



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

“EVALUACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PESTICIDAS A TRAVÉS DE BIOPILAS CON ADICIÓN DE DOS INÓCULOS DIFERENTES EN EL SECTOR GATAZO ZAMBRANO CANTÓN COLTA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.”

Trabajo de titulación para optar por el título de:

INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORAS: Jessica Alexandra Romero Vacacela

Andrea Estefanía Echeverría Salas

TUTORA: DRA. SUSANA ABDO

RIOBAMBA-ECUADOR

2016

©2016, Andrea Estefanía Echeverría Salas, Jessica Alexandra Romero Vacacela.

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

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: **“EVALUACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PESTICIDAS A TRAVÉS DE BIOPILAS CON ADICIÓN DE DOS INÓCULOS DIFERENTES EN EL SECTOR GATAZO ZAMBRANO CANTÓN COLTA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.”**, de responsabilidad de los señores Egresados: Andrea Estefanía Echeverría Salas y Jessica Alexandra Romero Vacacela, ha sido pródigamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Ing. Sofía Godoy

MIEMBRO DE TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Nosotras, Andrea Estefanía Echeverría Salas y Jessica Alexandra Romero Vacacela, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autoras, asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 04 de Abril del 2016

Andrea Estefanía Echeverría Salas
C.I. 060412564-1

Jessica Alexandra Romero Vacacela
C.I. 060460119-5

Nosotros, Andrea Estefanía Echeverría Salas y Jessica Alexandra Romero Vacacela, somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de investigación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Andrea Estefanía Echeverría Salas
C.I. 060412564-1

Jessica Alexandra Romero Vacacela
C.I. 060460119-5

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios, por darme la vida y permitirme cumplir mis metas personales y profesionales.

A mi madre, por ser mi ángel, mi mejor amiga, por demostrarme su amor infinito y darme aliento cuando siento desmayar, por enseñarme a luchar y a ver que a pesar de las circunstancias el sol siempre brillara, a pesar de que no se encuentra físicamente, desde el cielo sé que está orgullosa de este logro que es de las dos.

A mi padre, por su comprensión y apoyo en cada meta que quiero cumplir, por enseñarme a seguir adelante con la frente en alto, por su amor incondicional, por ser padre y madre en ciertos momentos, por escucharme y estar conmigo siempre, por días llenos de risas y por seguir siendo su niña mimada.

A mi hermana, por ser mi modelo a seguir, por ser la persona que cuida de mí en todo momento y contra cualquier persona, porque en muchas ocasiones ha ocupado el lugar de mi madre, porque a pesar de la diferencia de edad y de pensamiento me escucha y es mi mejor amiga, por siempre darme cariño y ser su chiquita bebé.

A mi amiga y colega, Andreita porque sin el equipo que formamos, no hubiéramos logrado esta meta.

Jessica Alexandra Romero Vacacela

Dedico este trabajo a mi señora Margarita y al señor Ángel, quienes han sido mi apoyo incondicional, el pilar más importante en mi vida, mis grandes amigos y mis increíbles padres. Dedico también a dos personitas muy especiales, Andrés quien ha estado junto a mí en las buenas y en las malas y especialmente a Karito Echeverría, la mejor hermana del mundo, quien me inspira, me alegra, me motiva y ha llenado a toda mi familia de alegrías y locuras.

Andrea Estefanía Echeverría Salas

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar doy gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre por cuidarme siempre, por la confianza y el apoyo, por siempre demostrarme su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos. Sé que desde el cielo está orgullosa de la persona en la que me he convertido.

A mi padre por brindarme amor incondicional, por apoyarme y cuidarme, por celebrar mis triunfos y ayudarme a levantar de mis fracasos.

A mi hermana, que con sus consejos me ha ayudado a afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

Agradezco a mi familia en general por brindarme su apoyo, cariño y comprensión, han sido parte fundamental de mi vida.

A mis amigos que de alguna manera me han ayudado y apoyado en momentos importantes en mi vida. A mis profesores que me han brindado los conocimientos necesarios para culminar con este sueño.

Finalmente a Andrea porque con sus valiosas aportaciones hizo posible este proyecto y por su amistad sincera, única y duradera.

Jessica Alexandra Romero Vacacela

En primer lugar doy gracias a Dios por ser mi guía, por cuidarme y darme la fortaleza necesaria para superar obstáculos que se han presentado en mi vida.

Agradezco a mis profesores, especialmente a Susana Abdo y Sofía Godoy quienes nos han brindado su tiempo, paciencia y conocimientos para el desarrollo de esta investigación. Y también a los increíbles profesores que han aportado a este trabajo, a mi educación y con un granito de sabiduría en mi vida.

Agradezco a Jessica Romero por el buen equipo que formamos, por su compañía, por los días de sustos, preocupaciones y por los días de risas y pequeños logros, por estos largos meses que compartimos y por tantos años de amistad.

Infinitamente agradecida con Margarita y Ángel, por ser los mejores padres del mundo, por su apoyo, sus esfuerzos, sus consejos y por hacer de la vida de mi hermana y la mía la más feliz, llena de alegrías, experiencias y sabiduría.

Agradezco a mi Karito, mi hermana, mi persona favorita, por motivarme, inspirarme y siempre hacerme reír, por ser el tesoro de mi familia, por hacernos muy afortunados y felices. Y también a toda mi familia y mis amigas por brindarme su apoyo.

Y por último y nos menos importante, agradezco a Andrés, por ser mi soporte, mi mejor amigo, mi consejero, mi apoyo, por contenerme cuando todo iba mal, por alegrarme cada día, por tu amor y por hacerme la mujer más afortunada.

Andrea Estefanía Echeverría Salas

TABLA DE CONTENIDO

AUTORIZACIÓN DE REPRODUCCIÓN.....	i
FIRMAS DEL TRIBUNAL.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
Justificación del proyecto.....	3
Objetivos.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivo específico.....	4
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. Antecedentes de la investigación.....	5
1.2. Pesticidas.....	7
1.2.1. Composición general del plaguicida.....	7
1.2.2. Clasificación de los pesticidas.....	8
1.3. Dianizon y profenofos.....	10
1.4. Comportamiento de los pesticidas en el suelo.....	13
1.5. Contaminación por pesticidas.....	13

1.6.	Pesticidas en el Ecuador	14
1.7.	Biorremediación	16
1.7.1.	La Bioestimulación como técnica de Biorremediación	16
1.7.2.	Bocashi como técnica de Biorremediación.....	20
CAPÍTULO II		
2.	MARCO METODOLÓGICO Y EXPERIMENTAL	25
2.1.	Determinación de los pesticidas con mayor aplicación en la zona de Gatazo Zambrano mediante la realización de encuestas.	25
2.2.	Caracterización físico-química y microbiológica del suelo.....	26
2.2.1.	Caracterización inicial de suelo	26
2.2.2.	Análisis Físico-químico	27
2.2.3.	Análisis microbiológico.....	27
2.2.4.	Análisis de Pesticidas	27
2.3.	Elaboración de las biopilas y aplicación de su respectivo tratamiento.	27
2.3.1.	Preparación de las muestras.....	27
2.3.2.	Diseño Experimental	28
2.3.3.	Tratamiento A (Bocashi)	29
2.3.4.	Tratamiento B (Bioestimulación)	29
2.3.5.	Monitoreo de Variables Control	30
2.4.	Determinación de la eficiencia de remoción de pesticidas en las biopilas.	30
2.4.1.	Cálculo de la tasa de degradación de pesticidas	31
2.4.2.	Análisis Estadístico.....	31
2.5.	Optimización del tratamiento más eficiente.	32
2.5.1.	Enriquecimiento del suelo	32
2.5.2.	Diseño Experimental	32
2.5.3.	Formación de las biopilas	33
2.5.4.	Análisis Estadístico.....	34

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
3.1.	Resultados.....	35
3.1.1.	Determinación de los pesticidas con mayor aplicación en la zona de Gatazo Zambrano mediante la realización de encuestas.	35
3.1.2.	Caracterización físico-química y microbiológica del suelo.....	36
3.1.3.	Elaboración de las biopilas y aplicación de su respectivo tratamiento.....	40
3.1.4.	Determinación de la eficiencia de remoción de pesticidas en las biopilas.	46
3.1.5.	Optimización del tratamiento más eficiente.	53
3.2.	Discusión	67
	CONCLUSIONES	68
	RECOMENDACIONES	69
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1-1:	Clasificación de los pesticidas según su vida media de efectividad.....	10
Tabla 2-1:	Clasificación de los pesticidas según su toxicidad, expresada en Dosis Letal Media (DL50) (mg/kg)	10
Tabla 3-1:	Características del Dianizon y Profenofos.....	12
Tabla 4-2:	Métodos de Análisis para cada parámetro.....	26
Tabla 5-2:	Metodología para la preparación de la muestra patrón.....	28
Tabla 6-2:	Elementos que componen una pila de Bocashi.....	29
Tabla 7-2:	Metodología para la preparación de la muestra patrón.....	32
Tabla 8-3:	Caracterización físico-química inicial de la	36
Tabla 9-3:	Caracterización físico-química final de los dos tratamientos (A y B).....	36
Tabla 10-3:	Caracterización microbiológica inicial de la muestra de suelo estudiada de Gatazo Zambrano.....	37
Tabla 11-3:	Análisis microbiológico intermedio (Día 25) del Tratamiento B.....	38
Tabla 12-3:	Caracterización microbiológica final de los dos tratamientos (A y B).....	38
Tabla 13-3:	Determinación inicial de pesticidas presentes en la muestra de	39
Tabla 14-3:	Análisis intermedio (Día 25) de pesticidas presentes en los dos tratamientos (A y B)	39
Tabla 15-3:	Análisis final de pesticidas presentes en los dos tratamientos (A y B)	40
Tabla 16-3:	Control de temperatura (°C) del tratamiento A	41
Tabla 17-3:	Control de la humedad del tratamiento A.....	43
Tabla 18-3:	Control de la Temperatura (°C) del tratamiento B	44
Tabla 19-3:	Control de humedad (%) del tratamiento B.....	45
Tabla 20-3:	Control del pH del tratamiento B	46
Tabla 21-3:	Porcentaje de degradación de pesticidas en los dos tratamientos (A y B).....	46
Tabla 22-3:	Tasa de degradación diaria de pesticidas en los dos tratamientos (A y B).....	47
Tabla 23-3:	Prueba T- Student para muestras independientes	50
Tabla 24-3:	Prueba T- Student para muestras independientes	52
Tabla 25-3:	Caracterización físico-química inicial	54
Tabla 26-3:	Caracterización microbiológica inicial de la muestra.....	54
Tabla 27-3:	Determinación inicial de pesticidas presentes en la muestra.....	55

Tabla 28-3:	Control de temperatura	55
Tabla 29-3:	Control de la humedad.....	56
Tabla 30-3:	Control del pH.....	58
Tabla 31-3:	Caracterización físico-química final.....	59
Tabla 32-3:	Caracterización microbiológica final.....	59
Tabla 33-3:	Análisis final de pesticidas	60
Tabla 34-3:	Porcentaje de degradación de pesticidas	60
Tabla 35-3:	Tasa de degradación diaria de pesticidas.....	61
Tabla 36-3:	Análisis de ANOVA de 1 Factor	63
Tabla 37-3:	Prueba de Tukey	64
Tabla 38-3:	Análisis de ANOVA de 1 Factor.....	65
Tabla 39-3:	Prueba de Tukey	66

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1-1:	Prueba de puño para determinar la humedad correcta del bocashi	23
Figura 2-3:	Gráfico de la variación de temperatura del tratamiento A	42
Figura 3-3:	Gráfico de la variación de temperatura del tratamiento B	44
Figura 4-3:	Gráfico de la variación de humedad del tratamiento B	45
Figura 5-3:	Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento A	48
Figura 6-3:	Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento B	48
Figura 7-3:	Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento A	49
Figura 8-3:	Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento B	49
Figura 9-3:	Comparación del porcentaje de degradación de Dianizon	51
Figura 10-3:	Comparación del porcentaje de degradación de Profenofos	53
Figura 11-3:	Gráfico de la variación de temperatura	56
Figura 12-3:	Gráfico de la variación de temperatura	57
Figura 13-3:	Gráfico de la variación de pH	58
Figura 14-3:	Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento O	61
Figura 15-3:	Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento X y Y	62
Figura 16-3:	Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento O	62
Figura 17-3:	Gráfico de la Degradación Profenofos en el Tratamiento X y Y	63
Figura 18-3:	Comparación del porcentaje de degradación de Dianizon	65
Figura 19-3:	Comparación del porcentaje de degradación de Profenofos	66

RESUMEN

Se evaluó el proceso de biorremediación de suelos del Sector Gatazo Zambrano, el cual fue enriquecido con dos pesticidas organofosforados utilizados para eliminar plagas de pulgón: profenofos y dianizon, escogidos en base a las encuestas realizadas a los pobladores del sector que pertenece al Cantón Colta. El suelo se sometió a dos tratamientos diferentes: Bocashi (Tratamiento A) y Bioestimulación (Tratamiento B). Y se llevó un registro de las variables control de temperatura (18-30°), pH (6-8), humedad (30-60%) para mantenerlas dentro del rango óptimo, con el fin de proporcionar las condiciones adecuadas para que los microorganismos se desarrollen. Para bocashi se utilizó como fuente de nutrientes, elementos naturales y orgánicos en función a la relación de C/N de 28:1, en tanto que para bioestimulación se recurrió a nutrientes inorgánicos, agregándolos en función a la relación C/N/P de 100/10/1, el proceso duró 50 días. Los resultados registrados mediante una observación directa aplicando como instrumento de investigación un inventario; obteniéndose que el Tratamiento A tuvo un porcentaje de degradación de 98,49% para dianizon y para 90,73% para profenofos, el Tratamiento B tuvo un porcentaje de degradación de 99,84% para dianizon y para 93,34 % para profenofos, se concluye que el Tratamiento B presentó mayor eficiencia tanto para la degradación de profenofos y dianizon. Se optimizó el tratamiento B que fue el más eficaz comparando esta vez la influencia del nitrógeno en la degradación, por lo que se trabajó con relaciones de C/N/P de 100/20/1 y de 100/1/1, llevando un mayor control de las condiciones, se recomienda a la población la aplicación cualquiera de los dos tratamientos para la biorremediación de suelos contaminados con estos pesticidas como profenofos y dianizon.

PALABRAS CLAVES: <PESTICIDAS PROFENOFOS>; <BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS>; < PESTICIDAS DIANIZON>; <TRATAMIENTO BOCASHI>; <TRATAMIENTO BIOESTIMULACIÓN>; <GATAZO ZAMBRANO [COMUNIDAD]>

SUMMARY

It was evaluated the bioremediation of soils of Gatazo Zambrano which was enriched with two organophosphate pesticides: profenofos and diazinon, chosen based on surveys of residents of the sector. The soil was subjected to two different treatments: Bocashi (Treatment A) and biostimulation (Treatment B). And a register variable temperature control (18-30°C), pH (6-8), humidity (30-60%) to keep them within the optimum range, in order to provide suitable conditions took for the microorganisms develop. To Bocashi was used as nutrient sources, natural and organic elements according to e ratio C/N of 28:1. Whereas for biostimulation resorted to inorganic nutrients, adding them according to the C/N/P 100/10/1, the process lasted 50 days. The results were collected by direct observation using as a research tool inventory; obtain that treatment had a rate of 98,49% for degradation dianizon and 90,73% for profenofos, which turned out to be the most efficient for both degradation and dianizon profenofos. Treatment B was optimized treatment B was the most effective comparing this time the influence of nitrogen degradation, so we worked with ratios C/N/P of 100:20:1 and 100:1:1, taking more control of the condition.

KEYWORDS: <PESTICIDES> <BIOREMEDIATION> <PROFENOFOS> <DIAZINON>
<BOCASHI> <BIOESTIMULATION>

INTRODUCCIÓN

Los agroquímicos son sustancias químicas destinadas al control de plagas y a aumentar la eficiencia de la cosecha, tanto en tiempo de producción y calidad del producto. Se ha recurrido a estas sustancias químicas mucho antes de los años 40, viendo un aumento significativo en esta década, llegando a escala mundial a los cinco millones de toneladas en 1995 (Torres & Capote, 2013, pp. 5-6), debido al continuo aumento de las necesidades alimenticias de la población. Lamentablemente no se ha previsto el daño que causa al suelo, a la contaminación de las cosechas, al agua, a los animales y humanos. El uso excesivo y por largos periodos de tiempo causa empobrecimiento y alteración del ecosistema del suelo, contaminación de los mantos freáticos, aparición de especies resistentes y alteraciones ecológicas y algunos animales se exponen indirectamente a tales químicos por diferentes vías como por ejemplo al ingerir alimentos, consumo de agua contaminada y entre otros. (Arias Verdes et al 1990, pp. 2-7). De acuerdo a un estudio acerca de pesticidas y su afección al medio ambiente realizado en Costa Rica menciona que: “El alto uso de pesticidas trae como consecuencia: reducción de la biodiversidad, erosión y pérdida de permeabilidad de los suelos, aumenta la vulnerabilidad a las plagas y enfermedades y conduce al desequilibrio y agotamiento de los agrosistemas.” (Espinoza et al, 2003, p. 36)

En Ecuador, al igual que en otros país se utiliza gran cantidad de agroquímicos en los sembríos. De acuerdo al estudio realizado por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador se menciona que: “En el Ecuador el 47% de hectáreas de superficie agrícola utiliza algún tipo de plaguicida químico en sus cultivos, de los cuales el 37% están próximos a cuerpos de agua; El 53% restante se cultiva de manera ecológica, es decir utilizan pesticidas orgánicos o no utilizan pesticidas.” (Arias, 2013, pp. 10-17)

En la provincia de Chimborazo, gran parte de los sembríos, recurren al uso de tales sustancias. Uno de estos casos es la comunidad de Gatazo Zambrano, donde cada vez el uso se incrementa, ya que el suelo se ha ido empobreciendo y recurren a dichos químicos para lograr una buena producción, satisfacer la demanda del mercado y tener un ingreso económico. Lamentablemente la falta de información y preparación de los agricultores en temas relacionados con agroquímicos desencadena las consecuencias antes mencionadas con respecto a la cosecha, contaminación del suelo, agua, y se exponen a afecciones a su salud.

A pesar de que existen algunos estudios acerca del tema de pesticidas, se los podría considerar relativamente pocos debido a la infinidad de tipos de pesticidas y mucho más las diferentes sustancias que conforma a cada uno. Además son variados los ambientes agrícolas donde se emplea, por lo que la respuesta y acción ante tales contaminantes es muy variado.

Cuando los pesticidas llegan a contaminar los suelos, las consecuencias pueden ser la reducción de nutrientes naturales del suelo, disminución de microorganismos nativos y necesarios, también se puede generar la contaminación de aguas subterráneas y distribuirse en otras fases. Los componentes de un plaguicida al entrar en contacto con el suelo o cualquier fase, se incorporan en el ciclo de la naturaleza, donde sus componentes tóxicos pueden llegar a degradarse en componentes aún más tóxicos, a acumularse, y formar parte de la cadena trófica.

Existe y se están estudiando diferentes formas de remediar ambientes que están contaminados con pesticidas debido al sobreuso, a la acumulación y entre otros, en las distintas fases con el fin de degradar los contaminantes a componentes más simples con menor peligrosidad e inclusive convertirlos en inocuos. La biorremediación implica metodologías amigables con el ambiente, que trata de evitar en gran medida, algún efecto adverso, alteraciones en los ecosistemas y recurrir a elementos más naturales. Como la aplicación de métodos de compostaje como el bocashi, que consiste en la degradación de varios componentes de origen animal y vegetal además de la aplicación de algún tipo de hongo, toda este proceso genera una formación parcial, por lo que se llega a obtener nutrientes necesarios y accesibles, para el suelo y las cosechas. Los hongos aplicados para el bocashi, y el medio propicio que se emplea para su desarrollo, podrían ser estudiados como técnica de biorremediación para pesticidas.

Otras de las técnicas que se ha venido usando es la bioestimulación, la cual consiste en estimular el desarrollo óptimo de microorganismos nativos en un medio contaminado, mediante el suministro de oxígeno y nutrientes, principalmente. Con la intención de que estos microorganismos recurran también al contaminante como fuente de energía, y por lo tanto lo degraden a componentes más simples, estables y poco o nada peligrosos.

Justificación del proyecto

En los últimos cien años se ha observado un incremento en la utilización de pesticidas dentro de la agricultura, esto debiéndose a varios factores como son: el aumento de la población mundial y su necesidad de alimento y la falta de información sobre la adecuada utilización de estos, provocando una contaminación en el suelo, agua y seres vivos.

Según informes presentados por las Naciones Unidas menos del 1% de los pesticidas utilizados llegan realmente a los cultivos, llegando el restante al suelo, aire y tanto al agua superficial y subterránea. (Rodríguez, Gálvez, Estrada, & Bandala, 2012, pp. 269-273).

En Ecuador según el “Modulo de Uso y Aplicación de Pesticidas en la Agricultura en El Ecuador”, en el 2013 existía 1’320.988,67 hectáreas de superficie agrícola en donde en el 47% de este territorio eran aplicados pesticidas químicos, utilizando en 1 de cada 10 cultivos los extremadamente tóxicos aunque estos hayan sido prohibidos pero que debido a su aplicación sobre los cultivos, las plagas han generado resistencia obligando a los agricultores a seguir con su uso (Arias, 2013, pp. 10-17).

El sector de Gatazo Zambrano misma que pertenece a la Parroquia de Cajabamba, Cantón Colta de la Provincia de Chimborazo se caracteriza por la gran actividad agrícola, donde su principal cultivo es de hortalizas destacando la producción de brócoli, zanahoria, papas, maíz, culantro entre otras; habiéndose constituido en 1998 la Corporación de Productores Agrícolas Huertos Gatazo Zambrano, dando así inicio a una producción en masa de hortalizas y con ello también un incremento en la utilización de pesticidas. (Piñero, 2007, pp. 46)

La utilización de pesticidas ha ido generando varios problemas, tales como económicos debido al incremento de la utilización de pesticidas en la producción; sociales ya que según informes y estudios realizados la presencia de estos en el ser humano provoca desde alteraciones neurológicas hasta las reproductivas; y por último al ser no biodegradables existen varios problemas como la bioacumulación en el suelo, desertización, pérdida total de la estructura, posible contaminación de mantos freáticos, pérdida de la capacidad de autodepuración, pérdida de fauna y flora nativa, entre otras pudiéndose resumir estas como la contaminación del suelo (Olea, 2002, pp. 1-10). Por ello la importancia de la realización de este trabajo radica en la disminución de las concentraciones de

pesticidas en los suelos agrícolas buscando alternativas económicamente rentables y compatibles con el mejoramiento ambiental.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el Sector Gatazo Zambrano Cantón Colta Provincia de Chimborazo.

