATTAMUDI, S. y JAYACHANDRAN, K., 2022.** Effect of Glyphosate and Carbaryl Applications on Okra (*Abelmoschus esculentus*) Biomass and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Root Colonization in Organic Soil. *Horticulturae*, vol. 8, no. 5, pp. 415. ISSN 23117524. DOI 10.3390/horticulturae8050415. GIL, M., 2015. Agar Papa Dextrosa. , no. 7149, pp. 3-5.

**GONÇALVES, C.R. y DELABONA, P. da S., 2022.** Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application – A review. *Environmental Advances*, vol. 8, pp. 100220. ISSN 2666-7657. DOI 10.1016/j.envadv.2022.100220.

**GUO, J., SONG, X., LI, R., ZHANG, Q., ZHENG, S., LI, Q. y TAO, B., 2022.** Isolation of a degrading strain of *Fusarium verticillioides* and bioremediation of glyphosate residue. *Pesticide*

*Biochemistry and Physiology*, vol. 182, pp. 105031. ISSN 0048-3575. DOI 10.1016/j.pestbp.2021.105031.

**GUTIÉRREZ, E.J., ABRAHAM, M. del R., BALTAZAR, J.C., VÁZQUEZ, G., DELGADILLO, E. y TIRADO, D., 2020.** Pseudomonas fluorescens: A Bioaugmentation Strategy for Oil-Contaminated and Nutrient-Poor Soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 19, pp. 6959. ISSN 1660-4601. DOI 10.3390/ijerph17196959.

**HAWUMBA, J., SSERUWAGI, P., HUNG, Y.-T. y WANG, L.K., 2010.** Bioremediation. *Environmental Bioengineering*, pp. 277-316. DOI 10.1007/978-1-60327-031-1\_9.

**HERNÁNDEZ GUIJARRO, K., DE GERÓNIMO, E. y ERIJMAN, L., 2021.** Glyphosate Biodegradation Potential in Soil Based on Glycine Oxidase Gene (thiO) from Bradyrhizobium. *Current Microbiology*, vol. 78, no. 5, pp. 1991-2000. ISSN 1432-0991. DOI 10.1007/s00284-021-02467-z.

**HLIHOR, M., COZMA, P., TARFEEN, N., NISA, K.U., HAMID, B., BASHIR, Z., YATOO, 2022.** Microbial Remediation: A Promising Tool for Reclamation of Contaminated Sites with Special Emphasis on Heavy Metal and Pesticide Pollution: A Review. *Processes* 2022, Vol. 10, Page 1358, vol. 10, no. 7, pp. 1358. ISSN 2227-9717. DOI 10.3390/PR10071358.

**HO, T.T.K., TRA, V.T., LE, T.H., NGUYEN, N.K.Q., TRAN, C.S., NGUYEN, P.T., VO, T.D.H., THAI, V.N. y BUI, X.T., 2022.** Compost to improve sustainable soil cultivation and crop productivity. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 6, pp. 100211. ISSN 26660164. DOI 10.1016/j.cscee.2022.100211.

**INSUMOLAB, 2015.** Agar Papa Dextrosa. *Insumolab*, no. 7149, pp. 3-5.

**JASIM, S., 2020.** The API - 20E test. [en línea], no. May. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/341311848\\_The\\_API-20E\\_test](https://www.researchgate.net/publication/341311848_The_API-20E_test).

**JOERN, B. y LOHMAN, P., 2019.** Pesticides and the environment. [en línea]. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/WQ/WQ-19.html>.

**KACZYNSKI, P., LOZOWICKA, B., WOLEJKO, E., IWANIUK, P., KONECKI, R., DRAGOWSKI, W., LOZOWICKI, J., AMANBEK, N., RUSILOWSKA, J. y PIETRASZKO, A., 2020.** Complex study of glyphosate and metabolites influence on enzymatic activity and microorganisms association in soil enriched with *Pseudomonas fluorescens* and sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 393, pp. 122443. ISSN 18733336. DOI 10.1016/j.jhazmat.2020.122443.

**KLIMEK, M., LEJCZAK, B., KAFARSKI, P. y FORLANI, G., 2001.** Metabolism of the phosphonate herbicide glyphosate by a non-nitrate-utilizing strain of *Penicillium chrysogenum*. *Pest Management Science*, vol. 57, no. 9, pp. 815-821. ISSN 1526-4998. DOI 10.1002/ps.366.

**KRZYSKO-LUPICKA, T. y SUDOL, T., 2008.** Interactions between glyphosate and autochthonous soil fungi surviving in aqueous solution of glyphosate. *Chemosphere*, vol. 71, no. 7, pp. 1386-1391. ISSN 0045-6535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2007.11.006.

**KWON, H.C., KIM, D.H., JEONG, C.H., KIM, Y.J., HAN, J.H., LIM, S.J., SHIN, D.M., KIM, D.W. y HAN, S.G., 2021.** Tebuconazole fungicide induces lipid accumulation and oxidative stress in hepg2 cells. *Foods*, vol. 10, no. 10, pp. 2242. ISSN 23048158. DOI 10.3390/foods10102242.

**LABORATORIES BIO-RAD, 2019.** Sabouraud agar. , no. 2, pp. 2-3.

**LABORATORIES HIMEDIA, 2015.** Streptomyces Agar. ,

**LABORATORIO BRITANIA, 2017.** Sabouraud Glucosado Agar. *Laboratorio Britania* [en línea]. S.l.: Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_5af08a08a7afe.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5af08a08a7afe.pdf).

**LABORATORIO BRITANIA, 2021.** E.M.B. Agar (con Eosina y Azul de Metileno). *Laboratorios Britania s.a.*, pp. 2-3.

**LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS TEJIDOS II, 2020.** Manual de Bioquímica Celular y de los Tejidos II. [en línea]. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <https://blogceta.zaragoza.unam.mx/manualbct2/anexo-2-camara-de-neubauer/>.

**LABORATORIO MEDIBAC, 2015.** AGAR NUTRITIVO. ,

**LERBS, W., STOCK, M. y PARTHIER, B., 1990.** Physiological aspects of glyphosate degradation in *Alcaligenes* spec. strain GL. *Archives of Microbiology*, vol. 153, no. 2, pp. 146-150. ISSN 1432-072X. DOI 10.1007/BF00247812.

**LI, H., SUN, F., HU, S., SUN, Q., ZOU, N., LI, B., MU, W. y LIN, J., 2022.** Determination of Market, Field Samples, and Dietary Risk Assessment of Chlorfenapyr and Tralopyril in 16 Crops. *Foods*, vol. 11, no. 9, pp. 1246. ISSN 23048158. DOI 10.3390/foods11091246.

**LIN, Q.S., CHEN, S.H., HU, M.Y., HAQ, M.R.U., YANG, L. y LI, H., 2011.** Biodegradation of Cypermethrin by a newly isolated actinomycetes HU-S-01 from wastewater sludge. *International Journal of Environmental Science & Technology*, vol. 8, no. 1, pp. 45-56. ISSN 1735-2630. DOI 10.1007/BF03326194.

**LIU, R., LI, J., ZHANG, L., FENG, T., ZHANG, Z. y ZHANG, B., 2021.** Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, vol. 10, no. 11, pp. 2304. ISSN 22237747. DOI 10.3390/plants10112304.

**LÓPEZ, R. y LEMUS, J., 2019.** Multiplicación de *Streptomyces* sp. con propósitos de biocompostaje de subproductos de caña de azúcar. , pp. 16.

**MANOGARAN, M., SHUKOR, M.Y., YASID, N.A., JOHARI, W.L.W. y AHMAD, S.A., 2017.** Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*, vol. 28, no. 3, pp. 471-479. ISSN 1720-0776. DOI 10.1007/s12210-017-0620-4.

**MCCARTHY, A.J. y WILLIAMS, S.T., 1992.** Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment - a review. *Gene*, vol. 115, no. 1-2, pp. 189-192. ISSN 03781119. DOI 10.1016/0378-1119(92)90558-7.

**MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO, 2020.** Manual de Compostaje. [en línea]. Disponible en: [www.tierra.org](http://www.tierra.org).

**MIRONOV, V., VANTEEVA, A., SOKOLOVA, D., MERKEL, A. y NIKOLAEV, Y., 2021.** Microbiota Dynamics of Mechanically Separated Organic Fraction of Municipal Solid Waste during Composting. *Microorganisms*, vol. 9, no. 9, pp. 1877. ISSN 2076-2607. DOI 10.3390/microorganisms9091877.

**MONTALUISA ÁLVAREZ, M.B. y ROJAS CHÁVEZ, E.A., 2019.** *Análisis de la capacidad de biodegradación de glifosato a partir de microorganismos aislados del suelo* [en línea]. bachelorThesis. S.l.: s.n. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17591>.

**MORENO CASCO, J. y MORAL HERRERO, R., 2007.** *Compostaje* [en línea]. Madrid: Mundi-Prensa. [Consulta: 18 septiembre 2022]. ISBN 978-84-8476-346-8. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=IWYJAQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=IWYJAQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false).

**NGUYEN, N.T., VO, V.T., NGUYEN, T.H.P. y KIEFER, R., 2022.** Isolation and optimization of a glyphosate-degrading *Rhodococcus soli* G41 for bioremediation. *Archives of Microbiology*, vol. 204, no. 5, pp. 252. ISSN 1432-072X. DOI 10.1007/s00203-022-02875-0.

**NUNES, C.F., 2021.** *Selection of glyphosate-degrading microorganisms isolated from vineyard soils* [en línea]. masterThesis. S.l.: s.n. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/24073>.

**ONWOSI, C.O., IGBOKWE, V.C., ODIMBA, J.N., EKE, I.E., NWANKWOALA, M.O., IROH, I.N. y EZEUGU, L.I., 2017.** Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects. *Journal of Environmental Management*, vol. 190, pp. 140-157. ISSN 0301-4797. DOI 10.1016/j.jenvman.2016.12.051.

**PAL, E., ALMASRI, H., PARIS, L., DIOGON, M., PIOZ, M., COUSIN, M., SENÉ, D., TCHAMITCHIAN, S., TAVARES, D.A., DELBAC, F., BLOT, N., BRUNET, J.L. y BELZUNCES, L.P., 2022.** Toxicity of the Pesticides Imidacloprid, Difenoconazole and Glyphosate Alone and in Binary and Ternary Mixtures to Winter Honey Bees: Effects on Survival and Antioxidative Defenses. *Toxics*, vol. 10, no. 3, pp. 104. ISSN 23056304. DOI 10.3390/toxics10030104.

**PALANIVELOO, K., AMRAN, M.A., NORHASHIM, N.A., MOHAMAD-FAUZI, N., PENG-HUI, F., HUI-WEN, L., KAI-LIN, Y., JIALE, L., CHIAN-YEE, M.G., JING-YI, L., GUNASEKARAN, B. y RAZAK, S.A., 2020.** Food Waste Composting and Microbial Community Structure Profiling. *Processes*, vol. 8, no. 6, pp. 723. ISSN 2227-9717. DOI 10.3390/pr8060723.

**PALMA, V., GUTIÉRREZ, M.S., VARGAS, O., PARTHASARATHY, R. y NAVARRETE, P., 2022.** Methods to Evaluate Bacterial Motility and Its Role in Bacterial–Host Interactions. *Microorganisms*, vol. 10, no. 3, pp. 563. ISSN 2076-2607. DOI 10.3390/microorganisms10030563.

**PANREAC QUÍMICA, 2020.** Nutrient Agar (ISO 6579, ISO 10273, ISO 19250)(Dehydrated Culture Media) for microbiology. ,

**PÉREZ RODRÍGUEZ, M., MELO, C., JIMÉNEZ, E. y DUSSÁN, J., 2019.** Glyphosate Bioremediation through the Sarcosine Oxidase Pathway Mediated by *Lysinibacillus sphaericus* in Soils Cultivated with Potatoes. *Agriculture*, vol. 9, no. 10, pp. 217. ISSN 2077-0472. DOI 10.3390/agriculture9100217.

**PHEAKDEY, D., NGUYEN, Q., TRAN, K. y TRAN, X., 2022.** Challenges and Priorities of Municipal Solid Waste Management in Cambodia. *International Journal of Environmental Research and Public Health 2022, Vol. 19, Page 8458*, vol. 19, no. 14, pp. 8458. ISSN 1660-4601. DOI 10.3390/IJERPH19148458.

**PODBIELSKA, M., KUS-LIŚKIEWICZ, M., JAGUSZTYN, B., PIECHOWICZ, B., SADŁO, S., SŁOWIK-BOROWIEC, M., TWARUŻEK, M. y SZPYRKA, E., 2020.** Influence of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on Penthiopyrad Degradation under Laboratory and Field Studies. *Molecules*, vol. 25, no. 6, pp. 1421. ISSN 1420-3049. DOI 10.3390/molecules25061421.

**RAFFA, C.M. y CHIAMPO, F., 2021.** Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review. *Bioengineering*, vol. 8, no. 7, pp. 92. ISSN 2306-5354. DOI 10.3390/bioengineering8070092.

**RAKOTOVAO, Z., LALAINA RAHAJAMANANA, L.R.,, 2020.** Comparison of Bis NEG-D and API 20E for the Identification of Gram-negative Bacilli in the Laboratory of the University Hospital of Befelatanana Antananarivo Madagascar. *European Journal of Biology and Biotechnology*, pp. 5. DOI 10.24018/ejbio.2021.2.5.286.

**REYNOSO, M., MAGNOLI, C., BARROS, G. y DEMO, M., 2022.** Recuento total de células al microscopio. *LibreTexts Español* [en línea]. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: [https://espanol.libretexts.org/Biologia/Manual\\_de\\_microbiologia\\_general/05%3A\\_Metodos\\_de](https://espanol.libretexts.org/Biologia/Manual_de_microbiologia_general/05%3A_Metodos_de)

\_recuento\_de\_poblaciones\_microbianas/5.02%3A\_Estimacion\_del\_crecimiento\_microbiano/5.2.02%3A\_Estimacion\_del\_numero\_de\_celulas.

**RODRÍGUEZ, C. y TIPÁN, D., 2011.** Determinación de la producción de antibióticos por actinomicetes acidofílicos. *Repositorio Universidad Técnica de Ambato* [en línea], Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1917>.

**ROMEY, A.A. y IBRAHIM SABER, R.A., 2020.** Green nano-phytoremediation and solubility improving agents for the remediation of chlorfenapyr contaminated soil and water. *Journal of Environmental Management*, vol. 260, pp. 110104. ISSN 0301-4797. DOI 10.1016/j.jenvman.2020.110104.

