



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“EFECTO DEL TIPO DE SUELO EN LA VIDA ÚTIL DE BIOMEZCLAS
PARA LA DEGRADACIÓN DEL PLAGUICIDA MANCOZEB EN
CLIMAS CÁLIDOS”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis de Maestría

Para obtener el grado en:

Maestría en Ciencias Ambientales

Presenta:

Fabiola Jazmín Jiménez Hernández

Director:

Dr. Randy Howard Adams Schroeder

Villahermosa, Tabasco, México

Mayo, 2022



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MARZO 29 DE 2022

**C. FABIOLA JAZMÍN JIMÉNEZ HERNÁNDEZ
PAS. DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales titulado: **"EFECTO DEL TIPO DE SUELO EN LA VIDA ÚTIL DE BIOMEZCLAS PARA LA DEGRADACIÓN DEL PLAGUICIDA MANCOZEB EN CLIMAS CÁLIDOS"**, asesorado por el Dr. Randy Howard Adams Schroeder, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado integrado por el Dr. José Edmundo Rosique Gil, M.J.P.A. Sergio Ramos Herrera, Dr. Randy Howard Adams Schroeder, Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez y Dra. Consuelo del Carmen Bautista Muñoz.

Por lo cual puede proceder a concluir con los trámites finales para fijar la fecha de examen.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: "EFECTO DEL TIPO DE SUELO EN LA VIDA ÚTIL DE BIOMEZCLAS PARA LA DEGRADACIÓN DEL PLAGUICIDA MANCOZEB EN CLIMAS CÁLIDOS", de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 29 de Marzo de Dos Mil Veintidós.

AUTORIZO



FABIOLA JAZMÍN JIMÉNEZ HERNÁNDEZ



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias
Biológicas

Jefatura de Posgrado

México
2021



Villahermosa, Tabasco a 29 de noviembre de 2021.

C. FABIOLA JAZMÍN JIMÉNEZ HERNÁNDEZ
EST. MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad, y por instrucciones de la Dirección de Posgrado, se implementó la revisión de los documentos recepcionales (tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica.

Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad, el Reglamento General de Estudios de Posgrado, el Código Institucional de Ética para la Investigación y con los requerimientos para los posgrados en el PNPC del CONACyT.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones y el reporte de originalidad de su documento de tesis. Con el objetivo de fortalecer y enriquecer el programa de posgrado, el Coordinador Académico de la Maestría en Ciencias Ambientales, realizó la revisión del documento en la plataforma iThenticate, obteniendo el reporte de originalidad, el índice de similitud y emitió las siguientes sugerencias y recomendaciones para dar seguimiento en el documento de tesis del proyecto de investigación: **"Efectos del tipo de suelo en la vida útil de biomezclas para la degradación del plaguicida Mancozeb en climas cálidos"**.

OBSERVACIONES:

1. El índice de similitud obtenido fue de 2%, el cual se considera por debajo del estándar (15 - 20%) de tolerancia de acuerdo a las Políticas y Lineamientos para el uso y manejo del Software Antiplagio de la UJAT. Sin duda, se confirma la originalidad de la investigación.

C.C.P. ARCHIVO

Consortio de
Universidades
Mexicanas

UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR



KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6407. Correo e: posgrado.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**División
Académica
de Ciencias
Biológicas**

Jefatura de Posgrado

México
2021
Año de la
Indagación



2. El índice de similitud es menor de 1%, en cada uno de los referentes, y corresponden con la fuente primaria de citación. (p.e. revistas.unal.edu.co, biblioteca.inifap.gob.mx:8080)
3. En la sección de marco teórico se encontraron las mayores similitudes, se sugiere, en la medida de lo posible, fomentar una redacción propia que disminuya estas coincidencias. Se proponen las siguientes recomendaciones:
 - a. Parfrasear aquellos textos (ver Documento con Observaciones) con número de palabras coincidentes mayores a 40 (ver el número de palabras coincidentes en el informe).
 - b. Si es requerido presentar citas textuales, para referir información técnica o metodológica, indicarlo empleando el formato correcto para citar respetando los derechos de autor.
4. Se adjunta el informe de originalidad de la tesis de la C. Fabiola Jazmín Jiménez Hernández a través de la herramienta Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"


DR. ALLAN KEITH CRUZ RAMÍREZ
JEFATURA DE POSGRADO

UJAT



**DIVISION ACADEMICA
CIENCIAS BIOLÓGICAS
JEFATURA DE POSGRADO**

C.C.P. Dr. Randy Howard Adams Schroeder. Director de tesis.

C.C.P. ARCHIVO

Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6407. Correo e: posgrado.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

Efectos del tipo de suelo en la vida útil de biomezclas para la degradación del plaguicida Mancozeb en climas cálidos

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	revistas.unal.edu.co Internet	80 palabras — 1%
2	biblioteca.inifap.gob.mx:8080 Internet	48 palabras — < 1%
3	fr.slideshare.net Internet	37 palabras — < 1%
4	es.slideshare.net Internet	30 palabras — < 1%
5	documents.mx Internet	27 palabras — < 1%
6	www.clubensayos.com Internet	27 palabras — < 1%
7	portal.amelica.org Internet	22 palabras — < 1%
8	revistas.ujat.mx Internet	18 palabras — < 1%
9	www.scielo.org.co Internet	17 palabras — < 1%

Resumen

El Mancozeb es un fungicida perteneciente al grupo de etileno-bis-ditiocarbamato (EBDC), es inestable en presencia de humedad, oxígeno y en sistemas biológicos; se degrada entre 1-2 días a etilentiourea (ETU), el cual tiene efectos perjudiciales para la salud y el ambiente. Por lo que se implementó un método preventivo para tratar aguas residuales de la fumigación, la biocama. La cual tiene como componente activa la biomezcla, que está compuesto por paja (50%), suelo (25%) y turba (25%) en la Mezcla Original Sueca; donde ocurre la degradación del xenobiótico debido a la presencia de los microorganismos que excretan enzimas ligninolíticas. Durante la investigación realizada en el estado de Tabasco, se emplearon los sustratos de cáscara de cacao, astilla de pino, suelo férrico y suelo aluvial para realizar las biomezclas y comparar su efectividad y extensión de la vida útil. Se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado 6x3, donde se contaminaron las biomezclas y los suelos con Mancozeb (800 mg/L) cada 15 días por 429 días, y su respectivo control con agua en las biomezclas. Se caracterizaron los suelos para verificar su clasificación textural y el tipo de suelo con WRB. Los tratamientos fueron caracterizados por la concentración de ETU (mg/L), pH, materia orgánica, carbono orgánico total, nitrógeno total, relación C/N, densidad poblacional de los microorganismos celulolíticos aerobios (LOG células/g.s.) y toxicidad por *Eisenia foetida*. Los suelos fueron clasificados en la textura como arcillosos y en su clasificación WRB pertenecieron al grupo Fluvisol y Acrisol en el suelo aluvial y el suelo férrico respectivamente. Con base a la evaluación del xenobiótico, los parámetros permitieron estimar el tiempo de vida útil de las biomezclas a pesar de las circunstancias del COVID-19, la cual pueden tener un tiempo de utilidad >14 meses. La concentración de ETU no rebasó el límite recomendable (<1 mg/L) ni presentó porcentajes >10% en la mortandad de los organismos *Eisenia foetida*. La cuantificación de los microorganismos celulolíticos aerobios fueron similares tanto en los suelos como en las biomezclas contaminadas (2.85-3.29 LOG células/g.s.), teniendo más en presencia del suelo férrico. Los resultados permitieron conocer la interacción del tipo de suelo con la biomezcla y su degradación con el Mancozeb, siendo el suelo férrico más eficaz debido a su baja disminución de la materia orgánica, su nula mortandad en la toxicidad y su efectividad en la degradación de ETU (No detectado) durante la evaluación del xenobiótico.

Palabras claves: ETU, vida útil, microorganismos celulolíticos, suelo férrico, suelo aluvial.

Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1. Plaguicidas	2
2.1.1. Mancozeb y Etilentiourea (ETU)	3
2.2. Biocama	4
2.2.1. Composición y función de la biomezcla	5
2.3. Parámetros propuestos para evaluar en una biocama.....	6
3. ANTECEDENTES	9
4. JUSTIFICACIÓN.....	12
5. OBJETIVOS	13
5.1. Objetivo general.....	13
5.2. Objetivos específicos	13
6. METODOLOGÍA	14
6.1. Modelo experimental	16
6.2. Análisis fisicoquímicos	20
6.2.1. Textura	20
6.2.2. Humedad	22
6.2.3. pH.....	22
6.2.4. Materia orgánica por calcinación y carbono orgánico total	22
6.2.5. Nitrógeno amoniacal	23
6.2.6. Determinación de la concentración (mg/L) de ETU por espectrofotometría.....	23
6.3. Análisis biológicos.....	24
6.3.1. Aislamiento de la actividad microbiana	24

6.3.2. Cuantificación de microorganismos celulolíticos aerobios.....	24
6.4. Toxicidad	26
6.4.1. Prueba de toxicidad por <i>Eisenia foetida</i>	26
6.5. Análisis de resultados	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
7.1. Clasificación textural de los suelos y su descripción.....	27
7.2. Caracterización inicial de los sustratos orgánicos, suelos y las biomezclas	28
7.3. Evaluación de las biomezclas y los suelos en la degradación del Mancozeb	30
7.3.1. Porcentaje de humedad.....	31
7.3.2. pH.....	33
7.3.3. Materia orgánica y carbono orgánico total.....	34
7.3.4. Nitrógeno total	36
7.3.5. Relación C/N.....	37
7.3.6. Concentración de ETU.....	38
7.3.7. Toxicidad por <i>Eisenia foetida</i>	40
7.3.8. Conteo de microorganismos celulolíticos aerobios mediante la técnica del Número Más Probable (NMP).....	42
7.3.9. Suposición de la extensión de la vida útil.....	45
7.4. Correlación de los parámetros evaluados en el proyecto de investigación ..	48
8. Conclusión	50
8.1. Observaciones	51
9. BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXO 1. Valores promedio del LOG NMP (Células/g.s) en las biomezclas y suelos al finalizar el composteo de 50 días para la selección de las diluciones utilizadas durante la evaluación.....	61

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. <i>Combinaciones del suelo y de la materia orgánica rica en lignina en la biomezcla, y controles de cada una en la unidad experimental con el fungicida Mancozeb.</i>	16
Cuadro 2. <i>Parámetros de caracterización para los sustratos, las biomezclas y sus lixiviados.</i>	19
Cuadro 3. <i>Clasificación del suelo con referencia al pH de la muestra (NOM-021-SEMARNAT-2000).</i>	22
Cuadro 4. <i>Ejemplo de corrección del número característico en el método de Número Más Probable para la lectura en la tabla de NMP de De Man, 1983.</i>	25
Cuadro 5. <i>Densidad poblacional de microorganismos de suelo estimado por el método NMP (De Man, 1983 tomado de Alef y Nannipieri, 1995).</i>	25
Cuadro 6. <i>Clasificación textural y WRB de los suelos.</i>	27
Cuadro 7. <i>Parámetros fisicoquímicos iniciales de los sustratos orgánicos, suelos y las biomezclas.</i>	29
Cuadro 8. <i>Comparación de los parámetros identificados como indicadores de referencia y en la eficiencia de degradación de ETU en las biomezclas a los 14 meses, obtenidos en el estudio y reportados por Balcázar López (2019).</i>	46
Cuadro 9. <i>Matriz de la correlación de Pearson para los parámetros %COT (carbono orgánico total), %Humedad, %MO (materia orgánica), %NT (nitrógeno total), C/N (relación C/N), ETU (mg/L), densidad poblacional de los microorganismos celulolíticos aerobios (NMP) y pH en la degradación del xenobiótico en la biomezcla con suelo aluvial y férrico con Mancozeb.</i>	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. a) Diagrama de la ruta ambiental del fungicida Mancozeb y la formación de sus compuestos químicos secundarios en el ambiente (agua, suelo y biota), (Ruiz Suárez, 2009; Xu, 2000), b) Estructura química de los compuestos secundarios del Mancozeb.	4
Figura 2. Composición de la biocama.	5
Figura 3. Suelos y sustratos orgánicos utilizados en las biomezclas: a) suelo aluvial, b) suelo férrico, c) astilla de pino y d) cáscara de cacao.	14
Figura 4. Ubicación en el mapa satelital de los lugares donde serán colectados: la astilla de pino () en el A) Vivero “El Dorado” de la SERNAPAM vinculado con la DACBiol-UJAT;	

la cáscara de cacao () y el suelo aluvial () en la B) Ranchería Miahuatlán 2da. Sección en el Mpo. de Cunduacán; y el suelo férrico () en el C) Pueblo Nuevo de las Raíces, Teapa.	15
Figura 5. Combinación de los sustratos orgánicos y suelos para la formación de las biomezclas; a) homogeneización de la biomezcla 1, b) biomezcla 2.....	16
Figura 6. Estructura de la unidad experimental a escala laboratorio.	17
Figura 7. Representación del a) diseño experimental completamente aleatorizado, y de las b) unidades experimentales. Donde #No. se refiere al número de la réplica, la letra C a las unidades experimentales contaminadas con Mancozeb y B a riego únicamente con agua.	18
Figura 8. Diagrama triangular de las clases texturales básicas del suelo según el tamaño de las partículas (Bolda y Dara, 2015).	21
Figura 9. Crecimiento vegetal en los tratamientos durante el período de inactividad (7 meses) debido a la contingencia COVID-19.	31
Figura 10. Cinética del porcentaje de humedad en las biomezclas y suelos durante 210 días (ANDEVA Factorial: $p < 0.001$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).	32
Figura 11. Condiciones atmosféricas de temperatura máxima y mínima, y humedad relativa anual en Villahermosa, Tabasco en un período de 01/10/1948 a 30/11/2019 (Weather Atlas, 2021; Servicio Meteorológico Nacional, 2021).	32
Figura 12. Cinética del efecto de pH en las biomezclas y suelos durante 210 días (ANDEVA Factorial: $p < 0.001$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).	33
Figura 13. Representación gráfica del porcentaje de la materia orgánica en las biomezclas y suelos entre el tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (ANDEVA Factorial: $p < 0.05$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).	35
Figura 14. Comparación gráfica del porcentaje de carbono orgánico total de los suelos y las biomezclas entre el tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (ANDEVA Factorial: $p < 0.05$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).	36
Figura 15. Cinética del porcentaje de nitrógeno total determinado mediante nitrógeno amoniacal durante 210 días, integrando la humedad en los tratamientos (promedio) a través	

del tiempo (Kruskal-Wallis, $p < 0.001$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento).....	37
Figura 16. Representación gráfica de la relación C/N de las biomezclas y suelos al tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (Kruskal Wallis, $p < 0.05$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento).....	38
Figura 17. Representación gráfica de la concentración de ETU (mg/L) durante 343 a 429 días durante la contaminación en los tratamientos con Mancozeb (Kruskal Wallis, $p < 0.001$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento). ND: no detectado.....	40
Figura 18. Porcentaje de mortandad de las lombrices californianas rojas (<i>Eisenia foetida</i>) en la prueba de toxicidad para los suelos y las biomezclas.	42
Figura 19. Representación visual de mortandad en la prueba de toxicidad con <i>Eisenia foetida</i>	42
Figura 20. Ejemplo de la medición del crecimiento celulolítico de los microorganismos diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} de izquierda a derecha en el inciso a) y b) en el tiempo 0 y 15 días. a) Suelo férrico (SFE) y b) Biomezcla 2 (SFE).....	43
Figura 21. Cuantificación de los microorganismos celulolíticos aerobios (LOG células/gramo de suelo) en las biomezclas y suelos durante 429 días en la evaluación de la contaminación con Mancozeb mediante la técnica del NMP (Kruskal-Wallis, $p > 0.05$).	44
Figura 22. Simulación extrapolar lineal en la vida útil con respecto a la materia orgánica de las biomezclas contaminadas evaluadas en el proyecto de investigación a los 900 días. 47	
Figura 23. Simulación extrapolar lineal de la vida útil con respecto al pH de las biomezclas contaminadas evaluadas en el proyecto de investigación a los 500 días.	48

1. INTRODUCCIÓN

En México se cultivan principalmente ocho variedades de banano con una producción de 2.3 millones de toneladas con un valor de 7.9 millones de miles de pesos. El estado de Tabasco se sitúa en el segundo lugar a nivel nacional (en las variedades de Dominico, Enano gigante, Macho y Valery), lo que representa el 26% de la producción nacional (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2018).