Objetivo específico

- Determinar los pesticidas con mayor aplicación en la zona de Gatazo Zambrano mediante la realización de encuestas.
- Efectuar la caracterización físico-química y microbiológica del suelo.
- Elaborar las biopilas y aplicar su respectivo tratamiento.
- Determinar la eficiencia de remoción de pesticidas, en las biopilas con su respectivo tratamiento.
- Optimizar el tratamiento que haya presentado mayor eficiencia de remoción de pesticidas

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

La actividad agrícola ha generado algunos problemas ambientales, debido al crecimiento de la población, por lo que se ha recurrido a la intensificación y tecnificación de la producción generando así problemas de erosión, empobrecimiento y debilitamiento del suelo, contaminación de los cuerpos de agua, tanto superficiales como subterráneos. Los agricultores para satisfacer las necesidades del mercado y optimizar su producción han recurrido al uso de agroquímicos como pesticidas y fertilizantes. (Olea, 2002, p. 5)

Uno de los datos arrojados por las últimas encuestas realizadas en el año 2014, por el INEC, indica que el 52,59 % de la superficie agrícola en el Ecuador utiliza algún tipo de insumo agropecuario como fertilizantes o pesticidas, mientras que el porcentaje restante, no lo utilizan o utilizan insumos orgánicos, y de tal porcentaje restante, la mitad corresponde a pastos; lo que significa, que un porcentaje muy pequeño de la producción en Ecuador está libre de químicos y además se podría decir que son pocas las familias de agricultores que no se hallan expuestos a químicos. (INEC, 2014, pp. 12-25)

Otros resultados que se encuentra en dicha encuesta son: que los criterios a nivel nacional para comprar agroquímicos es especialmente la eficacia, con el 35,6 %, por sugerencia técnica o porque es el producto más conocido el 28,65%, continuando con el criterio de precio con un 21,94 % y finalmente solo el 13,75 % compra algún producto agroquímico si es menos peligroso. Solo un 20,51% de los agricultores reciben alguna capacitación técnica acerca del uso, manejo y previsión de pesticidas. Así que el 79,49 % de los agricultores están más expuestos a los efectos adversos de los pesticidas, además que inconscientemente pueden estar contaminando sus cosechas, destruyendo sus suelos y generando graves daños al ecosistema. (INEC, 2014, pp. 18-20)

Lamentablemente en Ecuador, en base a la encuesta solo el 63,9 % usa un adecuado equipo de protección para la aplicación de pesticidas, siendo la provincia del Oro, la que mayor porcentaje de equipos de protección utiliza, con el 90, 33 % el nivel de protección, en tanto que Chimborazo es la

provincia que menor índice de protección presenta, con el 52,68% seguido de Morona Santiago y Bolívar, en últimos lugares. (INEC, 2014, pp. 18-20)

Algunos de los estudios realizados en el Ecuador sobre plaguicidas, tomados del “Inventario de Plaguicida COPs en el Ecuador”, realizado por el Ministerio del Ambiente y ESPOL-ICQ en el año 2004, (Montaño Armijos, y otros, 2004, pp. 21-31), tenemos:

- Determinación de residuos de plaguicidas clorados y fosforados en aguas de riego y drenaje del proyecto Babahoyo, en donde de 60 muestras recolectadas, todas estaban contaminadas con DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) y en porcentajes altos con otros plaguicidas pertenecientes al grupos de los COPs.
- Estudio de la contaminación por plaguicidas de los alimentos básicos de la canasta familiar ecuatoriana, donde los resultados obtenidos fueron preocupantes debido a la confirmación de la presencia de residuos de clorados.
- Otro estudio fue la determinación de insecticidas clorinados de leche materna y de igual manera los resultados fueron preocupantes ya que se evidenció la presencia de residuos de plaguicidas en la leche materna lo que reflejo el uso excesivo de plaguicidas. Años más tarde, luego de la prohibición y mayor control de plaguicidas, se realizó un estudio semejante en donde se volvió a encontrar la presencia de DDT, en la leche materna aunque la contaminación era significativamente menor.
- Contaminación de las cuencas hidrográficas de la provincia de Los Ríos. Convenio Universidad Técnica de Babahoyo-Programa de Sanidad Vegetal, donde se analizaron muestras de agua y peces de la región y se obtuvo que el 88% de muestras de agua y el 100% de las muestras de peces estaban contaminadas.

Como se puede observar, un gran porcentaje de los agricultores en el Ecuador, no están informados acerca de los peligros a la salud y al ambiente que genera el uso inadecuado de los pesticidas. Lamentablemente los agricultores de la provincia de Chimborazo y de otras muchas zonas agrícolas del Ecuador han estado expuestos tanto ellos como sus familias a gran variedad de químicos, a los seguramente se han visto obligados a recurrir para tener productos que comercializar y generar ingresos, ya que al recurrir a una agricultura más orgánica el tiempo de cultivo y cosecha tomaría

más tiempo Todo esto adjunto a consecuencias con el medio que interactúan y limitando consigo la soberanía alimentaria (Olea, 2002, pp. 5-7).

1.2. Pesticidas

De acuerdo a la FAO, plaguicida es una mezcla de sustancias que se utilizan con el fin de mantener bajo control a las plagas y destruirlas si ya hay presencia. Estos se refiere a cualquier plaga ya sean vectores de enfermedades en los humanos, animales y en las cosechas. Y también para plagas de especies no deseadas, que causa molestias, daños a bienes e interrupciones de actividades como: la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, maderas y sus productos o alimentos para animales. (OMS, 1992, pp. 28-30). También son utilizadas para regular el crecimiento de algunas plantas, evitar la caída prematura de los frutos, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de frutas y sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto del deterioro, durante el almacenamiento y transporte. (DNP, 2003, pp. 255-258)

1.2.1. *Composición general del plaguicida*

Un plaguicida está constituido por un ingrediente activo y por la formulación.

- El ingrediente activo es la sustancia principal del plaguicida que determina su campo de acción, pero es la composición global de define la manera de actuar de cada sustancia activa, tales sustancias presentan muchas variedades químicas. (Environmental Protection Agency (EPA), 1990, pp. 45-48)
- En cuanto a la formulación, también llamado excipiente, son otros elementos con los que se mezcla a la sustancia activa. La función de estos es ser el vehículo para la sustancia activa, permite un mejor manejo, regula la concentración y da un estado físico compatible con el sitio de aplicación. Al mezclar con el excipiente se obtiene como resultado distintas formas el producto final. (Environmental Protection Agency (EPA), 1990, pp. 44-48)
- Además también suele formar parte de su composición otros productos y solventes cuya función es principalmente mejorar la adsorción, se los denomina vehículo o solvente. Estos pueden ser formulaciones secas como: arcilla, yeso, talco, cal y sílice o pueden ser

formulaciones húmedas como: aceites derivados del petrolero, ciclohexano, xileno, sería un error considerarlos como inertes, ya que también podría ser los causantes de la contaminación. (Uribe Galvis et al, 2011, pp. 83-102).

La combinación de estos elementos da como resultado diferentes presentaciones del plaguicida como: líquidos miscibles, concentrados emulsionables, Polvo seco, microencapsulados, aerosoles fumigante gaseoso, polvo mojable, gránulos, polvo soluble, fumigantes líquidos, fumigantes sólidos, cebos tóxicos.

1.2.2. Clasificación de los pesticidas

Según la estructura química del principio activo, se clasifican en:

- **Organoclorados:** Son compuestos químicos formados por una cadena de átomos de carbono y átomo de cloro como grupos sustituyentes. El primer organoclorado que se sintetizó en 1939 fue el DDT (Uribe Galvis et al, 2011, pp. 83-102). Son los más usados, son estables química y físicamente por lo tanto son insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos. Por lo tanto son persistentes en el ambiente y presenta lenta biodegradabilidad. (Gutiérrez, Pinzón, Londoño, Blach, & Rojas, 2011, pp. 205-211). La vida media es de 5 años pero varía según el producto como es el caso del DDT que su vida media es de 3 años y para el Aldrín de 6 años. (Ramírez & Lacasaña, 2001, pp. 67-75).
- **Organofosforados:** compuestos químicos neurotóxicos derivados del ácido fosfórico, donde un átomo de oxígeno puede ser sustituido por un átomo de azufre. Son compuestos de esteres, amidas o tioderivados de ácido fosfórico. El modo de acción es interferir en el sistema nervioso del insecto por inhibición de la enzima colinesterasa. Dentro de alguna de las propiedades podemos mencionar: son liposolubles lo que atraviesa fácilmente las barreras biológicas y el sistema nervioso central, tienden ser volátiles, presenta baja tensión de vapor por lo tanto son fáciles de inhalar, son poco persistentes en el ambiente, pueden sufrir de hidrolisis en medio alcalino en la tierra y en líquidos biológicos, y los productos resultantes puede a veces ser menos persistentes y poco acumulables; como por ejemplo Dianizon y Profenofos. (Ramírez & Lacasaña, 2001, pp. 67-75).

- Carbamatos: son pesticidas orgánicos neurotóxicos, cuyo grupo funcional corresponde al derivado carbámico N-COO-. El modo de acción es el mismo que los organofosforados pero son menos tóxicos para los humanos y animales domésticos y son sistémicos (Uribe Galvis, y otros, 2011, pp. 83-102). Los carbamatos presenta baja presión de vapor y baja solubilidad en el agua, se pueden degradar por hidrolisis. No se llega a acumular en el organismo ya que se pueden biotransformar por hidrolisis, conjugación y oxidación y se puede eliminar por la orina, heces y respiración. (Ramírez & Lacasaña, 2001, pp. 67-75).
- Piretroides: presenta actividad insecticida se extraen de la flor del pelitre mediante el secado, molienda y pulverización, se ha empezado han usar comercialmente desde 1939, no es muy utilizada ya que se degrada fácilmente en presencia de luz y calor, por lo que se debe aplicar al anochecer. (Ramírez & Lacasaña, 2001, pp. 67-75). El elemento activo extraído se denomina piretrinas, las cuales son neuroactivas, no dejan residuos en la atmosfera y presenta un metabolismo rápido. (Al-Saleh, 2012, pp. 151-161).

Otra forma de clasificación es según el tipo de organismo que se desea atacar usados en la agricultura (Uribe Galvis, y otros, 2011, pp. 83-102), así tenemos:

- Insecticidas
- Avicidas
- Ancaricidas
- Nematicidas
- Molusquicidas
- Rodentecidas
- Herbicidas
- Fungicidas.

Según su persistencia en el ambiente:

Persistentes, poco persistentes y no persistentes

Tabla 1-1: Clasificación de los pesticidas según su vida media de efectividad

Persistencia	Vida media	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión, Iannate
Persistente	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, dieldrín
Permanentes	Indefinidamente	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico

Fuente: Pesticidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Arch Prev Riesgos Labor, 4(2), 67-75

Realizado por: Ramírez J. & Lacasaña M.

Según su toxicidad se pueden clasificar como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2-1: Clasificación de los pesticidas según su toxicidad, expresada en Dosis Letal Media (DL50) (mg/kg)

Clase	Toxicidad	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malatión

Fuente: Pesticidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Arch Prev Riesgos Labor, 4(2), 67-75

Realizado por: Ramírez J. y Lacasaña M.

1.3. Dianizon y profenofos

Los plaguicidas organofosforados son sustancias químicas derivados del ácido fosfórico, en donde los radicales de la fórmula básica puede ser sustituidos por diversos grupos funcionales los cuales influyen en gran medida en las propiedades físico-químicas que influye en la capacidad de degradación, penetración, distribución y activación con la selectividad y sitio de ataque. (Alpuche & Albert, 1990, pp. 121-123). Los plaguicidas organofosforados se empezaron a usar en mayor cantidad después de la prohibición de plaguicidas organoclorados porque resultaban ser más eficientes y económicos en el control de plagas (Juan, Pico, & Font, 2003, pp. 166-169). Específicamente los compuestos organofosforados son poco persistentes en el ambiente, pero un plaguicida está constituido, por estos compuestos que como se mencionó anteriormente, sus características dependen de los grupos funcionales que lo conforman y del ecosistema donde se aplique.

Existe pocos estudios en campo sobre estos plaguicidas, la mayoría de los estudio han sido llevados a cabo en laboratorio por lo que no se conoce a detalle cual es el comportamiento en la naturaleza, tampoco se ha establecido efectos de neurotoxicidad, contaminación, bioacumulación en

exposiciones repetidas a bajas dosis durante largos periodos de tiempo. (Palacios-Nava, Paz Román, Hernández Robles, & Mendoza Alvarado, 1999, pp. 35-36). Existen estudios que indican que la mayoría de intoxicaciones agudas en trabajadores agrícolas son causadas por este tipo de plaguicidas. (Ahlborg et al, 1990, págs. 33-42).

Las sustancias de los plaguicidas organofosforados generan un gran impacto, poco estudiado, en el ambiente debido a la interacción plaguicida-suelo-agua. En aplicaciones aéreas un alto porcentaje del producto llega al suelo y cuerpos de agua y se genera arrastre causado por las lluvias y vientos. Debido a su alta toxicidad aguda resultan ser tóxicos a insectos beneficiosos, peces y vida silvestre (Mohammad & Varela, 2008, pp. 5-17). En el caso del clorpirifós ingrediente activo de un plaguicida organofosforado, mismo que se degrada con mayor rapidez en comparación a otros plaguicidas pero aun así resulta ser muy persistente, sobre todo cuando el uso es regular; también hay evidencias que se puede acumular a lo largo de la cadena alimenticia. (Romano Mozo, 2014, pp. 1-31).

Dianizon, es uno de los plaguicidas organofosforados más persistentes, ya que la vida media en el suelo es de mínimo tres meses, depende de algunos factores, aplicación, cultivos, clima, propiedades del suelo, microflora, luz solar, presión de vapor, contenido de humedad, factores que también influencia la residualidad, (Mohammad & Varela, 2008, pp. 5-17). Los residuos son afectados por la formulación ya que los depósitos de pesticidas decrecen en el siguiente orden: Emulsión> Polvo y Humectable>Polvo (Sultatos , 1994), hay que mencionar que de acuerdo a CICOPLAFES 1991 el dianizon resulta toxico para abejas y otros insectos beneficiosos, muy toxico para peces y aves.

En cuanto a otro plaguicida organofosforados tenemos a los profenofos, del cual existen muy pocos estudios, especialmente referidos a la biodegradación por microorganismos. En el artículo Biodegradation of the Organophosphate Pesticide Profenofos by Marine Fungi realizado por Natália Alvarenga da Silva y otros autores realizado en el año 2013, estudian la biodegradación de profenofos mediante hongos marinos, los cuales crecieron y toleraron el medio que presentaba profenofos e inclusive lo utilizaba como fuente de energía ya que en su estructura hay carbono, oxígeno, azufre y fósforo. (Alvarenga da Silva et al, 2000, págs. 180-185).

En dicha investigación se menciona al estudio realizado por Malghani, 2009, donde se indica la degradación exitosa de profenofos mediante bacterias e indica que no se ha realizado estudios previos a ese. (Alvarenga da Silva, et al, 2000; Malghani et al, 2009).

Tabla 3-1: Características del Dianizon y Profenofos

Características	Dianizon	Profenofos
Formulación común	C12H21N2O3PS	C11H15BrClO3PS
N° de registro CAS (Chemical Abstract Service)	333-41-5	41198-08-7
Utilización	Como insecticida, aplicado principalmente a árboles frutales, cultivos hortícolas, arroz, caña de azúcar, etc.	Para aplicación al follaje, para uso exclusivo en plantas formuladoras de plaguicidas agrícolas
Movilidad	El dianizon no se liga fuertemente al suelo. Muestra una movilidad moderada.	En los suelos su movilidad es baja y es eliminado rápidamente por hidrólisis química en condiciones alcalinas y por biodegradación.
Degradación	El dianizon no es persistente en el suelo. La mayor parte del dianizon aplicado en el suelo se pierde por degradación química y biológica a los dos meses aproximadamente de la aplicación. Se ha indicado que la hidrólisis es lenta cuando el pH es superior a 6, pero puede ser significativa en algunos suelos. Se considera que la biodegradación es un proceso importante en los suelos, habiéndose notificado casos de semidesintegración de más de 1,2 a 5 semanas en suelos no estériles y de 6,5 a 12,5 semanas en suelos estériles. La tasa de degradación química del dianizon depende mucho de la acidez del medio. El dianizon es más estable en medios alcalinos que en medios con un pH neutro o ácido. La semidesintegración por hidrólisis es de 32 días (pH 5), 185 días (pH 7,4) y 136 días (pH 9) a 20° C. Se considera que la evaporación de la superficie del suelo no constituye un proceso importante de transporte. La evaporación de un río puede ser considerable, con una semidesintegración de 46 días.	Poco persistente, Cuando el Profenofos es liberado en el aire, sus vapores reaccionan con radicales hidroxilo. La vida media de esta reacción es de 8.6 horas. Por su parte, su fracción adsorbida a las partículas es removida del aire cuando éstas se precipitan con la lluvia y el polvo. Este compuesto es estable a la fotólisis directa en el ambiente. Su vida media en condiciones aerobias y anaerobias es de 2 y 3 días, respectivamente. Su metabolismo a pH ácido y neutro es menor. En los cuerpos de agua se espera que sea degradado por hidrólisis (particularmente a pH básico) y que se adsorba a los sólidos suspendidos y sedimentos. Su potencial de bioconcentración varía de moderado a alto.
Productos de la degradación	No se dispone de datos.	No se dispone de datos.
Bioacumulación	Se considera que el dianizon se adsorbe moderadamente en los sedimentos pero no se bioacumula en los organismos acuáticos. Se comprobó una pérdida del 50 por ciento aproximadamente del dianizon en plantas de arroz tratadas en un plazo de nueve días debido a la volatilización en el agua de los arrozales y a la transpiración de las hojas. El dianizon no es fitotóxico y viene rápidamente eliminado de las plantas.	Es extremadamente tóxico para crustáceos, insectos y zooplancton. En peces su toxicidad varía de alta a extremadamente alta. Varios episodios de mortandades de estos organismos se han registrado después de la aplicación de este plaguicida bajo condiciones recomendadas. En estudios de laboratorio con pollos expuestos oralmente a Profenofos se observaron efectos tóxicos agudos ligeros
Propiedades	El dianizon es un líquido incoloro. Es más estable en medios alcalinos que en medios con un pH neutro o ácido. Su semidesintegración es	Líquido de color amarillo pálido, con olor parecido al ajo. Su punto de ebullición es igual a 100 °C. Su

	de tres a cinco años como mínimo cuando se almacena en un lugar seco y a una temperatura mínima de almacenamiento.	densidad relativa es de 1.455 a 20 °C. Su solubilidad en agua es igual a 28 mg/L a 25 °C. Es muy soluble con la mayoría de los disolventes orgánicos. Su presión de vapor es igual a 9x10 ⁻⁷ mm Hg a 25 °C.
--	--	--

Fuente: Evaluación de la Contaminación del Suelo. Manual de Referencia.
Realizado por: FAO, 2000

1.4. Comportamiento de los pesticidas en el suelo

Los pesticidas llegan al suelo principalmente en la agricultura, cuando son aplicados en las distintas etapas del cultivo. El comportamiento de los pesticidas depende de muchos factores como características químicas y físicas tanto del suelo como del plaguicida, depende de las características ambientales como vientos y presencia de lluvias. Pero de manera general los pesticidas en el suelo pueden realizar procesos de degradación y transformación ya sea total o parcial, lo que da como resultado la formación de nuevos productos que pueden llegar a ser más móviles, persistentes y tan peligrosos como el contaminante inicial (ATSDR, 2005, pp. 1-16).

Las características del plaguicida y del suelo determinan su comportamiento, en función de la capacidad de volatilización, solubilidad. Determinan también la capacidad de absorción, movilidad, adsorción, escorrentías y lixiviados, transformación microbiana, transformaciones químicas y la degradación (Jenkins & Thomson, 1999, pp. 5-14).

1.5. Contaminación por pesticidas

Los pesticidas pueden afectar directa o indirectamente las propiedades del agua, del suelo y aire, dependiendo de uso y composición. La contaminación puede ser directa cuando es aplicado el plaguicida es directamente en la fase, mientras que si existe movilidad del plaguicida se denomina contaminación indirecta como por ejemplo, cuando el plaguicida se moviliza por el suelo llegando a contaminar aguas subterráneas o cuando existe volatilización contaminando el aire. (Andreu Sánchez, 2008, pp. 28).

La contaminación indirecta puede llegar a ser más peligrosa y menos controlable, ya que se necesita conocer a fondo las características del plaguicida y los ecosistemas en los que incidirá, son móviles, por lo que recorren largas distancias, es decir que tiene mayor alcance trayendo consigo la

desaparición de especies, alteración de la cadena trófica, afectación de la calidad del agua entre muchos otros problemas. (Barbera, 1989, p. 450).

Independientemente de las distancias que pueda o no recorrer el plaguicida se debe considerar también la evolución que este puede tener en el ambiente (Andreu Sánchez , 2008, p. 28). Sin embargo también se debe considerar el grado de persistencia de los pesticidas que van desde periodos de degradación muy cortos hasta periodos extensamente largos.

Una gran proporción de los pesticidas se deposita en el suelo y con la acción del agua se filtra y alcanza el fondo de ríos, lagos, mares y océanos, donde habitan organismos vivos (Arias Verdes et al, 1990, pp. 1-7). Los pesticidas presentan una compleja interacción con los componentes bióticos y abióticos; el impacto completo o parcial de los pesticidas sobre la población de una especie conduce a un desequilibrio de otras unidades del ecosistema que están en interacción. (Mulla & Mian , 1981, pp. 101-112).