**SALAZAR, T., 2014.** Actividad microbiana en el proceso de compostaje aerobio de residuos sólidos orgánicos. *Revista de Investigación Universitaria*, vol. 3, no. 2, pp. 74-84. ISSN 2078-4015. DOI 10.17162/RIU.V3I2.524.

**SCHRIJVER, A.D. y MOT, R.D., 1999.** Degradation of Pesticides by Actinomycetes. *Critical Reviews in Microbiology*, vol. 25, no. 2, pp. 85-119. ISSN 1040-841X. DOI 10.1080/10408419991299194.

**SHAYEGANI, M., MAUPIN, P. y MCGLYNN, D., 1978.** Evaluation of the API 20E system for identification of nonfermentative gram-negative bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 7, no. 6, pp. 539-545. ISSN 00951137. DOI 10.1128/jcm.7.6.539-545.1978.

**SKOURTI, A., KAVALLIERATOS, N.G. y PAPANIKOLAOU, N.E., 2020.** How is fitness of *tribolium castaneum* (Herbst) (coleoptera: Tenebrionidae) affected when different developmental stages are exposed to chlorfenapyr? *Insects*, vol. 11, no. 8, pp. 1-13. ISSN 20754450. DOI 10.3390/insects11080542.

**SPINELLI, V., CECI, A., DAL BOSCO, C., GENTILI, A. y PERSIANI, A.M., 2021.** Glyphosate-Eating Fungi: Study on Fungal Saprotrophic Strains' Ability to Tolerate and Utilise Glyphosate as a Nutritional Source and on the Ability of *Purpureocillium lilacinum* to Degrade It. *Microorganisms*, vol. 9, no. 11, pp. 2179. ISSN 2076-2607. DOI 10.3390/microorganisms9112179.

**TANKESHWAR, A., 2022.** Tests for Bacterial Motility: Procedure, Results. *Microbe Online* [en línea]. [Consulta: 3 octubre 2022]. Disponible en: <https://microbeonline.com/tests-bacterial-motility-procedure-results/>.

**TORTAROLO, M., PEREDA, M., PALMA, M. y ARRIGO, N., 2008.** Influencia de la inoculación de microorganismos sobre la temperatura en el proceso de compostaje. *Ciencia del Suelo*, vol. 26, no. 1, pp. 41-50. ISSN 03263169.

**TRESNAKOVA, N., KUBEC, J., STARA, A., ZUSKOVA, E., FAGGIO, C., KOUBA, A. y VELISEK, J., 2022.** Chronic Toxicity of Primary Metabolites of Chloroacetamide and Glyphosate to Early Life Stages of Marbled Crayfish *Procambarus virginalis*. *Biology*, vol. 11, no. 6, pp. 927. ISSN 2079-7737. DOI 10.3390/biology11060927.

**UZCÁTEGUI-NEGRÓN, M., SERRANO, J.A., BOIRON, P., RODRÍGUEZ-NAVA, V., COUBLE, A., MONIÉE, D., SÁNCHEZ HERRERA, K., SANDOVAL, H., REVIKINA, V., MERCEDES PANIZO, M. y MENDOZA, M., 2009.** Clasificación e identificación de especies de actinomicetos: Un estudio fenotípico comparativo. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, vol. 29, no. 2, pp. 91-97. ISSN 1315-2556.

**VALTEK DIAGNOSTICS, 2020.** Agar Sabouraud Dextrosa. [en línea], Disponible en: <https://www.valtek.cl/wp-content/uploads/2020/02/Agar-Sabouraud-Dextrosa-90-Valtek-Version-3.pdf>.

**VÁZQUEZ, P., GARCIA, M., NAVARRO, M. y GARCIA, D., 2015.** Efecto De La Composta Y Té De Composta En El Crecimiento Y Producción De Tomate (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) En Invernadero. *Revista Mexicana de Agronegocios*, vol. 36, pp. 1351-1356. ISSN 1405-9282.

**VELÁZQUEZ, J., HERNÁNDEZ, I. y CONTRERAS, S., 2020.** COMPOSTING SUGAR CANE BAGASSE AT FULL SCALE: ORGANIC MATTER DECAY KINETICS, METAGENOMICS AND PLANT-GROWTH PROMOTING BACTERIA CAPABILITIES. *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 36, no. 2, pp. 361-370. ISSN 0188-4999. DOI 10.20937/RICA.53519.

**WANG, Q., LONG, Y., AI, Q., SU, Y. y LEI, Y., 2022.** Oligosaccharins Used Together with Tebuconazole Enhances Resistance of Kiwifruit against Soft Rot Disease and Improves Its



Yield and Quality. *Horticulturae* 2022, Vol. 8, Page 624, vol. 8, no. 7, pp. 624. ISSN 2311-7524. DOI 10.3390/HORTICULTURAE8070624.

**WANG, X., HOU, X., LIANG, S., LU, Z., HOU, Z., ZHAO, X., SUN, F. y ZHANG, H., 2018.** Biodegradation of fungicide Tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, vol. 127, pp. 185-191. ISSN 09648305. DOI 10.1016/j.ibiod.2017.12.001.

**WU, P., ZHAO, R., ZHANG, X., NIU, T., CAO, B., ZHU, F., LI, N., ZHANG, Y., WU, Y. y WANG, Y., 2020.** *Rhodopseudomonas capsulata* enhances cleaning of chlorfenapyr from environment. *Journal of Cleaner Production*, vol. 259, pp. 120271. ISSN 0959-6526. DOI 10.1016/j.jclepro.2020.120271.

**XU, B., SUN, Q.-J., LAN, J.C.-W., CHEN, W.-M., HSUEH, C.-C. y CHEN, B.-Y., 2019.** Exploring the glyphosate-degrading characteristics of a newly isolated, highly adapted indigenous bacterial strain, *Providencia rettgeri* GDB 1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 128, no. 1, pp. 80-87. ISSN 1389-1723. DOI 10.1016/j.jbiosc.2019.01.012.

**YEON, J., CHUNG, J., CHON, K., LEE, J.-C., PARK, K.-D., PARK, I., KIM, D.-Y., AN, S.-H., YOON, Y. y AHN, J.-H., 2022.** Neutralization of the toxic effects of a fungicide difenoconazole against soil organisms by a difenoconazole-degrading bacterium. *Applied Soil Ecology*, vol. 177, pp. 104541. ISSN 0929-1393. DOI 10.1016/j.apsoil.2022.104541.

**YU, X.M., YU, T., YIN, G.H., DONG, Q.L., AN, M., WANG, H.R. y AI, C.X., 2015.** Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by *Bacillus subtilis* strain Bs-15. *Genetics and molecular research: GMR*, vol. 14, no. 4, pp. 14717-14730. ISSN 1676-5680. DOI 10.4238/2015.November.18.37.

**ZHANG, W., LI, J., ZHANG, Y., WU, X., ZHOU, Z., HUANG, Y., ZHAO, Y., MISHRA, S., BHATT, P. y CHEN, S., 2022.** Characterization of a novel glyphosate-degrading bacterial species, *Chryseobacterium* sp. Y16C, and evaluation of its effects on microbial communities in glyphosate-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 432, pp. 128689. ISSN 0304-3894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2022.128689.



## ANEXOS

### ANEXO A. FORMULACIONES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

#### AGAR NUTRITIVO

Agar	23 g
Agua destilada	1000 mL
Acrostina/Nistatina (antibiótico)	2 mL

#### AGAR PSEUDOMONA

Agar	38 g
Agua destilada	1000 mL

#### AGAR PDA

Agar	39 g
Agua destilada	1000 mL
Cloranfenicol (antibiótico)	1 g

#### AGAR EMB

Peptona	10 g
Lactosa	5 g
Sacarosa	5 g
Fosfato dipotásico	2 g
Eosina	0,4 g
Azul de metileno	0,06 g
Bactogar	13,5 g
Agua destilada	1000 mL

#### AGAR GYM

Glucosa	4 g
Extracto de levadura	10 g
Extracto de malta	10 g

Carbonato de calcio	2 g
Bactoagar	15 g
Agua destilada	1000 mL
Acrostina/Nistatina(antibiótico)	2 mL

### **AGAR SABOURAUD**

Digerido enzimático (caseína)	10 g
Dextrosa	40 g
Bactoagar	15 g
Agua destilada	1000 mL
Cloranfenicol	1 g

### **MEDIO DE CULTIVO MINERAL**

Compuesto	g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.5
NaCl	0.5
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0.6
$\text{NH}_4\text{SO}_4$	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
$\text{CaCl}_2$	0.01
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.001
Glifosato	1
Agua	1Litro

### **MEDIO BASAL PARA AMINOÁCIDOS**

Compuesto	g
Aminoácido	1
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
Agar	15
Agua destilada	1000 mL

**ANEXO B. ANÁLISIS PREVIOS DE RESIDUALIDAD DE PLAGUICIDAS EN  
EL COMPOST**

**INFORMACIÓN DE LA MUESTRA\***

Descripción : Compost  
País de origen : Ecuador  
Código cliente : EC2002746  
Marca : CEFA  
Código seguimiento : AGO-2020-001  
Agricultor : GAD Municipal de Riobamba . Dirección de caldiad Ambiental  
Terreno : San Gerónimo de Porlón

Los resultados de este informe vienen dados sólo para la muestra analizada.

**RESULTADOS ANÁLISIS**

Método	Compuesto	Unidades	Concen tración
LC-MSMS	Difenoconazol	mg/kg	0.31
LC-MSMS	Tebuconazole	mg/kg	0.043
GC-MSMS	Clorfenapir	mg/kg	0.011
Número de sustancias activas: 3			

**INFORMACIÓN DE LA MUESTRA\***

Descripción : Compost  
País de origen : Ecuador  
Código cliente : EC2002746  
Marca : CEFA  
Código seguimiento : AGO-2020-001  
Agricultor : GAD Municipal de Riobamba . Dirección de caldiad Ambiental  
Terreno : San Gerónimo de Porlón

Los resultados de este informe vienen dados sólo para la muestra analizada.

**RESULTADOS ANÁLISIS**

Método	Compuesto	Unidades	Concen tración
Glifosato	AMPA	mg/kg	<0.01
Glifosato	Glifosato	mg/kg	0.20
Glifosato	Glufosinato	mg/kg	<0.01
Número de sustancias activas: 1			

**ANEXO C. VOLUMEN EN MICROLITROS DE CADA PLAGUICIDA PARA EL MEDIO MINERAL**

Plaguicida	Densidad del plaguicida	Volumen de medio mineral (mL)	C1	C2	C3
			1g	3g	6g
Glifosato	1,16 g/mL	90mL+10g compost	78 $\mu$ L	-	
		100 mL	-	259 $\mu$ L	517 $\mu$ L
Chlorfenapyr	1,02 g/mL	90mL+10g compost	82 $\mu$ L	-	-
		100 mL	-	272 $\mu$ L	545 $\mu$ L
Difenoconazole	1,02 g/mL	90mL+10g compost	88 $\mu$ L	-	-
		100 mL	-	294 $\mu$ L	588 $\mu$ L
Tebuconazole	1,008 g/mL	90mL+10g compost	89 $\mu$ L	-	-
		100 mL	-	297 $\mu$ L	595 $\mu$ L



- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup> C1	1	amarillo pálido transparente	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	traslúcida	sí
	2	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	dura	traslúcida	no
	3	crema	circular	entero	elevada	lisa	suave	traslúcida	sí
	4	crema	irregular	rizado	elevada	rugosa	mucoide	traslúcida	sí
	5	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	opaca	no
	6	amarillo mostaza	circular	entero	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	7	blanco	circular	entero	elevada	lisa	suave	opaca	sí
10 <sup>-2</sup> C1	8	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	opaca	sí
	9	amarillo mostaza	circular	entero	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	10	blanco	rizoide	rizoide	plana	rugosa	suave	opaca	no
	11	crema con borde blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	opaca	sí
	12	crema	irregular	rizado	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	13	crema transparente	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
se repite la 1, 3, 7									
10 <sup>-3</sup> C1	14	blanco peludo	circular	entero	convexa	rugosa	dura	opaca	no
	15	crema con bordes blancos en medio de la colonia	irregular	rizado	plana	lisa	mucoide	opaca	no
	16	crema con punto en medio transparente	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	opaca	si
	17	blanco con borde transparente	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	traslúcida	si (fluorescente)
se repite: 9									
10 <sup>-4</sup> C1	18	amarillo pastel con borde transparente	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	traslúcida	si
	19	blanco	circular	entero	convexa	lisa	suave	traslúcida	si (fluorescente)
	20	amarillo pastel con borde transparente	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	traslúcida	si
	21	amarillo verdoso	circular	entero	plana	lisa	mucoide	traslúcida	si
	22	blanco con borde transparente	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
10 <sup>-5</sup> C1	23	aspergillus							
	24	penicillum							
	25	rosado crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	suave	traslúcida	si
se repite: 18									
10 <sup>-6</sup> C1	26	rosado	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si

Clhorfenapyr

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup>	1	blanco	irregular	rizado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si (fluorescente)
	2	amarillo pálido	irregular	ondulado	plana	lisa	dura	opaca	si
	3	blanco	irregular	rizado	plana	lisa	suave	opaca	si
	4	marrón claro	irregular	ondulado	plana	rugosa	mucoide	opaca	si
	5	crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	suave	opaca	si
	6	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	traslúcida	si
	7	blanco	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	8	centro palo rosa con borde blanco	irregular	ondulado	umbilicada	rugosa	suave	opaca	no (fluorescente)
	9	amarillo	circular	entero	elevada	rugosa	suave	opaca	si
	10	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	opaca	si
	11	blanco	circular	entero	convexa	lisa	suave	opaca	si
	12	amarillo verdoso	irregular	ondulado	umbilicada	rugosa	dura	opaca	si
	13	amarillo pálido	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	14	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	mucoide	traslúcida	si
	15	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	dura	opaca	no
	16	blanco	irregular	ondulado	convexa	rugosa	suave	traslúcida	si (fluorescente)
	17	palo rosa	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	opaca	no
	18	palo rosa en un costado, lo demás es blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	mucoide	opaca	si
10 <sup>-2</sup>	19	blanco con alos	irregular	ondulado	plana	rugosa	dura	opaca	no
	20	amarillo pálido	circular	entero	pulvinada	lisa	mucoide	opaca	si
	21	amarillo	circular	entero	convexa	lisa	dura	opaca	no
	22	blanco	irregular	rizado	elevado	rugosa	mucoide	traslúcida	si (fluorescente)
10 <sup>-3</sup>	se repite: 1, 2, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 17,								
10 <sup>-4</sup>	se repite: 5, 11, 16								
10 <sup>-5</sup>	sin crecimiento								
10 <sup>-5</sup>	se repite: 11								
10 <sup>-6</sup>	sin crecimiento								



- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup> C1	1	amarillo pastel	circular	entero	plana	lisa	dura	opaca	no
	2	amarillo patito	circular	entero	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	3	blanco	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	traslúcida	sí
	4	blanco	irregular	ondulada	elevada	lisa	suave	traslúcida	sí (fluorescente)
	5	blanco	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	opaca	no
	6	crema	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	7	amarillo	filamentosa	filamentoso	elevada	rugosa	dura	opaca	sí
	8	crema	irregular	lobulada	plana	rugosa	mucoide	traslúcida	sí
	9	crema	circular	entero	plana	lisa	dura	opaca	no
10 <sup>-2</sup> C1	10	crema	irregular	rizada	plana	rugosa	mucoide	traslúcida	sí (fluorescente)
se repite 2, 3, 6, 7, 8									
10 <sup>-3</sup> C1	11	amarilla	circular	entero	convexa	rugosa	suave	traslúcida	sí
	12	amarilla	irregular	lobulada	plana	rugosa	dura	traslúcida	sí
se repite la 3, 4, 7, 8									
10 <sup>-4</sup> C1	13	blanco	irregular	rizada	convexa	lisa	suave	traslúcida	sí
se repite la 3, 5									
10 <sup>-5</sup> C1	SIN CRECIMIENTO								
10 <sup>-6</sup> C1	SIN CRECIMIENTO								

Difenoconazole

- PDA

<b>DILUCIÓN</b>	<b>DIVERSIDAD</b>	<b>COLOR</b>	<b>FORMA</b>	<b>BORDE</b>	<b>ELEVACIÓN</b>	<b>TEXTURA</b>	<b>CONSISTENCIA</b>	<b>TRANSPARENCIA</b>	<b>BRILLO</b>
10 <sup>-1</sup> C1	1	crema	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	sí
	2	crema	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	3	blanco	irregular	lobulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	no
10 <sup>-2</sup> C1	4	crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	5	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	opaca	sí
se repite la 1, 2 y 3									
10 <sup>-3</sup> C1	6	amarillo patito	filamentosa	filamentoso	elevada	lisa	suave	opaca	sí
	7	amarillo patito	circular	entero	elevada	lisa	dura	traslúcida	sí
se repite la 1 y 4									
10 <sup>-4</sup> C1	8	crema y blanco	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite la 1, 6 y 7								
10 <sup>-5</sup> C1	9	crema y blanco	irregular	rizado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite la 7								
10 <sup>-6</sup> C1	10	crema	circular	entero	convexa	lisa	suave	opaca	sí
	se repite la 5								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup> C1	1	blanco	circular	entero	plana	lisa	dura	translúcida	sí
	2	crema	irregular	ondulado	plana	rugosa	mucoide	translúcida	sí
	3	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
10 <sup>-2</sup> C1	se repite la 1, 2 y 3								
10 <sup>-3</sup> C1	4	amarillo patito	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
	5	crema	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	sí
	se repite la 1 y 2								
10 <sup>-4</sup> C1	6	crema	filamentosa	filamentoso	plana	rugosa	mucoide	translúcida	sí
	7	amarillo patito	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	se repite la 1, 2 y 4								
10 <sup>-5</sup> C1	se repite la 1, 2, 4, 6 y 7								
10 <sup>-6</sup> C1	8	blanco y crema	rizoide	rizoide	plana	rugosa	dura	translúcida	sí
	se repite la 1 y 6								

Tebuconazole

- PDA

<b>DILUCIÓN</b>	<b>DIVERSIDAD</b>	<b>COLOR</b>	<b>FORMA</b>	<b>BORDE</b>	<b>ELEVACIÓN</b>	<b>TEXTURA</b>	<b>CONSISTENCIA</b>	<b>TRANSPARENCIA</b>	<b>BRILLO</b>
10 <sup>-1</sup>	1	crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaco	sí
	2	blanco	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaco	sí
10 <sup>-2</sup>	se repite 1 y 2								
10 <sup>-3</sup>	3	amarilla	filamentosa	filamentoso	elevada	lisa	suave	opaco	sí
	se repite 1 y 2								
10 <sup>-4</sup>	4	blanco	irregular	rizada	convexa	lisa	mucoide	opaco	sí
	5	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	traslúcida	no
	6	amarilla	circular	entero	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	se repite 2								
10 <sup>-5</sup>	se repite la 1, 4, 5								
10 <sup>-6</sup>	se repite la 1 y 4								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup>	1	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	opaca	sí
	2	blanco	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	3	crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
10 <sup>-2</sup>	4	amarillo patito	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	traslúcida	sí
	se repite la 1, 2 y 3								
10 <sup>-3</sup>	5	crema	irregular	ondulado	plana	rugosa	dura	traslúcida	sí
	6	crema	rizoide	rizoide	plana	rugosa	dura	traslúcida	sí
	7	crema	circular	entero	plana	lisa	dura	traslúcida	no
	se repite la 1, 2, 3 y 4								
10 <sup>-4</sup>	8	crema	rizoide	rizoide	plana	rugosa	dura	opaca	no
	9	amarilla	circular	entero	elevada	lisa	suave	opaca	sí
	10	crema	circular	entero	plana	rugosa	suave	traslúcida	no
	11	crema	circular	entero	plana	lisa	dura	opaca	no
	12	amarillo patito	rizoide	rizoide	plana	rugosa	dura	opaca	no
	se repita la 1, 6								
10 <sup>-5</sup>	13	amarillo verdoso	irregular	rizada	plana	rugosa	suave	traslúcida	sí
	se repite la 1, 8, 11								
10 <sup>-6</sup>	se repite la 1, 2, 9								

## Concentración 2

Glifosato

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 (-1)	1	amarillo patito	circular	entero	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
	2	blanco	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	translúcida	sí
	3	crema con blanco	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	opaca	sí
	4	blanco	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	opaca	sí
10 (-2)	5	amarillo	circular	entero	elevada	lisa	suave	opaca	sí
	se repite 1, 2, 4								
10 (-3)	6	amarillo patito	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	7	blanco con borde transparente	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	8	blanco	rizoide	rizoide	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	9	crema	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite la 2, 5								
10 <sup>-4</sup>	10	rosa pálida	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	11	naranja	irregular	ondulada	pulvinada	lisa	mucoide	opaca	sí
	12	coral	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite la 1, 5, 6, 7								
10 <sup>-5</sup>	13	blanco con borde transparente	irregular	rizado	elevada	rugosa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 7, 9								
10 <sup>-6</sup>	se repite: 5								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10 <sup>-1</sup>	1	crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	2	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	dura	translúcida	si
	3	crema	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	opaca	si
	4	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	opaca	si
10 <sup>-2</sup>	5	amarillo mostaza	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	se repite: 1, 2, 3, 4								
10 <sup>-3</sup>	6	amarillo transparente	rizoide	rizoide	plana	rugosa	mucoide	tranlúcida	si
se repite: 1, 2, 3, 4, 5									
10 <sup>-4</sup>	7	amarillo	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	8	palo rosa	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	9	amarillo patito	circular	entero	elevada	lisa	dura	translúcida	si
	10	amarillo pastel	circular	entero	elevada	lisa	dura	opaca	si
	11	naranja	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	12	amarillo	fusiforme	entero	elevada	lisa	suave	opaca	si
	13	crema con 3 aros	circular	entero	umbilicada	lisa	mucoide	translúcida	si
se repite: 2, 3, 4, 6									
10 <sup>-5</sup>	se repite: 1, 3,								
10 <sup>-6</sup>	14	HONGO							

Clhorfenapyr

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	irregular	izada	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	2	HONGO							
	3	amarillo pastel	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	opaco	si
	4	blanco	circular	entero	elevada	lisa	suave	opaca	si
	5	amarillo	irregular	ondulada	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	6	amarilla	circular	entero	plana	lisa	suave	opaca	si
10--2	se repite: 3, 4, 5, 6								
10--3	7	centro blanco con borde transparente	irregular	ondulado	umbilicada	rugosa	suave	translúcida	no
	8	blanco con borde transparente	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	9	centro crema con borde transparente	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	10	centro café con borde blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	opaca	si
	11	marrón	irregular	ondulado	lana	isa	suave	translúcida	si
	12	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	dura	opaca	si
	13	crema	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 3, 4, 5								
10--4	14	amarillo mostaza	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	15	blanca con borde transparente	rizoide	rizoide	umbilicada	lisa	suave	translúcida	sí
	16	crema	circular	entero	pulvinada	lisa	mucoide	translúcida	sí
	17	blanco	circular	entero	pulvinada	lisa	suave	opaca	sí
	se repite: 3, 4, 5, 8, 9								
10--5	18	amarillo pastel	irregular	ondulada	umbilicada	lisa	mucoide	translúcida	sí
	19	crema con aros y bordes transparentes	irregular	rizada	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	20	crema con centro amarillo patito	irregular	ondulada	umbilicada	lisa	suave	translúcida	sí
	21	crema con bordes transparentes	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	22	crema	irregular	rizada	pulvinada	lisa	suave	opaca	sí
	se repite la 17								
10--6	se repite 20, 21, 22								



- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
	2	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
	3	amarillo	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
10--2	4	amarillo pálido	irregular	rizado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 3								
10--3	5	amarillo	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	6	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	7	blanco	rizoide	rizoide	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 3, 4								
10--4	se repite: 1, 5, 7								
110--5	8	blanco	fusiforme	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 6, 7								
10--6	se repite: 6								

Difenoconazole

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	translúcida	sí
	2	blanco	irregular	rizada	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	3	blanco	circular	entera	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	4	crema con blanco	irregular	ondulada	elevada	lisa	mucoide	translúcida	sí
	5	blanco	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
10--2	6	café	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí (fluorescente)
	se repite: 2, 3, 4								
10--3	7	HONGO							
	8	café	irregular	lobulada	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
	9	amarillo patito	circular	entero	plana	lisa	mucoide	opaca	sí
	10	centro verde y borde blanco	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	11	café	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	opaca	sí
se repite la 1, 3, 4, 6									
10--4	12	palo rosa	irregular	rizada	plana	lisa	suave	opaca	sí
	13	centro amarillo y borde blanco	fusiforme	entero	plana	lisa	suave	opaca	sí
	14	centro café oscuro y borde marrón	irregular	lobulada	umbilicada	rugosa	mucoide	translúcida	sí
	15	azul índigo con borde crema	circular	entero	elevada	lisa		translúcida	si
	se repite la 4, 8								
10--5	16	azul índigo con borde crema	circular	entero	elevada	lisa		translúcida	si
	se repite 10, 12, 13								
10--6	17	centro café rojizo y borde marrón	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	translúcida	sí (fluorescente)
	18	HONGO							

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
	2	blanco	circular	entero	convexa	lisa	dura	translúcida	si
	3	blanco transparente	circular	entero	plano	lisa	suave	translúcida	si
10--2	4	crema	irregular	rizado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	5	crema con borde blanco	irregular	rizado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
	6	blanco	circular	entero	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 3								
10--3	7	crema	irregular	rizado	umbilicada	rugosa	suave	translúcida	si
	8	crema con bordes blancos	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	9	blanco transparente	irregular	rizada	plana	rugosa	dura	translúcida	no
	se repite: 1, 2, 3, 4, 5, 6								
10--4	10	blanco	rizoide	rizoide	plana	rugosa	dura	translúcida	no
	se repite: 1, 2, 5, 6, 7, 9								
10--5	11	crema con borde transparente	irregular	rizada	plana	rugosa	dura	translúcida	no
	12	crema	circular	ntero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si

Tebuconazole

- PDA

<b>DILUCIÓN</b>	<b>DIVERSIDAD</b>	<b>COLOR</b>	<b>FORMA</b>	<b>BORDE</b>	<b>ELEVACIÓN</b>	<b>TEXTURA</b>	<b>CONSISTENCIA</b>	<b>TRANSPARENCIA</b>	<b>BRILLO</b>
10--1	1	crema	irregular	rizada	plana	rugosa	mucoide	opaca	sí
	2	crema transparente	irregular	ondulada	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
10--2	3	borde blanco con centro transparente	irregular	ondulada	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
	4	blanca	irregular	ondulada	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite 1, 2								
10--3	5	blanca	irregular	rizada	elevada	lisa	mucoide	opaca	sí
	6	blanca con borde transparente	irregular	ondulada	elevada	lisa	mmucoide	opaca	sí
se repite 2, 3, 4,									
10--4	se repite 5								
10--5	se repite 5								
10--6	SIN CRECIMIENTO								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	verde blanquesino	irregular	ondulada	elevada	lisa	mucoide	translúcida	sí (fosforescente)
	2	blanco verdoso	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si (fosforescente)
	3	blanco verdoso	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaco	si (fosforescente)
	4	verde blanquecino	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaco	si (fosforescente)
	5	amarillo verdoso	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaco	si (fosforescente)
	6	blanco	rizoide	rizoide	plana	rugosa	suave	translúcida	si
10--2	7	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	8	blanco bajo el agar	fusiforme	entero	plana	lisa	-	opaca	no
	9	blanco	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
10--3	10	crema	irregular	lobulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	11	blanco	filamentosa	filamentoso	plana	rugosa	ddura	translúcida	no
	12	crema	circular	entero	plana	lisa	ssuave	translúcida	si
se repite: 7, 9									
10--4	13	crema	filamentosa	filamentoso	umbilicada	rugosa	centro mucoide, lo filamentoso es duro	opaca	si
	14	HONGO							
se repite: 7									
10--5	se repite: 7								
10--6	sin crecimiento								

### Concentración 3

Glifosato

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	HONGO Aspergillus							
	2	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	opaca	si
	3	blanco	irregular	ondulado	convexa	lisa	suave	opaco	si
	4	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	opaco	si
	5	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	dura	opaco	si
	6	blanco	irregular	rizado	plana	lisa	mucoide	opaco	si
10--2	7	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	opaco	si
	8	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 2, 4, 5, 6								
10--3	9	amarillo transparente	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	10	blanco transparente	irregular	rizado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	se repite: 2, 3, 4, 8								
10--4	11	blanco	circular	entero	pulvinada	lisa	mucoide	opaca	si
	12	amarillo	irregular	rizado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 5, 9								
10--5	13	crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	14	amarillo	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	se repite: 9, 11, 12								
10--6	se repite: 13								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	irregular	ondulado	plano	rugosa	dura	translúcida	si
	2	blanco amarillento	irregular	ondulado	elevada	lisa	dura	translúcida	si
	3	amarillo patito	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	4	amarillo	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
10--2	5	blanco	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
	6	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 4								
10--3	7	amarillo	circular	entero	levada	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 3, 4, 5, 6								
10--4	8	amarillo pálido	irregular	rizada	plana	rugosa	duro	translúcida	si
	9	centro crema con borde blanco	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
	10	amarilla con borde transparente	irregular	rizado	umbilicada	rugosa	duro	translúcida	si
	se repite: 5, 7								
10--5	se repite: 5, 9								
10--6	se repite: 5, 8, 9								