La producción comercial de bananos requiere un plan de manejo integrado para la enfermedad Sigatoka negra, ocasionada por la cepa fúngica en su fase sexual *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (1969) y su fase asexual *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet), (Marín, 2003), (Álvarez *et al.*, 2013; Orozco-Santos *et al.*, 2013). Se ha estimado que prevenir esta enfermedad abarca entre un 35 a 48% del total de costos de producción del cultivo. En la primera epidemia de la enfermedad, se presentaron pérdidas en la producción de fruta de 50 a 100% y a principios de la década de los 80, ocasionó la desaparición de una superficie cercana a las 2,000 hectáreas cultivadas en el estado de Tabasco (Orozco-Santos *et al.*, 2013). Debido a esto, se usan fungicidas preventivos que tienen como función básica evitar la enfermedad.

En el estado de Tabasco, el Mancozeb es aplicado entre 48 a 52 veces por año para prevenir la aparición de la Sigatoka negra (Mená-Espino y Couoh-Uicab, 2015). El Mancozeb es un fungicida que pertenece al grupo de etileno-bis-ditiocarbamato (EBDC), se utiliza para controlar o eliminar más de 400 especies de hongos patógenos. Es inestable en presencia de humedad y oxígeno, por lo que el ecosistema se degrada rápidamente a etilentiourea (ETU) (Roede y Miller, 2014). Las características químicas del Mancozeb no facilitan su movilidad a cuerpos de aguas subterráneas, sin embargo, su compuesto secundario (ETU) es altamente soluble, por lo que tiene potencial para moverse a través del suelo (Roede y Miller, 2014), lo que facilita la contaminación en cuerpos de agua. El ETU tiene características cancerígenas, mutagénicas, un amplio efecto antifúngico y genera desequilibrio nocivo entre los nutrientes en cultivos (Boopathy, 2000; Domínguez *et al.*, 2009). El Mancozeb está clasificado por la OMS como de peligro agudo mientras que el etilentiourea es considerado moderadamente peligroso (World Health Organization, 2010). Por lo que la contaminación puntual en la preparación del plaguicida puede ser perjudicial

para el ambiente. Por lo anterior expuesto, es necesario el empleo de un método preventivo y de remediación como son las biocamas.

La biocama consiste en un pozo con una profundidad de 60 cm en el suelo, en el fondo tiene una capa de 10 cm de arcilla impermeable, los 50 cm restantes de la biomezcla que consiste en paja (50%), suelo (25%) y turba (25%), y una capa final de césped que cubre la superficie total (Castillo *et al.*, 2008; Bozdogan *et al.*, 2014). La biocama ha sido adaptada de acuerdo con las condiciones climáticas de cada lugar. Diferentes estudios han demostrado que la implementación de las biocamas evitan la contaminación puntual de los plaguicidas mediante su degradación, ya que estimulan el crecimiento microbiano y la formación de las enzimas ligninolíticas (Castillo y Torstensson, 2007; Reichenberger *et al.* 2007; Castillo *et al.*, 2008; Bozdogan *et al.*, 2014).

Se considera que la composición y el tipo de materia orgánica presente en la biomezcla es crucial en la actividad de los microorganismos responsables de la degradación de los plaguicidas (Castillo y Torstensson, 2007; Reichenberger *et al.* 2007; Castillo *et al.*, 2008; Bozdogan *et al.*, 2014). Al respecto, se ha descrito que en Suecia el tiempo de vida útil de la biocama es entre seis a ocho años (Del Pilar C. y Pizzul, 2018) debido a las condiciones ambientales; en países más cálidos se ha reportado que el tiempo de vida útil entre un año y año y medio (Balcázar López, 2019), lo que se considera un problema técnico. Por ello, es necesario extender el tiempo de vida útil en condiciones ambientales como las de Tabasco, donde la temperatura media anual es de 33°C.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de dos tipos de suelos en las biomezclas para la degradación de Mancozeb y su impacto en la población microbiana. Además, se evaluó su mineralización del plaguicida a través de la medición de toxicidad en las biomezclas lombrices californianas (*Eisenia foetida*).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias químicas (orgánicas, inorgánicas o microbiológicas) líquidas o sólidas que se utilizan principalmente para controlar, eliminar o reducir plagas en la agricultura; siendo las principales los insectos, hongos y bacterias (Bedmar, 2011).

La persistencia de los plaguicidas está relacionada con la eficiencia de los procesos de transformación en condiciones naturales, mientras que el proceso de transporte está relacionado con las propiedades fisicoquímicas (Narvaes *et al.*, 2012). El pH altera el carácter iónico de numerosos compuestos orgánicos y, por lo tanto, su solubilidad. El potencial redox afecta la estabilidad química del Mancozeb, por lo que libera una gran cantidad de manganeso y zinc. El contenido de materia orgánica, porosidad, capacidad de intercambio iónico del suelo y la transformación de plaguicidas influyen en la movilidad y transferencia entre compartimientos (suelo-cuerpos de agua-aguas subterráneas), (Narvaes *et al.*, 2012).

2.1.1. Mancozeb y Etilentiourea (ETU)

Los ditiocarbamatos son actualmente los plaguicidas de mayor aplicación en la actividad agrícola, ya que son hidrolizados en el ambiente rápidamente. Presentan una gran inestabilidad química y tensión molecular y, por lo tanto, se degradan fácilmente mediante los procesos fotolíticos, degradación biológica e hidrólisis química.

El Mancozeb es fungicida, pertenece al grupo de etileno-bis-ditiocarbamato (EBDC); se utiliza para controlar o eliminar más de 400 especies de hongos patógenos. Es inestable en presencia de humedad, oxígeno y en sistemas biológicos; se degrada rápidamente a etilentiourea (ETU), (Figura 1a), (Roede y Miller, 2014). Las características del Mancozeb permiten que sea insoluble en solventes orgánicos, en cambio el ETU tiene potencial para moverse a través del suelo como resultado del escurrimiento del suelo (Roede y Miller, 2014), lo que facilita la contaminación en cuerpos de agua (Figura 1b). El ETU tiene características cancerígenas, mutagénicas. Además posee un efecto antifúngico amplio y genera un desequilibrio nocivo entre micronutrientes o macronutrientes en los cultivos (Boopathy, 2000; Domínguez *et al.*, 2009). Mientras el Mancozeb está clasificado por la OMS como probable peligro agudo, el etilentiourea es considerado como moderadamente peligroso (World Health Organization, 2010).

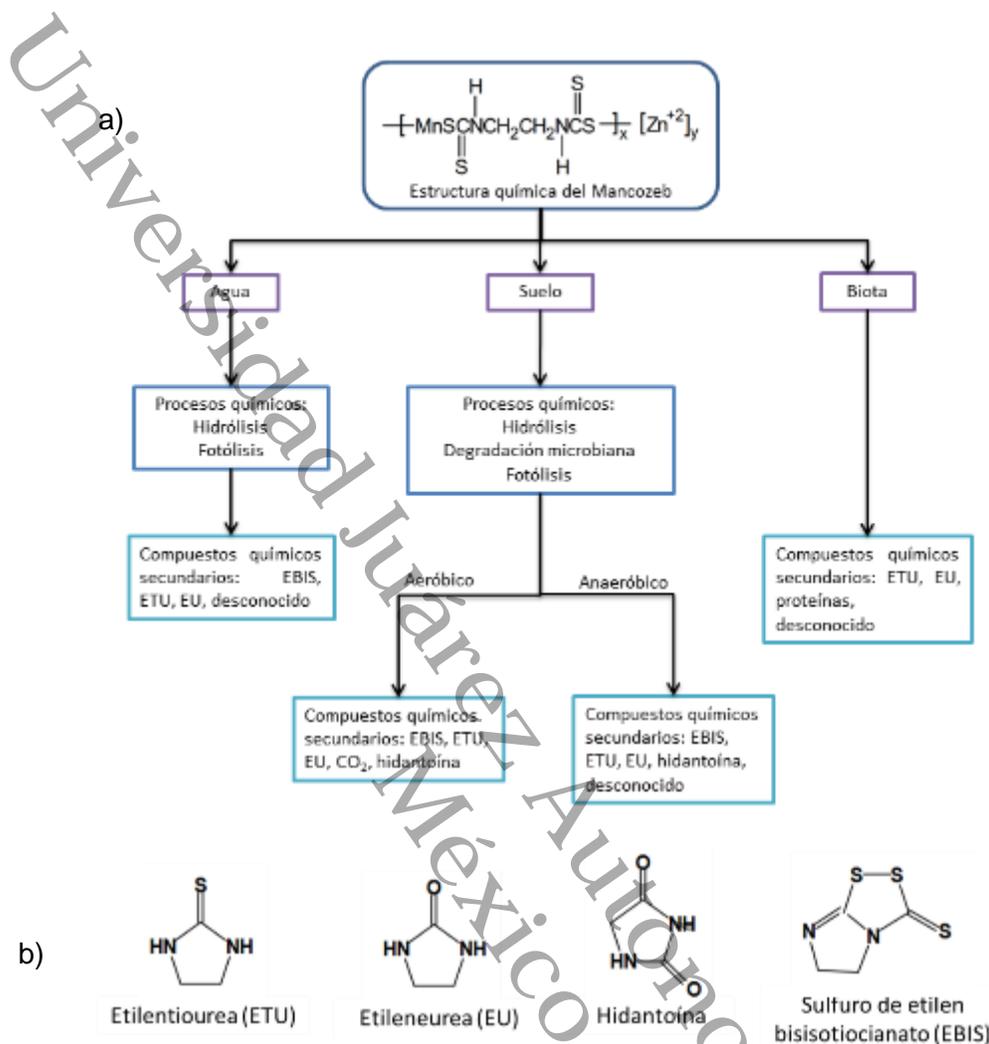


Figura 1. a) Diagrama de la ruta ambiental del fungicida Mancozeb y la formación de sus compuestos químicos secundarios en el ambiente (agua, suelo y biota), (Ruiz Suárez, 2009; Xu, 2000), b) Estructura química de los compuestos secundarios del Mancozeb.

2.2. Biocama

La biocama consiste en un pozo con una profundidad de 60 cm en el suelo que está aislado en el fondo por una capa de 10 cm de arcilla impermeable, y los 50 cm restantes son ocupados por la biomezcla, que consiste en paja (50%), suelo (25%) y turba (25%), y una capa final de césped que cubre la superficie total (Castillo *et al.*, 2008; Bozdogan *et al.*, 2014), (Fig. 2). La biocama ha sido adaptada de acuerdo con las condiciones climáticas de cada lugar mediante la sustitución de la paja y la turba con partes proporcionales de materia orgánica rica en lignina y materia orgánica humificada.

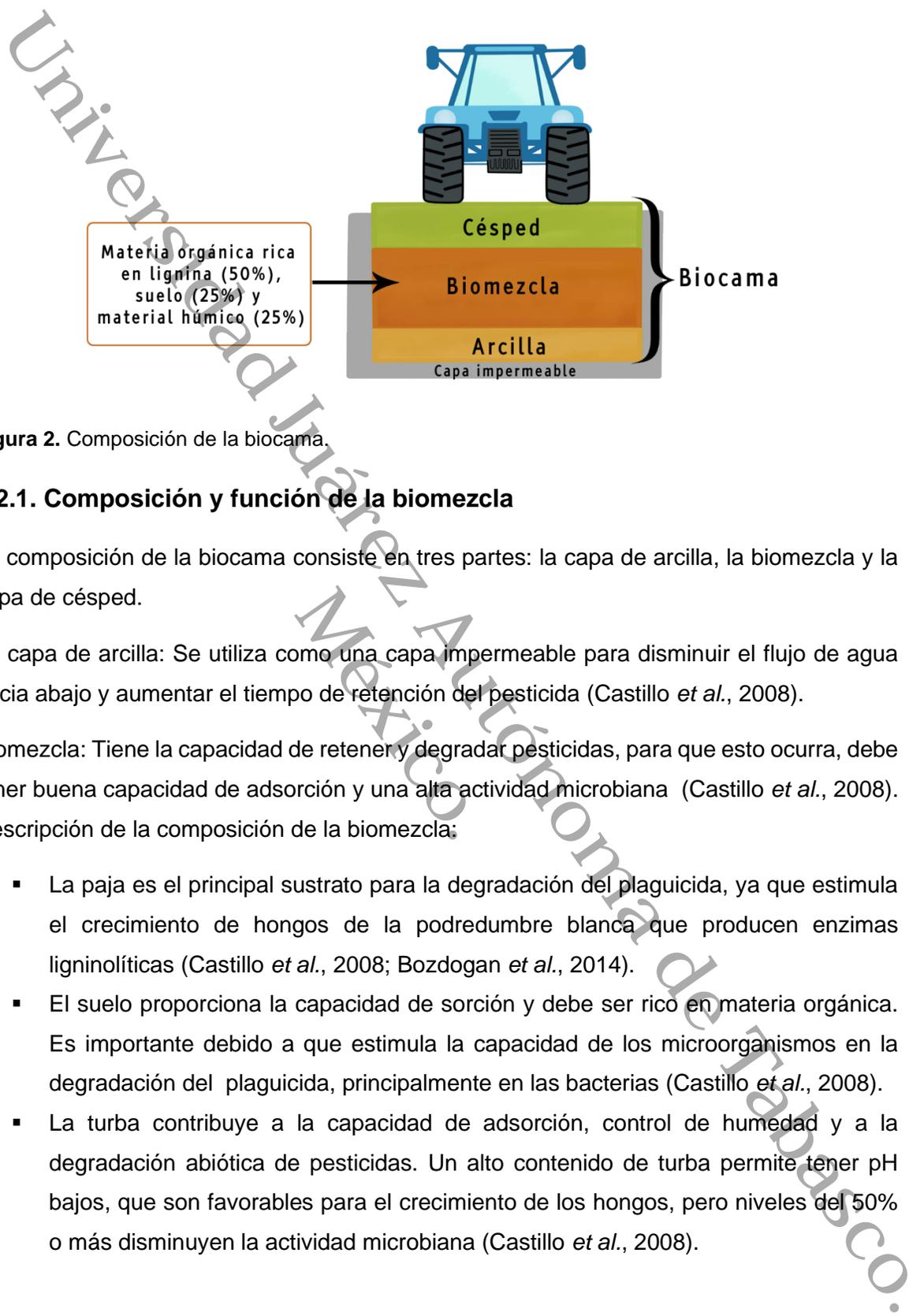


Figura 2. Composición de la biocama.