La estabilidad del contaminante responde a diferentes circunstancias que dependen de la condición ambiental, por ejemplo dependiendo de la temperatura puede variar su movilidad, volatilidad, densidad, volver más resistente al contaminante o contribuir a su degradación. (Barbera, 1989, p. 450) Por ejemplo, el DDT tiene muy baja movilidad pero alta persistencia, por lo que no llega a contaminar aguas subterráneas pero tiene alto potencial para alcanzar la cadena alimentaria a través de la atmósfera o por migración en aguas superficiales. (ATSDR, 2002, pp. 1-9).

1.6. Pesticidas en el Ecuador

El Ministerio de Salud Pública del Ecuador lleva un registro sobre los casos de muerte e intoxicación por plaguicidas, pero no proporciona la información necesaria, ya que no se identifica que tipo de plaguicida. En Ecuador de acuerdo al boletín de acción Ecológica del año 2012 menciona que el Ecuador comercializa alrededor de 1800 nombres comerciales y 417 ingredientes activos de los cuales 113 son aceptados a nivel mundial en la agricultura, recibiendo ya amonestaciones. (PreNatal, 2012, p. 21).

Lamentablemente los agricultores en el país no conocen o conocen muy poco acerca de la dosis, formulaciones, frecuencias y uso de los plaguicidas, al igual que las medidas preventivas; el criterio que toman para seleccionar el plaguicida es por la del vendedor, vecinos y promotor del producto. (PreNatal, 2012, p. 21). En el Ecuador el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca es

el encargado de regular los agroquímicos respecto a su Formulación, Fabricación, Importación, Comercialización y empleo de plaguicidas.

Dentro de los objetivos del Plan Nacional del Buen Vivir se propone en cuanto a la soberanía alimentaria: "Fortalecer la aplicación de la normativa para la conservación, recuperación y protección de los recursos genéticos de la agrobiodiversidad y especies silvestres emparentadas, a fin de reducir la erosión genética y garantizar la soberanía alimentaria. Implementar protocolos que permitan prevenir y manejar los efectos adversos que pueda generar la biotecnología moderna en la salud humana, la soberanía alimentaria y la conservación y el uso de la biodiversidad. Fomentar la innovación y la sustentabilidad en el sector agropecuario, para garantizar la seguridad y soberanía alimentaria". (Senplades, 2013, p.234)

Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca del Ecuador posee una Unidad de Registro de Plaguicidas de uso Agrícola, que trabaja con base a algunas normativas nacionales, internacionales y normativas de la Comunidad Andina, cuyo objetivo es: "Garantizar su inocuidad, calidad y eficacia para la prevención y control de plagas a nivel de cultivos, obteniendo productos agrícolas inocuos para el consumo local y la exportación." (Agrocalidad, 2015), dentro de algunos de las normativas resoluciones, y leyes en las que se basan podemos mencionar el siguiente listado:

- Base de datos de registro de productos plaguicidas AGROCALIDAD.
- Plaguicidas y productos afines registrados en AGROCALIDAD.
- Listado de Moléculas de Plaguicidas de uso Agrícola para control de Calidad de la Formulación durante el año 2016.
- Norma Andina para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola. Resolución 630 de la CAN.
- Texto Unificado de legislación secundaria del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Acuerdo Ministerial 120 – Decreto Ejecutivo 3609
- Texto Unificado de Legislación Secundaria, Reglamento de plaguicidas y productos afines de uso agrícola.
- Ley de Comercialización y Empleo de Plaguicidas.

De acuerdo a la noticia "74% de un plaguicida contamina el ambiente" publicada en el periódico El Diario, el 19 de Mayo de 2013, señala de acuerdo a Julio Mero, catedrático de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí (UTM) que en cuanto la aplicación de

los plaguicidas el “30 % se queda en el suelo; el 1% afecta al organismo; 44 % va a la atmósfera y sistemas acuáticos, y el 25 % es retenido en el follaje, provocando contaminación.” Y también menciona que “hay agricultores que aplican plaguicidas que deben colocarse cada 15 días, pero lo hacen cada dos días. Y así hay saturación en un producto, por ejemplo el tomate, que recibe 35 aplicaciones.” (El Diario Manabita, 2013).

1.7. Biorremediación

Se denomina biorremediación al proceso que tiene como objetivo reparar un problema referente a la contaminación ambiental mediante metodologías y herramientas amigables con él, es decir evitando en lo posible problemas secundarios que resulta ser contaminaciones indirectas; y recurrir al uso de materiales y procesos ambientales con el fin de respetar el ritmo y proceso natural. Como por ejemplo utilizar los procesos metabólicos de microorganismos para degradar algún contaminante en su totalidad o convertirle en compuestos más simples y/o estables y menos contaminantes u otros sistemas vivos como hongos o plantas teniendo un campo de aplicación variado (EPA USA, 1996, pp. 1-4).

1.7.1. La Bioestimulación como técnica de Biorremediación

La bioestimulación consiste en el suministro de nutrientes, oxígeno, aceptores y dadores de electrones al medio contaminado con el fin de estimular la actividad de los microorganismos autóctonos para mejorar el proceso de biodegradación (Deuren, Marks, Wujcik, & Loncar, 1994, p. 134).

Añadir dichos nutrientes y favorecer el suministro de oxígeno acelera el proceso de biodegradación, se ha demostrado que en la mayoría de casos el factor limitante de los procesos de biodegradación es el agotamiento de aceptores de electrones más que el agotamiento de nutrientes como nitrógeno y fósforo. Entre los aceptores de electrones finales que se adicionan comúnmente al medio, se encuentran el oxígeno. (Deuren, Marks, Wujcik, & Loncar, 1994, p. 136).

Esta técnica ha sido utilizada para suelos contaminados con gasolina, COV, COS y pesticidas y ha dado resultados exitosos (Deuren, Marks, Wujcik, & Loncar, 1994, p. 136). Es una técnica económica, pero que puede llegar a tardar varios años dependiendo de la concentración y otros factores. También se debe tomar en cuenta algunas limitaciones que impide la efectividad de tecnología: suelos muy heterogéneos, estratificados o arcillosos ya que no se puede transferir el oxígeno, o suelos que no

beneficien el crecimiento microbiano y donde exista mucha movilidad de los contaminantes. (Ñustez, 2012, p. 31).

1.7.1.1. Factores que condicionan el proceso de Bioestimulación

Los principales factores que se considera en el proceso de bioestimulación son la relación de los nutrientes y condiciones óptimas de temperatura, humedad y pH.

Nutrientes

Dentro de los nutrientes que son necesarios para el desarrollo de todas las actividades de los seres vivos tenemos a los Macronutrientes y Micronutrientes, presentándose elementos específicos en cada uno de ellos, mismos que cumplen funciones concretas.

Las funciones de los Macronutrientes en el proceso de biodegradación son las siguientes:

- Nitrógeno: es útil porque es el encargado de la producción de varios constituyentes celulares como aminoácidos, proteínas, enzimas, ácidos nucleicos entre otros. Una de las fuentes que se puede utilizar para obtener el nitrógeno es la urea generalmente con un contenido del 46% de nitrógeno, también es usado el sulfato de amonio y el estiércol como fuente orgánica (Gómez y Romero, et. al., 2008, pp. 76-84). Al ser consumido rápidamente no cubre las necesidades de los microorganismos, siendo un nutriente limitante y por lo tanto recurriendo a fertilizantes de uso agrícola (McDougald , Scott A , Dieter , & Staffan, 1998, pp. 1-9).
- En cuanto al fósforo este participa principalmente en la formación de compuestos energéticos y también permite la síntesis de fosfolípidos y ácidos nucleicos en los procesos de reproducción y degradación (Gómez Romero et al, 2008, pp. 76-84).
- En algunos casos también se puede incluir al potasio ya que cumple la función de catalizar las reacciones bacterianas y otros procesos químicos que ayudan a conservar el agua en las células (Ríos, 2005, p. 80).
- Conjuntamente a los compuestos citados es imprescindible también agregar agentes de volumen como fuente directa de carbono entre los que tenemos aserrín, cascarilla de arroz,

trigo entre otros. El carbono es el elemento que estará constantemente en degradación y síntesis (RoblesGonzález et al, 2006, p. 1951) y proporciona energía necesaria que necesitan los microorganismos para generar productos metabólicos y llevar a cabo el proceso de degradación (McDougald , Scott A , Dieter , & Staffan, 1998, pp. 1-9).

Por otro lado los micronutrientes, elementos minoritarios como: hierro, cobre, zinc, azufre, manganeso, calcio, magnesio cobalto que generalmente ya están presentes en los suelos en cantidades suficientes por lo que no suele ser necesario agregar en el proceso de bioestimulación y en otros procesos que constituyen a la biorremediación (Vallejo, V., et al., 2005, Gómez, S., et al., 2008).

Temperatura

Los rangos de temperatura adecuada para el proceso de bioestimulación para la degradación de pesticidas generalmente varían desde 18 a 30°C. Hay que tomar en cuenta que el rango de temperaturas depende de las características del lugar, la temperatura también influye en el comportamiento del contaminante, ya que puede alterar su volatilidad, solubilidad, movilidad entre otros. Es importante tener un control de la temperatura porque influye en el metabolismo de los microorganismos y en la tasa de biodegradación, las tasas de degradación generalmente aumentan cuando la temperatura incrementa. (Ñustez, 2012, p. 31).

Humedad

La humedad debe alcanzar un rango óptimo de 30 al 60 %, si la humedad esta fuera de estos rangos, la actividad de los microorganismos puede verse afectada. La humedad interviene en el transporte de nutrientes y oxígeno. Un exceso de humedad puede reducir el presencia de oxígeno, en tanto que la escases de humedad afecta a la movilidad de nutrientes y gases. (Ñustez, 2012, p. 31).

pH

Presentan una influencia directa con la actividad metabólica de los microorganismos, así tenemos que para hongos el pH óptimo es de 5-8, mientras que las bacterias toleran un pH de 6 a 7,5. En pH extremos la biodegradación se hace lenta. Afectado también al contaminante en su solubilidad, movilidad, disponibilidad y sus formas. (Ñustez, 2012, p. 32)

Oxígeno

Existe bioestimulación aerobia y anaerobia, en la primera es primordial la presencia del oxígeno para que pueda ocurrir el metabolismo de los microorganismos; en la segunda es necesaria la ausencia de oxígeno para que ocurran los procesos metabólicos de los microorganismos anaeróbicos.

Aceptores de electrones

La transferencia de electrones es un proceso metabólico fundamental para aumentar el crecimiento y actividad de los microorganismos, ya que gracias a ella obtendrá la energía necesaria durante el proceso (Hamdia, Benzarti, Manusadzianas , Aoyama, & Jedidi, 2007, p. 1926). Las enzimas microbianas catalizan la transferencia de electrones durante el proceso de oxidación de materiales reducidos. El oxígeno, propicia las condiciones aerobias y los microorganismos transforman al contaminante en dióxido de carbono, agua y masa celular. Los nitratos son también aceptores más utilizados por los microorganismos. En cuanto a las condiciones anaerobias o reductoras, se utiliza al dióxido de carbono y a los sulfatos (Gómez Romero et al, 2008, p. 77).

1.7.1.2. Relación de los nutrientes C/N/P

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los puntos claves en la bioestimulación es el suministro de nutrientes y lo que diferencia a la bioestimulación de otras técnicas es que se tiene un control de la cantidad de nutrientes que se suministre, es decir existe un ajuste de las variables fisicoquímicas y generalmente son los macronutrientes nitrógeno y fosforo los que se corrige. En general se acepta que las bacterias del suelo necesitan una proporción de C/N/P de 30:5:1 para un crecimiento balanceado (Paul & Clark, 1996, p. 65). Pero también la relación de CNP 100:10:1 para un óptimo metabolismo microbiano de acuerdo a la U.S. Environmental Protection Agency, (EPA, 1995) (Dias, 2011, p. 26). Es la proporción recomendada y más utilizada de aplicación de nutrientes en los procesos de bioestimulación. Es muy importante evaluar otras relaciones de nutrientes ya que las condiciones del medio contaminado, el tipo de contaminante, los microorganismos autóctonos y todo el ecosistema involucrado son totalmente diferentes, y merece su oportuno estudio. (Bartha & Wang, 1989, p. 501).

La relación de nutrientes 10:1:1 es la que generalmente se usa, pero puede variar de acuerdo a muchos factores que se presente en la investigación, dependiendo del caso de contaminación, los tipos de microorganismos, las características del ecosistema y las épocas del año; por ello previo a establecer la relación se debe conocer el equilibrio nutricional adecuado a ese medio. (Bartha & Wang, 1989, p. 501).

Numerosos estudios han propuesto otras relaciones de C/N/P como son: 100:15:1, 100:10:1, 100:20:1, 120:10:1, 100:5:1, 100:10:0,1, 20:5:1, etc. Se puede observar que lo que más varía es la proporción de nitrógeno manteniéndose constante la proporción C/P. (Gacia, Roldán, & Garzón , 2011, p. 195)

Debe tenerse en cuenta que aunque la adición de nutrientes es beneficiosa para estimular los procesos de degradación, existen casos en donde se ha descrito un efecto inhibitorio como consecuencia de la adición de un exceso de nutrientes orgánicos (Morgan & Watkinson, , 1992, p. 73).

Un correcto balance de nutrientes, provee la fuente necesaria de alimento y energía para la actividad microbiana a más que genera el calor necesario contribuyendo a las condiciones óptimas.

1.7.2. *Bocashi como técnica de Biorremediación*

El Bocashi es considerado como un abono orgánico de alta eficiencia, mismo que fue inicialmente elaborado por los japoneses ya hace tiempos antiguos, este término significa materia orgánica fermentada (Ramos y Terry, 2014: pp.52-59), esta fermentación se debe a las actividades metabólicas que tienen lugar en los microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, mismos que transforman la materia orgánica tanto animal como vegetal a elementos más simples y de fácil asimilación para las plantas (Escobar, 2014: p.42).

El bocashi al ser un abono orgánico de alta eficiencia mejora la estructura del suelo, eleva la proporción de microorganismos existentes y también incorpora nutrientes esenciales como carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, calcio, entre otros , mismos influyen en el crecimiento de cultivos y en el aumento de la población microbiana (Ramos et al., 2014: pp.90-97). Este tipo de abono orgánico posee varias ventajas obviando las de mejoramiento de estructura física y química del suelo; entre las más destacadas tenemos su fácil almacenamiento y transporte, su no producción de gas tóxico y malos olores, rápida obtención, control de patógenos en el proceso de fermentado,

menor costo de producción e inmediata aplicación en suelo después de su elaboración (Gómez y Vásquez, 2011: p.9).

Para la elaboración del Bocashi se debe tomar en cuenta los materiales que se van a utilizar ya que poseen diferentes funciones, propiedades y elementos que aportarán a que el bocashi resultante sea de una mejor calidad. Dentro de los materiales que son más utilizados debido a su eficacia podemos encontrar al carbón vegetal, estiércol vacuno o gallinaza, cascarilla de arroz o aserrín, melaza de caña y levadura (FAO, 2011: p.4).

El carbón vegetal ayuda con la oxigenación del abono y por lo tanto ayuda en el proceso de fermentación producida por los microorganismos aeróbicos; el estiércol vacuno o gallinaza posee una rica fuente de nitrógeno, así también puede funcionar como una fuente de microorganismos que ayuden a degradar la materia orgánica; la cascarilla de arroz o el aserrín ayuda en el mejoramiento de las características físicas del abono así como también proporciona fuente de carbono; la melaza de caña sirve como fuente principal de energía para los microorganismos y por último la levadura es muy utilizada como fuente inoculante de microorganismos que ayuden a degradar rápidamente la materia orgánica (FAO, 2011: p. 4).

El proceso de elaboración de bocashi se basa en la conformación de varias fases con diferentes materiales, obtenida una pila se agrega un inóculo compuesto por melaza, levadura y agua; posteriormente es mezclado y volteado, llegando a formarse una pila con una altura no mayor a 50 cm y de 1,50 cm de ancho, donde la altura irá disminuyendo durante el proceso hasta llegar a 20 cm (FAO, 2011: p. 4).

1.7.2.1. Etapas del proceso del Bocashi

Fermentación

La fermentación es la primera etapa para la formación de bocashi, el proceso se basa en el aumento de la temperatura esto debido a la actividad de los microorganismos existentes en la pila a descomponerse.

Dentro de esta etapa las temperaturas pueden llegar hasta los 70-75°C debido a que los microorganismos mesófilos realizan sus actividades metabólicas; para la obtención de un bocashi de

calidad la temperatura óptima no puede superar los 45°C, por lo que es necesario airear la pila para que llegue a temperaturas deseada. La temperatura comienza a disminuir al pasar los días debido a que los microorganismos van agotando su fuente de energía por lo que entran en latencia o desaparecen debido a la falta de nutrientes (Mosquera, 2010: p.7).

Estabilización

Esta fase se caracteriza por presentar una temperatura interna de la pila igual a la temperatura ambiente, los microorganismos presentes durante todo el proceso entran en periodo de latencia debido a la escases de nutrientes, se puede lograr observar materiales de difícil descomposición ya que necesitan un mayor tiempo para su degradación, las concentraciones de los nutrientes en esta etapa son mayores a las iniciales debido a la agregación de materia orgánica con diferentes características (Mosquera, 2010: p.7).

1.7.2.2. *Parámetros Control*

Aireación

El oxígeno al ser uno de los elementos más abundantes de la tierra, cumple un papel importante en toda actividad que realizan los organismos vivos; es por ello que tener un control en la aireación dentro del proceso de bocashi es clave para que este resulte de buena calidad.

Se debe tomar en cuenta ciertos aspectos como son volteos periódicamente, tamaño de partículas, humedad apropiada y materiales con poros para una adecuada oxigenación. La concentración de oxígeno dentro de la pila que es considerada eficiente se encuentra entre el 6 y el 10% (Picado y Añasco, 2005, p.24).

Humedad

El agua al ser el compuesto que se encuentra en mayor proporción en la tierra y al estar presente en todo ser vivo es importante tomarlo en cuenta dentro de la formación del bocashi ya que este se basa en la actividad degradadora de los microorganismos mismos que necesitan agua para realizar sus actividades metabólicas de forma correcta, el rango óptimo de humedad es de 50-60 % en peso de la mezcla (Mosquera, 2010: p.7).

Cuando existe una baja en la humedad es decir menor a 35% se detiene o disminuye la descomposición y por lo contrario si la humedad es superior a 60% los poros por donde ingresa el aire se acumulan de agua provocando un proceso anaeróbico mismo que dará como resultado la putrefacción del bocashi y el desprendimiento de malos olores (Picado y Añasco, 2005, p.24).

Existen varios métodos para determinar la cantidad de humedad presente en el suelo y en nuestro caso del bocashi, dentro de estos tenemos la prueba del puño en donde si existe un exceso de humedad el agua escurre, si es baja se desase el montículo de tierra atrapado por el puño y si la humedad es adecuada su forma se mantiene al ser soltado (Soto, 2002, p.9).

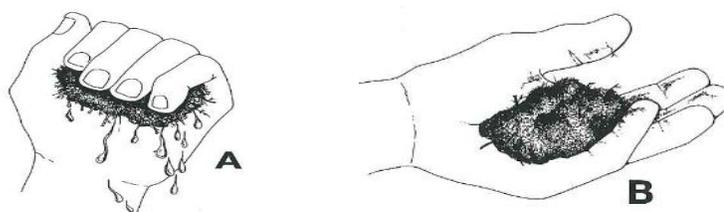


Figura 1-1: Prueba de puño para determinar la humedad correcta del bocashi
Fuente: (Soto, 2005, p.9).

Otro método muy utilizado por su fácil aplicación y su bajo costo es el termogravimétrico o termovolumétrico que es realizado a 105°C por 24 horas (Florentino, 2011, p.50).

pH

El potencial de hidrógeno es importante en la formación de un bocashi de calidad, el rango adecuado en el cual se debe dar la fermentación va de 6-8 (Escobar, 2014, p.51). Inicialmente el pH es ácido, posterior al proceso este se estabiliza en el rango mencionado (FAO, 2011: p. 4).

Temperatura

Es un parámetro de alto control ya que este determina si el bocashi está en condiciones óptimas o se quemó, la temperatura debe ser controlada todos los días desde su elaboración ya que tiende a elevarse a más de 80°C, por lo que debe voltearse la pila 2 veces al día para disminuir su temperatura (Restrepo, 1996, p.11-12).

Es recomendable que la temperatura al segundo día de su fabricación no supere los 45°C ya que puede ocasionar que el bocashi se quemé y resulte de mala calidad, una buena técnica para que la temperatura durante el proceso de fermentación sea la adecuada en cada etapa es disminuir la altura de la pila a partir del tercer día hasta llegar a los 20cm. La temperatura de la pila poco a poco se va estabilizando hasta que sea igual a la del ambiente, esto suele suceder a los 12 o 15 días de iniciado el proceso de fermentación (Restrepo, 1996, p.11-12).

Relación C/N

En bocashi a diferencia del proceso de bioestimulación solo se considerara la relación C/N, debido a que es un parámetro que ayuda en el desarrollo adecuado de los microorganismos, llegando así a acelerar el proceso y obteniendo un producto de alta calidad (Picado y Añasco, 2005, p.24).

La relación C/N ideal para que la fermentación sea eficaz va de 25:1 a 35:1, donde si supera su valor el proceso se vuelve lento y por lo contrario si es menor al valor óptimo el Nitrógeno se volatiliza por la ausencia de materia que posea la capacidad de retención de este elemento (Soto, 2002, p.9).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO Y EXPERIMENTAL

La investigación realizada fue de tipo aplicada a la biorremediación de suelos, prospectiva, tanto de laboratorio como de campo, y bibliográfica.

2.1. Determinación de los pesticidas con mayor aplicación en la zona de Gatazo Zambrano mediante la realización de encuestas.

Los agricultores de Gatazo Zambrano se dividen en: la Corporación de Agricultores y la Comunidad. Esta última cuenta con pequeños productores agrícolas, quienes proporcionaron la información necesaria para realizar las encuestas.