Clhorfenapyr

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	amarillo pálido	irregular	ondulado	plana	lisa	dura	opaca	si
	2	blanco	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	3	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	4	blanco	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
10--2	5	amarillo mostaza	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 3								
10--3	6	amarillo	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	opaca	si
	7	centro blanco con borde crema	irregular	ondulado	umbilicada	lisa	suave	opaca	si
	8	amarillo	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	9	amarillo mostaza	irregular	ondulado	elevada	rugosa	suave	opaca	si
	se repite: 2, 3, 4, 5								
10--4	10	crema	irregular	rizado	plana	lisa	dura	translúcida	si
	11	amarillo pálido	irregular	rizado	plana	rugosa	dura	translúcida	si
	12	blanco casi transparente	irregular	rizado	plana	rugosa	dura	translúcida	no
	se repite: 6, 9								
10--5	13	crema con bordes transparentes	filamentosa	filamentoso	plana	rugosa	dura	translúcida	si
	14	amarillo patito	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	15	blanco con bordes transparentes	irregular	rizado	umbilicada	lisa	mucoide	translúcida	si (fluorescencia)
	16	amarillo	filamentosa	filamentoso	convexa	rugosa	mucoide	translúcida	si
	17	amarillo pálido	rizoide	rizoide	plana	lisa	suave	translúcida	si
	18	amarillo	circular	entero	elevada	lisa	suave	opaca	si
	19	rosa pálido	circular	entero	convexa	lisa	suave	opaca	si
	20	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
se repite: 12									
10--6	21	amarillo pastel con centro naranja	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	22	blanco	irregular	rizado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	se repite: 14, 18, 20								



- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanca	irregular	ondulado	plana	lisa	dura	translúcida	si
	2	amarillo	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
	3	amarilla	irregular	ondulada	plana	lisa	suave	translúcida	si
	4	crema	irregular	ondulada	plana	lisa	dura	translúcida	si
10--2	se repite: 1, 2, 3, 4								
10--3	5	amarillo	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	6	blanca	circular	entero	convexa	lisa	suave	translúcida	si
	7	blanco transparente	irregular	rizado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	8	blanco	irregular	ondulado	elevada	rugosa	dura	translúcida	si
	se repite: 2, 4								
10--4	9	amarillo	circular	entero	convexa	lisa	suave	translúcida	si
	10	centro crema con borde blanco	irregular	rizado	elevada	rugosa	suave	translúcida	si
	11	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si (fluorescencia)
	se repite: 8								
10--5	12	amarillo	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	13	amarillo	irregular	ondulado	plana	rugosa	dura	translúcida	si
	14	amarillo	circular	entero	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	se repite: 7, 10, 11								
10--6	se repite: 7, 11								

Difenoconazole

- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	blanco	circular	entero	plana	lisa	suave	opaca	si
	2	blanco	irregular	ondulado	elevada	rugosa	suave	opaca	si
	3	crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	opaca	si
10--2	4	crema	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	5	blanco	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 1, 2, 3								
10--3	6	centro oscuro con borde blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	7	crema con borde transparente	irregular	lobulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
	8	crema	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	si
	9	crema	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	se repite: 1, 4, 5								
10--4	10	centro amarillo con borde blanco	irregular	rizado	plana	lisa	suave	opaca	si
	11	marrón con borde transparente	irregular	rizado	elevada	rugosa	suave	opaca	si
	12	amarillo mostaza con borde transparente	irregular	rizado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	13	crema	circular	entero	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	14	marrón	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
	se repite: 5, 6, 7								
10--5	15	amarillo	irregular	rizado	umbilicada	rugosa	suave	translúcida	si
	16	azul índigo con centro morado y borde crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	17	azul índigo con borde crema	circular	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	si
	18	centro café rojizo con borde marrón	irregular	ondulada	plana	rugosa	suave	translúcida	si (fluorescente)
	19	amarillo con borde blanco	fusiforme	entero	elevada	lisa	mucoide	translúcida	si
	20	crema	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	trnaslúcida	si
	se repiten: 8,10								
10--6	se repite: 17, 19								

- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	crema	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	opaca	si
	2	blanca	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	si
	3	blanca	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	si (fluorescencia)
	4	blanca	irregular	ondulado	plana	lisa	mucoide	translúcida	si
10--2	5	blanca	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 3, 4								
10--3	6	blanca transparente	irregular	rizado	plana	rugosa	mucoide	translúcida	si (fluorescente)
	7	blanca	irregular	rizado	plana	rugosa	suave	translúcida	si
	se repite: 4, 5								
10--4	8	blanca	circular	entero	plana	lisa	suave	translúcida	si
	9	blanca	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	translúcida	si
	se repite: 6								
10--5	se repite: 6, 8, 9								
10--6	10	amarillo pastel	circular	entero	convexa	rugosa	duro	opaca	no

Tebuconazole

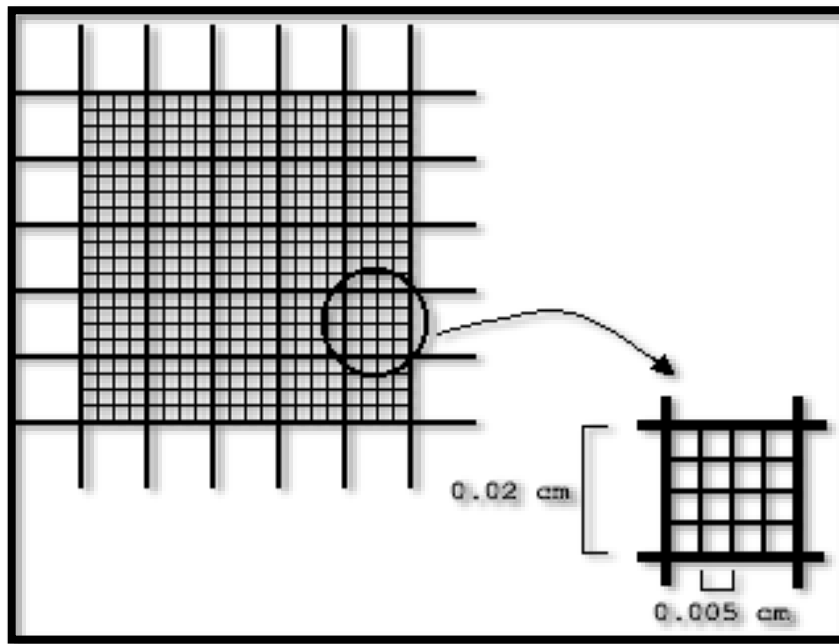
- PDA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1	1	amarillo patito con borde crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	2	crema	circular	entero	plana	rugosa	suave	opaca	no
	3	café con centro blanco	irregular	ondulado	plana	lisa	suave	translúcida	sí
	4	blanca	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	5	café con centro café oscuro	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	sí
	6	café claro	rizoide	rizoide	elevada	rugosa	mucoide	translúcida	sí
10--2	7	blanca	irregular	rizado	elevada	lisa	suave	opaca	sí
	8	centro café rojizo con borde marrón	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
	9	blanca	irregular	ondulado	convexa	lisa	suave	opaca	sí
	10	amarillo patito	irregular	ondulado	convexa	rugosa	suave	opaca	sí
	11	marrón con bordes transparentes	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
10--3	12	blanca	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	se repite: 9								
10--4	SIN CRECIMIENTO								
10--5	SIN CRECIMIENTO								
10--6	SIN CRECIMIENTO								

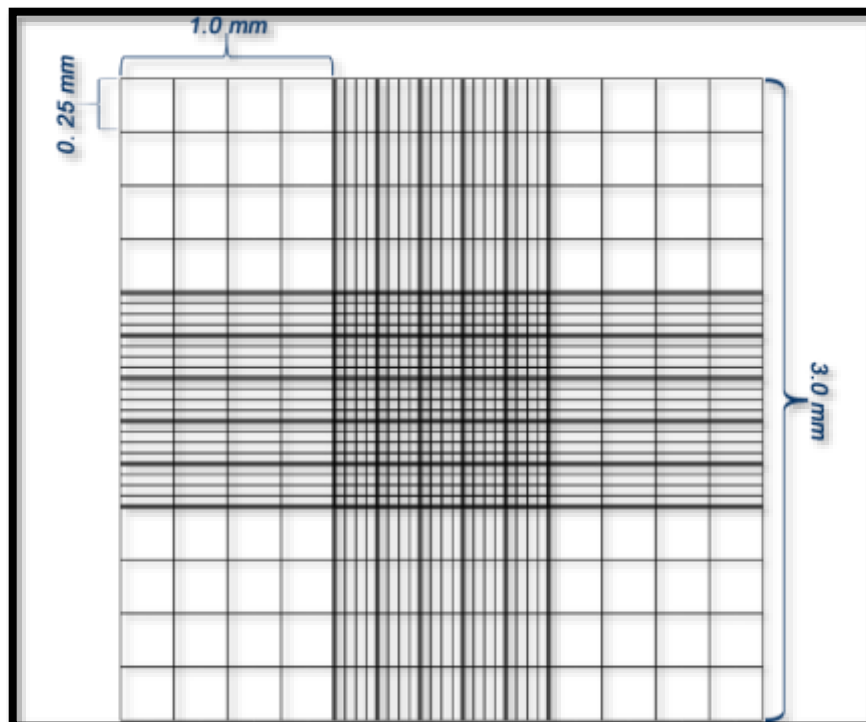
- PCA

DILUCIÓN	DIVERSIDAD	COLOR	FORMA	BORDE	ELEVACIÓN	TEXTURA	CONSISTENCIA	TRANSPARENCIA	BRILLO
10--1 (agar con pigmentación verde oscuro)	1	café transparente	irregular	rizado	plana	rugosa	dura	translúcida	no
	2	verde grisáceo transparente	irregular	ondulado	elevada	lisa	suave	translúcida	sí
	3	verde grisácea transparente	circular	entero	plana	lisa	mucoide	translúcida	sí
	4	verde grisáceo	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	5	verde grisáceo	circular	entero	plana	rugosa	suave	opaca	no
	6	verde grisáceo	irregular	lobulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	7	crema	irregular	ondulado	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
10--2	8	café transparente con bordes amarillos transparentes	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	9	blanca	irregular	ondulado	elevada	lisa	mucoide	translúcida	sí
	10	crema	irregular	ondulado	elevada	rugosa	mucoide	translúcida	sí
	11	amarilla transparente	irregular	ondulado	plana	rugosa	suave	translúcida	no
	12	blanca	circular	entero	convexa	lisa	mucoide	opaca	sí
	13	amarillo patito con crema	fusiforme	entero	elevada	lisa	suave	translúcida	sí (fluorescente)
	14	blanca	circular	entero	plana	rugosa	suave	translúcida	sí
10--3	se repite: 8, 10								
10--4	SIN CRECIMIENTO								
10--5	15	amarilla	circular	entero	convexa	rugosa	dura	opaca	no
10--6	SIN CRECIMIENTO								

ANEXO E. CUADRÍCULA DE LA CÁMARA DE PETROFF HOUSSER



ANEXO F. CUADRÍCULA DE LA CÁMARA DE NEUBAUER



**ANEXO G. CÁLCULOS DE LA CANTIDAD EN MICROLITROS DE CADA  
PLAGUICIDA PARA LOS ENSAYOS CON LOS MICROORGANISMOS**

**DEGRADADORES**

❖ **Glifosato**

$$\rho_{\text{glifosato}} = 1,16 \text{ g/mL}$$

$$0,22 \text{ ppm} = 0,22 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$1 \text{ ppm} = 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$0,22 \text{ ppm} \quad 1000 \text{ mL}$$

$$x \quad 500 \text{ mL}$$

$$x = \frac{0,22 \text{ mg} \times 500 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,11 \text{ mg} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,00011 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{0,00011 \text{ g}}{1,16 \text{ g/mL}} = 0,0000948 \text{ mL} = 0,0948 \mu\text{L}$$

❖ **Difenoconazole**

$$\rho_{\text{difenoconazole}} = 1,02 \text{ g/mL}$$

$$0,31 \text{ ppm} = 0,31 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$1 \text{ ppm} = 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$0,31 \text{ ppm} \quad 1000 \text{ mL}$$

$$x \quad 500 \text{ mL}$$

$$x = \frac{0,31 \text{ mg} \times 500 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,155 \text{ mg} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,000155 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{0,000155 \text{ g}}{1,02 \text{ g/mL}} = 0,00015196 \text{ mL} = 0,15196 \mu\text{L}$$

❖ **Tebuconazole**

$$\rho_{\text{tebuconazole}} = 1,008 \text{ g/mL}$$

$$0,43 \text{ ppm} = 0,43 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$1 \text{ ppm} = 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$0,43 \text{ ppm} \quad 1000 \text{ mL}$$

$$x \quad 500 \text{ mL}$$

$$x = \frac{0,43 \text{ mg} \times 500 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,215 \text{ mg} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,000215 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{0,000215 \text{ g}}{1,008 \text{ g/mL}} = 0,000213 \text{ mL} = 0,213 \mu\text{L}$$

❖ **Chlorfenapyr**

$$\rho_{\text{chlorfenapyr}} = 1,10 \text{ g/mL}$$

$$0,011 \text{ ppm} = 0,011 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$1 \text{ ppm} = 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$x = \frac{0,011 \text{ ppm} \times 1000 \text{ mL}}{500 \text{ mL}} = 0,022 \text{ ppm} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,000022 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{0,000022 \text{ g}}{1,10 \text{ g/mL}} = 0,00002 \text{ mL} = 0,02 \mu\text{L}$$



**ANEXO H. CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL EN ppm DE UN VOLUMEN DE 2  $\mu$ L DE CADA PLAGUICIDA**