2.2.1. Composición y función de la biomezcla

La composición de la biocama consiste en tres partes: la capa de arcilla, la biomezcla y la capa de césped.

La capa de arcilla: Se utiliza como una capa impermeable para disminuir el flujo de agua hacia abajo y aumentar el tiempo de retención del pesticida (Castillo *et al.*, 2008).

Biomezcla: Tiene la capacidad de retener y degradar pesticidas, para que esto ocurra, debe tener buena capacidad de adsorción y una alta actividad microbiana (Castillo *et al.*, 2008).

Descripción de la composición de la biomezcla:

- La paja es el principal sustrato para la degradación del plaguicida, ya que estimula el crecimiento de hongos de la podredumbre blanca que producen enzimas ligninolíticas (Castillo *et al.*, 2008; Bozdogan *et al.*, 2014).
- El suelo proporciona la capacidad de sorción y debe ser rico en materia orgánica. Es importante debido a que estimula la capacidad de los microorganismos en la degradación del plaguicida, principalmente en las bacterias (Castillo *et al.*, 2008).
- La turba contribuye a la capacidad de adsorción, control de humedad y a la degradación abiótica de pesticidas. Un alto contenido de turba permite tener pH bajos, que son favorables para el crecimiento de los hongos, pero niveles del 50% o más disminuyen la actividad microbiana (Castillo *et al.*, 2008).

- Capa de césped: Regula la humedad e incrementa la eficiencia de la biocama. La ausencia de la capa de césped provoca una evapotranspiración pobre y disminución de la actividad microbiana (Castillo *et al.*, 2008).

2.3. Parámetros propuestos para evaluar en una biocama

Humedad

La humedad en la biocama es importante, ya que está relacionada con la maduración de la biomezcla y favorece el crecimiento de la población microbiana (Brenes Alfaro, 2020). La humedad óptima se considera entre el 50-60%, sin embargo, Córdova Méndez *et al.* (2017) reportó que al evaluar diversos plaguicidas en diferentes porcentajes de humedad, la disipación del plaguicida no se ve afectado.

Textura (arcillas)

Expresa la proporción de diferentes tamaños de partículas en una muestra de suelo (arena, limo y arcilla). La proporción de las diferentes tamaños de partícula condiciona el comportamiento del suelo frente al laboreo, su retención de humedad y de nutrientes, entre otros (Betrán A. y Pardo J., 2015). En las biomezclas se emplean preferentemente suelos arcillosos. Las arcillas son partículas muy finas y forman barro cuando están saturadas de agua.

Potencial de Hidrógeno (pH)

Se define como el logaritmo decimal de la inversa de la concentración de iones H⁺ e indica si un suelo es ácido o alcalino (Pulido B., 2007). Se ha sugerido que el pH de las biocamas debe ser aproximadamente de 6 (Castillo *et al.*, 2008), el cual es adecuado para el crecimiento de los hongos de pudrición blanca. En el proceso químico de la fotólisis, el pH, los ácidos orgánicos y algunos minerales como el hierro pueden beneficiar la degradación de los plaguicidas, ya que actúan como catalizadores en estos procesos (Narvaes *et al.*, 2012).

Materia orgánica

Corresponde a los residuos de origen biológico, predominantemente vegetal que se acumulan en el suelo, brindan la disponibilidad de nutrientes y a la actividad biológica (Solís, 2000). El almacén de materia orgánica en el suelo depende de dos factores principales:

textura y pH. Cuando los aportes de éstas exceden la capacidad de almacenamiento que tiene el suelo, la materia orgánica menos protegida inicia su mineralización que conducen a pérdidas de nitrógeno e incluso de biomasa microbiana (León González y Etchevers, 1999).

Cuando la materia orgánica se mineraliza y se humifica, tiende a unirse a las partículas más finas del suelo (arcillas) para formar agregados en el suelo. La forma de unión entre las sustancias húmicas y arcillas se efectúa a través de elementos metálicos, ya sea que ocurra de manera química o fisicoquímica (Lancho-Gallardo *et al.*, 1982).

Carbono orgánico

Es el carbono que permanece en el suelo, después de la descomposición parcial de cualquier material producido por organismos vivos (FAO, 2017). Es necesario en la síntesis celular para la formación del protoplasma, constituye el 50% de las células de los microorganismos (Bueno Márquez *et al.*, 2008). Es aprovechado por los saprófitos comunes en el suelo (ejemplo: hongos de la pudrición blanca) y pueden asimilar entre el 30 y 50% del carbono presente en la materia orgánica que descomponen (Bueno Márquez *et al.*, 2008).

Nitrógeno

Está presente en el suelo mediante la fijación de nitrógeno atmosférico en nitrito, nitrato y amonio en el ciclo del nitrógeno. La movilidad del nitrógeno se relaciona con la actividad microbiana y fauna del suelo como las lombrices, hongos y bacterias (FAO, 2019a). Los bajos niveles de nitrógeno en las biomezclas favorecen la activación de enzimas que metabolizan la lignina y, a su vez, que favorecen la degradación de plaguicidas debido a que este sistema está regulado por el nitrógeno (Castillo *et al.*, 2008).

Relación C/N

La relación C/N es un factor que influye en la velocidad del proceso de compostaje. Si la relación $C/N \geq 40$ la actividad biológica disminuye y los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono, provocando una ralentización del proceso de mineralización de la materia orgánica (Bueno Márquez *et al.*, 2008). El crecimiento excesivo de los hongos puede originar una elevada demanda del nitrógeno disponible, por lo que la relación C/N aumenta.

Ecotoxicidad con Eisenia foetida

La ecotoxicidad es el estudio de los efectos adversos que provoca el xenobiótico sobre los organismos vivos; que será en función de la dosis, concentración del contaminante y el tiempo de exposición (Jorgensen, 2010). Las lombrices rojas californianas (*Eisenia foetida*) son animales invertebrados que pueden ingerir partículas del suelo y digerir cualquier resto orgánico con pH no tan ácido (como los cítricos), ya que principalmente consumen la materia orgánica disponible. Posteriormente, al realizar el ensayo de toxicidad, estos organismos pueden sufrir estrés, el cual se ve representado por su cambio de color, poco movimiento y estímulo, y la secreción de líquido celómico.

Microorganismos celulolíticos

El crecimiento microbiano depende de la disponibilidad de carbono en los suelos. Considerando ello, es conocido que las bacterias, actinomicetos y hongos del suelo son capaces de usar un amplio rango de moléculas orgánicas complejas como lignina, celulosa y otros polisacáridos (Beltrán Pineda, Rocha Gil, Bernal Figueroa, y Pita Morales, 2017).

Las bacterias activas como degradadores que actúan como celulolíticos verdaderos conocidos son del género *Cytophaga* y *Sporocytophaga*; en los actinomicetos son los *Streptomyces* que son capaces de emplear la celulosa como fuente de carbono y energía; los hongos son conocidos como activos degradadores en ambientes desfavorables para las bacterias en condiciones de pH ácidos y de alta humedad, se conocen numerosas especies que participan en la degradación de la fracción lignocelulósica como *Trametes*, *Rigidoporus*, *Panus*, *Daedalea*, entre otros.

Un método para su cuantificación es el Número Más Probable (NMP), el cual es un método que se utiliza para determinar el número de microorganismos presentes en una muestra; es una estimación estadística que se basa en el hecho de que cuanto mayor sea el número de microorganismos en una muestra, mayor será la dilución necesaria para reducir la densidad óptica (Tortora *et al.*, 2007).

3. ANTECEDENTES

Se han realizado pocos estudios sobre la extensión del tiempo de vida útil de la biomezcla y la evaluación de la toxicidad de las biomezclas, ya que se ha estudiado más sus efectos sobre los riesgos ambientales y de salud, así como la degradación química de plaguicidas.

En el 2008, Castillo y colaboradores recopilaron información sobre el uso de las biocamas en diferentes países del mundo. Encontraron que en Latino América las biocamas son más pequeñas a comparación de las granjas europeas debido a que comúnmente se utiliza la mochila fumigadora. En Perú, Guatemala y El Salvador se ha utilizado sustratos disponibles en los campos agrícolas para sustituir la paja y turba que pertenecen al modelo sueco. Por ello, es necesario analizar los procesos de degradación de plaguicidas en las condiciones realizadas en los países en desarrollo.

Degradación de xenobióticos (Mancozeb y otros) mediante biomezclas

En el 2014, Bozdogan y colaboradores prepararon una biomezcla en base al modelo sueco en Adana, Turquía, así como una mezcla de suelo agrícola del área de estudio. Evaluaron la degradación de los insecticidas como malatión, diclorvos y fentión en diferentes concentraciones (65 g/L, 550 g/L y 525 g/L). Las concentraciones de los plaguicidas disminuyeron al tercer día, lo cual demostró que el suelo agrícola logró disminuir la concentración (2.05 µg/kg, 87.49 µg/kg y 1.68 µg/kg) a comparación de la biomezcla del modelo sueco (5.46 µg/kg, 179.13 µg/kg y 3.82 µg/kg). Este estudio refleja la importancia de adaptar las biomezclas a los sustratos locales.

Hernández Cervantes (2017) elaboró una biomezcla compuesta de pizonte, cachaza y suelo (50:25:25) en Cunduacán, Tabasco. Realizó monitoreos de degradación del Mancozeb midiendo el etilentiourea en los niveles fondo, intermedio y superficie durante la evaluación de la cama biológica. Encontró que la biocama tuvo la capacidad de depurar el efecto tóxico del etilentiourea en pH neutros a partir del tercer mes de su funcionamiento, logrando así la degradación del Mancozeb (>80%). Además, corroboró que los procesos de degradación son favorecidos por la presencia de materia orgánica humificada y el contenido de arcillas proporcionadas por el suelo.

En un estudio realizado por Vareli y colaboradores (2018) adaptaron la biocama del modelo sueco en el Sur de Brasil para evaluar diferentes combinaciones de biomezclas con suelos

férricos (Latosol y Nitosol). Se realizó la contaminación de las biocamas con los residuos del Mancozeb durante el lavado de las maquinarias en el campo agrícola, donde se obtuvo una degradación del 100% a los 14 meses. La degradación de los xenobióticos fue reportada como lenta debido a que los suelos férricos tienen una alta presencia de los iones Ca^{2+} , Fe^{2+} y Mg^{2+} pudieron interferir sobre la disponibilidad biológica y química del Mancozeb. Lo anterior es un antecedente de importancia, debido a que el estudio permite conocer la interacción del Mancozeb con suelos férricos, el cual será uno de los suelos evaluados en el proyecto.

En el 2019, Balcázar López continuó la evaluación de la biocama realizada por el Laboratorio de Remediación en Cunduacán, Tabasco; donde encontró que mediante los análisis de los parámetros como pH, la tendencia de la concentración del etilentiourea, la cantidad de materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico permiten evaluar la utilidad de la biomezcla. Además de que la biomezcla hecha con cachaza, pizonte y suelo (25:50:25) y evaluada en tres diferentes niveles (superficie, intermedio y fondo) tenían valores de pH cercanos a la neutralidad, un aumento en la degradación del etilentiourea y una disminución de la materia orgánica (10.4%, al 15° mes), indicando que finalizaba el tiempo de vida útil de la biomezcla.

Evaluación de toxicidad con Eisenia sp. en la degradación de diferentes xenobióticos (Mancozeb y otros)

En el 2015, Carniel realizó un ensayo de toxicidad con lombrices de tierra (*Eisenia andre*) considerando como xenobiótico al efluente de residuo con Mancozeb ($400 \text{ g } 100 \text{ L}^{-1}$) y Clorpirifo ($250 \text{ mL } 100 \text{ L}^{-1}$) tratado mediante biomezcla. El organismo presentó una mortalidad adulta $<10\%$ y una reproducción continua de las lombrices de tierra juveniles que fue entre 45 a 100 individuos durante el tiempo evaluado, por lo que se considera que no presentó toxicidad a la exposición continua de la biomezcla contaminada en el período de evaluación (0, 90 y 270 días).

Gebler y colaboradores (2015) realizaron tests ecotoxicológicos con lombrices de tierra (*Eisenia foetida*) considerando diferentes xenobióticos (clorpirifos (480 g/L), glufosinato de amonio (200 g/L), Mancozeb (800 g/L) y fosmet) tratados con biomezclas y suelos. Las pruebas con *Eisenia foetida* reportaron que los organismos reaccionaron fuertemente a los

contaminantes iniciales (a las 48 horas), con alta repelencia o mortalidad, pero con el tiempo prefirieron el material contaminado en vez del material libre de contaminante.

Lescano y colaboradores (2020) evaluaron diferentes combinaciones de biomezclas y del suelo, en el cual añadían lombrices de tierra (*Eisenia foetida*) para la degradación del glifosato y AMPA (vermiremediación). En los resultados mostraron que hubo un incremento en la degradación con las biomezclas donde había lombrices de tierra que sin ellas; después de 90 días de exposición, se observó que la mortalidad fue baja en todas las biomezclas y el suelo (0 a 13%); y que la especie puede tolerar altas concentraciones de glifosato (1000 mg/kg).

De acuerdo con lo reportado, la implementación de las biomezclas como método para la degradación de plaguicidas es efectivo. Sin embargo, no existen suficientes reportes que indiquen si los suelos férricos podrían beneficiar a su degradación, y a su vez, en la extensión de la vida útil en climas tropicales. De igual manera, es importante realizar ensayos de toxicidad a las biomezclas para corroborar la degradación del contaminante y de sus compuestos intermediarios. El propósito del tema de investigación es comparar el efecto de un suelo férrico y aluvial en la biomezcla para la degradación del Mancozeb y aumentar su tiempo de vida útil en condiciones climáticas cálidos-húmedas.

4. JUSTIFICACIÓN

En los cultivos plataneros, una de las actividades agrícolas es la aplicación de plaguicidas (preventiva o sistemática). Sin embargo, durante el llenado, lavado o preparación del xenobiótico en las mochilas fumigadoras puede existir una contaminación de manera puntual. Esto puede ocasionar contaminación en cuerpos de agua y el suelo, impactando a la flora y fauna acuática al no recibir un tratamiento previo de remediación ni recopilación (Ortiz-Hernández *et al.*, 2014).