Para poder determinar el número de muestras se aplicó la siguiente ecuación:

- Población de habitantes: 252 habitantes

Ecuación 1-1:

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q \times N}{NE^2 + Z^2 \times p \times q}$$

$$n = 150$$

Dónde:

n: Número de Muestras

N: Población

Z: Nivel de Confianza

P: Probabilidad de ocurrencia

Q: Probabilidad de no ocurrencia

E: Error en la investigación

2.2. Caracterización físico-química y microbiológica del suelo.

Para identificar cuáles son las características que presentan los tratamientos durante el proceso se realizó un análisis tanto físico-químico como microbiológico.

Tabla 4-2: Métodos de Análisis para cada parámetro

Parámetro	Método	Laboratorio
FÍSICO-QUÍMICO Materia Orgánica Nitrógeno Total Potasio Total Fósforo Total Densidad Real Densidad Aparente Textura Estructura	Standard Method APHA 4500.N.C Determination gravimétrica	Laboratorio de Suelos ESPOCH
MICROBIOLÓGICO Bacterias y Hongos	Recuento Heterótrofo en Placa	Laboratorio de Fitopatología ESPOCH
PESTICIDAS Curacron y Diazol	MAL-81/EPA 8270 D MODIFICADO	Laboratorio de Química Ambiental OSP

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

2.2.1. Caracterización inicial de suelo

El presente estudio se realizó en la Comunidad de Gatazo Zambrano, ubicada en la provincia de Chimborazo, Cantón Colta, parroquia Villa la Unión, Longitud: 750246,5231 y Latitud: 9815245,144 , a una altitud de 3146 m. El espacio destinado para los tratamientos se ubica dentro del área de uno de los terrenos agrícolas de la comunidad de Gatazo Zambrano. Dicho suelo ha sido continuamente trabajado y sometido a pesticidas y fertilizantes, siendo la última siembra de brócoli.

2.2.1.1. Muestreo

Para comenzar con el estudio se inició con la toma de muestras de suelo de uno de los solares (1000 m²), facilitado por la comunidad de Gatazo Zambrano. El muestreo fue de forma aleatoria simple a 30 cm de profundidad mediante el uso de un barreno, recogiendo 20 muestras en zigzag y reuniendo aproximadamente 5kg para los análisis Físicoquímicos, Microbiológicos y de Pesticidas.

2.2.2. *Análisis Físico-químico*

Dentro de los parámetros que se tomaron en cuenta para el análisis físico-químico tanto al inicio como al final del proceso fueron: pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, humedad. Así también dentro del análisis inicial se tomó en cuenta la densidad aparente, densidad real, textura y estructura.

2.2.3. *Análisis microbiológico*

En el análisis microbiológico se determinó las poblaciones de bacterias y de hongos, identificando los géneros de estos últimos; tanto al inicio como al final del proceso. Se realizó un análisis microbiológico intermedio a los 25 días para el tratamiento B ya que se basa este en la bioestimulación de los microorganismos autóctonos, por lo que fue necesario el conteo de estos para determinar si el proceso que se estaba llevando a cabo era el adecuado y la población microbiana había aumentado.

2.2.4. *Análisis de Pesticidas*

En el análisis de pesticidas se determinó la concentración de organofosforados al inicio, intermedio (25 días) y al final del proceso.

2.3. *Elaboración de las biopilas y aplicación de su respectivo tratamiento.*

La muestra patrón se dispuso en tres pilas para cada tratamiento. Los tratamientos considerados son bioestimulación y bocashi. En ambos casos se llevó su respectivo control de variables (Temperatura, Humedad y pH) durante un período de 50 días.

2.3.1. *Preparación de las muestras*

Con la finalidad de tener concentraciones de contaminantes conocidos en las muestras de estudio, se procedió a aplicar directamente pesticidas de manera controlada para evitar problemas a futuro en la investigación, tener un punto de partida definido y que puedan ser detectados en los ensayos de laboratorio, considerando que las metodologías actuales y disponibles en el país detectan valores mayores a 0,03 mg/kg.

Los pesticidas a emplearse fueron curacron (Profenofos) y diazol (Dianizon). Se colocó en 180 kg de suelo previamente impermeabilizado con geomembrana, una mezcla de 45 ml de curacron y 135 ml diazol diluidos en 7 Litros de agua bajo medidas de seguridad adecuadas, posteriormente se homogenizó en todo el suelo asegurando una mezcla eficaz mediante el uso del azadón. Posteriormente se realizaron análisis Físico-Químico, Microbiológico y de pesticidas. Para resumir el proceso anteriormente descrito se tiene:

Tabla 5-2: Metodología para la preparación de la muestra patrón

TIPO DE MUESTRA	COMPONENTE AGREGADO	CONCENTRACIÓN DEL COMPONENTE	PROCESO APLICATIVO
Muestra Patrón	Curacron	45 ml	Homogenizar
	Diazol	135 ml	

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

2.3.2. *Diseño Experimental*

La investigación siguió un Diseño cuasi experimental; completamente aleatorio (D.C.A) en donde la unidad experimental eran los pesticidas organofosforados, y la variable respuesta es la Concentración de pesticidas. El diseño experimental que se empleó fue:

GE1	O1	X1	O3	X1	O5
GE2	O2	X2	O4	X2	O6

Dónde:

GE: Grupo Experimental

O: Observación

X1: Tratamiento A (Bocashi)

X2: Tratamiento B (Bioestimulación)

Se realizaron tres repeticiones por grupo experimental, por lo que el tamaño muestral entre los dos grupos fue de seis unidades experimentales.

2.3.3. *Tratamiento A (Bocashi)*

Para el tratamiento de bocashi se formaron tres pilas (A1, A2, A3) las cuales estaba conformados por estiércol, ceniza, la muestra de suelo, materia orgánica, aserrín, melaza y levadura como inóculo activador, en este orden, y las cantidades se basaron en función del cumplimiento de la relación C/N de 28:1, y fueron las siguientes:

Tabla 6-2: Elementos que componen una pila de Bocashi

Componente	Cantidad
Muestra de suelo patrón (kg)	20
Estiércol (kg)	6
Ceniza (kg)	5
Aserrín (kg)	2
M. orgánica (kg)	7
Melaza (L)	0,6
Levadura (g)	40
Total	40 kg

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En el orden antes indicado de sus componentes y con una altura menor de 60 cm, y dimensiones de 1,50x1 m, se establecieron las 3 pilas objetos de análisis para este tratamiento.

2.3.4. *Tratamiento B (Bioestimulación)*

Para el tratamiento de bioestimulación se formaron tres pilas (B1, B2, B3), cada una con 40kg de muestra de suelo patrón considerando que el suelo tiene microorganismos adaptados a la aplicación de estos pesticidas; a la al cual se añadieron los nutrientes específicos para llegar a una relación C/N/P/K de 100/10/1/1.

Fuente de los nutrientes C/N/P:

- Se utilizó el aserrín como fuente de carbón, considerando su composición de carbono de 50 %
- Como fuente de nitrógeno se utilizó a la úrea, con una composición de 46 % de N
- La roca fosfórica se utilizó como fuente de fósforo con una concentración del 42 % de P

2.3.5. *Monitoreo de Variables Control*

Tratamiento A

Las variables que se monitorearon dentro de este proceso fueron la aireación, temperatura y humedad; en donde se tomaron 36 días control durante un periodo de 50 días.

Se llevó acabo dos volteos por día durante los primeros días del tratamiento hasta que la temperatura llegue a estabilizarse. Una vez mantenida estable la temperatura, el volteo se lo realizó una sola vez pasando un día. Antes de realizar los volteos, se controló la temperatura mediante un termómetro de mercurio, la humedad mediante la prueba del puño y pH con la utilización de tiras.

La prueba del puño sigue los siguientes criterios:

- Si al tomar la muestra y apretar ligeramente escurre agua significa que la humedad es elevada.
- Si al tomar la muestra y apretar ligeramente el suelo se deshace la humedad es baja
- Finalmente si al apretar ligeramente la muestra es consistente, no escurre ni se deshace significa que está con una humedad aceptable.

Tratamiento B

Los parámetros que se monitorearon dentro del tratamiento B fueron aireación, humedad, temperatura y pH. Estos parámetros se monitorearon una vez por semana durante 7 semanas, la humedad se realizó mediante el método de diferencia de pesos, la temperatura mediante un termómetro de mercurio y pH mediante la utilización de tiras, los volteos se realizaron pasando un día.

2.4. *Determinación de la eficiencia de remoción de pesticidas en las biopilas.*

Obtenidos los resultados de las etapas anteriores, se realizó el cálculo de la tasa de degradación de pesticidas y un análisis estadístico para conocer la eficiencia de cada tratamiento.

2.4.1. *Cálculo de la tasa de degradación de pesticidas*

La tasa de degradación de pesticidas nos ayudó a determinar la concentración en porcentaje de pesticidas, en un tiempo determinado.

El porcentaje de degradación se obtuvo aplicando la siguiente formula:

Ecuación 2-2:

$$\% \text{Degradación} = \frac{(\text{Concentración inicial} - \text{Concentración final})}{(\text{Concentración inicial})} * 100$$

Para determinar la tasa de degradación diaria se aplicó la siguiente ecuación:

Ecuación 3-2:

$$\text{Tasa degradación diaria} = \frac{\% \text{ de degradación}}{(\text{Tiempo Final} - \text{Tiempo inicial})}$$

2.4.2. *Análisis Estadístico*

Se realizó una comparación de medias mediante T-student, utilizando los resultados de porcentaje de degradación de pesticidas (Curacron y Diazol), para ello se recurrió al programa IBM SPSS Statistics.

Hipótesis

$$\mathbf{H_0:} \mu_1 = \mu_2$$

$$\mathbf{H_1:} \mu_1 \neq \mu_2 > 0$$

Dónde:

μ_1 = Tratamiento A

μ_2 = Tratamiento B

2.5. Optimización del tratamiento más eficiente.

En función de los resultados obtenidos en el análisis estadístico se escogió como técnica más óptima el proceso de bioestimulación, estos resultados se podrán evidenciar ampliamente en el próximo capítulo.

2.5.1. Enriquecimiento del suelo

Se tomó 40 kg de suelo donde se añadieron los mismos pesticidas empleados en la primera etapa y justificados por las razones citadas en esta.

Se colocó en 40 kg de suelo previamente impermeabilizado con geomembrana, una mezcla de 10 ml de curacron y 25 ml diazol diluidos en 7 Litros de agua, bajo medidas de seguridad adecuadas se homogenizó todo el suelo asegurando una mezcla eficaz mediante el uso del azadón, para posteriormente realizar los respectivos análisis físico-químico, microbiológico y de pesticidas.

Para resumir el proceso anteriormente descrito se tiene:

Tabla 7-2: Metodología para la preparación de la muestra patrón

TIPO DE MUESTRA	COMPONENTE AGREGADO	CONCENTRACION DEL COMPONENTE	PROCESO APLICATIVO
Muestra Patrón	Curacron	10 ml	Homogenizar
	Diazol	25 ml	

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

2.5.2. Diseño Experimental

La investigación siguió un Diseño cuasi experimental y completamente aleatorio (D.C.A) en donde la unidad experimental eran los pesticidas organofosforados, y la variable respuesta es la Concentración de pesticidas. A continuación se indica el diseño experimental que se empleó:

GC	O1	O4	O5
GE1	O2	X1	O6
GE2	O3	X2	O7

Dónde:

GC: Grupo Control

GE: Grupo Experimental

O: Observación

X1: Tratamiento X (Mayor Concentración de N)

X2: Tratamiento Y (Menor Concentración de N)

Se realizaron dos repeticiones por grupo control y experimental, en donde el tamaño muestral total fue seis unidades experimentales.

2.5.3. *Formación de las biopilas*

Para la formación de las biopilas primero se estableció al Nitrógeno como una variable de prueba, para determinar si su concentración es o no, un determinante en el proceso de biorremediación de pesticidas.

Para el efecto se plantearon nuevas interrogantes:

1. Si existe una concentración menor de Nitrógeno en la biopila, los microorganismos recurren al pesticida como fuente de nutrientes y energía o bien se detiene su desarrollo y metabolismo.
2. Si la concentración de nitrógeno es mayor, puede este ser un aporte para que los microorganismos biodegraden más rápidamente los pesticidas o resulta inhibitoria para el metabolismo de los microorganismos.

Es así que se estableció dos repeticiones para cada variable:

- Al grupo control O₁ y O₂ se analizó la atenuación natural.
- A las pilas X₁ y X₂ se estableció una relación de C/N/P de 100/20/1.
- Para las pilas Y₁ y Y₂ se estableció una relación de C/N/P de 100/1/1.

Adicional a la agregación de nitrógeno con urea, también fue necesario añadir carbono y fósforo en las mismas condiciones que en la primera etapa.

Se realizó un control en todas las pilas de pH, temperatura y humedad dos veces a la semana; se realizó el volteo pasando un día de las pilas para permitir una buena aireación y al inicio y al final del proceso se realizaron análisis físico-químicos, microbiológicos y de pesticidas.

2.5.4. *Análisis Estadístico*

Se realizó un análisis estadístico con el programa IBM SPSS Statistics, donde se realizó ANOVA de 1 Factor, para determinar si existen diferencias entre el grupo control y los grupos experimentales, la Prueba de Tukey fue usada para determinar si existen diferencias entre los grupos experimentales.

Hipótesis

$$\mathbf{H_0: } \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$\mathbf{H_1: } \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 > 0$$

Dónde:

μ_1 = Grupo Control

μ_2 = Grupo Experimental 1

μ_3 = Grupo Experimental 2

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados

3.1.1. *Determinación de los pesticidas con mayor aplicación en la zona de Gatazo Zambrano mediante la realización de encuestas.*

Según las encuestas realizadas a los 150 comuneros (Ver Anexo 2), 149 encuestados emplean pesticidas de origen químico ya que en su criterio es la única forma de prevenir y eliminar las plagas de los cultivos; mientras que tan solo 1 encuestado emplea productos orgánicos para la eliminación de plagas.

Dentro de los pesticidas con mayor aplicación en los sembríos son: Decis, Diazol, Lancha, Curacron, Detan, Patron, Skipper, Korso, Rhodax, Rebolt, Afalon, Linurex, Glifosfato, Galigan, entre otros. En donde 132 agricultores utilizan Curacron y Diazol para eliminar plagas de pulgón y otros insectos que afecten a las plantaciones; cada uno de los pesticidas es utilizado dependiendo del tipo de planta sembrada, época, plagas y otros factores que se presenten en el momento.

La aplicación y cantidad de los pesticidas no se basa en un criterio técnico, la población aplica estos productos al observar la presencia de plagas, así también dependiendo de su economía y de la temporada en la que se encuentran. Se emplean en época de invierno cada 8 días y en época seca cada 15 días. La cantidad de pesticidas que es aplicado en un solar por cada habitante es diferente, siendo lo más común de 50- 100 L, pero llegando a veces a ser aplicado 200 L por solar; debido al no cumplimiento que las recomendaciones técnicas proporcionan.

La mayoría de los agricultores están conscientes de que el uso excesivo de pesticidas perjudica la calidad del suelo, pero debido a su economía y a que es su única fuente de ingresos no le dan la debida importancia e ignoran la información que poseen.

3.1.2. Caracterización físico-química y microbiológica del suelo.

3.1.2.1. Análisis físico-químicos

Tabla 8-3: Caracterización físico-química inicial de la muestra de suelo estudiada de Gatazo Zambrano

Parámetro	Resultado
pH	7,6
Material Orgánica	1,5 %
N	0,84 %
P	1,62 %
K	0,10 %
Densidad Aparente	1,3
Densidad Real	2,5
Textura	Franco Arenoso
Estructura	Suelta
Humedad	10,7 %

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados e interpretación del análisis físico-químico de suelos en el departamento de suelos en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

Dentro de los análisis que se muestran en la Tabla 8-3 pudimos observar que la cantidad de materia orgánica en el suelo por lo que en los tratamientos se agregó aserrín, la humedad se encontraba baja con un 10,7 % agregándose mayor cantidad de agua para que se eleve su valor, el pH se encontró entre 6-8 para los tratamientos A y B, la textura del suelo al ser tipo franco arenoso provoca que exista una mayor acumulación de los compuestos ya sean o no contaminantes.

Tabla 9-3: Caracterización físico-química final de los dos tratamientos (A y B)

Parámetro	Tratamiento A (Bocashi)			Tratamiento B (Bioestimulación)		
	1	2	3	1	2	3
pH	8	8	8	8	8	8
Material Orgánica (%)	3,2	3,6	2,2	1,7	1,3	1,8
N (%)	0,25	0,27	0,34	0,25	0,20	0,13
P (%)	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	1,8
K (%)	0,81	0,51	0,55	0,13	0,16	0,17
Humedad (%)	34	26,4	27,3	48,7	42,3	43,6

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados e interpretación del análisis físico-químico de suelos en el departamento de suelos en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH y datos recolectados por el investigador.

En la Tabla 9-3 que muestran los resultados físico-químicos finales realizados a las seis pilas, se pudo observar que el valor de pH en comparación a su valor inicial sufrió un aumento, no obstante se encontraba dentro del rango óptimo. La cantidad de materia orgánica mejoró en los dos tratamientos debido a la agregación de los diferentes componentes que poseían en su estructura carbono (FAO, 2011: p. 4). El porcentaje de nitrógeno disminuyó presumiblemente debido a la actividad que realizaban los microorganismos presentes (Gómez y Romero, et. al., 2008, pp. 76-84). La humedad de las seis pilas al final del proceso se encontró dentro del rango óptimo (30-60%).

3.1.2.2. Análisis microbiológico

Tabla 10-3: Caracterización microbiológica inicial de la muestra de suelo estudiada de Gatazo Zambrano

Bacterias	Hongos	
3,1X10 ⁵ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp.</i>	3,0X10 ⁴ upc/g de suelo
	<i>Rhizoctonia sp</i>	7,0X10 ⁴ upc/g de suelo

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados del análisis microbiológico de suelos en el departamento de fitopatología en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

Los niveles poblacionales de las bacterias fueron altos, así también se encontraron dos diferentes tipos de hongos mismos que son saprófitos y que son habituales en materia en descomposición.

La Tabla 11-3 nos muestra la población microbiana que se encontró en las tres pilas del tratamiento B, la población de bacterias se encontraba en niveles altos en comparación con los análisis iniciales, en cuanto a los hongos apareció otra especie: *Penicillium sp* encontrándose en las tres pilas, se mantuvo la presencia del *Rhizopus sp* en las tres pilas y en la pila B3 se encontró *Alternaria sp*, todos estos hongos son saprófitos y se encuentran en niveles poblacionales altos.

Tabla 11-3: Análisis microbiológico intermedio (Día 25) del Tratamiento B

B1		
Bacterias	Hongos	
2,8X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp</i>	1,1X10 ⁴ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	1,1X10 ⁶ upc/g de suelo
B2		
Bacterias	Hongos	
4,8X10 ⁴ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp</i>	2,7X10 ⁶ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	3,9X10 ⁶ upc/g de suelo
B3		
Bacterias	Hongos	
6,2X10 ⁵ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp</i>	6,0X10 ⁵ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	6,0X10 ⁵ upc/g de suelo
	<i>Alternaria sp</i>	2,0X10 ⁵ upc/g de suelo

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados del análisis microbiológico de suelos en el departamento de fitopatología en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH

Tabla 12-3: Caracterización microbiológica final de los dos tratamientos (A y B)

A1		
Bacterias	Hongos	
2,5X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Aspergillus sp</i>	1,1X10 ³ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	3,1X10 ⁵ upc/g de suelo
	<i>Fusarium sp</i>	1,7X10 ⁵ upc/g de suelo
A2		
Bacterias	Hongos	
2,8X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Aspergillus sp</i>	1,3X10 ⁵ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	2,1X10 ⁶ upc/g de suelo
A3		
Bacterias	Hongos	
5,3X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp</i>	1,0X10 ² upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	5,2X10 ⁶ upc/g de suelo
	<i>Botrytis sp</i>	1,0X10 ⁵ upc/g de suelo
	<i>Fusarium sp</i>	1,0X10 ² upc/g de suelo
B1		
Bacterias	Hongos	
4,4X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Penicillium sp</i>	1,0X10 ⁴ upc/g de suelo
B2		
Bacterias	Hongos	
4,7X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Rhizopus sp</i>	1,0X10 ² upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp</i>	1,4X10 ⁴ upc/g de suelo
B3		
Bacterias	8,3X10 ⁷ ufc/g de suelo	

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados del análisis microbiológico de suelos en el departamento de fitopatología en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH

La Tabla 12-3 nos muestra los resultados obtenidos del análisis microbiológico final, en donde la población de bacterias fue superior al inicial, los hongos se encontraron en niveles altos, estos eran saprófitos y lignocelulósicos *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium sp.*, *Botrytis sp.* y *Aspergillus sp.*, a pesar de estar sometidos a fumigación estos se adaptaron a las nuevas condiciones.

3.1.2.3. Análisis de pesticidas

Tabla 13-3: Determinación inicial de pesticidas presentes en la muestra de suelo estudiada de Gatazo Zambrano

Parámetro	Resultado (mg/kg)
Dianizon	243,87
Profenofos	38,14

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Informe de resultados del Laboratorio de química ambiental OSP

Se pudo encontrar en las muestras de estudio presencia de pesticidas tipo organofosforados, en concentraciones altas (FAO, 2012, p. 5).

De igual manera en la siguiente tabla podemos observar, los análisis intermedios realizados a los 25 días:

Tabla 14-3: Análisis intermedio (Día 25) de pesticidas presentes en los dos tratamientos (A y B)

Biopila Parámetro (mg/Kg)	A			B		
	1	2	3	1	2	3
Dianizon	3,41	55,32	5,41	0,69	0,76	0,51
Profenofos	4,44	4,11	3,76	3,68	3,29	3,58

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Informe de resultados del Laboratorio de química ambiental OSP

En la Tabla 14-3 se puede observar que tanto en el tratamiento A como en el B, existió una disminución significativa de los pesticidas, pero mostrando hasta ese momento a simple vista mayor eficacia el tratamiento B esto con respecto al Dianizon, mientras que en cuanto a los profenofos la diferencia no es muy grande.

Tabla 15-3: Análisis final de pesticidas presentes en los dos tratamientos (A y B)

Biopila Parámetro (mg/Kg)	A			B		
	1	2	3	1	2	3
Dianizon	0,9	8,59	1,53	0,4	0,42	0,32
Profenofos	3,39	3,57	3,65	2,78	2,43	2,41

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Informe de resultados del Laboratorio de química ambiental OSP

En la Tabla 15-3 se muestran las concentraciones de pesticidas obtenidas después de cada tratamiento, en donde se puede observar que el tratamiento B tuvo mejores resultados que el tratamiento A tanto en Dianizon y Profenofos ya que sus concentraciones son menores.