❖ **Glifosato**

$$0,22\text{ppm} \quad 0,000094 \text{ mL}$$

$$x \quad 0,002 \text{ mL}$$

$$x = 4,68 \text{ ppm}$$

❖ **Difenoconazole**

$$0,31\text{ppm} \quad 0,000094 \text{ mL}$$

$$x \quad 0,002 \text{ mL}$$

$$x = 4,13 \text{ ppm}$$

❖ **Chlorfenapyr**

$$0,011\text{ppm} \quad 0,000094 \text{ mL}$$

$$x \quad 0,002 \text{ mL}$$

$$x = 4,4 \text{ ppm}$$

❖ **Tebuconazole**

$$0,43\text{ppm} \quad 0,000094 \text{ mL}$$

$$x \quad 0,002 \text{ mL}$$

$$x = 4,04 \text{ ppm}$$

**ANEXO I. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL Y FINAL DE  
PLAGUICIDAS USADOS EN LOS ENSAYOS (AGROLAB COMPANY S.A)**

**Concentración inicial**

 INNOVACIÓN ANALÍTICA A Tetra Tech Company	 AGROLAB S. C. S. P. A. S. U.	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclinico, S.L.U.</b> C/Abel Einstein, nº 7 PITA 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
---	--	--

**INFORME DE ENSAYO**

<b>Cliente:</b>	TALIA BARRAGAN
<b>Código cliente:</b>	4741 Nº Muestra /
<b>Informe:</b>	A2251747
<b>Referencia cliente:</b>	OT: EC2005614. Tipo de Matriz: Tratamiento biológico. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Lote/Cuartel: AGARBacto_PLAG.Localidad: Riobamba (#)
<b>Tipo de muestra:</b>	Agar (#)
<b>Descripción LAB:</b>	Agar
<b>Peso muestra (Kg):</b>	0,2
<b>Modo conservación en transporte:</b>	Temperatura Ambiente
<b>Estado de la muestra:</b>	Apropiado
<b>Toma de muestra:</b>	Externa
<b>Procedimiento toma de muestra:</b>	Externo
<b>Lugar toma de muestra:</b>	No facilitada (#)
<b>Fecha / Hora toma de muestra:</b>	No Facilitada (#)
<b>Fecha / Hora de recepción:</b>	22/07/2022 12:43
<b>Fecha inicio ensayo:</b>	22/07/2022
<b>Fecha fin ensayo:</b>	26/07/2022
<b>Fecha emisión informe:</b>	26/07/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

**Resultados Detectados**

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Gilosato	4,68 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Clorfenapir	4,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Difenoconazol	4,13 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Tebuconazol	4,04 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Gilosato	1,9 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Gilosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS

Página: 1 de 2 Nº: A2251747

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

## Concentración final

*Pseudomonas*

- Glifosato



Informe emitido por: **Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.**  
C/Albert Einstein, nº 7 PITA, 04131 Almería.  
Teléfono: +34 950 25 90 57. www.lab-sl.com

### INFORME DE ENSAYO

Cliente:

CEFA

Código cliente: 4741

Nº Muestra / Informe: A2238289

Referencia cliente: EC2005415. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_Pseudomona\_POR\_GL\_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.

Tipo de muestra: Agar (#)

Descripción LAB: Agar

Peso muestra (Kg): 0,25

Modo conservación en transporte: Temperatura Ambiente

Estado de la muestra: Apropiado

Toma de muestra: Externa

Procedimiento toma de muestra: Externo

Lugar toma de muestra: No facilitada (#)

Fecha / Hora toma de muestra: No Facilitada (#)

Fecha / Hora de recepción: 01/06/2022 16:44

Fecha inicio ensayo: 02/06/2022

Fecha fin ensayo: 03/06/2022



Fecha emisión informe: 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.



#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	3,2 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glifosato	3,2 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
N-Acetilglufosinato	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
MPP	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS



- Chlorfenapyr

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA, 04131 Almería Teléfono: +34 950 25 90 57 - www.lab-sl.com										
<b>INFORME DE ENSAYO</b>												
Ciiente:	CEFA											
Código cliente:	4741											
Nº Muestra / Informe:	A2238287											
Referencia cliente:	EC2005413: Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto_Pseudomona_POR_CR_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.											
Tipo de muestra:	Agar (#)											
Descripción LAB:	Agar											
Peso muestra (Kg):	0,25											
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente											
Estado de la muestra:	Apropiado											
Toma de muestra:	Externa											
Procedimiento toma de muestra:	Externo											
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)											
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)											
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44											
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022											
Fecha fin ensayo:	03/06/2022											
Fecha emisión informe:	06/06/2022											
(P): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.												
<b>Resultados Detectados</b>												
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Chlorfenapyr</td><td>2,1 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB 1-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Chlorfenapyr	2,1 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS		
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica								
Chlorfenapyr	2,1 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS								
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Chlorfenapyr</td><td>2,1 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB 1-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Chlorfenapyr	2,1 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS		
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica								
Chlorfenapyr	2,1 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS								
El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuáles se encuentran a disposición del cliente.												
Página: 1 de 2												
Nº: A2238287												

- Difenoconazole

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com												
<b>INFORME DE ENSAYO</b>														
Cliente:	CEFA													
Código cliente:	4741													
Nº Muestra / Informe:	A2238288													
Referencia cliente:	EC2005414. Tipo de Matriz : Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuarter: AGARBacto_Pseudomona_POR_DF_001. Predio: Compost Porción. Localidad: Riobamba.													
Tipo de muestra:	Agar (#)													
Descripción LAB:	Agar													
Peso muestra (Kg):	0,25													
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente													
Estado de la muestra:	Apropiado													
Toma de muestra:	Externa													
Procedimiento toma de muestra:	Externo													
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)													
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)													
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44													
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022													
Fecha fin ensayo:	03/06/2022													
Fecha emisión informe:	06/06/2022													
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.														
<b>Resultados Detectados</b>														
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Difenoconazol</td><td>0,91 mg/kg</td><td>0,1 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Difenoconazol	0,91 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Difenoconazol	0,91 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Difenoconazol</td><td>0,91 mg/kg</td><td>0,1 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Difenoconazol	0,91 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Difenoconazol	0,91 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.														
Página: 1 de 2			Nº: A2238288											

- Tebuconazole

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA A TetraSys Company	 <b>AGROLAS</b> LABORATORIO ANALITICO	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
--	---	---

### INFORME DE ENSAYO

Cliente: **CEFA**

Código cliente: **4741**

Nº Muestra / Informe: **A2238291**

Referencia cliente: **EC2005417. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_Pseudomona\_POR\_TB\_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.**

Tipo de muestra: **Agar (#)**

Descripción LAB: **Agar**

Peso muestra (Kg): **0,25**

Modo conservación en transporte: **Temperatura Ambiente**

Estado de la muestra: **Apropiado**

Toma de muestra: **Externa**

Procedimiento toma de muestra: **Externo**

Lugar toma de muestra: **No facilitada (#)**

Fecha / Hora toma de muestra: **No Facilitada (#)**

Fecha / Hora de recepción: **01/06/2022 16:44**

Fecha inicio ensayo: **02/06/2022**

Fecha fin ensayo: **03/06/2022**

Fecha emisión informe: **06/06/2022**

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	5,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS



Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	5,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

LC: Límite de Cuantificación de la determinación

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

Página: 1 de 2 Nº: A2238291

- 4 plaguicidas mezclados (Glifosato, chlorfenapyr, difenoconazole y tebuconazole)

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA A Tarentus Company	 <b>AGROLAB</b> COMPANY	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
---	--	---

### INFORME DE ENSAYO

Cliente: **CEFA**

Código cliente: **4741**

Nº Muestra / Informe: **A2238290**

Referencia cliente: **EC2005416. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_Pseudomona\_POR\_PLAG\_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.**

Tipo de muestra: **Agar (#)**

Descripción LAB: **Agar**

Peso muestra (Kg): **0,25**

Modo conservación en transporte: **Temperatura Ambiente**

Estado de la muestra: **Apropiado**

Toma de muestra: **Externa**

Procedimiento toma de muestra: **Externo**

Lugar toma de muestra: **No facilitada (#)**

Fecha / Hora toma de muestra: **No Facilitada (#)**

Fecha / Hora de recepción: **01/05/2022 16:44**

Fecha inicio ensayo: **02/05/2022**

Fecha fin ensayo: **06/05/2022**

Fecha emisión informe: **06/05/2022**

(#) Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	4,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Clofenapyr	0,88 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-165	GC-MS/MS
Difenoconazol	0,54 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Tebuconazol	2,2 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-165	GC-MS/MS



  

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	4,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	-0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio Suma	-0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS

Página: 1 de 2 Nº: A2238290



# Trichoderma harzianum

- Glifosato



 INNOVACION ANALITICA A Terzimus Company		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA, 04131 Almería Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com		
<b>INFORME DE ENSAYO</b>				
Cliente: <b>CEFA</b>				
Código cliente: <b>4741</b>				
Nº Muestra / Informe:	<b>A2238294</b>			
Referencia cliente:	EC2005420. Tipo de Matriz : Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuarte: AGARBacto_Trichoderma_CHA_GL_001. Predio: Suelo de bosque - Chambo. Localidad: Riobamba.			
Tipo de muestra:	Agar (#)			
Descripción LAB:	Agar			
Peso muestra (Kg):	0.25			
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente			
Estado de la muestra:	Apropiado			
Toma de muestra:	Externa			
Procedimiento toma de muestra:	Externo			
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)			
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)			
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44			
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022			
Fecha fin ensayo:	03/06/2022			
Fecha emisión informe:	06/06/2022			
(*) Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.				
<b>Resultados Detectados</b>				
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	3,9 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,019 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	3,9 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,019 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
N-Acetilglufosinato	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS



- Chlorfenapyr

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com												
<b>INFORME DE ENSAYO</b>														
Cliente:	CEFA													
Código cliente:	4741													
Nº Muestra / Informe:	A2238292													
Referencia cliente:	EC2005418. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto_Trichoderma_CHA_CR_001. Predio: Suelo de bosque - Chambo. Localidad: Riobamba.													
Tipo de muestra:	Ager (#)													
Descripción LAB:	Ager													
Peso muestra (Kg):	0,25													
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente													
Estado de la muestra:	Apropiado													
Toma de muestra:	Externa													
Procedimiento toma de muestra:	Externo													
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)													
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)													
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44													
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022													
Fecha fin ensayo:	03/06/2022													
Fecha emisión informe:	06/06/2022													
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.														
<b>Resultados Detectados</b>														
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Clorfenapir</td><td>2,3 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Clorfenapir	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Clorfenapir	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Clorfenapir</td><td>2,3 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Clorfenapir	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Clorfenapir	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.														
Página: 1 de 2			Nº: A2238292											

- Difenoconazole

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA A TetraSys Company		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
--	---	---

### INFORME DE ENSAYO

Cliente: **CEFA**

Código cliente: **4741**

Nº Muestra / Informe: **A2238293**

Referencia cliente: **EC2005419. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_Trichoderma\_CHA\_DF\_001. Predio: Suelo de bosque - Chambo. Localidad: Riobamba.**

Tipo de muestra: **Agar (#)**

Descripción LAB: **Agar**

Peso muestra (Kg): **0,25**

Modo conservación en transporte: **Temperatura Ambiente**

Estado de la muestra: **Apropiado**

Toma de muestra: **Externa**

Procedimiento toma de muestra: **Externo**

Lugar toma de muestra: **No facilitada (#)**

Fecha / Hora toma de muestra: **No Facilitada (#)**

Fecha / Hora de recepción: **01/06/2022 16:44**

Fecha inicio ensayo: **02/06/2022**

Fecha fin ensayo: **03/06/2022**

Fecha emisión informe: **06/06/2022**

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	1,1 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS



  

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	1,1 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

Página: 1 de 2 Nº: A2238293

- Tebuconazole

 LAB INNOVACION ANALITICA A TetraSys Company		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
--	---	---

### INFORME DE ENSAYO

Cliente: CEFA

Código cliente: 4741

Nº Muestra / Informe: A2238296

Referencia cliente: EC2005422. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuante: AGARBacto\_Trichoderma\_CHA\_TB\_001. Predio: Suelo de bosque - Chambo. Localidad: Ricamba.

Tipo de muestra: Agar (#)

Descripción LAB: Ager

Peso muestra (Kg): 0,25

Modo conservación en transporte: Temperatura Ambiente

Estado de la muestra: Apropiado

Toma de muestra: Externa

Procedimiento toma de muestra: Externo

Lugar toma de muestra: No facilitada (#)

Fecha / Hora toma de muestra: No Facilitada (#)

Fecha / Hora de recepción: 01/06/2022 16:44

Fecha inicio ensayo: 02/06/2022

Fecha fin ensayo: 03/06/2022

Fecha emisión informe: 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	5,6 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS



Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	5,6 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

LC: Límite de Cuantificación de la determinación

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

Página: 1 de 2                      Nº: A2238296

- 4 plaguicidas mezclados (Glifosato, chlorfenapyr, difenoconazole y tebuconazole)

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA A Tetras Company	 <b>AGROLAB</b> LABORATORIO ANALITICO BIOTECNICO	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-bi.com
---	---	---

### INFORME DE ENSAYO

Cliente: **CEFA**

Código cliente: **4741**

Nº Muestra / Informe: **A2238295**

Referencia cliente: **EC2005421. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_Trichoderma\_CHA\_PLAG\_001. Predio: Suelo de bosque - Chambo. Localidad: Ricbamba.**

Tipo de muestra: **Agar (#)**

Descripción LAB: **Agar**

Peso muestra (Kg): **0,25**

Modo conservación en transporte: **Temperatura Ambiente**

Estado de la muestra: **Apropiado**

Toma de muestra: **Externa**

Procedimiento toma de muestra: **Externo**

Lugar toma de muestra: **No facilitada (#)**

Fecha / Hora toma de muestra: **No Facilitada (#)**

Fecha / Hora de recepción: **01/06/2022 16:44**

Fecha inicio ensayo: **02/06/2022**

Fecha fin ensayo: **06/06/2022**

Fecha emisión informe: **06/06/2022**

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	5,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Clofenape	0,94 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Difenoconazol	0,50 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Tebuconazol	1,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS



  

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	5,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glifosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS



Página: 1 de 2 Nº: A2238295

ACPI

- Glifosato

 LAB INNOVACION ANALITICA A TetraSys Company	 AGROLAB LABORATORIO ANALITICO	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com		
<b>INFORME DE ENSAYO</b>				
Cliente:	CEFA			
Código cliente:	4741			
Nº Muestra / Informe:	A2238279			
Referencia cliente:	EC2065405. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR), Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto_ACP1_POR_GL_001, Predio: Compost Parión. Localidad: Riobamba.			
Tipo de muestra:	Ager (#)			
Descripción LAB:	Ager			
Peso muestra (Kg):	0,25			
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente			
Estado de la muestra:	Apropiado			
Toma de muestra:	Externa			
Procedimiento toma de muestra:	Externo			
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)			
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)			
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44			
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022			
Fecha fin ensayo:	03/06/2022			
Fecha emisión informe:	06/06/2022			
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.				
<b>Resultados Detectados</b>				
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,018 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	2,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,018 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
N-Acetilglufosinato	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Página: 1 de 2		Nº: A2238279		

- Chlorfenapyr

 INNOVACIÓN ANALÍTICA A Tintamus Company	 AGROLAB LABORATORIO ANALÍTICO	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA, 04131 Almería Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
---	---	--

### INFORME DE ENSAYO

**Cliente:**  
CEFA

**Código cliente:** 4741

**Nº Muestra / Informe:** A2238277

**Referencia cliente:** EC2005403. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_ACP1\_POR\_CR\_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.