El fungicida Mancozeb tiene un tiempo de vida en el suelo entre seis a quince días y se degrada al etilentiourea, el cual es más tóxico que su compuesto químico precedente. El compuesto secundario es considerado como cancerígeno, mutagénico y contribuye a la contaminación hídrica. Además, desequilibra los nutrientes del suelo en las plantaciones plataneras (Mena-Espino y Couoh-Uicab, 2015).

Debido a esto, se ha propuesto un tratamiento preventivo de remediación biológico que es la biocama, el cual permite la recopilación y degradación los plaguicidas mediante microorganismos. Sin embargo, las condiciones climáticas del estado de Tabasco sólo han permitido que la vida útil de la biomezcla sea entre un año a año y medio, lo cual se considera un problema técnico a comparación del tiempo de vida útil en Suiza que es entre seis a ocho años. Así mismo, es importante asegurar la degradación total del contaminante y de sus compuestos intermediarios, por lo cual es necesario realizar ensayos de toxicidad a las biomezclas como medio de control.

Con base en lo anterior, se evaluaron diferentes tipos de suelo para determinar el tiempo de vida útil de la biomezcla y su efectividad en la degradación del Mancozeb. Además, se comprobó la degradación del etilentiourea mediante ensayos de toxicidad, ya que cuando existe una saturación de xenobióticos no continúa su degradación. Así se comprendió si el tipo de suelo influye en la degradación del Mancozeb y del etilentiourea en la biomezcla. Se utilizó sustratos disponibles para los agricultores, por la facilidad de obtenerse y reducir gastos en el cambio de la biomezcla.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar la interacción en la biomezcla con respecto al uso de dos diferentes tipos de suelo (suelo férrico y aluvial) mediante la disminución del fungicida Mancozeb con relación a los tiempos de degradación y la reducción de su toxicidad.

5.2. Objetivos específicos

- Identificar mediante indicadores de referencia (pH, humedad, materia orgánica, nitrógeno total, carbono orgánico total y relación C/N) para la vida útil de la biomezcla el efecto del tipo de suelo que permita suponer una extensión de esta.
- Valorar la efectividad de las biomezclas con diferentes tipos de suelo en la degradación de Mancozeb mediante la reducción de su concentración, la toxicidad y la cuantificación de la población microbiana.

6. METODOLOGÍA

Obtención y preparación de los sustratos

Los sustratos utilizados en la preparación de la biomezclas se clasificaron en dos grupos: los sustratos orgánicos como la astilla de pino y la cáscara de cacao; y los suelos como el suelo aluvial y férrico (Fig. 3).



Figura 3. Suelos y sustratos orgánicos utilizados en las biomezclas: a) suelo aluvial, b) suelo férrico, c) astilla de pino y d) cáscara de cacao.

Los sustratos fueron recolectados en el Estado de Tabasco en los municipios del Centro, Cunduacán y Teapa (Fig. 4). La astilla de pino fue recolectada en el Vivero “El Dorado” de la SERNAPAM vinculado con la DACBiol-UJAT (17.988918, -92.974380 UTM); la cáscara de cacao y el suelo aluvial en la Ranchería Miahuatlán 2da. Sección, Cunduacán (18.032044, -93.296945 UTM); y el suelo férrico en Pueblo Nuevo de las Raíces, Teapa (17.838127, -92.883359).

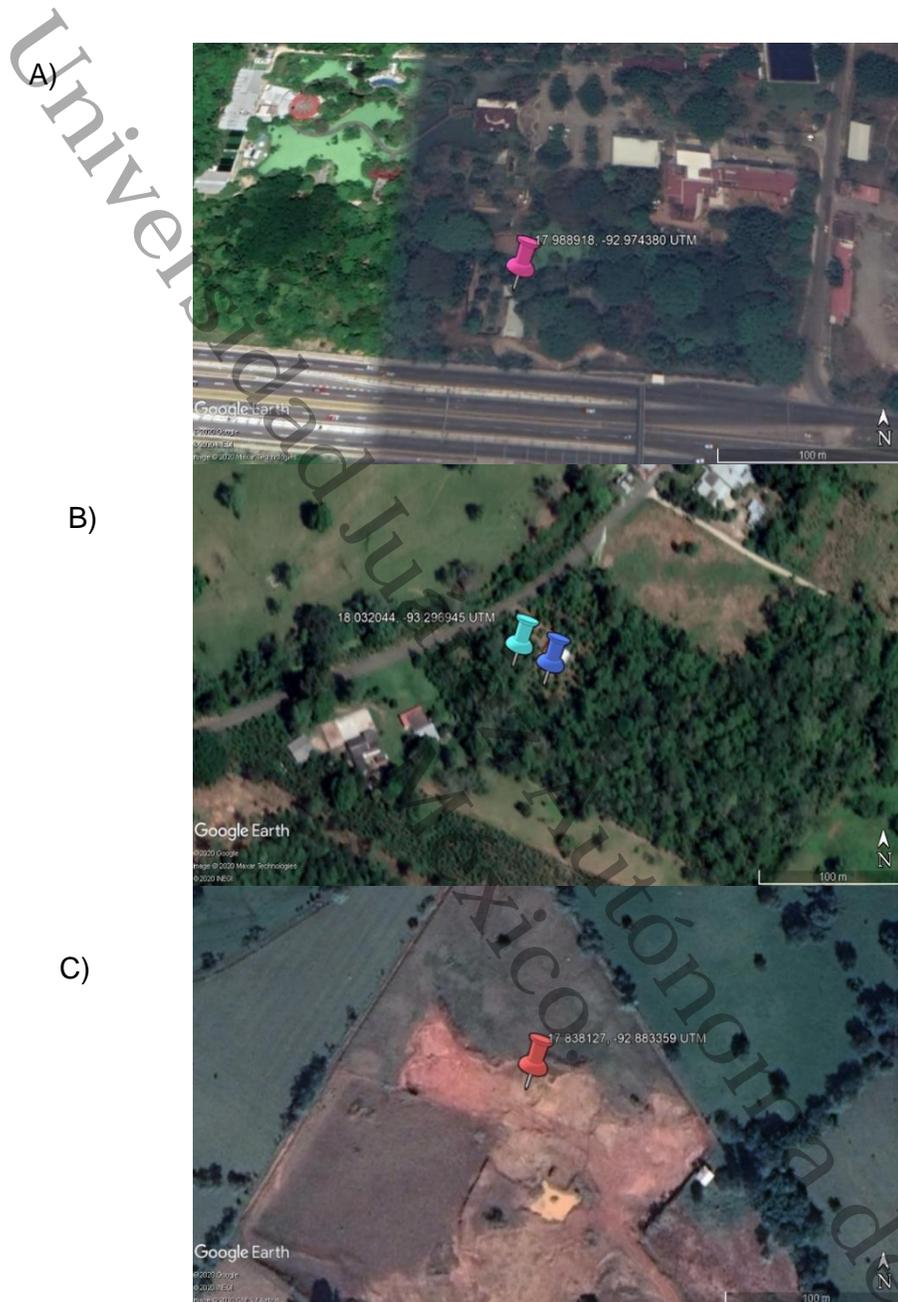


Figura 4. Ubicación en el mapa satelital de los lugares donde serán colectados: la astilla de pino () en el A) Vivero “El Dorado” de la SERNAPAM vinculado con la DACBiol-UJAT; la cáscara de cacao () y el suelo aluvial () en la B) Ranchería Miahuatlán 2da. Sección en el Mpo. de Cunduacán; y el suelo férrico () en el C) Pueblo Nuevo de las Raíces, Teapa.

Se realizó la combinación de los sustratos orgánicos y los suelos hasta obtener una biomezcla homogénea (Fig. 5). Se denominó como biomezcla 1 (Fig. 5a) a la combinación de 25% de suelo aluvial, 25% de cáscara de cacao y 50% de astilla de pino; y la biomezcla

2 (Fig. 5b) como la combinación de 25% de suelo férrico, 25% de cáscara de cacao y 50% de astilla de pino; se aireó. Se evaluó el porcentaje de humedad y temperatura una vez por semana durante 50 días.



Figura 5. Combinación de los sustratos orgánicos y suelos para la formación de las biomezclas; a) homogeneización de la biomezcla 1, b) biomezcla 2.

6.1. Modelo experimental

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado (Figura 7a) de dos factores: el tipo de suelo (suelo férrico y aluvial) y el tiempo. Se evaluó la degradación del etilentiourea en dos tipos de biomezclas y en los suelos (controles positivos), y a su vez, se tuvieron como controles negativos las biomezclas sin contaminar (Cuadro 1). Cada unidad experimental (Fig. 6 y 7b) fue contaminada con 800 mg/L del fungicida Mancozeb en agregación periódica de cada 15 días durante 8 meses, a excepción de los controles negativos (se regó con agua).

Cuadro 1. Combinaciones del suelo y de la materia orgánica rica en lignina en la biomezcla, y controles de cada una en la unidad experimental con el fungicida Mancozeb.

Suelos		Control positivo	Control negativo (Sin contaminación)
Suelo aluvial (SA)	AP + SA + CC + Mancozeb (biomezcla 1)	SA sólo + Mancozeb	AP + SA + CC (biomezcla 1)
Suelo férrico (SFE)	AP + SFE + CC + Mancozeb (biomezcla 2)	SFE sólo + Mancozeb	AP + SFE + CC (biomezcla 2)

Las biomezclas tuvieron cáscara de cacao (CC) como materia húmica y astilla de pino (AP) como materia orgánica rica en lignina.

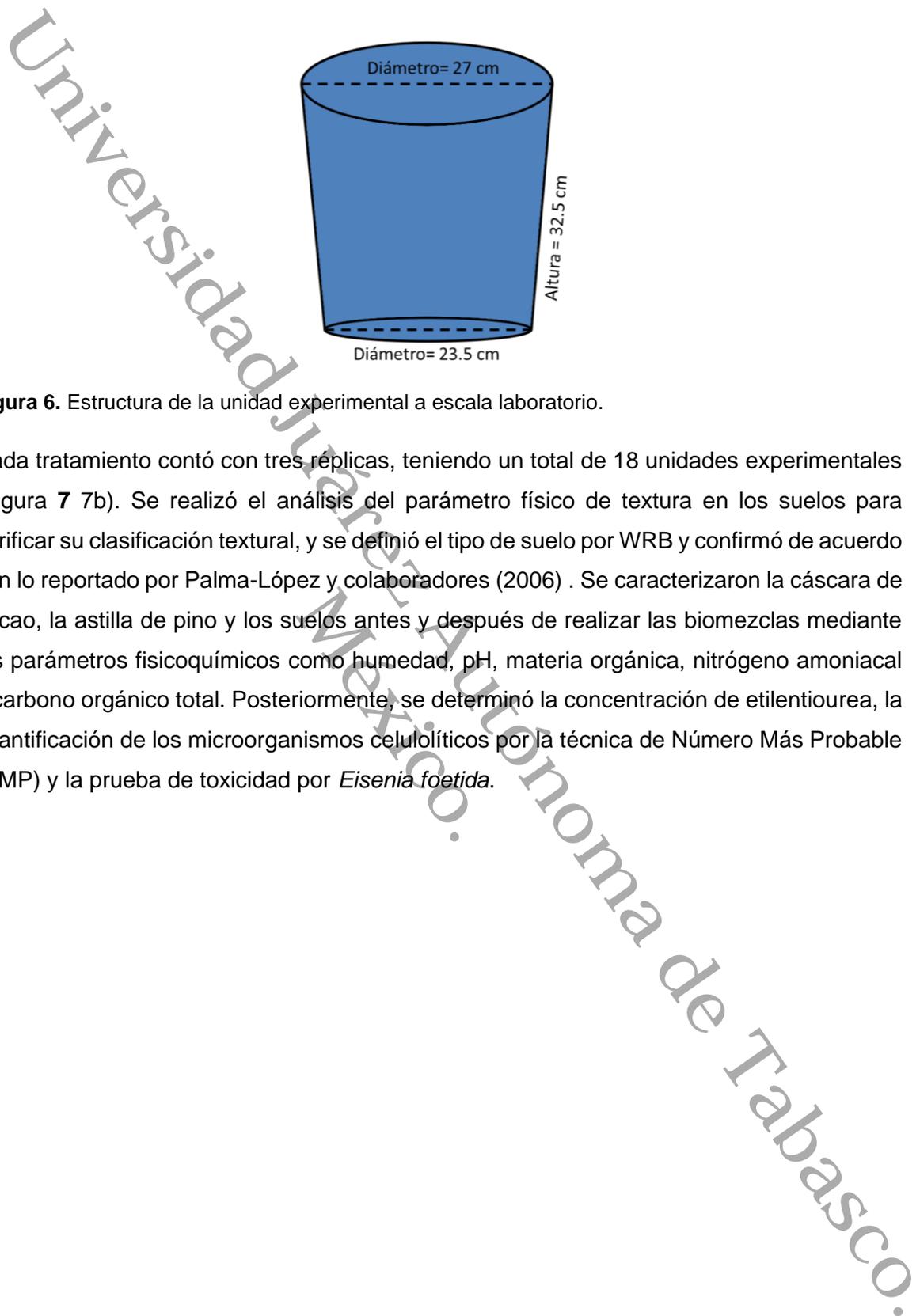


Figura 6. Estructura de la unidad experimental a escala laboratorio.

Cada tratamiento contó con tres réplicas, teniendo un total de 18 unidades experimentales (Figura 7 7b). Se realizó el análisis del parámetro físico de textura en los suelos para verificar su clasificación textural, y se definió el tipo de suelo por WRB y confirmó de acuerdo con lo reportado por Palma-López y colaboradores (2006) . Se caracterizaron la cáscara de cacao, la astilla de pino y los suelos antes y después de realizar las biomezclas mediante los parámetros fisicoquímicos como humedad, pH, materia orgánica, nitrógeno amoniacal y carbono orgánico total. Posteriormente, se determinó la concentración de etilentiurea, la cuantificación de los microorganismos celulolíticos por la técnica de Número Más Probable (NMP) y la prueba de toxicidad por *Eisenia foetida*.