3.1.3. *Elaboración de las biopilas y aplicación de su respectivo tratamiento.*

3.1.3.1. *Tratamiento A*

3.1.3.1.1. *Temperatura*

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 3, a continuación se presenta la Temperatura media en cada día control y su respectiva desviación estándar.

Tabla 16-3: Control de temperatura (°C) del tratamiento A

Días Control	Temperatura media (\bar{T}_A)
1	42,3 ±2,5
2	41,0±2,6
3	36,8±1,0
4	36,2±0,2
5	33,2±1,3
6	34,0±1,0
7	34,6±1,4
8	33,5±1,3
10	26,7±0,6
11	20,7±0,6
12	16,3±0,6
13	15,3±1,5
14	15,7±0,6
15	15,3±0,6
16	18,3±0,6
17	17,7±0,6
19	17,3±0,6
21	18,0±1,0
22	15,7±0,6
23	18,0±0,0
24	19,3±1,2
26	17,7±0,6
27	18,7±1,5
28	18,0±1,0
30	20,3±0,6
32	20,3±0,6
33	21,7±0,6
34	21,3±0,6
35	20,7±0,6
36	17,3±0,6

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

La variación de la temperatura se puede evidenciar en la Figura 2-3

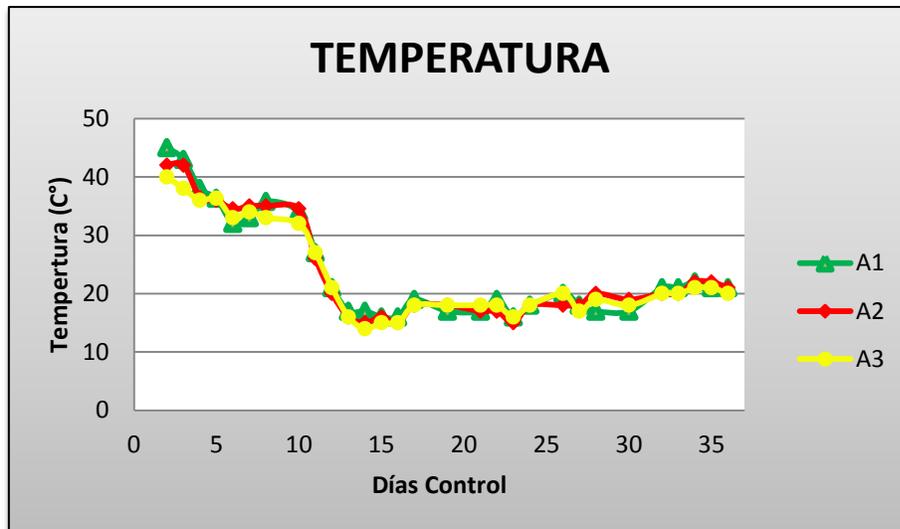


Figura 2-3: Gráfico de la variación de temperatura del tratamiento A
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

La Figura 2-3 nos indica la variación de la temperatura en las tres pilas formadas para el tratamiento A, en donde se puede evidenciar que en los ocho primeros días, la temperatura era relativamente alta debido a la elevada actividad generada por los microorganismos termófilos (Restrepo, 1996, p.11-12), en el proceso de descomposición de la materia orgánica; en los siguientes días fue disminuyendo la temperatura indicando un agotamiento de la fuente de carbono, llegando luego de unos días a ser constante mostrando una baja tasa de actividad metabólica de los microorganismos.

3.1.3.1.2. Humedad

Al ser controlada constantemente la humedad mediante la prueba del puño en las tres pilas realizadas para el tratamiento A, esta en la mayor parte del proceso se encontraba en óptimo estado brindando un adecuado ambiente para el crecimiento y desarrollo de todas las actividades de los microorganismos.

Tabla 17-3: Control de la humedad del tratamiento A

Biopila Días Control	A1	A2	A3
1	LB	B	LB
2	O	A	LB
3	LB	A	LB
4	O	LA	O
5	O	O	O
6	O	O	O
7	O	O	O
8	O	O	O
10	O	LA	A
11	O	O	LA
12	O	O	A
13	O	O	LA
14	LB	O	O
15	O	O	O
16	LB	O	O
17	O	O	O
19	O	A	O
21	O	LA	O
22	B	O	O
23	LB	O	O
24	O	O	O
26	O	O	O
27	O	O	O
28	LB	O	O
30	LB	O	O
32	LB	LB	O
33	O	O	O
34	LB	O	O
35	LB	LB	O
36	O	O	O

B: Bajo
LB: Ligeramente Bajo
O: Optimo
LA: Ligeramente Alta
A: Alta

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016
Fuente: Datos recolectados por el investigador.

3.1.3.2. *Tratamiento B*

3.1.3.2.1. *Temperatura*

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 3, a continuación se presenta la Temperatura media en cada semana control y su respectiva desviación estándar.

Tabla 18-3: Control de la Temperatura (°C) del tratamiento B

Semana	Temperatura media (\bar{T}_B)
1	20 ± 2
2	19,7 ± 0,6
3	18,7 ± 1,2
4	18,3 ± 0,6
5	16,7 ± 0,6
6	18,3 ± 0,6
7	18 ± 1

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

La variación de la temperatura se puede evidenciar en la Figura 3-3.

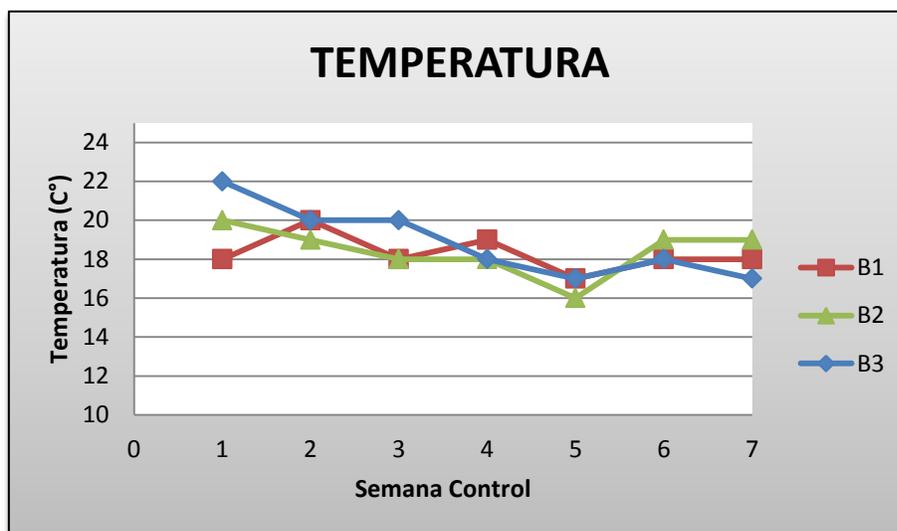


Figura 3-3: Gráfico de la variación de temperatura del tratamiento B

Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

La Figura 3-3 nos indica la variación de la temperatura en las tres pilas formadas para el tratamiento B, en donde en la primera semana se registra la temperatura más alta de todo el proceso en las pilas B2 y B3; en la segunda, tercera y cuarta semana la temperatura no tiene una variación significativa. En la quinta semana del monitoreo se registró en las tres pilas del tratamiento las temperaturas más bajas de todo el proceso, esto debido a que existieron fuertes precipitaciones en la zona y con ello una baja temperatura ambiental, provocando que la temperatura interna de las pilas disminuya. En general, las temperaturas durante todo el proceso fueron óptimas para el crecimiento de los microorganismos ya que se encontraban dentro del rango de 18-30 °C, que es el rango de temperatura óptima para el proceso de bioestimulación.

3.1.3.2.2. Humedad

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 3, a continuación se presenta la humedad media en cada semana control con su respectiva desviación estándar.

Tabla 19-3: Control de humedad (%) del tratamiento B

Semana	Humedad media (\bar{H}_B)
1	22,2 ±0,4
2	24,1 ±0,6
3	26,3 ±0,8
4	32,6 ±1,8
5	34,6 ±1,0
6	35,0 ±2,8
7	41 ±1,8

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

A continuación se muestra la gráfica con la variación de humedad durante todo el proceso.

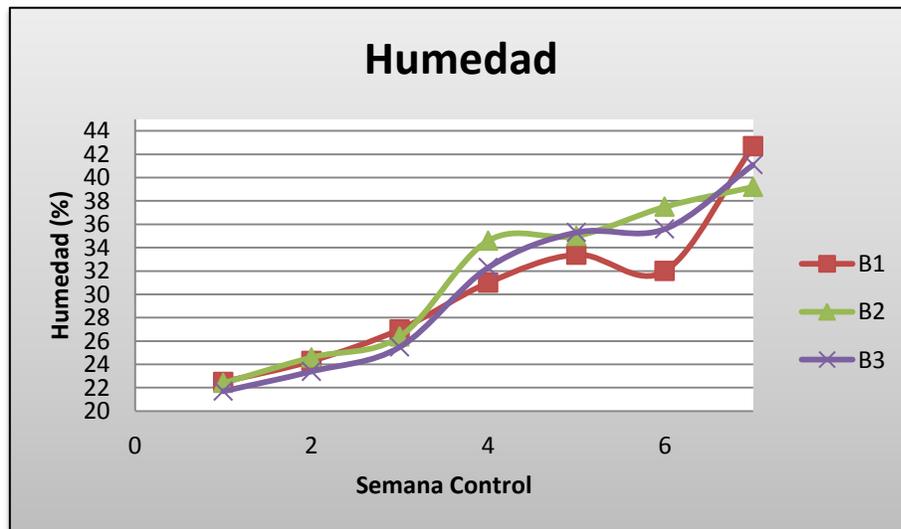


Figura 4-3: Gráfico de la variación de humedad del tratamiento B

Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

La Figura 4-3 nos muestra la variación de la humedad durante el proceso en las pilas del tratamiento B, en donde en las primeras semanas se registraron valores relativamente bajos, por lo que se agregó agua en las pilas, llegando en los próximos análisis a subir los niveles de humedad hasta

llegar a encontrarnos dentro del rango óptimo que es de 30-60% ayudando así a mejorar la actividad de los microorganismos.

3.1.3.2.3. *pH*

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 3, a continuación se presenta la media del pH en cada semana control y su respectiva desviación estándar.

Tabla 20-3: Control del pH del tratamiento B

Semana	pH media ($\overline{pH_B}$)
1	7 ±0
2	7 ±0
3	7 ±0
4	7±0
5	7 ±0
6	7,7 ±0,6
7	8 ±0

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016
Fuente: Datos recolectados por el investigador.

El valor de pH que se tuvo durante todo el proceso fue efectivo encontrándose dentro del rango óptimo que es de 6-8.

3.1.4. *Determinación de la eficiencia de remoción de pesticidas en las biopilas.*

3.1.4.1. *Cálculo de la tasa de degradación de pesticidas*

Tabla 21-3: Porcentaje de degradación de pesticidas en los dos tratamientos (A y B)

Biopila Parámetro (%/d)	A				B			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
Dianizon	99,63	96,48	99,37	98,49	99,84	99,83	99,87	99,84
Profenofos	91,11	90,64	90,43	90,73	92,71	93,63	93,68	93,34

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016
Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la Tabla 21-3 se indican los porcentajes de degradación, en donde se puede observar que en el tratamiento A se llegó a degradar en promedio el 98,49% para dianizon y 90,73% para profenofos, siendo estos porcentajes menores que en el tratamiento B, en donde se obtuvo en promedio el 99,84% para dianizon y 93,34% para profenofos.

Con estos resultados se calculó la tasa de degradación que se muestra a continuación:

Tabla 22-3: Tasa de degradación diaria de pesticidas en los dos tratamientos (A y B)

Biopila Parámetro (%/d)	A				B			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
Dianizon	2,03	1,97	2,03	2,01	2,04	2,04	2,04	2,04
Profenofos	1,86	1,85	1,85	1,85	1,89	1,91	1,91	1,90

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la tabla 22-3 se puede observar que la tasa de degradación en el tratamiento A se obtuvo en promedio para dianizon un 2,01 %/día y para profenofos un 1,85%/día. Mientras que en el tratamiento B se obtuvo un promedio de 2,04%/día para dianizon y 1,90 %/día para profenofos. Aunque la variación de las tasas de degradación es muy baja, el tratamiento B presenta valores un poco más altos que el tratamiento A, lo que repercute al final del proceso.

Se determinó la tasa media de degradación diaria para los dos tratamientos, donde posteriormente se realizó las gráficas de degradación de Dianizon y Profenofos tanto para el Tratamiento A y B, que se encuentran a continuación.

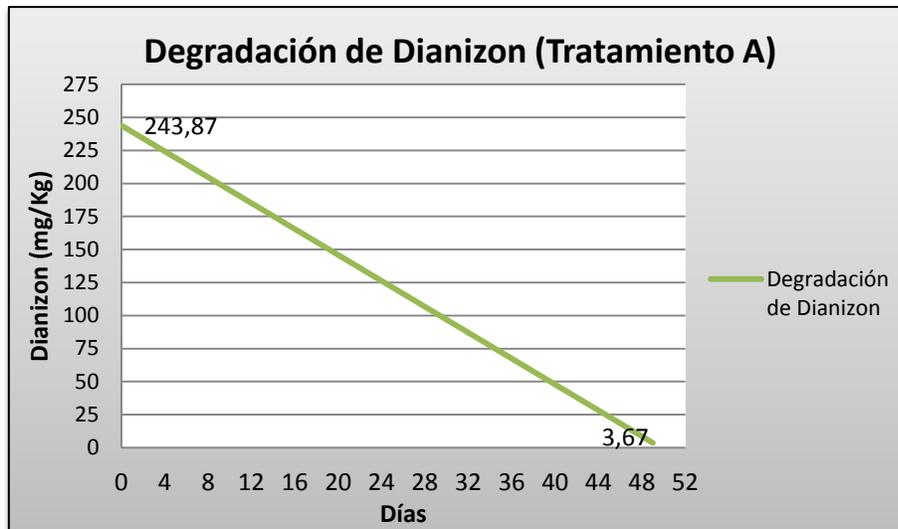


Figura 5-3: Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento A
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 5-3 se puede observar que en los 50 días del Tratamiento A, existió una disminución de la concentración de Dianizon significativa en donde la concentración inicial fue de 243,87 mg/Kg y se vio disminuida paulatinamente hasta llegar a 3,67 mg/Kg, lo que nos indica que el tratamiento es adecuado para el estudio de caso.

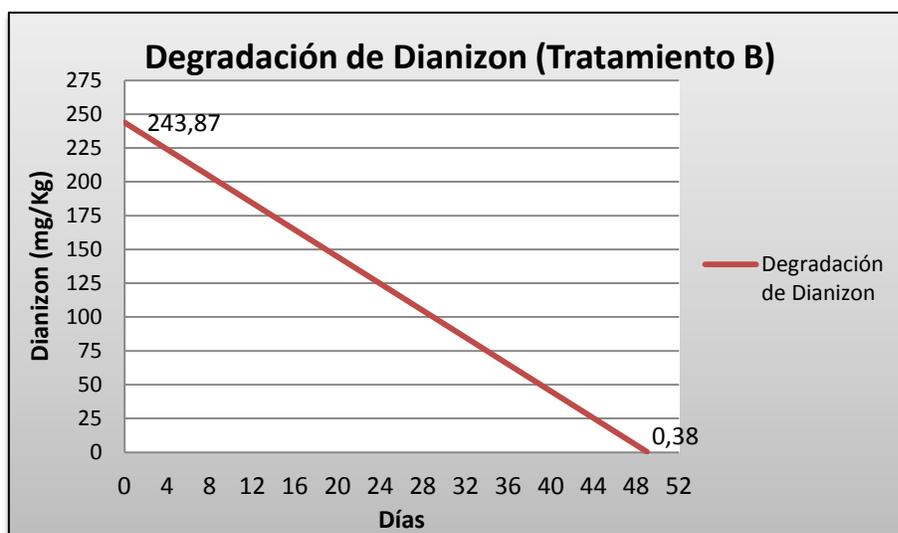


Figura 6-3: Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento B
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 6-3 se puede observar que en los 50 días del Tratamiento B, existió una disminución de la concentración de Dianizon superior a la presentada en el Tratamiento A, en donde la concentración inicial era la misma que fue de 243,87 mg/Kg y se vio disminuida paulatinamente

hasta llegar a 0,38 mg/Kg, lo cual nos indica que el proceso tuvo una mejor eficiencia que la presentada en el Tratamiento A.

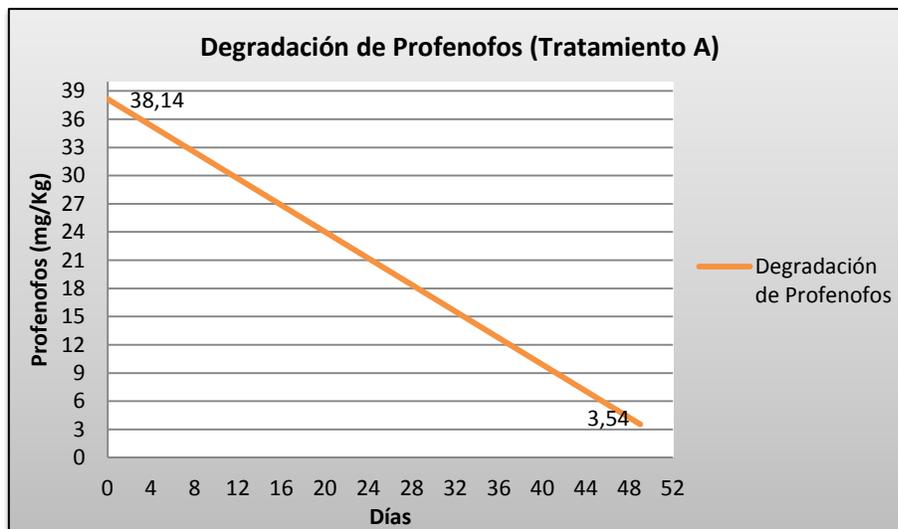


Figura 7-3: Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento A
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 7-3 se puede observar que en los 50 días del Tratamiento A, existió una disminución de la concentración de Profenofos significativa en donde la concentración inicial fue de 38,14 mg/Kg y se vio disminuida paulatinamente hasta llegar a 3,54 mg/Kg, indicándonos que el tratamiento es adecuado para el estudio de caso.

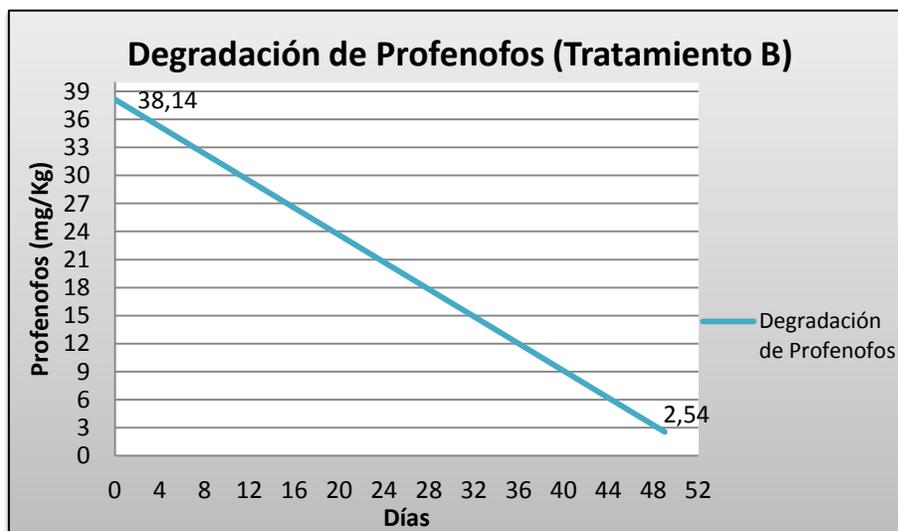


Figura 8-3: Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento B
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 8-3 se puede observar que en los 50 días del Tratamiento B, existió una disminución de la concentración de Profenofos superior a la presentada en el Tratamiento A, en donde la concentración inicial era la misma que fue de 38,14 mg/Kg y se vio disminuida paulatinamente hasta llegar a 2,54 mg/Kg, teniendo así una mejor eficiencia que la presentada en el Tratamiento A.

3.1.4.2. Análisis Estadístico

3.1.4.2.1. Dianizon

Tabla 23-3: Prueba T- Student para muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
DatosA	Se han asumido varianzas iguales	14,884	0,018	-1,341	4,00	0,251	-1,35333	1,00953	-4,15624	1,44958
	No se han asumido varianzas iguales			-1,341	2,001	0,312	-1,35333	1,00953	-5,69582	2,98915

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Al presentarse el cero entre el intervalo de confianza, las medias de los tratamientos son iguales, diciendo con ello que los dos tratamientos son efectivos y que no existe una variación muy significativa.

Para identificar de mejor manera los resultados obtenidos por el análisis de T-student y con ello observar la variación entre los dos tratamientos, se realizó la gráfica estadística del porcentaje de degradación del Dianizon, misma que se encuentra a continuación.