**Tipo de muestra:** Agar (#)

**Descripción LAB:** Agar

**Peso muestra (Kg):** 0,25

**Modo conservación en transporte:** Temperatura Ambiente

**Estado de la muestra:** Apropriado

**Toma de muestra:** Externa

**Procedimiento toma de muestra:** Externo

**Lugar toma de muestra:** No facilitada (#)

**Fecha / Hora toma de muestra:** No Facilitada (#)

**Fecha / Hora de recepción:** 01/06/2022 16:44

**Fecha inicio ensayo:** 02/06/2022

**Fecha fin ensayo:** 03/06/2022

**Fecha emisión informe:** 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Clorfenapir	2,8 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Clorfenapir	2,8 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

Página: 1 de 2 Nº: A2238277

- Difenoconazole



Informe emitido por: **Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.**  
C/Albert Einstein, nº7 PITA, 04131 Almería.  
Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com

## INFORME DE ENSAYO

Cliente:

CEFA

Código cliente: 4741

Nº Muestra / Informe: A2238278  
Referencia cliente: EC2005404. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR), Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_ACP1\_POR\_DF\_001, Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.  
Tipo de muestra: Agar (#)  
Descripción LAB: Agar  
Peso muestra (Kg): 0,25  
Modo conservación en transporte: Temperatura Ambiente  
Estado de la muestra: Apropriado  
Toma de muestra: Externa  
Procedimiento toma de muestra: Externo  
Lugar toma de muestra: No facilitada (#)  
Fecha / Hora toma de muestra: No Facilitada (#)  
Fecha / Hora de recepción: 01/06/2022 16:44  
Fecha inicio ensayo: 02/06/2022  
Fecha fin ensayo: 03/06/2022  
Fecha emisión informe: 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

### Resultados Detectados


Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	2,0 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	2,0 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS



El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

- Tebuconazole

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com												
<b>INFORME DE ENSAYO</b>														
Cliente:	CEFA													
Código cliente:	4741													
Nº Muestra / Informe:	A2238281													
Referencia cliente:	EC2005407. Tipo de Matriz : Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lot/cuarter: AGARBacto_ACP1_POR_TB_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.													
Tipo de muestra:	Ager (#)													
Descripción LAB:	Ager													
Peso muestra (Kg):	0,25													
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente													
Estado de la muestra:	Apropiado													
Toma de muestra:	Externa													
Procedimiento toma de muestra:	Externo													
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)													
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)													
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44													
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022													
Fecha fin ensayo:	03/06/2022													
Fecha emisión informe:	06/06/2022													
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.														
<b>Resultados Detectados</b>														
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Tebuconazol</td><td>8,4 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Tebuconazol	8,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Tebuconazol	8,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Tebuconazol</td><td>8,4 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Tebuconazol	8,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Tebuconazol	8,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
LC: Límite de Cuantificación de la determinación														
El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.														
Página: 1 de 2			Nº: A2238281											



- 4 plaguicidas mezclados (Glifosato, chlorfenapyr, difenoconazole y tebuconazole)

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA <small>A Tetras Company</small>	 <b>ACROLAB</b> <small>LABORATORIO ANALITICO</small>	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-si.com
--	---	---

### INFORME DE ENSAYO

**Cliente:**  
CEFA

**Código cliente:** 4741

**Nº Muestra / Informe:** A2238280

**Referencia cliente:** EC2005406. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuarte: AGARBecto\_ACP1\_POR\_PLAG\_001. Predio: Compost Porción. Localidad: Riobamba.

**Tipo de muestra:** Ager (#)

**Descripción LAB:** Ager

**Peso muestra (Kg):** 0,25

**Modo conservación en transporte:** Temperatura Ambiente

**Estado de la muestra:** Apropiado

**Toma de muestra:** Externa

**Procedimiento toma de muestra:** Externo

**Lugar toma de muestra:** No facilitada (#)

**Fecha / Hora toma de muestra:** No Facilitada (#)

**Fecha / Hora de recepción:** 01/06/2022 16:44

**Fecha inicio ensayo:** 02/06/2022

**Fecha fin ensayo:** 07/06/2022

**Fecha emisión informe:** 07/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	2,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Clofenape	1,4 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Difenoconazol	1,3 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS
Tebuconazol	3,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-105	GC-MS/MS



  

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	2,0 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glifosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS



Página: 1 de 2 Nº: A2238280

ACP2

- Glifosato

 INNOVACIÓN ANALÍTICA A Tetra Tech Company		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57   www.lab-sl.com		
<b>INFORME DE ENSAYO</b>				
Cliente: <b>CEFA</b>				
Código cliente: <b>4741</b>				
Nº Muestra / Informe:	<b>A2238284</b>			
Referencia cliente:	EC2005410. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto_ACP2_POR_GL_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.			
Tipo de muestra:	Ager (#)			
Descripción LAB:	Ager			
Peso muestra (Kg):	0,25			
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente			
Estado de la muestra:	Apropiado			
Toma de muestra:	Externa			
Procedimiento toma de muestra:	Externo			
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)			
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)			
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44			
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022			
Fecha fin ensayo:	03/06/2022			
Fecha emisión informe:	06/06/2022			
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.				
<b>Resultados Detectados</b>				
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	3,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,017 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>LC</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Técnica</b>
Glifosato	3,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	0,017 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Glufosinato de amonio	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
N-Acetilglufosinato	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB 1-01-131	UPLC-MS/MS
Página: 1 de 2		Nº: A2238284		

- Chlorfenapyr

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com												
<b>INFORME DE ENSAYO</b>														
Cliente: CEFA														
Código cliente: 4741														
Nº Muestra / Informe:	A2238282													
Referencia cliente:	EC2005408. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto_ACP2_POR_CR_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.													
Tipo de muestra:	Agar (#)													
Descripción LAB:	Agar													
Peso muestra (Kg):	0,25													
Modo conservación en transporte:	Temperatura Ambiente													
Estado de la muestra:	Apropiado													
Toma de muestra:	Externa													
Procedimiento toma de muestra:	Externo													
Lugar toma de muestra:	No facilitada (#)													
Fecha / Hora toma de muestra:	No Facilitada (#)													
Fecha / Hora de recepción:	01/06/2022 16:44													
Fecha inicio ensayo:	02/06/2022													
Fecha fin ensayo:	03/06/2022													
Fecha emisión informe:	06/06/2022													
(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.														
<b>Resultados Detectados</b>														
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Clorfenapir</td><td>2,7 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Clorfenapir	2,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Clorfenapir	2,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
<table border="1"><thead><tr><th>Parámetro</th><th>Resultado</th><th>LC</th><th>Procedimiento</th><th>Técnica</th></tr></thead><tbody><tr><td>Clorfenapir</td><td>2,7 mg/kg</td><td>0,01 mg/kg</td><td>LAB T-01-105</td><td>GC-MS/MS</td></tr></tbody></table>	Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica	Clorfenapir	2,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS				
Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica										
Clorfenapir	2,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS										
El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.														
Página: 1 de 2			Nº: A2238282											

- Difenoconazole



Informe emitido por: **Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.**  
C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería.  
Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com

## INFORME DE ENSAYO

Cliente:

CEFA

Código cliente: 4741

Nº Muestra / Informe: A2238283  
Referencia cliente: EC2005409. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lot/cuartel: AGARBacto\_ACP2\_POR\_CR\_001. Predio: Compost Porlón. Localidad: Riobamba.  
Tipo de muestra: Agar (#)  
Descripción LAB: Agar  
Peso muestra (Kg): 0,25  
Modo conservación en transporte: Temperatura Ambiente  
Estado de la muestra: Apropiado  
Toma de muestra: Externa  
Procedimiento toma de muestra: Externo  
Lugar toma de muestra: No facilitada (#)  
Fecha / Hora toma de muestra: No Facilitada (#)  
Fecha / Hora de recepción: 01/06/2022 16:44  
Fecha inicio ensayo: 02/06/2022  
Fecha fin ensayo: 03/06/2022  
Fecha emisión informe: 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

### Resultados Detectados



Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	1,6 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Difenoconazol	1,6 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

- Tebuconazole

		Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería. Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com
---	---	---

### INFORME DE ENSAYO

**Ciente:**  
CEFA

**Código cliente:** 4741

**Nº Muestra / Informe:** A2238286

**Referencia cliente:** EC2005412. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR). Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_ACP2\_POR\_TB\_001. Predio: Compost Parón. Localidad: Riobamba.

**Tipo de muestra:** Agar (#)  
**Descripción LAB:** Agar  
**Peso muestra (Kg):** 0,25  
**Modo conservación en transporte:** Temperatura Ambiente  
**Estado de la muestra:** Apropiado  
**Toma de muestra:** Externa  
**Procedimiento toma de muestra:** Externo  
**Lugar toma de muestra:** No facilitada (#)  
**Fecha / Hora toma de muestra:** No Facilitada (#)  
**Fecha / Hora de recepción:** 01/06/2022 16:44  
**Fecha inicio ensayo:** 02/06/2022  
**Fecha fin ensayo:** 03/06/2022  
**Fecha emisión informe:** 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	6,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS



Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Tebuconazol	6,3 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB T-01-105	GC-MS/MS

LC: Límite de Cuantificación de la determinación

El laboratorio dispone de las incertidumbres estimadas para cada uno de los ensayos, las cuales se encuentran a disposición del cliente.

Página: 1 de 2 Nº: A2238286

- 4 plaguicidas mezclados (Glifosato, chlorfenapyr, difenoconazole y tebuconazole)

 <b>LAB</b> INNOVACION ANALITICA <small>A Testatus Company</small>	 <b>AGROLAB</b> <small>LABORATORIO ANALITICO</small>	Informe emitido por: <b>Laboratorio Analítico Bioclínico, S.L.U.</b> <small>C/Albert Einstein, nº 7 PITA. 04131 Almería.          Teléfono: +34 950 25 90 57 www.lab-sl.com</small>
--	---	--

### INFORME DE ENSAYO

**Ciente:**  
CEFA

**Código cliente:** 4741

**Nº Muestra / Informe:** A2238285

**Referencia cliente:** EC2005411. Tipo de Matriz: Tratamiento microbiológico (AGAR), Productor: Laboratorio Ciencias Biológicas - Facultad de RRNN - ESPOCH. Variedad: Medio de Cultivo - AGAR. Lote/cuartel: AGARBacto\_ACP2\_POR\_PLAG\_001. Predio: Compost Porción. Localidad: Riobamba.

**Tipo de muestra:** Agar (#)  
**Descripción LAB:** Agar  
**Peso muestra (Kg):** 0,25  
**Modo conservación en transporte:** Temperatura Ambiente  
**Estado de la muestra:** Apropiado  
**Toma de muestra:** Externa  
**Procedimiento toma de muestra:** Externo  
**Lugar toma de muestra:** No facilitada (#)  
**Fecha / Hora toma de muestra:** No Facilitada (#)  
**Fecha / Hora de recepción:** 01/06/2022 16:44  
**Fecha inicio ensayo:** 02/06/2022  
**Fecha fin ensayo:** 06/06/2022  
**Fecha emisión informe:** 06/06/2022

(#): Información facilitada por el cliente. LAB no se hace responsable de la misma.

#### Resultados Detectados

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	4,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-131	UPLC-MS/MS
Clofenape	0,19 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-105	GC-MS/MS
Difenoconazol	0,28 mg/kg	0,1 mg/kg	LAB I-01-105	GC-MS/MS
Tebuconazol	1,5 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-105	GC-MS/MS

Parámetro	Resultado	LC	Procedimiento	Técnica
Glifosato	4,7 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-131	UPLC-MS/MS
AMPA	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-131	UPLC-MS/MS
Glifosinato de amonio Suma	<0,01 mg/kg	0,01 mg/kg	LAB I-01-131	UPLC-MS/MS

Página: 1 de 2 Nº: A2238285

**ANEXO J. DIÁMETROS DEL CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS DE HONGOS Y  
ACTINOBACTERIAS**

*Trichoderma harzianum*

Tiempo de crecimiento	Plaguicidas				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	
0h	1,3 cm	1,3 cm	1,7 cm	1,6 cm	1,4 cm
	1,3 cm	1,5 cm	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,2 cm	1,5 cm
24 h		1,3 cm	1,7 cm	1,6 cm	1,4 cm
		1,5 cm	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
		1,2 cm	1,4 cm	2,2 cm	1,5 cm
48 h		3,5 cm	1,8 cm	1,2 cm	1,4 cm
		3,2 cm	1,5 cm	2,0 cm	1,6 cm
		3,8 cm	1,4 cm	2,2 cm	1,5 cm
72 h		18,92cm2	1,8 cm	1,9 cm	
		18,92cm2	1,5 cm	2,1 cm	
		18,92cm2	1,4 cm	2,3 cm	
96 h	3,0 cm				
	3,5 cm				
	3,5 cm				
120 h	4 cm				1,6 cm
	4,5 cm				1,6 cm
	3,9 cm				1,6 cm
144 h	18,92cm2				1,6 cm
	18,92cm2				1,6 cm
	18,92cm2				1,6 cm
168 h	18,92cm2	18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,7 cm	2,1 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
192 h	18,92cm2	18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,7 cm	2,1 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
216 h		18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
		18,92cm2	1,7 cm	2,1 cm	1,6 cm
		18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
240 h		18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	
		18,92cm2	1,7 cm	2,1 cm	
		18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	
264 h					
288 h	18,92cm2				1,6 cm
	18,92cm2				1,6 cm
	18,92cm2				1,6 cm
312 h	18,92cm2	18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,7 cm	2,2 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
336 h	18,92cm2	18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,7 cm	2,2 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm
360 h	18,92cm2	18,92cm2	2,1 cm	2,0 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,7 cm	2,2 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	2,3 cm	1,6 cm