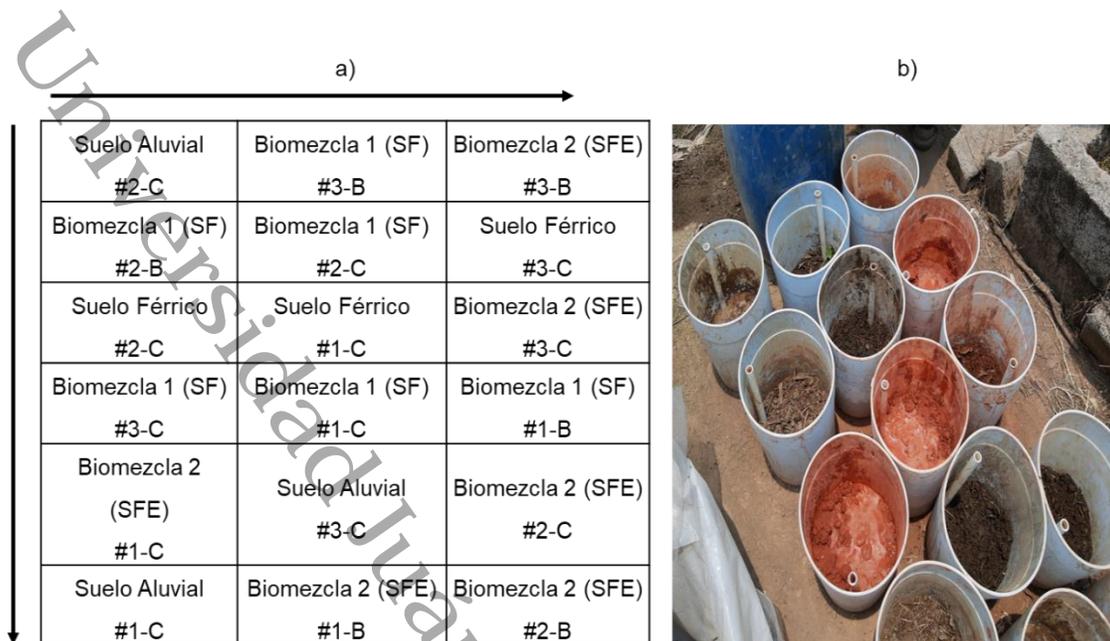


Figura 7. Representación del a) diseño experimental completamente aleatorizado, y de las b) unidades experimentales. Donde #No. se refiere al número de la réplica, la letra C a las unidades experimentales contaminadas con Mancozeb y B a riego únicamente con agua.

Estos parámetros permitieron conocer cómo influye el tipo de suelo en la extensión de la vida útil en la biomezcla, y a su vez, determinar la disminución del fungicida a nivel umbral. Las metodologías para cada parámetro son mencionadas en el cuadro 2a, además del tiempo de evaluación de cada sustrato y biomezcla en el cuadro 2b.

Cuadro 2. *Parámetros de caracterización para los sustratos, las biomezclas y sus lixiviados.*

a) Referencias bibliográficas para cada parámetro de caracterización.

Parámetro físico	Referencias
Textura, método de Bouyoucos	NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002; Muñoz Iniestra <i>et al.</i> , 2013
Parámetros químicos	Referencias
%Humedad	Termobalanza OHAUS MB35
pH	NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002; Muñoz Iniestra <i>et al.</i> , 2013
Materia orgánica	Dean, 1974; Jackson, 1976; La Manna <i>et al.</i> , 2007; NMX-FF-109-SCFI-2008, 2008
Nitrógeno amoniacal	Company, 1999; Fernández Linares, 2006
Carbono orgánico total	NMX-FF-109-SCFI-2008, 2008
Concentración de ETU (mg/L) por espectrofotometría	Walash <i>et al.</i> , 1993; Domínguez <i>et al.</i> , 2009; Domínguez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2015
Parámetro biológico	Referencias
Conteo de microorganismos celulolíticos (hongos y bacterias), método de Número Más Probable	Alef y Nannipieri, 1995; Frioni, 2006; Gupta <i>et al.</i> , 2012; Gutiérrez-García y Félix-Herrán, 2014; Viteri-Florez <i>et al.</i> , 2016
Toxicidad por <i>Eisenia foetida</i> (lombriz roja californiana)	OECD no. 207, 1984

b) Tiempo de medición para cada parámetro en la caracterización de los sustratos, las biomezclas y sus lixiviados.

Parámetro físico	Tiempo de medición		
	Caracterización individual y de las biomezclas en reposo	Biomezcla en etapa de contaminación	Lixiviados
Textura	Suelos	NA	NA
Parámetros químicos			
%Humedad		Cada 15 y 30 días *ADC	NA
pH	Todos los sustratos		Cada 30 días *ADC
Materia orgánica			
Nitrógeno amoniacal		Cada 30 días *ADC	NA
Carbono orgánico total			
Concentración de ETU (mg/L) por espectrofotometría	NA		Cada 30 días *ADC
Parámetro biológico			
Conteo de microorganismos celulolíticos aerobios	NA	Cada 30 días *ADC	NA
Toxicidad por <i>Eisenia foetida</i> (lombriz roja californiana)	NA		Cada 30 días *ADC

*ADC = Antes de contaminar.

*NA= No aplica

6.2. Análisis fisicoquímicos

6.2.1. Textura

Método para la determinación de la textura del suelo por el procedimiento de Bouyoucos. Previo al ensayo de textura, se pesó 60 g de suelo un día antes, ya que se oxidó con

peróxido de hidrógeno para eliminar el excedente de materia orgánica, trituro y tamizo en una malla ≥ 2 mm; posteriormente, se secó en el horno a 60°C por 24 horas. Al día siguiente, se pesó 50 g de suelo y se añadió 10 mL de hexametáfosfato de sodio (50 g/L) a la muestra en un vaso precipitado de 500 mL. Se licuó durante 5 min para ser vertido en una probeta de 1000 mL, el cual se aforó con agua destilada y se agitó la suspensión con el embudo por un minuto para lograr la homogeneidad en la suspensión. Se midió la densidad específica de un líquido/sólido mediante un Hidrómetro Bouyoucos calibrado desde 0 a 60 g/L.

La primera lectura se efectuó a los 40 segundos después de agitar, la segunda fue a las 2 horas posteriores. Se midió también la temperatura de la suspensión en cada lectura efectuado con el hidrómetro para obtener el factor de corrección. Se realizó los cálculos correspondientes para determinar el porcentaje de arena, limo y arcilla. Posteriormente, se determinó la clase textural a través del triángulo de texturas (Fig. 8).

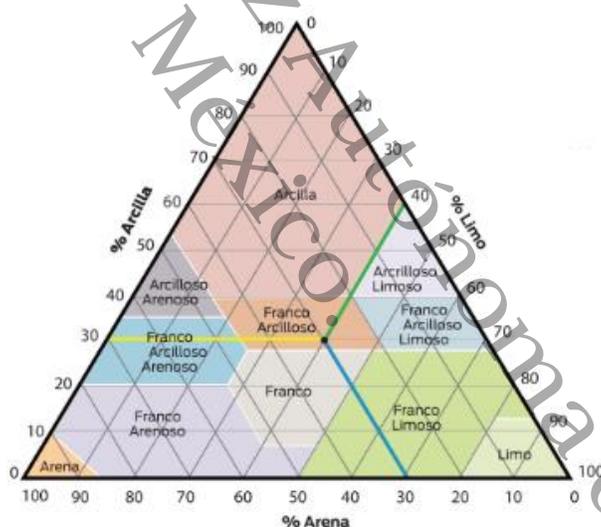


Figura 8. Diagrama triangular de las clases texturales básicas del suelo según el tamaño de las partículas (Bolda y Dara, 2015).

$$\% \text{ Arena} = 100 - \frac{\text{Lectura no. 1 corregida por temperatura } ^{\circ}\text{C}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100$$

$$\% \text{ Arcilla} = \frac{\text{Lectura no. 2 corregida por temperatura } ^{\circ}\text{C a 2 h}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100$$

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arena} + \% \text{ Arcilla})$$

6.2.2. Humedad

Antes de medir el porcentaje de humedad del suelo se separaron las raíces o materia orgánica presente. Se midió la humedad mediante el equipo de termobalanza (MB35 halogen OHAUS), se puso una charola de aluminio con 0.5 a 1 g de la muestra.

6.2.3. pH

Se pesó 10 g de muestra de suelo previamente molido y tamizado por malla <2 mm en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se adicionó 25 mL de agua destilada y se agitó en un mezclador orbital por espacio de 30 min en intervalos de 5 min a 120 rpm. Se dejó reposar la muestra 1 hora. Previamente, se calibró el medidor (HANNA – HI 98195) de pH con las soluciones buffer. Se tomó la lectura de la muestra, asegurándose de limpiar y secar el sensor. Con referencia al cuadro 3 se clasificó la acidez o alcalinidad de los tratamientos.

Cuadro 3. Clasificación del suelo con referencia al pH de la muestra (NOM-021-SEMARNAT-2000).

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	<5.0
Moderadamente ácido	5.1 – 6.5
Neutro	6.6 – 7.3
Medianamente alcalino	7.4 – 8.5
Fuertemente alcalino	>8.6

6.2.4. Materia orgánica por calcinación y carbono orgánico total

Previo a la prueba de la medición de la materia orgánica, se colocó el crisol dentro del horno a 105°C durante una hora. Después, se retiró del horno y se introdujo dentro del desecador durante 25 min. Se consideró como peso inicial el peso del crisol sin muestra. A continuación, se pesó 5 g de muestra en el crisol, para inmediatamente colocarse dentro de la mufla a 430°C durante una hora. Se retiró los crisoles de la mufla después de disminuir la temperatura de ésta, y luego se colocó en el horno a 105°C durante 25 min. Posteriormente, se pasó al desecador por 25 min y se volvió a pesar.

Se determinó el porcentaje de cenizas para calcular el porcentaje de materia orgánica (%MO) y el carbono orgánico total (%COT), (NMX-FF-109-SCFI-2008).

$$\%Cenizas = \frac{(\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{peso del crisol(g)})}{\text{muestra (g)}} \times 100$$

$$\%MO = 100 - \text{Cenizas}$$

$$\%CO = \frac{\%MO}{1.724}$$

6.2.5. Nitrógeno amoniacal

Se pesó 1 g de muestra en tubo de centrifuga y se añadió 20 mL de agua, para agitarse 1 min en el vórtex. La muestra se centrifugó a 2000 rpm por 10 min, para posteriormente fue filtrado en filtros Whatman No. 42 en vasos precipitado de 50 mL. Se aforó la muestra a 100 mL con agua desionizada. Se preparó dos muestras de 25 mL, ya que fue considerado una muestra como el blanco y se colocó en la celda 1, mientras los otros 25 mL de la muestra fueron preparados con 3 gotas del estabilizador mineral, 3 gotas del alcohol polivinílico y 1 mL de reactivo Nessler, al mismo tiempo se contó un minuto para el tiempo. Posteriormente, se leyó la celda 1 (blanco) y la celda 2 (la muestra con reactivos) en el equipo de espectrofotometría (HACH DR 2800 Portable Spectrophotometer) a 440 nm.

Mediante los datos obtenidos del nitrógeno amoniacal, se obtuvieron los resultados del contenido de nitrógeno total en relación, ya que el nitrógeno inorgánico representa un 2% del nitrógeno total del suelo (Perdomo y Barbazán, 1998; Balcázar López, 2019) .

6.2.6. Determinación de la concentración (mg/L) de ETU por espectrofotometría

Previamente, se lavó los materiales con hidróxido de sodio 0.5 N y ácido clorhídrico. Se pesó 1.5 g de muestra en un vaso de centrifuga y se añadió 20 mL de agua desionizada, se agitó durante 2 min en el vórtex. Posteriormente, se dejó durante 8 min en baño maría a 70°C, para pasarlo inmediatamente al ultrasónico por 13 min y se centrifugó durante 10 min a 2000 rpm (BRANSON 2800 y Hettich Zentrifugen – ROTINA 380). El sobrenadante se depositó en un tubo falcón.

Al residuo de la muestra se agregó 20 mL más de agua desionizada, y nuevamente se realizó el proceso mencionado anteriormente, para obtener un volumen final de 40 mL. Del sobrenadante, se tomaron 5 mL y se aforaron en un matraz de 10 mL con agua desionizada.

De los 10 mL aforados, se tomó 1 mL y se aforó nuevamente a 10 mL. Se lavó la celda 3 veces con la muestra, para posteriormente tomar una alícuota de 1.5 mL de la mitad de lo aforado, para ser leído espectrofotométricamente a 232 nm y se realizó un barrido de 190 a 400 nm (Thermo SCIENTIFIC – GENESYS 10S UV-Vis Spectrophotometer) para conocer la concentración del etilentiourea (mg/L); se utilizó como blanco agua desionizada y se consideró la lectura de muestra cero. Posteriormente, se realizó una sustitución en la fórmula $X=Y/0.147$ con $R^2=0.99$ para cuantificar la concentración de ETU, donde X = Concentración de ETU (mg/L) y Y=absorbancia espectrofotométrica.

6.3. Análisis biológicos

6.3.1. Aislamiento de la actividad microbiana

Se utilizó la técnica de diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-5} . Para ello, se preparó una solución madre con 1 g del suelo a un tubo de ensayo con 9 mL de solución salina 0.85% estéril (dilución 10^{-1}), el cual se homogeneizó mediante el vórtex durante 3 minutos. Se tomó 1 mL de la solución madre para añadirse a otro tubo con 9 mL de solución salina 0.85% estéril (dilución 10^{-2}), se homogeneizó durante 1 minuto en el vórtex, y así sucesivamente hasta completar a la dilución 10^{-5} .

6.3.2. Cuantificación de microorganismos celulolíticos aerobios

Se consideró las diluciones de 10^{-1} a 10^{-5} de las muestras de los suelos y las biomezclas antes de contaminar para seleccionar las diluciones que se utilizó en las siguientes evaluaciones, para estimar la densidad poblacional de los microorganismos celulolíticos en las biomezclas (ANEXO 1). Posteriormente, se seleccionaron las diluciones de 10^{-3} a 10^{-5} .

Para cuantificar los microorganismos celulolíticos, se inoculó un mL de la dilución deseada en tres tubos con siete mL de un medio salino (NaNO_3 , 2.5; KH_2PO_4 , 2; K_2HPO_4 , 1.4; MgSO_4 , 0.2; $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.0671) a pH 7 y una tira de papel filtro de 1 x 7 cm, el cual se dejó en reposo durante 15 días (Alef y Nannipieri, 1995; Gupta *et al.*, 2012). Se utilizó un medio salino con papel filtro como fuente de carbono por los microorganismos celulolíticos (Gupta *et al.*, 2012).

Se consideró como tubos positivos donde se visualizó la pigmentación, desintegración o signos de degradación de la tira de papel y crecimiento de los microorganismos (Frioni,

2006; Viteri-Florez *et al.*, 2016). Para calcular el número más probable de los microorganismos, se obtuvo el número característico (3 cifras) donde la última dilución (de izquierda a derecha) de todos los tubos son positivos es la primera cifra, y las dos restantes se forman con el número de tubos positivos en las siguientes diluciones (Cuadro 4). Con base al número de tubos positivos, se estimó la densidad de la población de microorganismos celulolíticos mediante el cuadro 5 y se multiplicó por la menor dilución a la inversa.

Cuadro 4. Ejemplo de corrección del número característico en el método de Número Más Probable para la lectura en la tabla de NMP de De Man, 1983.

3 tubos/dilución	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Nº tubos positivos	3	3	3	2	1	0
Número característico (Nº caract.)	3-2-1 (dilución 10 ⁻⁴)					
NMP corregido	= (15.00 x 10 ⁴) = 150, 000 NMP/gramos de suelo.					

Cuadro 5. Densidad poblacional de microorganismos de suelo estimado por el método NMP (De Man, 1983 tomado de Alef y Nannipieri, 1995).