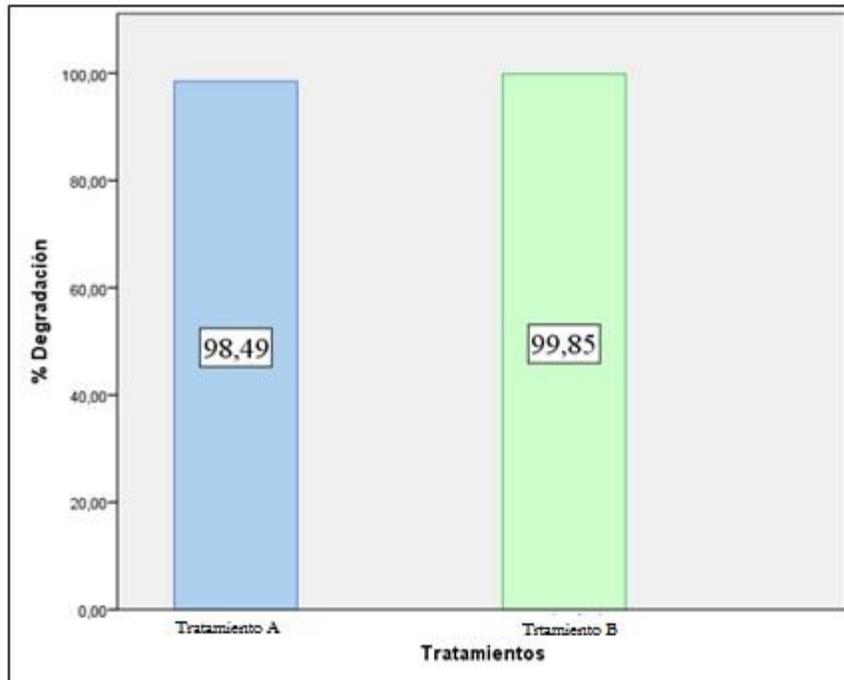


Figura 9-3: Comparación del porcentaje de degradación de Dianizon
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 9-3 se puede observar que al realizar estadísticamente una comparación entre las medias de los dos tratamientos no existe una diferencia significativa por lo que podrían ser aplicados cualquier de los dos tratamientos para la degradación de Dianizon, superándolo con 1,36%; mostrándonos así que el Tratamiento B es más eficaz para disminuir la concentración de Dianizon presente en la muestra de suelos estudiada en el tiempo de 50 días.

3.1.4.2.2. Profenofos

Tabla 24-3: Prueba T- Student para muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
DatosA	Se han asumido varianzas iguales	1,424	0,299	-6,988	4,00	0,002	-2,61333	0,37396	-3,65161	-1,57506
	No se han asumido varianzas iguales			-6,988	3,395	0,004	-2,61333	0,37396	-3,72878	-1,49789

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Al no encontrarse el cero dentro del intervalo de confianza, las medias de los tratamientos no son iguales, diciendo con ello que uno de los dos tratamientos es más efectivo ya que se evidencia una variación muy significativa.

Para identificar de mejor manera los resultados obtenidos por el análisis de T-student y con ello observar la variación entre los dos tratamientos, se realizó la gráfica estadística del porcentaje de degradación de los Profenofos, misma que se encuentra a continuación.

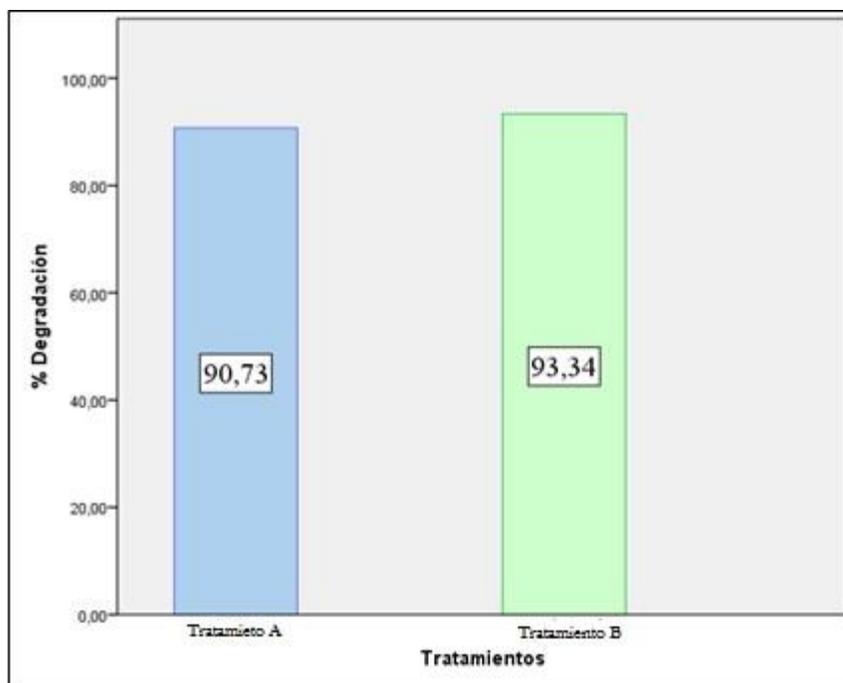


Figura 10-3: Comparación del porcentaje de degradación de Profenofos
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 10-3 se puede observar que al realizar estadísticamente una comparación entre las medias de los dos tratamientos, el Tratamiento B mismo que corresponde a la Bioestimulación posee un porcentaje de degradación ligeramente mayor al Tratamiento A correspondiente al Bocashi, superándolo con 2,61%; mostrándonos así que el Tratamiento B es más eficaz para disminuir la concentración de Profenofos presentes en la muestra de suelos estudiada en 50 días.

Al realizar el análisis estadístico tanto para dianizon como para profenofos, se llegó a determinar que el mejor tratamiento para disminuir la concentración de los compuestos organofosforados es el Tratamiento B (Bioestimulación), seleccionando este para su posterior optimización.

3.1.5. *Optimización del tratamiento más eficiente.*

El tratamiento que presentó mayor eficiencia de remoción de pesticidas fue el tratamiento B, que consistió en la bioestimulación, en los siguientes apartados se indican los resultados que se obtuvo en cuanto a: la caracterización inicial del suelo a optimizar, las variables que se controlaron durante todo el proceso, la caracterización al final del proceso, porcentaje y tasas de degradación, para finalmente realizar el respectivo análisis estadístico.

3.1.5.1. *Caracterización inicial del suelo*

Tabla 25-3: Caracterización físico-química inicial de la muestra

Parámetro	Resultado
pH	8.1
Material Orgánica	1,3 %
N	0,42 %
P	1,3 %
K	1,2%
Humedad	21,5%

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados e interpretación del análisis físico-químico de suelos en el departamento de suelos en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

Dentro de los análisis anteriores se pudo observar que la cantidad de materia orgánica se encontraba baja por lo que en el tratamiento que se dio se agregó aserrín como fuente de carbono, los resultados de la concentración de nitrógeno en el suelo nos dio a conocer que este se encontraba bajo, al igual que su humedad.

Tabla 26-3: Caracterización microbiológica inicial de la muestra

Bacterias	Hongos	
1,4X10 ⁷ ufc/g de suelo	<i>Aspergillus sp.</i>	4,0X10 ⁴ upc/g de suelo
	<i>Penicillium sp.</i>	2,0X10 ⁴ upc/g de suelo

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados del análisis microbiológico de suelos en el departamento de fitopatología en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

En la Tabla anterior podemos observar que la población bacteriana es alta y que existió presencia de hongos tales como *Aspergillus sp* y *Penicillium sp*, mismos que se encontraban en niveles poblacionales altos.

Se realizó una caracterización inicial de pesticidas para determinar la concentración en la que se encontraba el suelo antes de iniciar los tratamientos. A continuación se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 27-3: Determinación inicial de pesticidas presentes en la muestra

Parámetro	Resultado (mg/kg)
Dianizon	12,15
Profenofos	10,98

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Informe de resultados del Laboratorio de química ambiental OSP

3.1.5.2. Variables Control

3.1.5.2.1. Temperatura

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 4, a continuación se presenta la Temperatura media en cada día control y su respectiva desviación estándar.

Tabla 28-3: Control de temperatura

Días Control	Temperatura Media (°C)					
	Grupo Control (\bar{T}_0)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento X (\bar{T}_X)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento Y (\bar{T}_Y)	Desviación Estándar (σ)
1	19,5	0,7	18,5	0,7	18,5	0,7
2	27	1,4	27	1,4	25	1,4
3	25,5	0,7	25,5	0,7	23,5	0,7
4	23	0	22	0	19,5	0,7
5	26	0	25	1,4	25,5	0,7
6	22,5	0,7	20	0	19,5	0,7
7	24	0	22,5	0,7	22	0

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

La variación de la temperatura se puede evidenciar en la Figura 11-3.

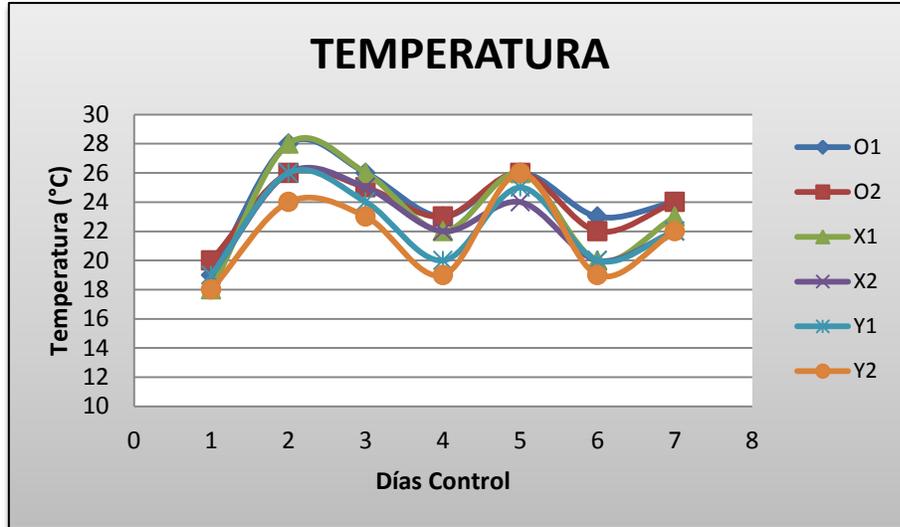


Figura 11-3: Gráfico de la variación de temperatura
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

La Figura 11-3 nos indica la variación de la temperatura en las seis pilas formadas en el proceso de optimización durante los 15 días del tratamiento, manteniéndose en general temperaturas dentro de los 18-24°C durante el proceso, que se incluyen dentro del rango óptimo (18-30 °C) para el crecimiento de los microorganismos.

3.1.5.2.2. Humedad

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 4, a continuación se presenta la humedad media en cada día control con su respectiva desviación estándar.

Tabla 29-3: Control de la humedad

Días Control	Humedad Media (%)					
	Grupo Control (\bar{H}_0)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento X (\bar{H}_X)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento Y (\bar{H}_Y)	Desviación Estándar (σ)
1	9,6	4,5	14,6	6,9	10,1	0,4
2	19,8	0,1	29,8	0,1	30,3	2,8
3	20,1	0,4	31,1	0,4	31,0	3,3
4	21,0	0	27,6	0,1	30,4	2,3
5	32,7	2	43,3	4,6	39,1	2,3
6	28,2	2,0	39,2	0,9	41,0	1,9

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016
Fuente: Datos recolectados por el investigador.

La variación de la humedad se puede evidenciar en la Figura 12-3.

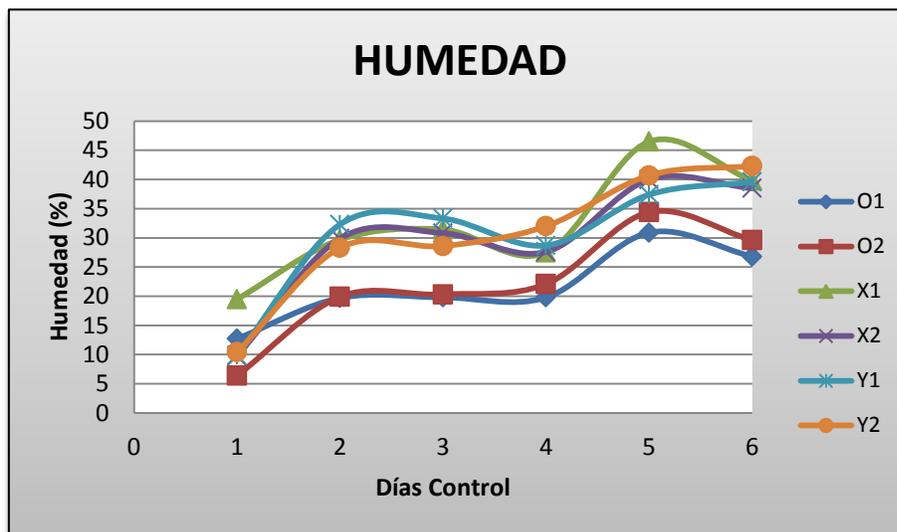


Figura 12-3: Gráfico de la variación de temperatura
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

La figura 12-3 indica la variación de la humedad a lo largo del proceso, la cual ha ido aumentando hasta encontrarse dentro del rango óptimo de 30-60% dando mejores condiciones para la actividad metabólica adecuada de los microorganismos.

3.1.5.2.3. *pH*

Los datos tomados en cada pila se encuentran detallados en el Anexo 4, a continuación se presenta la media del pH en cada día control y su respectiva desviación estándar.

Tabla 30-3: Control del pH

Días Control	pH Media					
	Grupo Control ($\overline{pH_0}$)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento X ($\overline{pH_X}$)	Desviación Estándar (σ)	Tratamiento Y ($\overline{pH_Y}$)	Desviación Estándar (σ)
1	8,0	0	8,0	0	8,0	0
2	7	0	6,5	0,7	7	0
3	7,0	0	7	0	6,5	0,7
4	7,0	0	6,0	0	6,0	0
5	7,0	0	7,0	0	7,0	0
6	7	0	7,0	0	7,0	0
7	7	0	7,0	0	7,0	0

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

La variación del pH se puede evidenciar en la Figura 13-3.

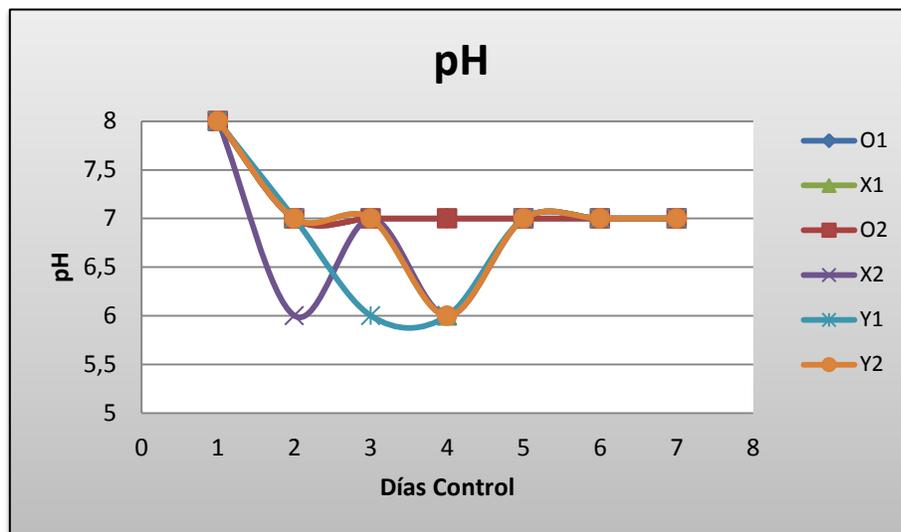


Figura 13-3: Gráfico de la variación de pH

Fuente: Realizado por Ec Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la figura 13-3 se puede observar la variación del pH a lo largo del proceso, la cual tanto en el grupo control como en los grupos experimentales se ha mantenido dentro del rango adecuado (6-8).

3.1.5.3. Caracterización final del suelo

Tabla 31-3: Caracterización físico-química final

Parámetro	O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
pH	7	7	7	7	7	7
Material Orgánica (%)	2,3	1,5	5,4	5,2	1,7	1,8
N (%)	1,40	0,8	2,52	2,38	1,96	2,24
P (%)	1,93	1,90	1,92	1,88	2,03	1,98
K (%)	0,87	0,86	1,05	0,97	1,3	1,1
Humedad (%)	22,9	27,0	37,2	36,8	41,7	43,9

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados e interpretación del análisis físico-químico de suelos en el departamento de suelos en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH y datos recolectados por el investigador.

En la Tabla 31-3 se muestran los resultados de los análisis físico-químicos finales, pudiendo observar que la materia orgánica tuvo un incremento en comparación al análisis inicial. Con relación al Nitrógeno las concentraciones en el grupo X son mayores a las presentadas en Y, debido a que existió una mayor agregación de úrea.

Tabla 32-3: Caracterización microbiológica final

O1	
Bacterias	1,0X10 ⁵ ufc/g de suelo
O2	
Bacterias	Hongos
1,0X10 ⁵ ufc/g de suelo	<i>Penicillium sp</i> 1,0X10 ³ upc/g de suelo
X1	
Bacterias	Hongos
7,1X10 ⁵ ufc/g de suelo	<i>Penicillium sp</i> 1,0X10 ² upc/g de suelo
X2	
Bacterias	Hongos
4,4X10 ⁵ ufc/g de suelo	<i>Penicillium sp</i> 1,0X10 ² upc/g de suelo
Y1	
Bacterias	4,6X10 ⁵ ufc/g de suelo
Y2	
Bacterias	1,0X10 ⁶ ufc/g de suelo

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Resultados del análisis microbiológico de suelos en el departamento de fitopatología en la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH

La Tabla 32-3 nos muestra los resultados obtenidos del análisis microbiológico final, en donde la población de bacterias bien no fue superior a la inicial pero aun así fue alta, en cuanto a los hongos se encontraron en niveles altos, donde se encontró *Penicillium sp.*, mismos que son saprófitos.

Tabla 33-3: Análisis final de pesticidas

Biopila Parámetro (mg/Kg)	O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
Dianizon	0,36	0,49	0,03	0,03	0,03	0,03
Profenofos	3,50	2,94	0,03	0,03	0,03	0,03

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Informe de resultados del Laboratorio de química ambiental OSP

En la Tabla 33-3 en donde se indican las concentraciones finales de pesticidas después de los 15 días de tratamiento, se puede observar claramente la diferencia entre el grupo control y los grupos experimentales tanto para dianizon como para profenofos. No existe una diferencia entre los grupos experimentales (X y Y) ya que la metodología utilizada no logró detectar concentraciones trazas de pesticidas, para ambos casos.

3.1.5.4. Cálculo de la tasa de degradación de pesticidas

Tabla 34-3: Porcentaje de degradación de pesticidas

Biopila Parámetro (%)	O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
Dianizon	97,04	95,97	99,75	99,75	99,75	99,75
Profenofos	68,12	73,22	99,73	99,73	99,73	99,73

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la Tabla 34-3 se indican los porcentajes de degradación, en donde se puede observar que existe un mayor porcentaje de degradación en los grupos experimentales respecto al grupo control, siendo estos de 99,75% para dianizon y 99,73% para profenofos y para el grupo control, con un 96,50% para dianizon y 70,67% para profenofos. Indicándonos que la adición de nutrientes y control de variables contribuyen a la aceleración de degradación de estos pesticidas.

Tabla 35-3: Tasa de degradación diaria de pesticidas

Biopila Parámetro (%/d)	O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
Dianizon	6,93	6,85	7,13	7,13	7,13	7,13
Profenofos	4,87	5,23	7,12	7,12	7,12	7,12

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016.

Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la tabla 35-3 se puede observar que la tasa de degradación diaria en los grupos experimentales tanto para dianizon y profenofos es de 7,13%/día y 7,12%/día respectivamente, mientras que para el grupo control se determinaron valores más bajos de 6,90%/día para dianizon y 5,05%/día para profenofos.

Se determinó la tasa media de degradación diaria para el grupo control y para grupos experimentales, donde posteriormente se realizaron las gráficas del porcentaje de degradación de Dianizon y Profenofos tanto para el grupo control y una para ambos grupos experimentales ya que presentaban los mismos valores.

A continuación se indican las gráficas de degradación.

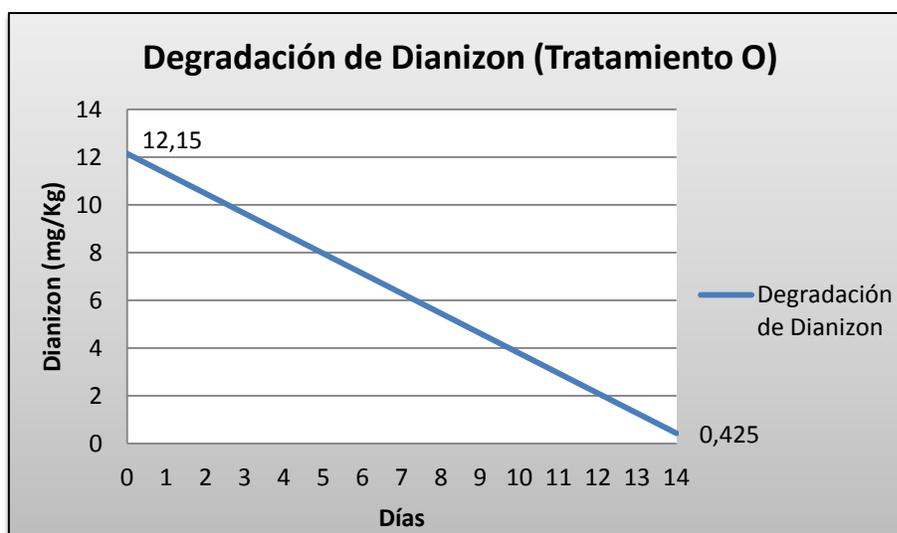


Figura 14-3: Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento O

Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016.

En la Figura 14-3 se puede observar que en los 15 días del grupo control, existió una disminución de la concentración de Dianizon significativa en donde la concentración inicial fue de 12,15 mg/Kg y se vio disminuida paulatinamente hasta llegar a 0,425 mg/Kg.

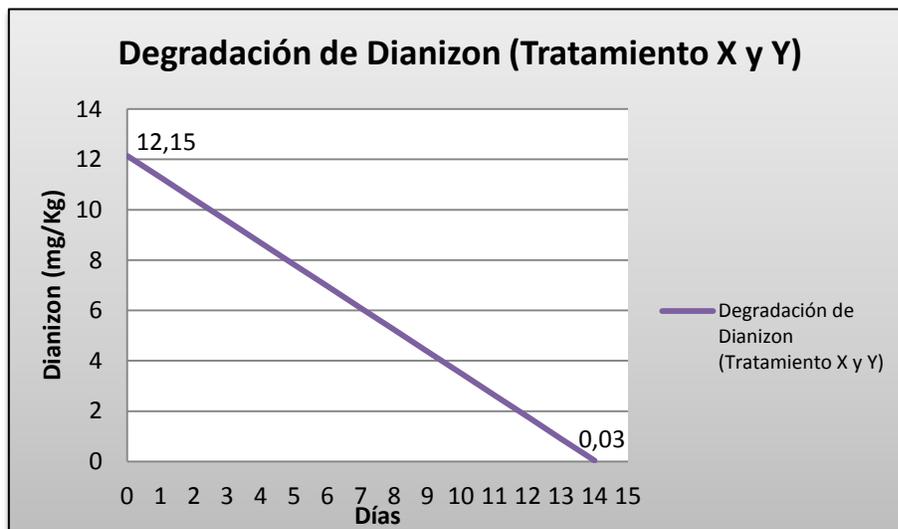


Figura 15-3: Gráfico de la Degradación de Dianizon en el Tratamiento X y Y
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 15-3 se puede observar que en los 15 días de tratamiento existió una disminución de la concentración de dianizon 12,15 mg/kg a <0,03 mg/Kg, para ambos grupos experimentales. No existe una diferenciación ya que la metodología utilizada para la determinación de pesticidas no detectaba concentraciones trazas.