*Aspergillus niger*



Tiempo de crecimiento	Plaguicidas				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	
0h	1,2 cm	1,3 cm	1,1 cm	1,4 cm	1,8 cm
	1,2 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
	1,5 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,0 cm	1,7 cm
24 h		1,3 cm	1,1 cm	1,4 cm	1,8 cm
		1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
		1,2 cm	1,2 cm	1,0 cm	1,7 cm
48 h		1,6 cm	1,1 cm	1,5 cm	1,8 cm
		2,5 cm	1,3 cm	1,5 cm	1,5 cm
		2,3 cm	1,2 cm	1,3 cm	1,7 cm
72 h		3,6 cm	1,1 cm	1,5 cm	
		3,7 cm	1,3 cm	1,5 cm	
		3,7 cm	1,2 cm	1,3 cm	
96 h	2,3 cm				
	2,4 cm				
	2,5 cm				
120 h	3,8 cm				1,9 cm
	3,9 cm				1,6 cm
	3,9 cm				1,8 cm
144 h	4,7 cm				1,9 cm
	4,7 cm				1,6 cm
	4,9 cm				1,8 cm
168 h	6,0 cm	18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,9 cm
	5,7 cm	18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,6 cm
	5,8 cm	18,92cm2	1,3 cm	1,3 cm	1,8 cm
192 h	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,3 cm	1,8 cm
216 h		18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,9 cm
		18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	1,6 cm
		18,92cm2	1,3 cm	1,3 cm	1,8 cm
240 h		18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	
		18,92cm2	1,5 cm	1,5 cm	
		18,92cm2	1,3 cm	1,3 cm	
264 h					
288 h	18,92cm2				1,9 cm
	18,92cm2				1,6 cm
	18,92cm2				1,8 cm
312 h	18,92cm2	18,92cm2		1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2		1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2		1,3 cm	1,8 cm
336 h	18,92cm2			1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2			1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2			1,3 cm	1,8 cm
360 h	18,92cm2			1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2			1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2			1,3 cm	1,8 cm

Tiempo de crecimiento	Repetición de contaminados				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	
0h	1,4 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,5 cm
	1,2 cm	1,1 cm	1,2 cm	1,0 cm	1,7 cm
24 h	1,4 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,5 cm
	1,2 cm	1,1 cm	1,2 cm	1,0 cm	1,7 cm
48 h	2,3 cm	3,0 cm	1,3 cm	1,5 cm	1,8 cm
	2,6 cm	3,5 cm	1,2 cm	1,5 cm	1,5 cm
	2,2 cm	3,5 cm	1,2 cm	1,3 cm	1,7 cm
72 h	3,5 cm	3,8 cm	1,3 cm	1,5 cm	
	3,6 cm	3,8 cm	1,2 cm	1,5 cm	
	3,7 cm	3,9 cm	1,2 cm	1,3 cm	
96 h					
120 h					1,9 cm
					1,6 cm
					1,8 cm
144 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm		1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm		1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm		1,8 cm
168 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm
192 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm
216 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm
240 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,5 cm	
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	
264 h					
288 h					1,9 cm
					1,6 cm
					1,8 cm
312 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm
336 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm
360 h	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,9 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,3 cm	1,5 cm	1,6 cm
	18,92cm2	18,92cm2	1,2 cm	1,3 cm	1,8 cm

*Aspergillus* spp

Tiempo de crecimiento	Plaguicidas				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	
0h	1,2 cm	1,0 cm	1,3 cm	1,6 cm	2,1 cm
	1,3 cm	1,0 cm	1,0 cm	-	1,8 cm
	1,2 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,8 cm
24 h		1,0 cm	1,3 cm	1,6 cm	2,1 cm
		1,0 cm	1,0 cm	-	1,8 cm
		1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,8 cm
48 h		1,3 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
		1,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
		1,4 cm	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
72 h		2,3 cm	1,3 cm	1,5 cm	
		2,1 cm	1,2 cm	-	
		2,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	
96 h	1,9 cm				
	2,0 cm				
	1,7 cm				
120 h	2,5 cm				2,1 cm
	2,5 cm				2,3 cm
	2,4 cm				2,0 cm
144 h	2,8 cm				2,1 cm
	2,9 cm				2,3 cm
	2,6 cm				2,0 cm
168 h	3,1 cm	3,6 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
	3,5 cm	3,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
	2,9 cm	4,0 cm	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
192 h	3,1 cm	3,7 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
	3,5 cm	3,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
	2,9 cm	4,0 cm	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
216 h		3,7 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
		3,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
		4,0 cm	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
240 h		3,7 cm	1,3 cm	1,5 cm	
		3,3 cm	1,2 cm	-	
		4,0 cm	1,3 cm	1,4 cm	
264 h					
288 h	3,1 cm				2,1 cm
	3,5 cm				2,3 cm
	2,9 cm				2,0 cm
312 h	3,1 cm	18,92 cm <sup>2</sup>	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
	3,5 cm	3,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
	2,9 cm	18,92 cm <sup>2</sup>	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
336 h	3,1 cm	18,92 cm <sup>3</sup>	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
	3,6 cm	3,3 cm	1,2 cm	-	2,3 cm
	2,9 cm	18,92 cm <sup>3</sup>	1,3 cm	1,4 cm	2,0 cm
360 h	3,1 cm	18,92 cm <sup>4</sup>		1,5 cm	2,1 cm
	3,7 cm	3,3 cm		-	2,3 cm
	3,2 cm	18,92 cm <sup>4</sup>		1,4 cm	2,0 cm

ACPI

Tiempo de crecimiento	Plaguicidas				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	
0h	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
24 h	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
48 h					1,8 cm
					1,7 cm
					1,5 cm
72 h					
96 h					
120 h	1,4 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,4 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,5 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
144 h	1,5 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,5 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,6 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
168 h	1,5 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,6 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,6 cm	1,7 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
192 h	1,5 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,6 cm	1,5 cm	1,3 cm	1,7 cm	1,7 cm
	1,7 cm	1,7 cm	1,4 cm	1,5 cm	1,5 cm
216 h					1,8 cm
					1,7 cm
					1,5 cm
240 h					
264 h		1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	
		1,5 cm	1,4 cm	1,7 cm	
		1,7 cm	1,5 cm	1,5 cm	
288 h		1,4 cm	1,5 cm	1,8 cm	1,9 cm
		1,5 cm	1,4 cm	1,7 m	1,8 cm
		1,7 cm	1,5 cm	1,5 cm	1,7 cm
312 h			1,5 cm	1,8 cm	
			1,4 cm	1,7 m	
			1,5 cm	1,5 cm	
336 h			1,5 cm	1,8 cm	
			1,4 cm	1,7 m	
			1,5 cm	1,5 cm	
360 h			1,5 cm	1,8 cm	
			1,4 cm	1,7 m	
			1,5 cm	1,5 cm	

Tiempo de crecimiento	Repetición de contaminadas				
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	4 plaguicidas
0h	1,7 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
24 h	1,7 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm
48 h	1,7 cm	1,2 cm			1,8 cm
	1,3 cm	1,3 cm			1,7 cm
	1,3 cm	1,4 cm			1,5 cm
72 h	1,7 cm	1,2 cm			
	1,4 cm	1,3 cm			
	1,3 cm	1,4 cm			
96 h		1,3 cm			
		1,4 cm			
		1,6 cm			
120 h			1,3 cm	1,7 cm	1,8 cm
			1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
			1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
144 h	1,8 cm		1,3 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,6 cm		1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,5 cm		1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
168 h	1,9 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,6 cm	1,5 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,7 cm
	1,5 cm	1,6 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,5 cm
192 h	1,9 cm	1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	1,8 cm
	1,6 cm	1,5 cm	1,3 cm	1,7 cm	1,7 cm
	1,5 cm	1,6 cm	1,4 cm	1,5 cm	1,5 cm
216 h	2,0 cm	1,4 cm			1,8 cm
	1,7 cm	1,5 cm			1,7 cm
	1,6 cm	1,6 cm			1,5 cm
240 h	2,1 cm	1,4 cm			
	1,8 cm	1,5 cm			
	1,6 cm	1,6 cm			
264 h		1,4 cm	1,4 cm	1,7 cm	
		1,5 cm	1,4 cm	1,7 cm	
		1,6 cm	1,5 cm	1,5 cm	
288 h			1,5 cm	1,8 cm	1,9 cm
			1,4 cm	1,7 m	1,8 cm
			1,5 cm	1,5 cm	1,7 cm
312 h	2,3 cm		1,5 cm	1,8 cm	1,9 cm
	2,2 cm		1,4 cm	1,7 m	1,8 cm
	1,8 cm		1,5 cm	1,5 cm	1,7 cm
336 h	2,3 cm	1,4 cm	1,5 cm	1,8 cm	1,9 cm
	2,2 cm	1,5 cm	1,4 cm	1,7 m	1,8 cm
	1,8 cm	1,6 cm	1,5 cm	1,5 cm	1,7 cm
360 h	2,3 cm	1,4 cm	1,5 cm	1,8 cm	1,9 cm
	2,2 cm	1,5 cm	1,4 cm	1,7 m	1,8 cm
	1,8 cm	1,6 cm	1,5 cm	1,5 cm	1,7 cm

ACP2

Tiempo de crecimiento	Plaguicidas				4 plaguicidas
	Glifosato	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazol	
0h	1,4 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,4 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
24 h	1,4 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,4 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
48 h					1,6 cm
					1,9 cm
					2,1 cm
72 h					
96 h					
120 h	1,6 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,4 cm	1,2 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,7 cm	1,3 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
144 h	1,6 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,5 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,7 cm	1,4 cm	1,2 cm	1,5 cm	2,1 cm
168 h	1,6 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,6 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,8 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
192 h	1,7 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,6 cm	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,8 cm	1,4 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
216 h					1,6 cm
					1,9 cm
					2,1 cm
240 h					
264 h			1,4 cm	1,6 cm	
			1,4 cm	1,5 cm	
			1,4 cm	1,6 cm	
288 h			1,4 cm	1,6 cm	1,6 cm
			1,5 cm	1,5 cm	2,0 cm
			1,4 cm	1,6 cm	2,2 cm
312 h			1,4 cm	1,6 cm	
			1,5 cm	1,5 cm	
			1,4 cm	1,6 cm	
336 h			1,4 cm	1,6 cm	
			1,5 cm	1,5 cm	
			1,4 cm	1,6 cm	
360 h			1,4 cm	1,6 cm	
			1,5 cm	1,5 cm	
			1,4 cm	1,6 cm	

Tiempo de crecimiento	Repetición de contaminadas			
	Chlorfenapyr	Difenoconazole	Tebuconazole	4 plaguicidas
0h	1,2 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,1 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
24 h	1,2 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,2 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,1 cm	1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
48 h	1,2 cm			1,6 cm
	1,2 cm			1,9 cm
	1,1 cm			2,1 cm
72 h	1,2 cm			
	1,2 cm			
	1,1 cm			
96 h	1,3 cm			
	1,3 cm			
	1,3 cm			
120 h		1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
		1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
		1,2 cm	1,4 cm	2,1 cm
144 h		1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
		1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
		1,2 cm	1,5 cm	2,1 cm
168 h	1,3 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
192 h	1,3 cm	1,3 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,4 cm	1,9 cm
	1,3 cm	1,3 cm	1,5 cm	2,1 cm
216 h	1,3 cm			1,6 cm
	1,3 cm			1,9 cm
	1,3 cm			2,1 cm
240 h	1,3 cm			
	1,3 cm			
	1,3 cm			
264 h	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	
	1,3 cm	1,4 cm	1,5 cm	
	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	
288 h		1,4 cm	1,6 cm	1,6 cm
		1,5 cm	1,5 cm	2,0 cm
		1,4 cm	1,6 cm	2,2 cm
312 h		1,4 cm	1,6 cm	1,6 cm
		1,5 cm	1,5 cm	2,0 cm
		1,4 cm	1,6 cm	2,2 cm
336 h	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,5 cm	1,5 cm	2,0 cm
	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	2,2 cm
360 h	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	1,6 cm
	1,3 cm	1,5 cm	1,5 cm	2,0 cm
	1,3 cm	1,4 cm	1,6 cm	2,2 cm

**ANEXO K. RECUENTO DE ESPORAS EN LA CÁMARA DE NEUBAUER**

Número de esporas de *Trichoderma harzianum*

755	528	572	548	542
598	604	541	453	590
657	602	649	595	623
663	597	661	643	635
667	681	643	654	662

$$\text{Células /mL} = (N \times 10^4 \times 90)$$

$$\text{Células/mL} = (614 \times 10^4 \times 90) \text{ cel /mL}$$

$$\text{Células/mL} = 5,5 \times 10^8$$

$$\text{Células en 50 uL} = 2,75 \times 10^7 \text{ células}$$

Número de esporas de *Aspergillus spp.*

217	291	304	277	328
234	240	243	347	322
250	233	267	245	323
215	230	244	236	269
244	221	283	269	293

$$\text{Células/mL} = (N \times 10^4 \times 90)$$

$$\text{UFC/mL} = (265 \times 10^4 \times 90) \text{ cel/mL}$$

$$\text{UFC/mL} = 2,4 \times 10^8$$

$$\text{UFC en 50 uL} = 1,2 \times 10^7 \text{ células}$$

Número de esporas de *Aspergillus niger*

269	197	191	209	199
165	181	216	159	203
185	182	169	201	147
179	192	182	197	197
180	206	240	185	177

$$\text{UFC/mL} = (N \times 10^4 \times 90) \text{ cel/mL}$$

$$\text{UFC/mL} = (184 \times 10^4 \times 90) \text{ cel/mL}$$

$$\text{UFC/mL} = 1,7 \times 10^8$$

$$\text{UFC en 50 uL} = 8,3 \times 10^6 \text{ células}$$



Número de esporas de ACP1

822	814	852	854	845
813	838	874	876	833
826	857	871	865	890
836	843	817	807	895
836	865	832	813	809

$$UFC/mL = (N \times 10^4 \times 90) cel/mL$$

$$UFC/mL = (843 \times 10^4 \times 90) cel/mL$$

$$UFC/mL = 7,6 \times 10^8$$

$$UFC \text{ en } 50 \mu L = 3,8 \times 10^7 \text{ células}$$

Número de esporas de ACP2

233	297	273	255	291
242	274	268	289	270
228	253	250	288	244
239	250	293	261	235
255	289	261	287	273

$$UFC/mL = (N \times 10^4 \times 90) cel/mL$$

$$UFC/mL = (263 \times 10^4 \times 90) cel/mL$$

$$UFC/mL = 2,4 \times 10^8$$

$$UFC \text{ en } 50 \mu L = 1,2 \times 10^7 \text{ células}$$

**ANEXO L. RECUENTO DE BACTERIAS EN LA CÁMARA DE PETROFF HAUSSER**

<i>Pseudomonas</i>				
992	895	830	867	1002
832	915	871	962	941
733	813	755	775	777
764	797	868	749	796
814	854	798	828	783

***Células/mL = N × 25 × 50 × 10<sup>3</sup>***

***Células/mL = 840,44 × 25 × 50 × 10<sup>3</sup>***

***Células/mL = 1,05 × 10<sup>9</sup>***

***Células en 50 uL = 5,25 × 10<sup>7</sup> células***

573	630	647	691	643
638	704	723	683	712
655	669	635	684	671
601	693	701	722	658
651	702	733	680	636

Bacterias Gram negativa

***Células/mL = N × 25 × 50 × 10<sup>3</sup>***

***Células/mL = 669 × 25 × 50 × 10<sup>3</sup>***

***UFC/mL = 8,3 × 10<sup>8</sup>***

***Células en 50 uL = 4,15 × 10<sup>7</sup> células***

ANEXO M. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA EN  
EL LABORATORIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVERSIDAD MICROBIOLÓGICA DEL COMPOST.