Nº caract.	NMP	Nº caract.	NMP	Nº caract.	NMP
0-0-0	0.30	2-0-0	0.92	3-1-0	4.30
0-0-1	0.30	2-0-1	1.40	3-1-1	7.50
0-1-0	0.30	2-0-2	2.00	3-1-2	12.00
0-1-1	0.61	2-1-0	1.50	3-1-3	16.00
0-2-0	0.62	2-1-1	2.00	3-2-0	9.30
0-3-0	0.94	2-1-2	2.70	3-2-1	15.00
1-0-0	0.36	2-2-0	2.10	3-2-2	21.00
1-0-1	0.72	2-2-1	2.80	3-2-3	29.00
1-0-2	1.10	2-2-2	3.50	3-3-0	24.00
1-1-0	0.74	2-3-0	2.90	3-3-1	46.00
1-1-1	1.10	2-3-1	3.60	3-3-2	110.00
1-2-0	1.10	3-0-0	2.30	3-3-3	140.00
1-2-1	1.50	3-0-1	3.80		
1-3-0	1.60	3-0-2	6.40		

6.4. Toxicidad

Con el fin de garantizar que la proporción y cantidad de lignina no provoque compuestos químicos secundarios dañinos derivados de la degradación del Mancozeb, se realizaron ensayos de toxicidad en las biomezclas y los lixiviados.

6.4.1. Prueba de toxicidad por *Eisenia foetida*

Se realizó la prueba de toxicidad aguda con lombrices californianas (*Eisenia foetida*) por contacto con papel filtro mediante el método de No. 207 de la OECD (1984). Se prepararon los frascos de vidrio de 7 cm de ancho por 9 cm de alto cubiertos con papel traza para evitar la exposición de luz en el organismo y se colocó en el fondo un papel filtro circular (área=18.9 cm²), por cada muestra se realizaron 10 réplicas. Se aplicaron 500 µL de la solución prueba y se agregó 1 mL de agua destilada para mantener la humedad. A continuación, se seleccionaron los organismos que pesaron entre 0.3 a 0.6 g y se colocó un organismo por cada frasco. Se mantuvieron en observación durante 24 y 48 h; se evaluaron características como la humedad, movimiento, respuesta a estímulos, secreción de líquido celómico, disminución de peso, mortandad y coloración.

6.5. Análisis de resultados

Los datos obtenidos fueron comparados por su media y desviación estándar. Se realizaron gráficos de dispersión de las variables de respuesta que fueron humedad, pH, materia orgánica, nitrógeno total, carbono orgánico total y la concentración de ETU por tratamiento y tiempo (factores de interés). Las variables de respuesta y los factores de interés fueron analizados mediante un ANDEVA Factorial con nivel de significancia del 95% después de comprobar la normalidad y homocedasticidad de los datos. Sin embargo, si no se cumple la normalidad o la homocedasticidad en datos, se realizó el análisis estadístico de Kruskal-Wallis con nivel de significancia del 95%.

En caso de existir diferencias estadísticamente significativas, se realizó la prueba a posteriori de contraste múltiple de rangos de Tukey con nivel de significancia del 95%. Los análisis se realizaron en el software STATGRAPHICS Centurion V16. También se realizó un análisis multivariado para conocer el efecto entre las variables de pH, humedad, materia orgánica, nitrógeno total, carbono orgánico total, la relación C/N, la concentración de ETU y NMP mediante el software INFOSTAT.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Clasificación textural de los suelos y su descripción

Se analizaron las muestras de suelo aluvial y férrico para conocer su clasificación textural y el grupo perteneciente de suelos de la Base Referencial Mundial (WRB) publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) con base a la información proporcionada por Palma-López y colaboradores (2006, 2017). La clasificación textural se determinó mediante su porcentaje de arena, arcilla y limo mientras que su clasificación WRB por los parámetros fisicoquímicos como el pH y color (Cuadro 6), y la ubicación de la colecta en los suelos para confirmar el tipo de suelo de acuerdo con lo reportado por Palma-López y colaboradores (2017). La clasificación WRB de los suelos se utilizó en este estudio, considerando que el suelo férrico fue adquirido en un banco de suelos (donde puede haber una mezcla de diversos suelos) en Teapa y el suelo aluvial en un campo agrícola en Cunduacán; ambos en el estado de Tabasco.

Cuadro 6. Clasificación textural y WRB de los suelos.

Parámetros	Suelo aluvial (SA)	Suelo férrico (SFE)
% Arena	16.27 ± 1.15	12.67 ± 0.83
% Arcilla	55.6 ± 2.0	72.13 ± 2.54
% Limo	28.13 ± 1.15	15.2 ± 2.88
Clasificación textural	Arcilla	Arcilla
pH	6.48 ± 0.48	5.66 ± 0.4
Color	Café oscuro	Rojo
Clasificación WRB	Fluvisol eútrico (aluvial)	Acrisol férrico

Los suelos arcillosos suelen ser de baja permeabilidad y alta capacidad de retención de agua, tienen poca aireación y suelen ser pesados debido a sus partículas de arcillas finas; si existe saturación de agua, se forma barro mientras que si están secos, se forman terrones difíciles de romper (FAO, n.d.). Las características de estos suelos son ventajosas para su uso en la biomezcla, ya que por su alto contenido de arcilla promueve la actividad microbiana, principalmente de las bacterias que pueden mejorar la degradación de los plaguicidas (Castillo *et al.*, 2008).

Los suelos tipo Fluvisol son considerados como los más productivos en Tabasco, ya que se utilizan para cultivos exigentes como plátano, cacao y papaya y representan el 10.4% de la superficie del Estado con 2,466,100 ha. Se les conoce localmente como “vega de río”, debido a que se distribuyen en diques naturales en forma paralela a los cauces de los ríos. Presentan alta permeabilidad y buen drenaje superficial, son profundos, ricos en nutrientes y materia orgánica a causa de que los valores de pH son neutros o cercanos a la neutralidad (Palma-López *et al.*, 2017).

Los suelos tipo Acrisol tienen un horizonte subsuperficial enriquecido en arcilla con una capacidad de intercambio catiónico menor a 24 cmol(+)/kg (Palma-López *et al.*, 2017) y representan el 9.73% con respecto a una superficie del Estado con 2,466,100 ha. Son conocidos por los agricultores como “tierras rojas”, “sabanas abiertas” o “barros rojos”. Son suelos propensos a la erosión hídrica; el pH varía de fuerte a muy fuertemente ácido con la profundidad, tienen una alta fijación de fósforo por hierro y aluminio, y bajos contenidos de nutrimentos (Palma-López *et al.*, 2006). Tienen características de acumulación aluvial de arcilla, altas cantidades de hierro y aluminio en forma de sesquióxidos, y alta fijación de fósforo.

7.2. Caracterización inicial de los sustratos orgánicos, suelos y las biomezclas

Se caracterizaron los sustratos orgánicos, los suelos y las biomezclas antes de la evaluación experimental del Mancozeb mediante los parámetros fisicoquímicos mencionados en el cuadro 7.

Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos iniciales de los sustratos orgánicos, suelos y las biomezclas.

Sustratos	Suelo aluvial (SA)	Suelo férrico (SFE)	Cáscara de cacao	Astilla de pino	^a Biomezcla 1 (SA)	^b Biomezcla 2 (SFE)
¹ %NT	0.9 ± 0.0	1.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1
pH	5.9 ± 0.3	4.3 ± 0.6	7.2 ± 0.4	5.3 ± 0.1	5.4 ± 0.2	4.7 ± 0.3
² % MO	7.9 ± 0.0	10 ± 0.0	91.2 ± 1.5	97.2 ± 0.1	29.5 ± 0.5	33.2 ± 0.5
³ % COT	4.6 ± 0.0	5.8 ± 0.0	52.9 ± 0.9	56.4 ± 0.0	17.1 ± 0.2	19.3 ± 0.1
Relación C/N	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.5	183.9 ± 37.8	67.1 ± 13.3	15.5 ± 1.2	19.2 ± 1.9
Capacidad de campo	26.36%	26.94%	-	-	23.22%	20.22%

^aBiomezcla 1 de suelo aluvial + Cáscara de cacao + Astilla de pino, ^bBiomezcla 2 de suelo férrico+ Cáscara de cacao + Astilla de pino; ¹%Nitrógeno total, ²%Materia orgánica, ³%Carbono orgánico total.

En el análisis de pH de la cáscara de cacao fue neutro, mientras que los suelos y la astilla de pino fueron moderadamente ácidos. Las biomezclas fueron ácidas debido a los suelos y su falta de maduración (Bueno Márquez *et al.*, 2008). Los niveles ácidos de pH podrían beneficiar el crecimiento de los hongos de la pudrición blanca que son considerados como el principal degradador de plaguicidas debido a su producción de enzimas como fenoloxidasas y peroxidasas (Hatakka, 1994; Singh, 2006; Castillo *et al.*, 2008; Hatakka y Hammel, 2010).

El comportamiento de los parámetros como el carbono orgánico, nitrógeno total y la materia orgánica en los suelos se podría considerar anormal, principalmente en el suelo férrico. A pesar de conocer su ubicación de colecta en el suelo férrico, se desconoce su procedencia real al ser colectado en un banco de suelos donde podría ser extraído de otro sitio o existir una mezcla con otros tipos de suelos que tienen otras características que le proporcionan esa peculiaridad. En un estudio realizado en la región Altos de Chiapas, un suelo Acrisol húmico presentó características como 0.42%, 3.57%, 6.15% y 8.5 colectado en un cultivo y cuando su procedencia era de un bosque de *Pinus* sp. fueron 0.81%, 5.67%, 9.8% y 7.0 en los parámetros de %NT, %CO, %MOT y la relación C/N respectivamente (León Najera *et al.*, 2006). En otro estudio realizado en Huimanguillo, Tabasco, se realizó una caracterización en la sabana municipal donde los suelos se identificaron como Acrisoles, teniendo como resultados de la materia orgánica entre 5.04 y 8.79%, un nitrógeno total de

0.18 a 0.32%, carbono orgánico entre 2.92 y 5.06% y una relación C/N de 11.68 a 15.81 en diversos cultivos del área de estudio (Tinal-Ortiz *et al.*, 2020).

Los suelos arcillosos suelen tener una mayor cantidad de materia orgánica en comparación de otros tipos de suelos, debido a que su mineralización es más lenta por la falta de aireación (León González y Etchevers, 1999; Jiménez *et al.*, 2010). Al añadirse los sustratos orgánicos como la cáscara de cacao y la astilla de pino beneficiaron al aumento de la materia orgánica.

Los parámetros de carbono orgánico total, nitrógeno total y materia orgánica están estrechamente relacionados ya que si hay concentraciones elevadas de carbono orgánico estimulan la fijación biológica de nitrógeno gaseoso a amoníaco (principalmente las bacterias presentes en el suelo) mientras que concentraciones bajas de C orgánico tienen el efecto opuesto (Madigan *et al.*, 2015). La relación C/N en las biomezclas fueron entre 15 y 19.2, lo cual es beneficioso debido a que hay un equilibrio entre el nitrógeno y el carbono para el crecimiento poblacional microbiana que degradan el Mancozeb y ralentiza el proceso de compostaje para aumentar el tiempo de vida útil de las biomezclas (Bueno Márquez *et al.*, 2008; Román, Martínez, y Pantoja, 2013).

7.3. Evaluación de las biomezclas y los suelos en la degradación del Mancozeb

Durante el periodo de evaluación se cuantificaron diferentes parámetros fisicoquímicos y biológicos (mencionados en el cuadro 2b) que permitieron conocer la interacción y las diferencias entre utilizar las biomezclas y los suelos arcillosos para la degradación del Mancozeb. Al comenzar el monitoreo por contaminación, el tiempo 0 fue en el mes de marzo y el tiempo de 224 días fue en el mes de octubre, por lo tanto, hay una separación de tiempo de 7 meses debido a la contingencia COVID-19. Durante este lapso, ocurrió intemperización de los tratamientos, crecimiento vegetal (Fig. 9) y población de insectos en las unidades; por lo que los parámetros de materia orgánica, relación C/N, nitrógeno total y carbono orgánico total fueron afectados por factores externos (ANDEVA (Tiempo), $p > 0.05$) durante este periodo de inactividad. Se realizó la comparación del día 224 al 429 para estos parámetros.



Figura 9. Crecimiento vegetal en los tratamientos durante el período de inactividad (7 meses) debido a la contingencia COVID-19.

7.3.1. Porcentaje de humedad

Se considera que los niveles óptimos de humedad para las biomezclas sea entre 40 a 60% (Román *et al.*, 2013). En la primera evaluación (Tiempo: 0 días) se observó que los suelos tuvieron un porcentaje de humedad entre 17.59% y 22.05%, y que las biomezclas mantuvieron su humedad entre 32.94% y 37.12%. Con base a los datos anteriores, se decidió aumentar la humedad para no perder el rango deseable.

Durante la evaluación hubo una reducción en la humedad (Fig. 10, <20%) a causa del incremento en la temperatura y a la disminución de la humedad relativa entre los 350 y 390 días (Fig. 11, meses de febrero-abril); ocasionando una conglomeración de las arcillas en los suelos (SA y SFE) y evitando así la adsorción adecuada del contaminante. En las biomezclas obtuvo el efecto contrario, ya que mantuvieron una humedad cercana al 30% a causa de sus sustratos orgánicos (Bozdogan *et al.*, 2014). Los datos indican que hubo diferencias altamente significativas entre los tratamientos y el tiempo (ANDEVA Factorial, $p < 0.0001$).

Estos resultados fueron similares a los encontrados por Diaz Jerez y colaboradores (2013), donde reportó que la humedad de una biocama en un campo abierto protegido de la lluvia

se mantuvo entre 25 y 35%; no hubo un efecto negativo en la actividad biológica y la degradación del carboxamida.