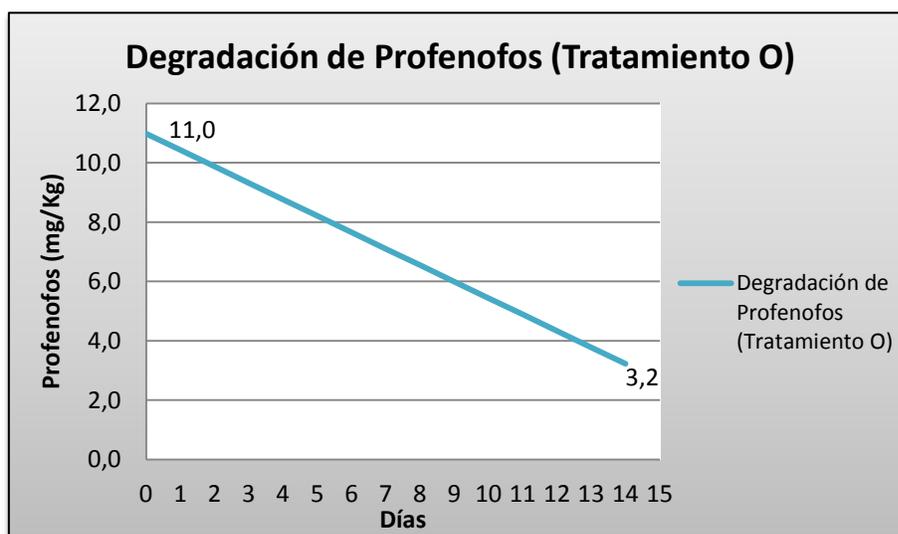


Figura 16-3: Gráfico de la Degradación de Profenofos en el Tratamiento O
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 16-3 se puede observar que en los 15 días de tratamiento en cuanto profenofos hubo una disminución de la concentración inicial de 10,98 mg/kg a 3,2 mg/kg.

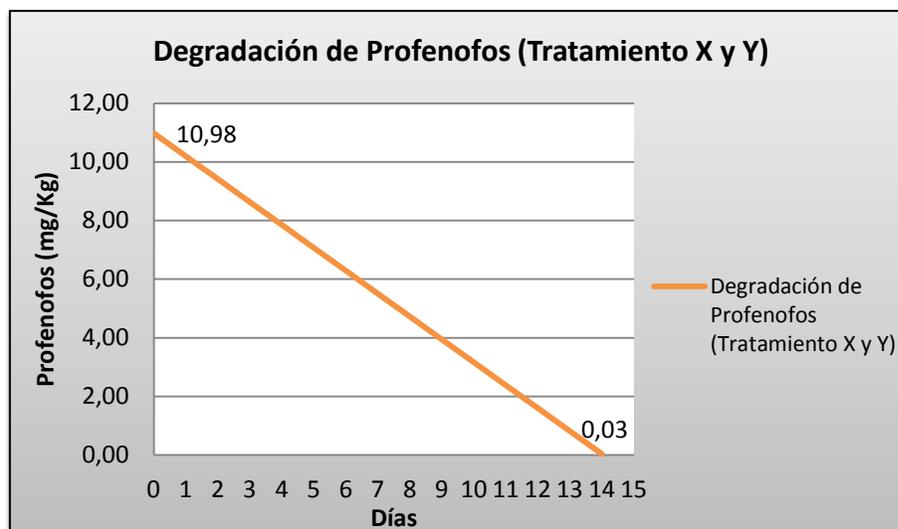


Figura 17-3: Gráfico de la Degradación Profenofos en el Tratamiento X y Y
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 17-3 se puede observar que durante los 15 días de tratamiento existió una disminución de la concentración inicial de profenofos de 10,98 mg/kg a <0,03 mg/kg para ambos tratamientos. No existe una diferenciación entre las concentraciones finales de los dos grupos experimentales ya que la metodología utilizada para la determinación de las concentraciones no detectaba concentraciones trazas.

3.1.5.5. Análisis Estadístico

3.1.5.5.1. Dianizon

Tabla 36-3: Análisis de ANOVA de 1 Factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	14,040	2	7,020	36,789	0,008
Intra-grupos	0,572	3	0,191		
Total	14,612	5			

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la Tabla anterior se muestra el p-valor mismo que es de 0,008 siendo este menor a 0,05 indicándonos que existe diferencias entre los Grupos Control (O) y Experimentales (X y Y).

Tabla 37-3: Prueba de Tukey

(I) Compilatorio	(J) Compilatorio	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
O	X	-3,24500	0,43683	0,010	-5,0704	-1,4196
	Y	-3,24500	0,43683	0,010	-5,0704	-1,4196
X	O	3,24500	0,43683	0,010	1,4196	5,0704
	Y	0,00000	0,43683	1,000	-1,8254	1,8254
Y	O	3,24500	0,43683	0,010	1,4196	5,0704
	X	0,00000	0,43683	1,000	-1,8254	1,8254

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Con la prueba anterior se llegó a determinar que para la degradación de Dianizon los tratamientos aplicados a los dos grupos experimentales respectivamente fueron igualmente efectivos, llegando a obtener los mismos resultados.

A continuación se muestra la gráfica del porcentaje de degradación para el Dianizon.

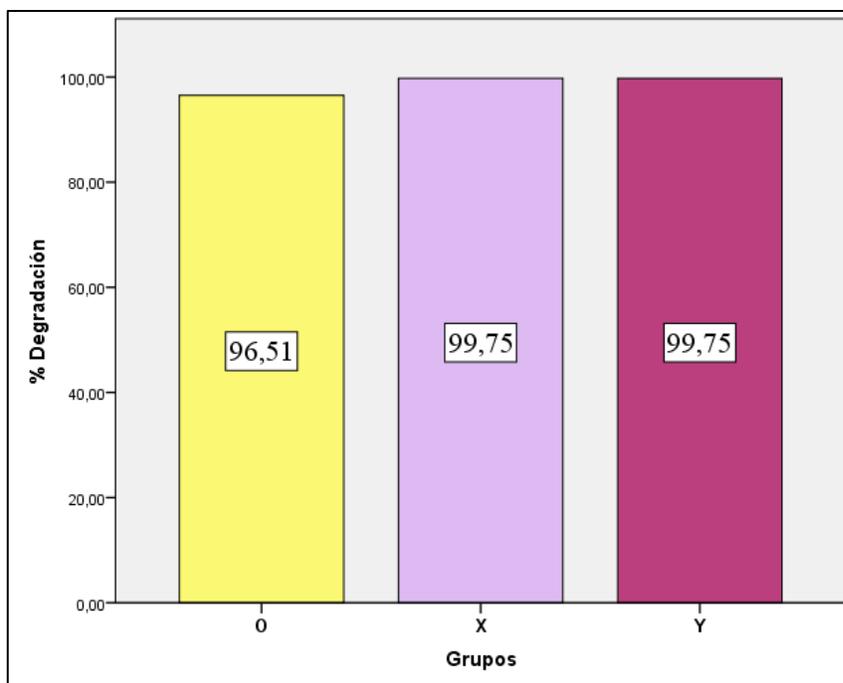


Figura 18-3: Comparación del porcentaje de degradación de Dianizon
Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

En la Figura 18-3 se observó que tanto los Grupos Experimentales (X y Y), poseen una mayor degradación que el Grupo Control (O) siendo esta del 3,24%, así también los tratamientos sometidos a los grupos experimentales fueron efectivos en la misma proporción, sin presentar una variación observable tanto estadísticamente como aritméticamente mostrando con ello que estos son eficaces para disminuir la concentración de Dianizon en el suelo.

3.1.5.5.2. Profenofos

Tabla 38-3: Análisis de ANOVA de 1 Factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1125,978	2	562,989	129,871	0,001
Intra-grupos	13,005	3	4,335		
Total	1138,983	5			

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

En la Tabla anterior se muestra el p-valor mismo que es de 0,001 siendo este menor a 0,05 indicándonos que existe diferencias entre los Grupos Control (O) y Experimentales (X y Y).

Tabla 39-3: Prueba de Tukey

(I) Compilatorio	(J) Compilatorio	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
O	X	-29,06000	2,08207	0,002	-37,7604	-20,3596
	Y	-29,06000	2,08207	0,002	-37,7604	-20,3596
X	O	29,06000	2,08207	0,002	20,3596	37,7604
	Y	0,00000	2,08207	1,000	-8,7004	8,7004
Y	O	29,06000	2,08207	0,002	20,3596	37,7604
	X	0,00000	2,08207	1,000	-8,7004	8,7004

Realizado por: Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Con la prueba anterior se llegó a determinar que para la degradación de Profenofos los tratamientos aplicados a los dos grupos experimentales respectivamente fueron igualmente efectivos, llegando a obtener los mismos resultados.

A continuación se muestra la gráfica del porcentaje de degradación para Profenofos.

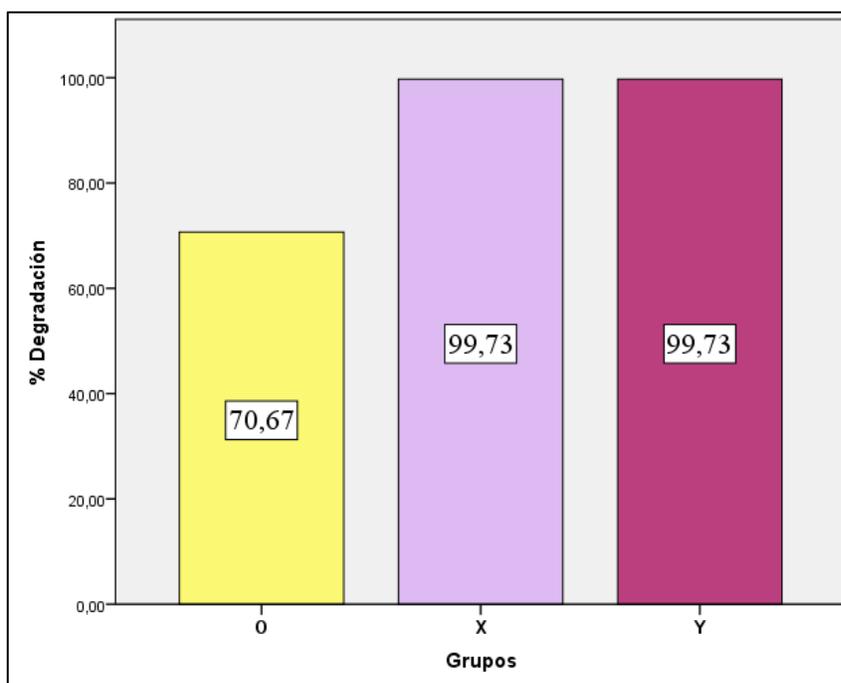


Figura 19-3: Comparación del porcentaje de degradación de Profenofos

Fuente: Realizado por Echeverría Andrea & Romero Jessica 2016.

En la Figura 19-3 se observó que tanto los Grupos Experimentales (X y Y), poseen una mayor degradación que el Grupo Control (O) siendo esta del 29,06%, así también los tratamientos sometidos a los grupos experimentales fueron efectivos en la misma proporción, sin presentar una variación observable tanto estadísticamente como aritméticamente mostrando con ello que estos son eficaces para disminuir la concentración de Profenofos en el suelo.

3.2. Discusión

Para la realización de esta investigación fue imprescindible determinar el contaminante que se va a tratar, para ello fue importante la interacción con la comunidad y conocer los principales pesticidas que son utilizados, los cuales fueron Curacron (profenofos) y Diazol (Dianizon). Estos se utilizaron para contaminar el suelo con un adecuado control y partir de valores previamente conocidos, para luego aplicar y comparar dos tratamientos de biorremediación: Tratamiento A (Bocashi) y Tratamiento B (Bioestimulación) y determinar cuál de ellos resulta ser más eficiente.

Se obtuvo mediante resultados de laboratorio y análisis estadísticos, que el tratamiento B es el más eficiente para degradar tanto Profenofos como Dianizon, no obstante es importante indicar que cualquiera de los dos tratamientos pueden ser utilizados normalmente para reducir pesticidas. Se pudo observar en todos los análisis microbiológicos la presencia de *Penicillium sp.*, lo que nos indica que es uno de los microorganismos más resistentes y que se han adaptado a la presencia de estos pesticidas (Deuren, Marks, Wujcik, & Loncar, 1994, p. 136).

Una vez comprobado estadísticamente que existe una ligera diferencia entre los dos tratamientos (A y B), se realizó una optimización al Tratamiento B, variando las concentraciones de nitrógeno y llegándose a observar que este componente influye en la reducción acelerada del porcentaje de degradación de pesticidas, aunque no se pudo determinar la variación de concentración en los grupos experimentales, ambos fueron efectivos; mostrándose una optimización con respecto a la primera etapa ya que existió una degradación del 99,84% para dianizon y 93,34% para profenofos en un periodo de 50 días, en tanto que en este proceso existió un mayor porcentaje de degradación (dianizon 99,75% y profenofos 99,73%) en tan solo 15 días.

CONCLUSIONES

- La interacción mediante encuestas con la población fue importante para generar un punto de partida sobre las condiciones en las que se encuentran los suelos de Gatazo Zambrano, determinando que los pesticidas con mayor aplicación en los suelos agrícolas son Curacron (Profenofos) y Diazol (Dianizon), obviando criterios técnicos.
- Se efectuó la caracterización físico-química y microbiológica del suelo durante todo el proceso en base a la metodología establecida. El análisis inicial nos permitió determinar los requerimientos nutricionales de los microorganismos para llevar a cabo un proceso eficiente. Los análisis posteriores nos permitieron asegurar que los tratamientos se llevaron de una manera correcta asegurando el desarrollo de los microorganismos y con ello la degradación de pesticidas.
- Se elaboraron las biopilas para cada tratamiento, con 3 repeticiones cada una. En donde para el tratamiento A, que consistía en bocashi se aplicó la metodología correspondiente manteniendo la relación C/N de 28:1. En cuanto al tratamiento B, que consistía en bioestimulación se mantuvo un el balance de nutrientes C/N/P de 100:10:1 y condiciones adecuadas. Para ambos casos se llevó un control periódico de las variables: Temperatura, pH y Humedad; mismas que fueron las indicadores del proceso manteniéndose dentro del rango óptimo, donde la temperatura fue la que presento mayor variación debido a precipitaciones, indicando con ello que las variables están influenciadas directamente por el entorno.
- No existe una diferencia significativa entre los Tratamiento A y B, pero las 3 biopilas del tratamiento B presentaron resultados ligeramente mejores en base a los análisis estadísticos del porcentaje de degradación (98,49% para Dianizon y 90,73% para Profenofos) realizados, razón por la cual es la bioestimulación el mecanismo más eficiente para degradar pesticidas organofosforados, la bioestimulación hace que los microorganismos encuentren en el medio la cantidad de carbono y energía necesarios para su desarrollo, crecimiento y reproducción, ya que al estar los nutrientes más disponibles para los microorganismos, estos son consumidos con mayor facilidad; cabe mencionar que el bocashi es un proceso eficiente que no se puede dejar a un lado pero que para el caso arrojó un valor tanto menor que la bioestimulación, concluyendo que los dos procesos son adecuados para el caso de estudio.

- En base a los análisis estadísticos se optimizó el Tratamiento B ya que fue el que presentó mayor eficiencia de remoción de pesticidas, variando el N en la relación C/N/P, existió un mejoramiento del proceso ya que en 15 días se logró degradar 99,73% para Profenofos y 99,75% para Dianizon.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar una identificación de las bacterias que actúan en la degradación de los pesticidas específicamente Dianizon y Profenofos, así también realizar pruebas de resistencia.
- Probar otras técnicas para la degradación de estos pesticidas, mejorando el tiempo de degradación.
- Variar la concentración de los nutrientes C/N/P para determinar su influencia en el proceso de bioestimulación y comparar diferentes fuentes de nutrientes.
- Se recomienda que se impulsen y realice estudios similares ya que existe gran variedad de plaguicidas, que en el mundo y especialmente en Ecuador, no se conoce a detalle cual es el comportamiento del plaguicida en los diferentes ecosistemas que llega a contaminar, ya sea directa o indirectamente. De igual manera afecciones que puede causar en microorganismos, insectos eficientes, aves, mamíferos, organismos acuáticos, flora y microflora.
- Para próximos estudios sobre pesticidas se recomienda realizar un análisis multirelacional para tratar de identificar los contaminantes y sus concentraciones trazas.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ALPUCHE Leticia y ALBERT Lilia.** *Los plaguicidas, en el ambiente y la salud.* 2^{da} ed. Mexico D.F.- Mexico. Editorial Buena Vidaa. 1990. Vol. 1. pp. 121-135
2. **AL-SALEH Ines.** *Pesticides: a review article.* *J Environ Pathol.* 4^{ta} ed. Habana- Cuba. Editorial Leonardo Vacacela. 2012. Vol.14. pp. 151-161.
3. **ALVARENGA DA SILVA Natalía, GARCIA BIROLI William., et al.** *Biodegradation of the Organophosphate Pesticide Profenofos by Marine Fungi.* São Paulo, Brasil. 2000. pp. 180-200. [En línea]

[04/01/2016]

<http://dx.doi.org/10.5772/56372>
4. **ANDREU Oscar .** *Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en el Parque Natural de La Albufera de Valencia.* 5^{ta} ed. Valencia-España. 2008. pp. 1-28. [En línea]

[04/01/2016]

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2342/tesisUPV2815.pdf>
5. **ARIAS Jose, ROJAS Dalia, et al.** *Plaguicidas Organoclorados Vigilancia.* 3^{ra} ed. Madrid-España. Metepec. 1990.p.34
6. **ARIAS Pamela.** *Análisis Descriptivo del Módulo Ambiental – Uso de Plaguicidas en la Agricultura.* Quito-Ecuador. 2013. [En línea]

[12/01/2016]

http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2013/Documento_Tecnico-Uso_de_Plaguicidas_en_la_Agricultura_2013.pdf

7. **ARROYO Maroto, QUESADA María y QUESADA Roger.** *Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos.* Geocisa. Protección Ambiental de Suelos. 2^{da} ed. Mexico D.F- Mexico. 2007. [En línea]

[12/01/2016]

<http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Aplsisbiosueaguconhidint.pdf>
8. **BARBERA Claudio.** *Pesticidas agrícolas.* 2^{da} ed. Barcelona-España. Editorial Omega. Vol. 4. 1989. p. 17
9. **BARTHA Richard y WANG Xiaoping.** Effects of bioremediation on residues, activity and toxicity in soil contaminated by fuel spills. *Soil Biology and Biochemistry.* 1^{ra} ed. Michigan-USA. Vol. 22. 1989. pp. 501-502. [En línea]

[12/01/2016]

<http://www.sciencedirect.com/sci-hub.io/science/article/pii/0038071790901853>
10. **COLOMBIA, DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN.** *Agroquímicos.* 3^{ra} ed. Bogotá- Colombia. 2003. pp. 244-277. [En línea]

[11/02/2016]

<https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Desarrollo%20Empresarial/agroquimicos.pdf>
11. **DECLERCQ Eugene.** *The Politics of Home Birth in the United States.* 1^{ra} ed. Birth-USA. Wiley Periodicals, Inc. Vol. 39. 2012. pp. 281-285. [En línea]

[12/01/2016]

doi:10.1111/birt.12001
12. **DEUREN Van, MARKS Peter, et al.** *Remediation technologies screening matrix and reference guide .* 2^{da} ed. Florida- USA. Roy F. Weston. 1994. pp. 134-145. [En línea]

[12/01/2016]

<http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/2000KG7K.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EP A&Index=1991%20Thru%201994&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=>

l&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDa
y=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQField

13. **DIAS Romina.** *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en clima frío y templado. Ensayo y Evaluación de distintas estrategias.* 4^{ta} ed. La Plata- Argentina. 2011. p. 16. [En línea]

[11/02/2016]

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/18082/Documento_completo.pdf?sequence=1

14. **ECUADOR, EL DIARIO MANABITA.**[Prensa]. *74% de un plaguicida contamina ambiente.* Manta- Ecuador. 2013. p. 19. [En línea]

[11/02/2016]

<http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/265352-74-de-un-plaguicida-contamina-ambiente/>

15. **ECUADOR, AGROCALIDAD.** *Agrocalidad, Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro.* 5^{ta} ed. Quito-Ecuador. 2015. pp. 14-26. [En línea]

[04/01/2016]

<http://www.agrocalidad.gob.ec/plaguicidas-agricolas/>

16. **ECUADOR, SECRETARÍA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO, SENPLADES,** Plan Nacional de Desarrollo/Plan Nacional para el Buen Vivir 2013-2017. *National Development Plan for Living Well*, Primera Edición, Quito-Ecuador, 2013, vol. 2017. p. 234

17. **ECUADOR, PreNatal,** Diagnostico de la Situación de los Plaguicidas 1A y 1B en el Ecuador. 1^{era} ed., Quito Ecuador, *Boletín de Acción Ecológica, Alerta Verde*, 2012, vol 1 n° 151, pp 31-35, [En línea]

[01/12/2015]

<http://www.prenatal.tv/lecturas/ecuador/PLAGUICIDAS%20alerta151.pdf>

18. **ECUADOR, INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE CENSO.** *Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura.* Quito-Ecuador. 2014. pp 1-35. [En línea]

[14/01/2016]

http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2014/Modulo_Uso_y_Manejo_de_Agroquimicos.pdf

19. **ELDOR Alvin, CLARK Francis,** *Soil microbiology and biochemistry*, 2^{da} Edición, San Diego-Estados Unidos, A. Press, Ed., 1996, vol. 4, n°3, pp. 67-70

20. **EL SALVADOR, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO).** *Elaboración y Uso de Bocashi. Programa Especial para la seguridad alimentaria.* 2^{da} ed. El Salvador. 2011. pp. 4-9.