Preparación de blancos de dilución.



Preparación de medio de cultivo y medición de pH



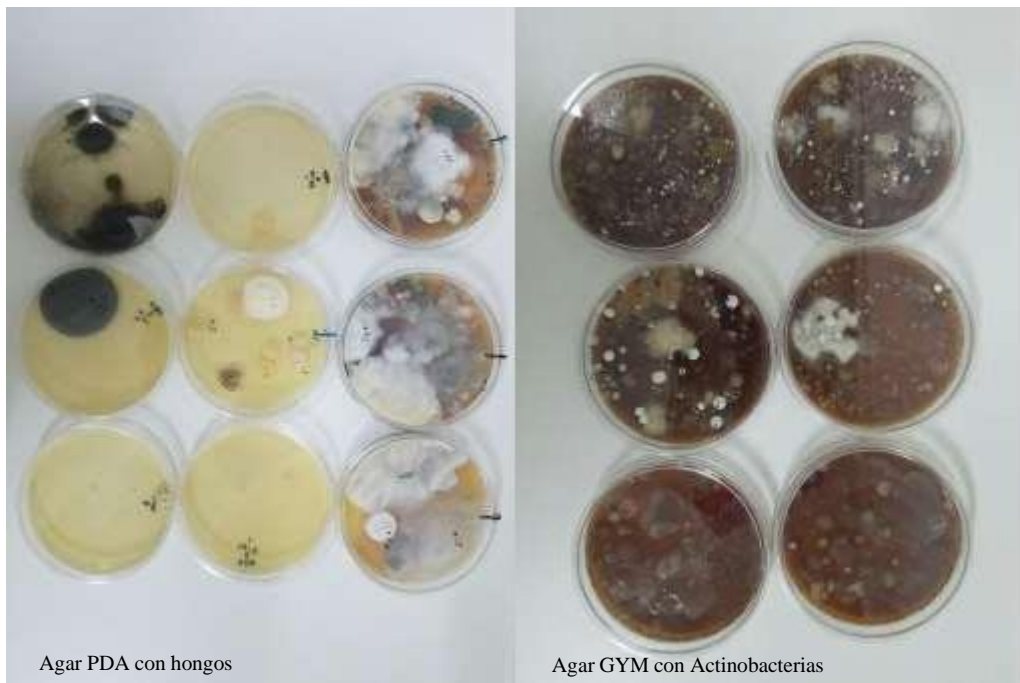
Corrección del pH de los medios preparados



Etiquetado y vertido de medio de cultivos en cajas Petri



Inoculación y dispersión de microorganismos en el medio de cultivo



Agar PDA con hongos

Agar GYM con Actinobacterias

Incubacion a temperatura ambiente por 3 días para bacterias, 5 días para actinobacterias y 15 días para hongos. Rotular con e nombre de los cultivos y el medio

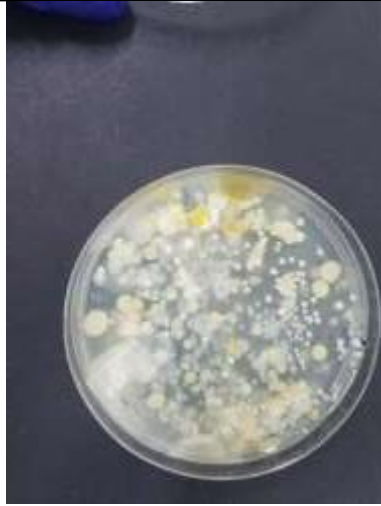
ADAPTACIÓN DE MICROORGANISMOS EN MEDIO BASAL ENRIQUECIDO CON PESTICIDAS



Preparación del medio basal enriquecido con pesticidas



Diluciones preparadas a partir del medio basal con pesticidas



Crecimiento de microorganismos en el medio de cultivo enriquecido con 1g/L, 3 g/L y 6 g/L de cada pesticida



ELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PARA ENSAYO DE DEGRADACIÓN.



Purificación de hongos





Purificación y almacenamiento de Actinobacterias

ENSAYOS DE MICROORGANISMOS SOMETIDOS A PESTICIDAS

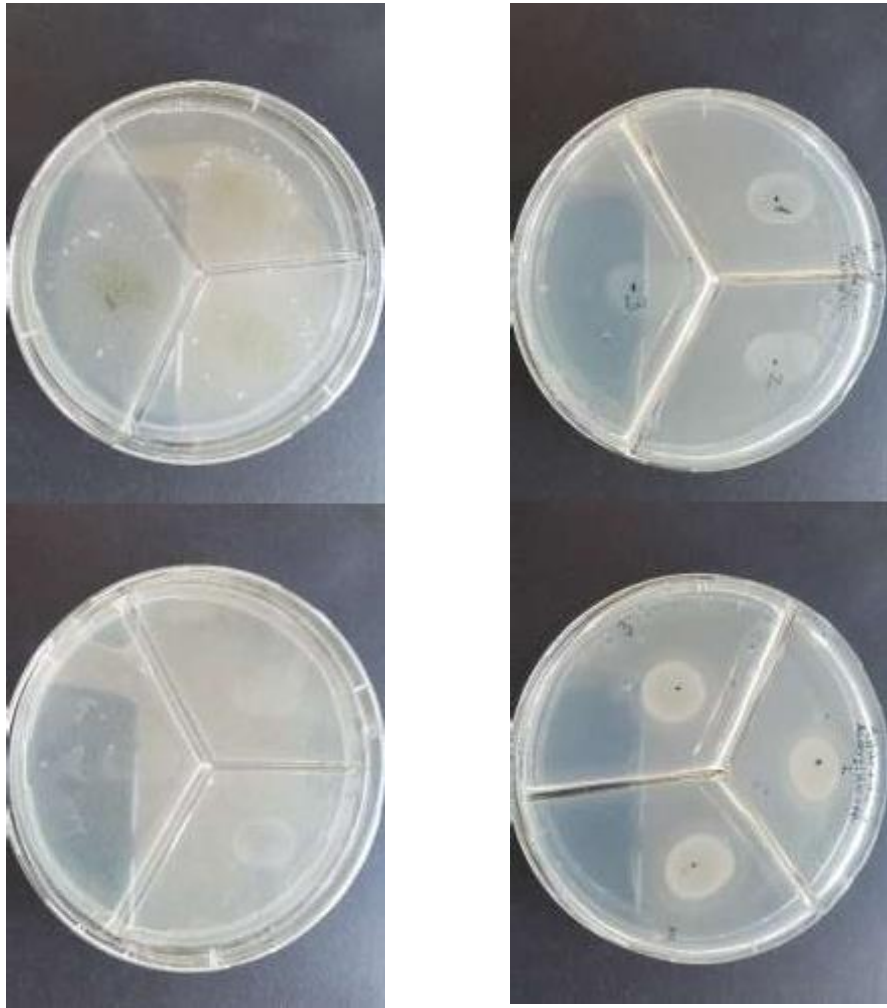


Suspensión de microorganismos usados en el ensayo



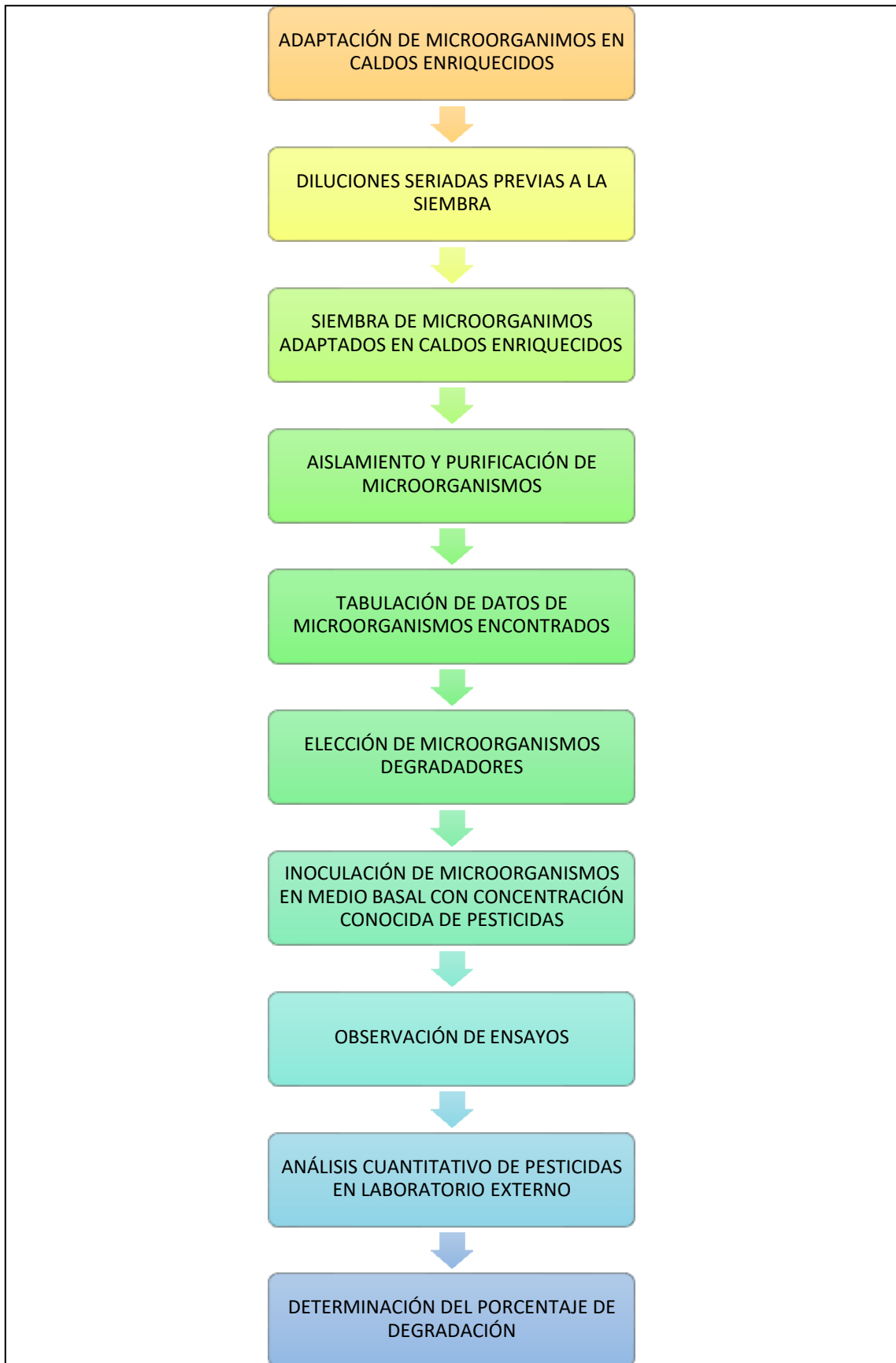
Inoculación de microorganismos en medio basal con pesticidas





Microorganismo creciendo en medio basal con pesticidas

**ANEXO N. ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA USADA PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE PESTICIDAS**



## ANEXO O. COTIZACIÓN PARA ANÁLISIS DE PESTICIDAS

TABLA COMPARATIVA PARA ADQUISICIONES

Proyecto:	Las Organizaciones Rurales y los mecanismos de producción y comercialización Asociativa - Un modelo de Desarrollo Integral para el agro ecuatoriano FOOD/2016/380-060		
Adquisición:	Análisis de residuos de pesticidas en muestras de AGAR - Evaluación de tratamientos con microorganismos	Fecha	11/5/2022



Item	Unidad	AGROLAB			AGROCALDIAD		
		Precio/unidad	Cantidad	Subtotal	Precio/unidad	Cantidad	Subtotal
Glifosato	Análisis	\$ 295,00	4	\$ 1.180,00			\$ -
Chlorfenapyr	Análisis	\$ 225,00	4	\$ 900,00			\$ -
difenoconazole	Análisis	\$ 225,00	4	\$ 900,00	\$ 96,14	4	\$ 384,57
Tebuconazole	Análisis	\$ 225,00	4	\$ 900,00	\$ 96,14	4	\$ 384,57
Difenoconazole + Tebuconazole	Análisis			\$ -	\$ 144,21	4	\$ 576,86
Glifosato + Chlorfenapyr + Difenoconazole + Tebuconazole	Análisis	\$ 445,00	4	\$ 1.780,00			\$ -
				\$ 5.660,00			\$ 1.346,00

**Resolución:** En el proceso se convocó a 8 laboratorios del País. Sólo AGROLAB presentó una oferta completa. AGROCALIDAD presentó una oferta parcial. En función del análisis bajo cuatro escenarios adjunto al presente, se resuelve contratar los servicios de AGROLAB porque tienen la capacidad para analizar las cuatro moléculas en cuestión, cuenta con las certificaciones de calidad y es el mismo laboratorio que se contrató para el análisis de residuos de pesticidas, con lo que se asegura el cumplimiento del mismo estándar para todo el estudio.

Firmamos, El Comité de Adquisiciones.

Andrea Cianferoni  
Coordinador Proyecto Cadenas de Valor  
CEFA



Alex Leguizamo  
Responsable Cadena Quinoa en Chimborazo  
CEFA

Estefanía Heredia  
Responsable Administrativa  
CEFA

Ana Cimachi  
Docente Investigadora  
Laboratorio Microbiología Facultad de Recursos Naturales ESPOCH



epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 3 / 02 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Talía Luzmila Barragán Rodríguez Jimmy Romario Clemente Rivera
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería en Biotecnología Ambiental
<b>Título a optar:</b> Ingeniero/a en Biotecnología Ambiental
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

0207-DBRA-UPT-2023