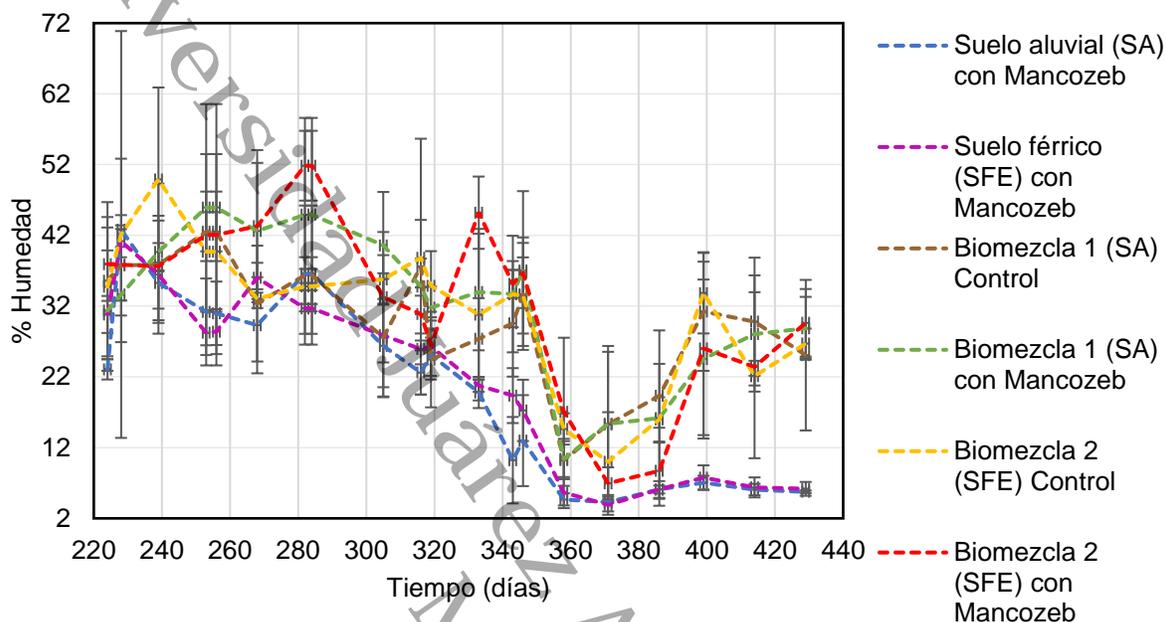


Figura 10. Cinética del porcentaje de humedad en las biomezclas y suelos durante 210 días (ANDEVA Factorial: $p < 0.001$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

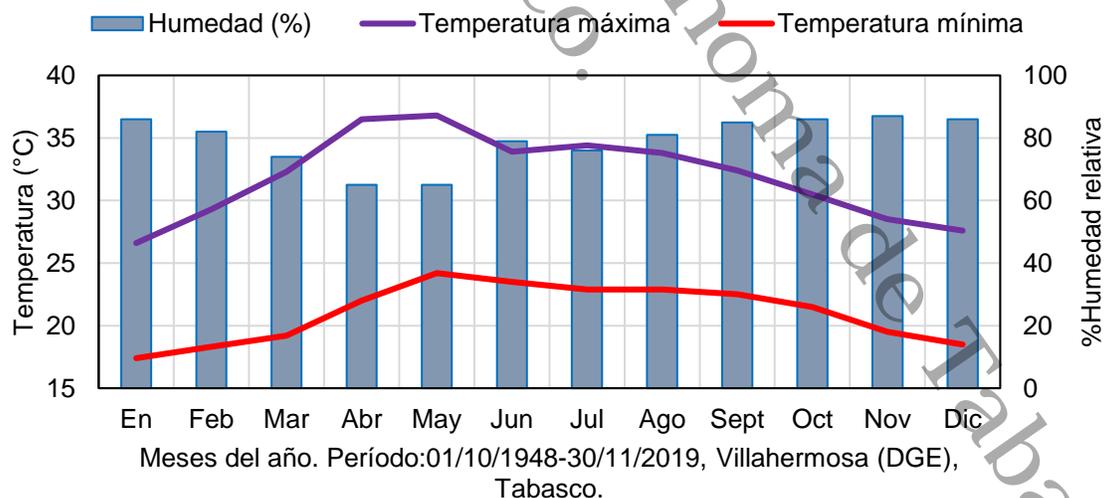


Figura 11. Condiciones atmosféricas de temperatura máxima y mínima, y humedad relativa anual en Villahermosa, Tabasco en un período de 01/10/1948 a 30/11/2019 (Weather Atlas, 2021; Servicio Meteorológico Nacional, 2021).

7.3.2. pH

De acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2003, el pH de los tratamientos se clasifica como moderadamente ácido. A pesar de ello, se encontraron diferencias entre los tratamientos (ANDEVA Factorial: $p < 0.001$). La biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb (5.87 ± 0.97), control sin contaminar (6.02 ± 1.08), y el suelo férrico (5.27 ± 0.80) mostraron valores más cercanos a la acidez. En los tratamientos donde está presente el suelo aluvial como en las biomezclas 1 (SA) con Mancozeb y el control presentaron valores de pH más cercanos a neutro (de 6.06 a 6.40) debido a la estabilidad y riqueza de los nutrientes del suelo. Estos valores pueden ser beneficioso para la extensión de la vida útil, ya que la degradación orgánica se inhibe a pH bajos (< 7), (Bueno Márquez *et al.*, 2008). Sin embargo, se sugiere evitar niveles $\text{pH} < 4$ a causa de que podría existir una acumulación excesiva de los iones de aluminio que sean tóxicos (Sadeghian, 2016).

El pH entre los tratamientos varió a través del tiempo (Fig. 12, ANDEVA Factorial: $p < 0.001$), esto pudo deberse a la hidrólisis química y a la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica, produciéndose liberación de ácidos orgánicos (Ruiz Marrondo, 2001; Bueno Márquez *et al.*, 2008). Durante la etapa experimental en la degradación del xenobiótico no hubo generación de sustancias tóxicas lixiviables.

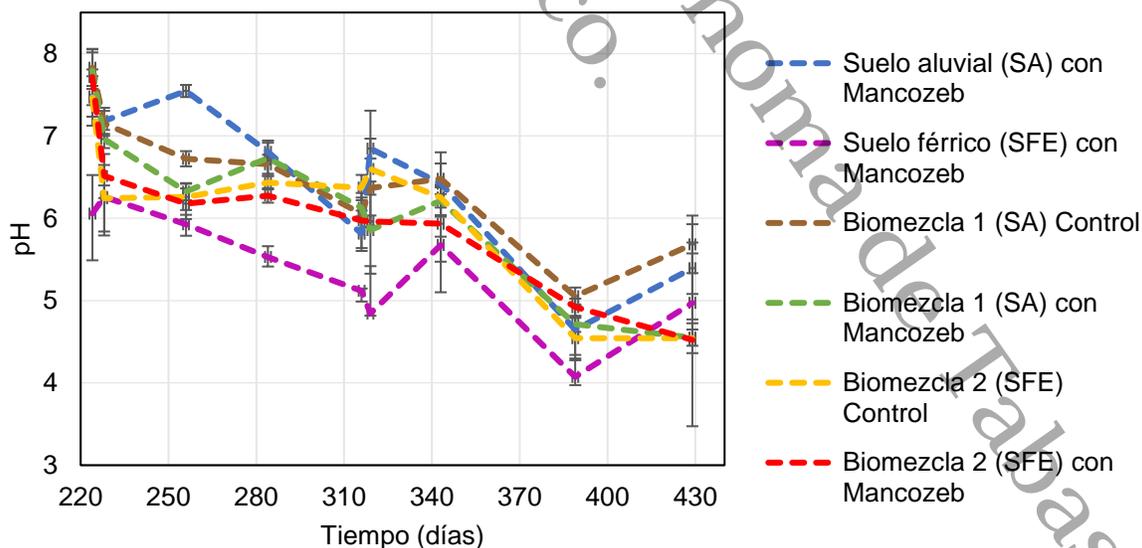


Figura 12. Cinética del efecto de pH en las biomezclas y suelos durante 210 días (ANDEVA Factorial: $p < 0.001$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

7.3.3. Materia orgánica y carbono orgánico total

En los suelos (ANDEVA Factorial, $p < 0.001$) hubo una disminución entre 1 a 1.4, lo cual sugiere que la materia orgánica se ha mineralizado durante el periodo de evaluación con el Mancozeb. Los suelos donde predominan los cationes de aluminio y hierro pueden ocasionar una alta interacción entre sustancias húmicas-arcillas (Lancho-Gallardo *et al.*, 1982; Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2019), siendo su enlace a través de elementos metálicos (Lancho-Gallardo *et al.*, 1982). La acidificación puede interferir con la descomposición de la materia orgánica (Tripathi, Srivastava y Devi, 2020), lo que explicaría la disminución en el suelo férrico (SFE) con Mancozeb sea menor que en el suelo aluvial (SA).

En la biomezcla 1 (SA) con Mancozeb hubo una reducción de 11.2%, esto podría deberse a la mineralización de sus sustratos orgánicos por los microorganismos (Julca-Otiniano *et al.*, 2006). En la biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb tuvo una pérdida de 4.4%, donde hubo poca descomposición de la materia orgánica debido a que el Mancozeb limitó la actividad de mineralización de los sustratos orgánicos, a causa de que los microorganismos posiblemente metabolizaron el carbono presente en el Mancozeb.

Los resultados sugieren que existe una influencia de los iones de hierro y aluminio presentes en el suelo férrico en la degradación del ETU. La disminución de este parámetro en las unidades contaminadas difiere entre las biomezclas con respecto al tipo de suelo. Además, en los tratamientos contaminados de las biomezclas tienen menores pérdidas de la materia orgánica considerando su control (Fig. 13), confirmando así que el xenobiótico interfiere con la metabolización de los sustratos orgánicos.

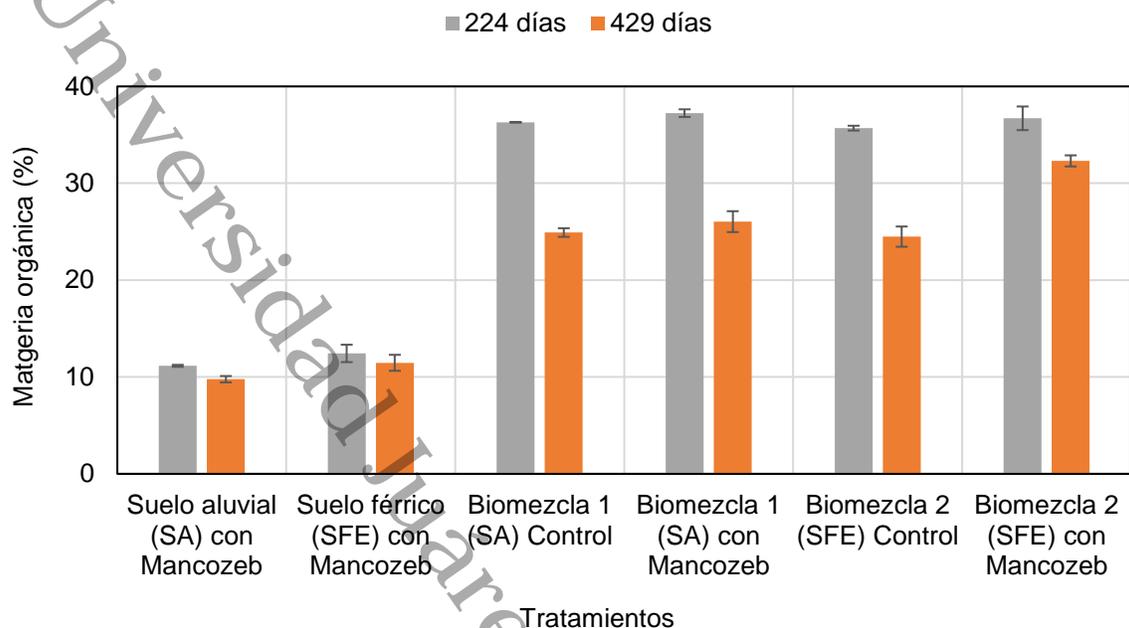


Figura 13. Representación gráfica del porcentaje de la materia orgánica en las biomezclas y suelos entre el tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (ANDEVA Factorial: $p < 0.05$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

El carbono orgánico total es un indicador que permite conocer la disponibilidad de nutrimentos en los diferentes sustratos evaluados. Están relacionados con los resultados de la materia orgánica, ya que está basado en el supuesto de que corresponde al 58% de éste (Hernández, Rodríguez-Pérez y Rosas-Patiño, 2013); considerando los resultados obtenidos de carbono orgánico total y la materia orgánica, estos siguen la misma tendencia (Fig. 13 y 14). Con base a lo anterior, se infiere que la poca disminución del %COT con respecto a los controles, podría ser a la inhibición de la actividad microbiana y a la presencia del xenobiótico en los tratamientos contaminados con respecto a sus controles (ANDEVA Factorial: $p < 0.05$).

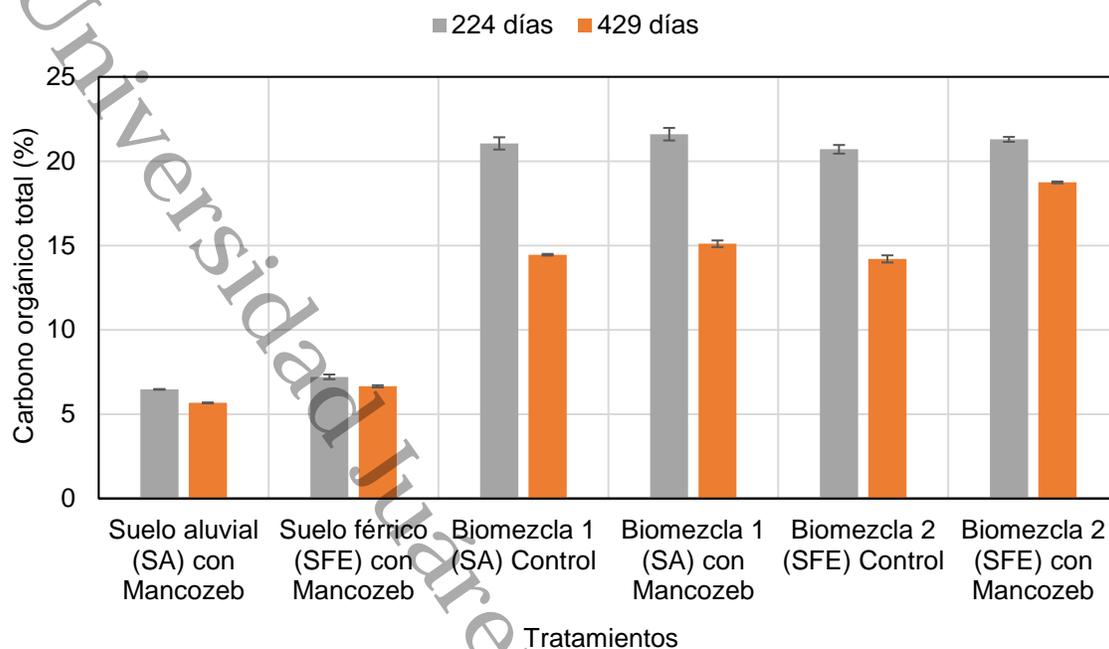


Figura 14. Comparación gráfica del porcentaje de carbono orgánico total de los suelos y las biomezclas entre el tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (ANDEVA Factorial: $p < 0.05$; barras de error representan la desviación estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

7.3.4. Nitrógeno total

Los resultados obtenidos indican que hay diferencias significativas en el nitrógeno total entre los tratamientos y en cada uno de estos a variaciones en el tiempo (Kruskal-Wallis, $p < 0.001$). A inicio de la evaluación los valores del nitrógeno total eran cercanos al 1% y disminuyeron conforme avanzó el ensayo experimental; esto podría deberse a diversos factores como a la cantidad de COT y el pH en los tratamientos. Cuando hay un excedente del carbono orgánico disponible, el nitrógeno disponible es limitado (Bueno Márquez *et al.*, 2008) disminuyendo así, el crecimiento poblacional microbiano. Además, el Mancozeb y la acidez en los tratamientos afecta a la población bacteriana amonificante (Dubey y Rodríguez, 1970; Walia *et al.*, 2014); lo que explicaría porcentajes bajos del nitrógeno total disponible en los tratamientos (Fig. 15, $< 1\%$).