21. **ESCOBAR Celio.** *Elaboracion de Bocashi a partir de Bagazo de Caña de azúcar y comparación de su efecto en parcelas de pasto.* Universidad de Azuay, Facultad de Ciencia y Tecnología. Cuenca-Ecuador. 2014. p. 51.

22. **ESCOBAR Jorge.** *El método bocashi como alternativa para el manejo de los residuos orgánicos agrícolas.* Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas. 2^{da} ed Xalapa-México. 2014. p. 42

23. **ESPINOZA Azalea, VAQUERANO Bessie, et al.** Efectos de los plaguicidas en la salud y el ambiente en Costa Rica. 27^{va} ed. Costa Rica. 2003. Bustamante Ed. p. 36.

24. **FLORENTINO Adriana.** Métodos para medir el contenido de Agua en el suelo. *Venesuelos.* Edición 14. Caracas- Venezuela. 2011. pp. 48-70.

25. **GACIA Erika, ROLDÁN Fabio y GARZÓN Laura.** Evaluación de la bioestimulación (nutrientes) en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando respirometría. 1^{ra} ed. Vol. 16. Honduras. 2011. pp. 195-208. [En línea].

[11/02/2016]

<http://www.redalyc.org/pdf/3190/319027887015.pdf>

26. **GÓMEZ Sara, GUTIÉRREZ Diana, et al.** Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. 9^{na} ed. NOVA. Cundinamarca-Perú. 2008. Vol. 6. pp. 76-84. [En línea].
- [11/02/2016]
- http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART8_PSEUDO.pdf
27. **GOMEZ David y VÁSQUEZ Marco.** Abonos Orgánicos. *Producción orgánica de hortalizas de clima templado*. 1 Edición. Tegucigalpa- México. Buena Vida Ed. 2011. p. 9.
28. **GOODMAN Byron, LATE Allison, et al.** Xenobiotics: Their activity and mobility in plants and soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1^{ra} ed. Colorado- USA. Vol. 59. 2006. pp. 1-20
29. **GUTIÉRREZ Jorge y PINZÓN Magda.** *Residuos de Plaguicidas Organoclorados, organofosforados y análisis fisicoquímico en piña (Ananas comosus L.)*. 3^{ra} ed. Armeida-Colombia. Agro Sur. 2011. pp. 199-211.
30. **HAMDIA Helmi, BENZARTI Saoussen, et al.** *Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions*. *Soil Biology & Biochemistry*. Paris-Francia. 2007. pp. 1926-1935.
31. **HATZINGER Paul, WHITTIER Casey, et al.** In-Situ and Ex-Situ Bioremediation Options for Treating Perchlorate in Groundwater. 2^{da} ed. 2002. *Remediation Journal*. pp. 69-86.
32. **JENKINS James, THOMSON Paul.** *OSU Extension Pesticide Properties Database*. 2^{da} ed. Oregon-USA. 1999. pp 1-20.
33. **JOHN Richard, BARR Willson, et al.** *Strategies for biological monitoring of exposure for contemporary-use pesticides*. 2^{da} ed. Washington-USA. *Toxicology and Industrial Health*. Vol 21. 1999. pp 169–180.
34. **JUAN Antonio, PICO Yelson y FONT Giant.** *Revisión de los métodos de determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en alimentos*. 1^{da} ed. La concepcion- Chile. *Toxicol*. Vol 6. 2003. pp 166-175.

35. **LARSEN Øivind, LIEN Torleiv, et al.** Dissimilatory sulfite reductase from *Archaeoglobus profundus* and *Desulfotomaculum thermocisternum*: phylogenetic and structural implications from gene sequences. *Extremophiles*, Munich-Alemania, 1999, vol. 3, no 1, pp. 63-70. [En línea]

[2015/12/16]

<http://www.genomed-dna.com/literatur/63.pdf>
36. **MALGHANI Saadatullah, CHATTERJEE Nivedita, et al.** *Isolation and identification of profenofos degrading bacteria*. 1^{ra} ed. Sao Pablo-Brasil. Vol 4. 2009. pp 893-900. [En línea]

[14/01/2016]

<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v40n4/v40n4a21.pdf>
37. **MARTÍN Jesús Sánchez.** Biorremediación. *Fundamentos y aspectos microbiológicos, Industria y Minería*, 1^{er} ed, Oviedo-Argentina, ASM Press, 2003, vol. 351, n° 3, pp. 12-16 [En línea]

[02/02/2016]

http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/109919/mod_resource/content/0/Biorremediacion%202.pdf
38. **MATURANA, Humberto, et al.** *Situación y Perspectivas de la Agricultura y de la Vida Rural en las Américas: Evolución de la agricultura y la seguridad alimentaria en las Américas: Referentes estadísticos e indicadores seleccionados, 1986-1990/1991-1999/2000-2001*. Segunda Edición, San José-Costa Rica. Giro Editores Ltda., 2001, pp. 204-210.
39. **McDOUGALD Diane, SCOTT Rice, et al.** *Nonculturable: adaptation or debilitation?*. 1^{ra} ed. Chicago-USA. FEMS Microbiology Ecology. Vol 25. 1998. pp 1-9.
40. **MEXICO, COMISION INTERSECRETARIAL PARA EL CONTROL DEL PROCESO Y USO DE PLAGUICIDAS, FERTILIZANTES Y SUSTANCIAS TÓXICAS (CICOPLAFEST).** *Catálogo Oficiañ de Plaguicidas*. 5^{ta} ed. México D.F.-México. 1991. [En línea]

[12/01/2016]

<http://www.cesaveg.org.mx/html/inocuidad/plaguicidas/Catalogo%20de%20Plaguicidas/INICIO.pdf>

41. **MOHAMMAD Habin y VARELA Susyn.** *Insecticidas Organosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente.* 1^{ra} ed.. Madrid-España. Vol. 5. 2008. Culcyt. pp 5-17.
42. **MONTAÑO Mariano, RESABALA Carola, et al.** *Inventario de Plaguicidas COPs en el Ecuador.* 1^{ra} ed. Quito-Ecuador. 2004. pp 21-31.
43. **MORGAN Philip y ROBERT Watkinson.** Factors limiting the supply and efficiency of nutrient and oxygen supplements for the in situ biotreatment of contaminated soil and groundwater. Detroit-USA. Elsevier. Vol 26.1992. pp 73-78. [En línea]

[14/01/2016]

<http://www.sciencedirect.com.sci-hub.io/science/article/pii/S0043135492901131>

44. **MOSQUERA Byron,** Manual para elaborar y aplicar abonos y plaguicidas orgánicos. *Abonos Orgánicos protegen el suelo y garantizan alimentación sana,* 1^{era} ed. Lima-Perú, Gunther Edit, 2010, vol. 23, n° 15, pp. 3-15.
45. **MULLA Mir y MIAN Lal,** Biological and environmental impacts of the insecticides malathion and parathion on nontarget biota in aquatic ecosystems, *Residue Reviews*, 3^{era} ed. New Yor-Estados Unidos, F. Gunther, & J. D. Gunther, 1981. vol. 78, n°32, pp. 101-135. [En línea]

[28/11/2015]

doi:10.1007/978-1-4612-5910-7_5

46. **ÑUSTEZ Diana.** *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible,* 1^{ed} ed., Pereira-España, España ed. ltda., 2012, vol. 3, n° 12, p. 30
47. **OLEA Nicolas,** *Pesticidas, Plaguicidas, Fitosanitarios, Agroquímico,* Medicina Interna de la Universidad de Granada , Unidad de Radiología del Hospital Clínico de Granada, Monografía, Granada-España, 2002, pp. 1-10.

48. **OROSCO Verdezoto y SORIA Marcela**, *Biorremediación de vegetación contaminada con petróleo por derrames en el campamento Guarumo-Petroproducción*, Tesis de Grado, ESPOCH, Escuela de Ciencias Químicas, Riobamba-Ecuador, 2008, pp. 35-40, [En línea]
[28/10/2015]
<http://www.dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/225/1/236T0009.pdf>
49. **PALACIOS Nava, PAZ Román et al**, Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. *salud pública de México*, 1^{era} ed, Mexico DF.-Mexico, 1999, vol. 1, n° 41. pp. 35-45. [En línea]
[01/12/2015]
<http://www.scielosp.org/pdf/spm/v41n1/41n1a06.pdf>
50. **PICADO José**. *Elaboración de un abono tipo "Bocashi" a partir de desechos orgánicos y sub producto de industria Lactea (Lacto Suero)*, Tesis, Universidad de San Buenaventura Cali, Ingeniería Agroindustrial ,Cali-Colombia, 2005, pp. 25-28 .
51. **PIÑERO Mayo**, *Aplicacion de Programas Para El Mejoramiento de La Calidad E Inocuidad En La Cadena de Suministro de Frutas Y Hortalizas: Beneficios Y Desventajas*, 1^{era} ed, Roma-Italia, Roma FAO, 2007, vol. 13, n°4, pp. 34-37.
52. **RAMÍREZ Juan y LACASAÑA Matias**. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 2001, vol. 4, no 2, p. 67-75.
53. **RAMOS AGÜERO, David, et al**. Bocashi: abono orgánico elaborado a partir de residuos de la producción de plátanos en Bocas del Toro, Panamá. *Cultivos Tropicales*, 2^{da} ed. Bocas del Toro-Panamá, Cultrop, 2014, vol. 35, no 2, pp. 90-97.
54. **RESTREPO Jairo**, *Abonos orgánicos fermentados: experiencia de agricultores en Centroamérica y Brasil*, 2^{da} ed, Brasilia-Brasil, CR, OIT-CEDECO, 1996, pp. 123-126.
55. **RÍOS, R**. Estudio de la Estimulación Biológica Para el Tratamiento de Residuos de Perforación Petrolera Empleando Lisímetros. *Proyecto de grado de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, México DF-México*, 2005, p. 37

56. **ROBLES GONZÁLEZ, Ireri, et al.** Bioremediation of a mineral soil with high contents of clay and organic matter contaminated with herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid using slurry bioreactors: effect of electron acceptor and supplementation with an organic carbon source. *Process Biochemistry*, 2^{da} ed, México DF.-México, 2006, vol. 41, no 9, pp. 1951-1960. [En línea]
- [01/12/2015]
- <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511306001589>
57. **RODRIGUEZ Sixto, GÁLVEZ Julio et al.** Degradación de Plaguicidas. *Programa Nacional de Prevección y Control de Intoxicaciones por Plaguicidas*, 2^{da} ed, Buenos Aires, Argentina, vol. 2, 2012, pp. 269-273 [En línea]
- [03/11/2015]
- <http://www.msal.gob.ar/>.
58. **ROMANO Mozo.** Sustancias que alteran el sistema hormonal, Guía de campaña. 1^{er} ed, Madrid-España, Marqués de Leganés, 2014, vol 4, n° 6. pp. 1-31.
59. **SOTO, Gabriela., et al.** *Abonos organicos para la produccion sostenible de tomate. Proyecto validacion de tecnologias de bajo insumos para la produccion sostenible de tomate en sistemas de laderas.* Ministerio de Agricultura y Ganaderia, Primera Edición, Turrialba-Costa Rica, CATIE Corporativo, 2002, pp. 9-11
60. **SUIZA, WORLD HEALTH ORGANIZATION,OMS.** *Public Health Impact of Pesticides used in agriculture.* Primera Edición, Ginebra-Suiza, OMS, 1990, pp. 61-64 [En línea]
- [2015/12/16]
- <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39772/1/9241561394.pdf>
61. **SUIZA, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, OMS.** *Consecuencias Sanitarias del Empleo de Plaguicidas en la Agricultur*, 1^{era} ed., Ginebra-Suiza, OMS, 1992, vol. 1, n° 3, pp. 24-30.

62. **SULTATOS, Lester G.** Toxicología en los mamíferos de los plaguicidas organofosforados. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Primera Edición*, New Jersey-Estados Unidos, Mortimer House. 1994, vol. 43, n ° 3, p. 271-289. [En línea]
[2015/12/16]
<http://dx.doi.org/10.1080/15287399409531921>
63. **TORRES, Duilio; CAPOTE, Tarciso.** Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Revista Ecosistemas, Primera Edición, Caracas-Venezuela, Creative Commons Attribution, 2004, Vol. 13, n. 3; pp. 2-6,*
64. **USA, ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA).** *Guia del Ciudadano: Atenuación Natural.* 2^{da} ed. Ohio-USA. 1996. pp. 1-4. [En línea]
[11/02/2016]
<http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/10002T06.TXT?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1995+Thru+1999&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&>
65. **USA, AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR).** *Public Health Statement for DDT, DDE, and DDD.* Division of Toxicology. 3^{ra} ed. Atlanta-USA. 2002. pp. 1-9 [En línea]
[12/01/2016]
<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp35-c1-b.pdf>
66. **USA, AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR).** *Pesticide contamination of residential soil.* U.S. Department of health and human services. 6^{ta} ed. Atlanta-USA. 2005. pp. 1-9. [En línea]
[12/01/2016]
<http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/PesticideContamination120805/PesticideContaminationSoilHC120805.pdf>

67. **USA, ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA).** *Guides to Pollution Prevention, The Pesticide Formulating Industry.* 2^{da} ed. Ohio-USA. 1990. pp. 1-115. [En línea]

[11/02/2016]

<http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/30004DN3.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1986%20Thru%201990&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQField>

ANEXOS

ANEXO 1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE ING. EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

Fecha

ENCUESTA: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN “Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el Sector Gatazo Zambrano Cantón Colta Provincia de Chimborazo”.

Introducción: La presente encuesta se realiza con la finalidad de determinar principalmente el tipo de pesticida más utilizado y también las características de cultivo de la zona. Con la información que se obtenga de esta encuesta, se obtendrá los datos iniciales para realizar la Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el Sector Gatazo Zambrano Cantón Colta Provincia de Chimborazo.

¿Qué productos cultiva en su terreno?

¿Utiliza algún tipo de pesticidas?

- Si

- No

¿Qué tipo de pesticidas usa?

¿Cada cuánto usa pesticidas?

¿Qué cantidad de pesticidas emplea?

¿Cuál ha sido el patrón de siembre en estos 2 últimos años?

¿Sabe usted que el uso excesivo de pesticidas contamina el suelo?

- Si
- No

¿Ha utilizado, utiliza o piensa utilizar algún método para reemplazar los pesticidas?

¿Cuál es el método?

- Si
- No

¿Cuál? _____

¿Utiliza algún método para eliminar los pesticidas de su suelo? ¿Qué método?

- Si
- No

¿Cuál? _____

¿Ha realizado algún tipo de análisis en su suelo? ¿Cuál?

- Si
- No

¿Cuál? _____

ANEXO 2

Tabulación de la encuesta realizada a los pobladores de Gatazo Zambrano

1. ¿Qué productos cultiva en su terreno?

Según las encuestas realizadas a los 150 pobladores de Gatazo Zambrano, los productos que son cultivados en mayor cantidad son Berenjena, Brócoli, Coliflor, Culantro, Lechuga, Manzanilla, Papas, Remolacha, entre otros. Donde los mismos son sembrados en diferentes épocas por cada uno de los pobladores.

2. ¿Utiliza algún tipo de pesticidas?

Tabla 1: Cantidad de pobladores que utilizan pesticidas

Si	No
149	1

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Casi en su totalidad los pobladores emplean pesticidas de origen químico, ya que en su criterio es la única forma de prevenir y eliminar las plagas de los cultivos; siendo la excepción uno donde emplea productos orgánicos para la eliminación de plagas.

3. ¿Qué tipo de pesticidas usa?

Al realizar las encuestas a los 150 pobladores, en donde los pesticidas con mayor aplicación en los sembríos son: Decis, Diazol, Lancha, Curacron, Detan, Patron, Skipper, Korso, Rhodax, Rebolt, Afalon, Linurex, Glifosfato, Galigan, entre otros. En donde en su mayoría eran utilizados Curacron y Diazol para eliminar plagas de pulgón y otros insectos que afecten a las plantaciones; cada uno de los pesticidas es utilizado dependiendo del tipo de planta sembrada, época, plagas y otros factores que se presenten en el momento de la aplicación.

4. ¿Cada cuánto usa pesticidas?

La aplicación de los pesticidas no se basa en un criterio técnico, ya que los pobladores al observar cierta presencia de plagas aplican estos productos, así también dependiendo de su economía y de la temporada en la que se encuentran, siendo aplicados por algunos pobladores en época de invierno cada 8 días y en época seca cada 15 días.

5. ¿Qué cantidad de pesticidas emplea?

La cantidad de pesticidas que es aplicado en un solar por cada comunero es diferente, siendo lo más común de 50- 100 L, pero llegando a veces a ser aplicado 200 L por solar; esto debido a que los pobladores no siguen las recomendaciones que el técnico les proporciona y basándose en criterios propios.

6. ¿Cuál ha sido el patrón de siembra en estos 2 últimos años?

El patrón de siembra es muy variado, ya que dependiendo de la economía de los agricultores se reposa el suelo; en su mayoría los pobladores proporcionan 15 días de descanso al suelo donde se agrega abono para que recupere los minerales necesarios para la próxima siembra, existen agricultores que dejan el suelo por un mes de descanso, y también existen pobladores que después de la cosecha inmediatamente preparan el suelo para la próxima siembra.

7. ¿Sabe usted que el uso excesivo de pesticidas contamina el suelo?

Tabla 2: Pobladores que conocen que el uso excesivo de pesticidas contamina el suelo

Si	No
83	67

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.
Fuente: Datos recolectados por el investigador

La mayoría de los agricultores están conscientes de que el uso excesivo de pesticidas perjudica la calidad del suelo, pero debido a su economía y a que es su única fuente de ingresos no le dan la debida importancia e ignoran la información que poseen.

**8. ¿Ha utilizado, utiliza o piensa utilizar algún método para reemplazar los pesticidas?
¿Cuál es el método?**

Tabla 3: Pobladores que han utilizado, utilizan o piensan utilizar métodos diferentes a los pesticidas.

Si	No
15	135

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Más del 50% de los pobladores no utilizan o piensan en utilizar productos orgánicos en remplazo de los pesticidas o productos químicos, mientras que una pequeña cantidad si lo hacen ya que están convencidos que así sus productos serán más sanos y no afectaran a la calidad del suelo.

9. ¿Utiliza algún método para eliminar los pesticidas de su suelo? ¿Qué método?

Tabla 4: Pobladores que utilizan productos para eliminar los pesticidas del suelo

Si	No
5	145

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador

Solamente el 3,3% de los agricultores utilizan métodos para la eliminación de pesticidas del suelo, en donde el producto que es utilizado para este fin es la cal.

10. ¿Ha realizado algún tipo de análisis en su suelo? ¿Cuál?

Tabla 5: Pobladores que han realizado análisis de suelo en sus solares

Si	No
20	130

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador

El 87% de los agricultores no han realizado algún tipo de análisis de suelo ya sea químico, físico o microbiológico, provocando con ello una falta de conocimiento de la situación en la que se encuentra el suelo a cultivarse; y el 13% restante lo han realizado pero no en los últimos periodos.

ANEXO 3

Variabes Control de la Etapa 1

Tabla: Control de temperatura del tratamiento A

Días Control Biopila	Temperatura (°C)		
	A1	A2	A3
1	45	42	40
2	43	42	38
3	38	36,5	36
4	36,3	36	36,3
5	32	34,5	33
6	33	35	34
7	35,8	35	33
8	34	34,5	32
10	27	26	27
11	21	20	21
12	17	16	16
13	17	15	14
14	16	16	15
15	16	15	15
16	19	18	18
17	17	18	18
19	17	17	18
21	19	17	18
22	16	15	16
23	18	18	18
24	20	18	20
26	18	18	17
27	17	20	19
28	17	19	18
30	21	20	20
32	21	20	20
33	22	22	21
34	21	22	21
35	21	21	20
36	18	17	17

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

Tabla: Control de la Temperatura del tratamiento B

Semana Biopila		Temperatura (°C)		
		B1	B2	B3
1		18	20	22
2		20	19	20
3		18	18	20
4		19	18	18
5		17	16	17
6		18	19	18
7		18	19	17

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

Tabla: Control de la humedad del tratamiento B

Semana Biopila		Humedad (%)		
		B1	B2	B3
1		22,5	22,4	21,7
2		24,3	24,6	23,4
3		27	26,4	25,5
4		31	34,6	32,3
5		33,4	35	35,3
6		32	37,5	35,6
7		42,7	39,2	41,1

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

Tabla: Control del pH del tratamiento B

Semana Biopila		B1	B2	B3
		1	7	7
2		7	7	7
3		7	7	7
4		7	7	7
5		7	7	7
6		8	7	8
7		8	8	8

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

ANEXO 4

VARIABLES CONTROL DE LA ETAPA DE OPTIMIZACIÓN

Tabla: Control de temperatura

		Temperatura (°C)					
Días Control		O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
	Biopila						
1		19	20	18	19	19	18
2		28	26	28	26	26	24
3		26	25	26	25	24	23
4		23	23	22	22	20	19
5		26	26	26	24	25	26
6		23	22	20	20	20	19
7		24	24	22	23	23	24

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

Tabla: Control de la humedad

		Humedad (%)					
Días Control		O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
	Biopila						
1		12,72	6,39	19,49	9,73	9,86	10,41
2		19,7	19,9	29,7	29,9	32,3	28,3
3		19,8	20,3	31,4	30,8	33,3	28,6
4		19,8	22,1	27,5	27,6	28,7	32,0
5		30,9	34,4	46,5	40,0	37,4	40,7
6		26,8	29,6	39,8	38,5	39,6	42,3

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.

Tabla: Control del pH

		pH					
Días Control		O1	O2	X1	X2	Y1	Y2
	Biopila						
1		8	8	8	8	8	8
2		7	7	7	6	7	7

3	7	7	7	7	6	7
4	7	7	6	6	6	6
5	7	7	7	7	7	7
6	7	7	7	7	7	7
7	7	7	7	7	7	7

Realizado por: Echeverría A.; Romero J.

Fuente: Datos recolectados por el investigador.