En 1970, Dubey y Rodríguez reportaron el efecto de un plaguicida del grupo bisditiocarbamato (Maneb) sobre dos suelos tropicales (Suelo ácido laterítico y un suelo aluvial); donde encontraron que la disminución del nitrógeno amoniacal fue por la presencia

del plaguicida, lo que coincide con los resultados obtenidos en los tratamientos contaminados, a excepción de la biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb. Se podría considerar que hubo una recuperación del nitrógeno total en este tratamiento al degradar completamente el ETU (Fig. 17) de acuerdo con los valores reportados por Hernández Cervantes (2017).

Uno de los factores que influye en el nitrógeno es la humedad (Hernández Cervantes, 2017), ya que se observó un incremento del contenido de nitrógeno que corresponde con un aumento de la humedad en los tratamientos como se puede observar a los 224 y 319 días.

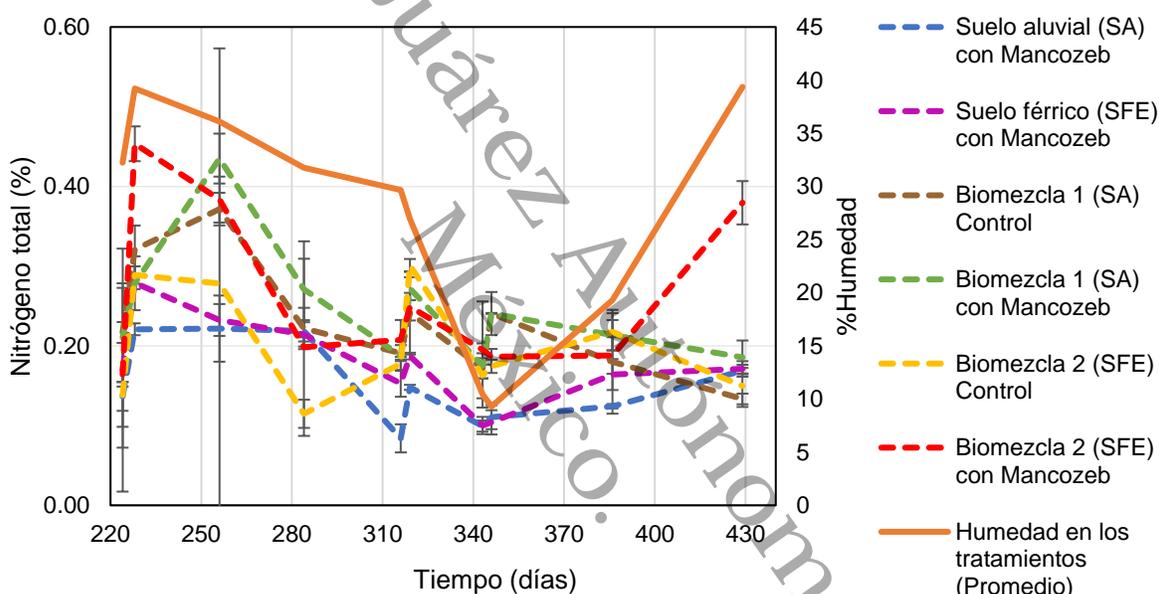


Figura 15. Cinética del porcentaje de nitrógeno total determinado mediante nitrógeno amoniacal durante 210 días, integrando la humedad en los tratamientos (promedio) a través del tiempo (Kruskal-Wallis, $p < 0.001$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

7.3.5. Relación C/N

En los tratamientos hubo una disminución de la relación C/N (Fig. 16) como indicio del consumo del carbono orgánico disponible y un aumento paulatino del nitrógeno (Bueno Márquez *et al.*, 2008). Sin embargo, la biomezcla 1 (SA) obtuvo el efecto contrario (Kruskal Wallis, $p < 0.05$), ya que hubo presencia de raíces en el fondo de las unidades que incrementaron el carbono a causa de la disminución del volumen de la biomezcla.

La relación de C/N >40 indica un alto contenido de carbono en los tratamientos, debido a la poca disponibilidad del nitrógeno para la síntesis proteica de los microorganismos (Bueno Márquez *et al.*, 2008); provocando así una ralentización en la mineralización de la materia orgánica. La disminución de la relación C/N concuerda con lo reportado por Adak y colaboradores (2020), ya que menciona que la relación C/N desciende con el tiempo (90 días, proporción 1:2) en una biomezcla (estiércol de granja, suelo arenoso y paja de arroz) contaminada con imidacloprid en un clima tropical.

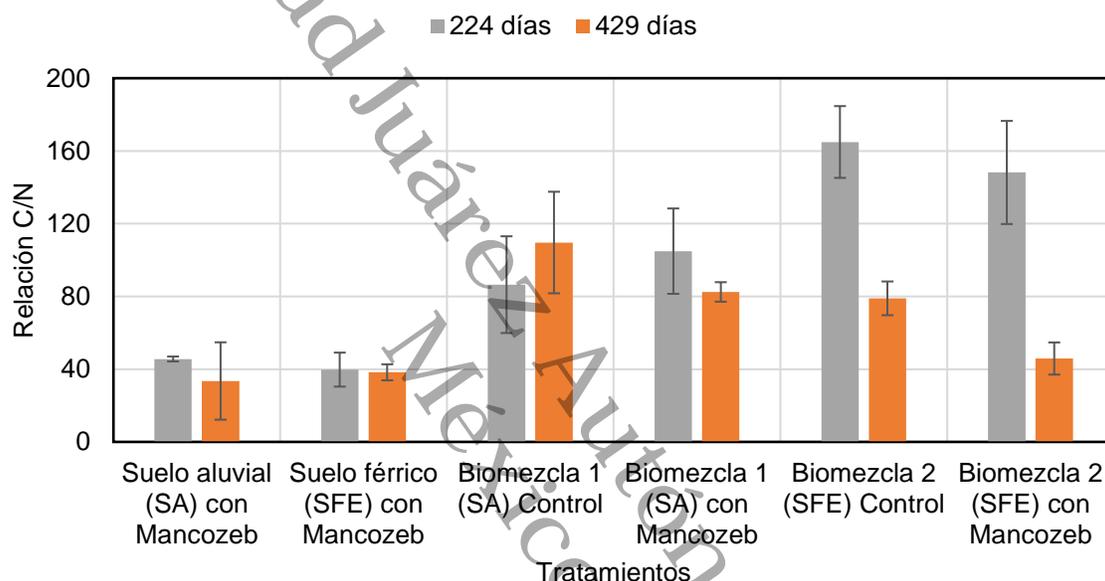


Figura 16. Representación gráfica de la relación C/N de las biomezclas y suelos al tiempo de reanudación (224 días) y del tiempo final (429 días), (Kruskal Wallis, $p < 0.05$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento).

7.3.6. Concentración de ETU

En los tratamientos de la biomezcla 2 (SFE) y el suelo aluvial (SA) contaminados no se detectó el ETU; seguido de la biomezcla 1 (SA) con 0.36 mg/L (Fig. 17); y por último, el suelo férrico (SFE) con 0.94 mg/L; se consideró que los resultados obtenidos están dentro del límite aceptable (< 1 mg/L), de acuerdo con WHO citado por Domínguez (2015). La ausencia de ETU en la biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb podría deberse por las características fisicoquímicas y biológicas de la biomezcla; igualmente por la presencia de los iones metálicos como el calcio, hierro y magnesio en el suelo que interfiere sobre la disponibilidad química y biológica del Mancozeb (Vareli *et al.*, 2018). El suelo aluvial (SA)

podría ser más activo biológicamente de acuerdo con lo reportado por Dubey y Rodriguez (1970); sin embargo, podrían existir otros compuestos químicos secundarios perjudiciales para la salud y el ambiente, ya que tuvo una mortandad del 3.3% en protocolo de toxicidad por *Eisenia foetida* realizada con la muestra de suelo (Fig. 17 y 18).

Los microorganismos que se adaptaron al ambiente contaminado utilizaron el plaguicida para obtener energía y como fuente de carbono, siendo así candidatos para la remediación biológica (Verma, Jaiswal, y Sagar, 2014) tanto en los suelos como en las biomezclas (Kruskal Wallis, $p < 0.001$). En la evaluación del Mancozeb no hubo generación de sustancias tóxicas lixiviables. La degradación del ETU se atribuye a diversos procesos como la degradación biológica mediante los microorganismos celulolíticos (Beltrán Pineda *et al.*, 2017), la hidrólisis, fotólisis y la oxidación del xenobiótico (Xu, 2000; Ruiz Suárez, 2009; Narvaes *et al.*, 2012).

A pesar de que en los suelos fueron ausentes los sustratos orgánicos, también hay disminución del plaguicida debido a la presencia de los microorganismos celulolíticos aerobios (Cuadro 9). También se debe considerar el comportamiento de atenuación natural del mancozeb, el cual se hidroliza entre uno a dos días en suelos aerobios (tiempo de vida media) por su inestabilidad química (Xu, 2000; Roede y Miller, 2014). En el 2009, Ruiz Suárez reportó la degradación del ETU en un suelo franco arcilloso tuvo una tasa de degradación de $0.46 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, mientras que en el suelo estéril fue de $0.025 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; teniendo como conclusión que la degradación del contaminante puede darse por la ruta biológica y la ruta química (oxidación e hidrólisis).

En 2019, Balcázar López reportó que a los 427 días de evaluación de contaminación con Mancozeb en su biomezcla con suelo aluvial obtuvo $>10 \text{ mg/L}$ de ETU en la capa superficial después de 30 días de aplicar el plaguicida, lo cual discrepa con lo obtenido en esta investigación, ya que los tratamientos presentaron $<1 \text{ mg/L}$ de ETU (Fig.17). Mientras tanto, Vareli *et al.* (2018) evaluó una biomezcla suiza con suelo férrico (65% de arcilla), latosol y nitosol, donde obtuvo que a partir del octavo mes de evaluación no es detectable la presencia del Mancozeb, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el proyecto.

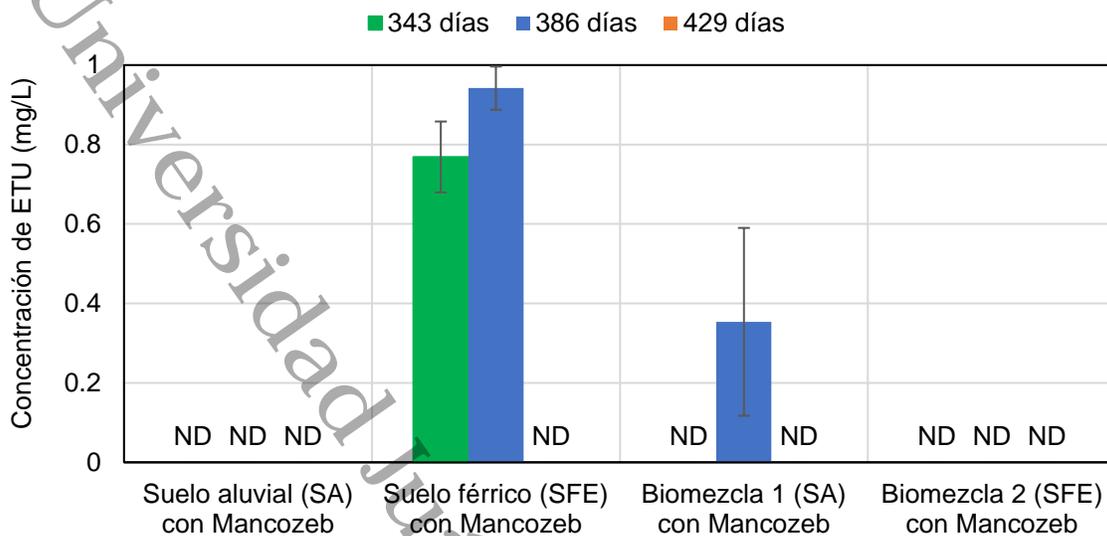


Figura 17. Representación gráfica de la concentración de ETU (mg/L) durante 343 a 429 días durante la contaminación en los tratamientos con Mancozeb (Kruskal Wallis, $p < 0.001$; barras de error representan el error estándar en $n=3$ para cada tratamiento). ND: no detectado.

7.3.7. Toxicidad por *Eisenia foetida*

Al inicio del experimento hubo un aumento de peso en las lombrices, aunque mantuvieron coloración rojiza, no liberaron líquido celómico ni mostraron efectos negativos en los tratamientos. De acuerdo con la prueba de toxicidad aguda con *Eisenia foetida* (OECD No. 207), un valor de 10% de mortandad se considera normal y entre el rango de precisión de la prueba tomando en cuenta la mortandad con su respectivo control (agua destilada); es decir, si en el control hubo presencia de mortandad es cuestión de una muerte natural por el organismo mientras que si esto no ocurre, se toma en cuenta de que hay un efecto en las muestras que alteran al organismo provocando sus cambios negativos (líquido celómico, poco movimiento y estímulo, cambio de color, muerte). En la evaluación de toxicidad, los respectivos controles (agua destilada) tanto de suelos como de biomezclas no presentaron mortandad ni efectos negativos, más que la disminución de peso. Con base en los resultados, se puede afirmar que durante la etapa experimental de la degradación del xenobiótico no hubo generación de sustancias tóxicas lixiviables.

La biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb obtuvo 0% mortandad en las lombrices (Fig.18), demostrando así que hubo una degradación completa del plaguicida (ETU: No detectado)

debido a que los organismos no presentaron efectos negativos. Los suelos presentaron una mortandad de 3.3% (SA) y 10% (SFE) tanto por efecto de los metabolitos del plaguicida como por desangramiento y autólisis de la lombriz, el cual consiste en la misma partición del organismo (Fig. 19). Parte de este comportamiento se atribuye a la cantidad de arcillas en los suelos, ya que se ha reportado que interfieren en la degradación del plaguicida debido a que hay una mayor capacidad de retención (Vareli *et al.*, 2018). La biomezcla 1 (SA) con Mancozeb tuvo 3.33% de mortandad, y los demás organismos presentaron poco estímulo y cambio de color. Esto sugiere un estrés en los organismos, por ello, se consideró que probablemente se generaron metabolitos tóxicos o hubo una mineralización de los sustratos orgánicos generando ácidos húmicos a los 429 días. Sin embargo, en los tratamientos hubo un aumento de peso en las lombrices y no excretaron líquido celómico. Estos resultados son similares con lo reportado por Lescano y colaboradores (2020), donde obtuvo 3% de mortandad por *Eisenia foetida* en una biomezcla (suelo agrícola, paja de alfalfa y residuos vegetales) con el glifosato (1000 mg/kg seco de la biomezcla) y en el suelo franco arcilloso limoso 13%.

Durante la evaluación de las biomezclas, no se excedió este valor en ningún momento y en su mayoría estaba en 0% de mortandad o solo 1 organismo en 30 (3.3%). Con los resultados obtenidos se comprueba el éxito de estos tratamientos (más los valores de ETU). Además, el único tratamiento con un valor de 10% fue el suelo férrico (no biomezcla) durante el periodo de sequía.

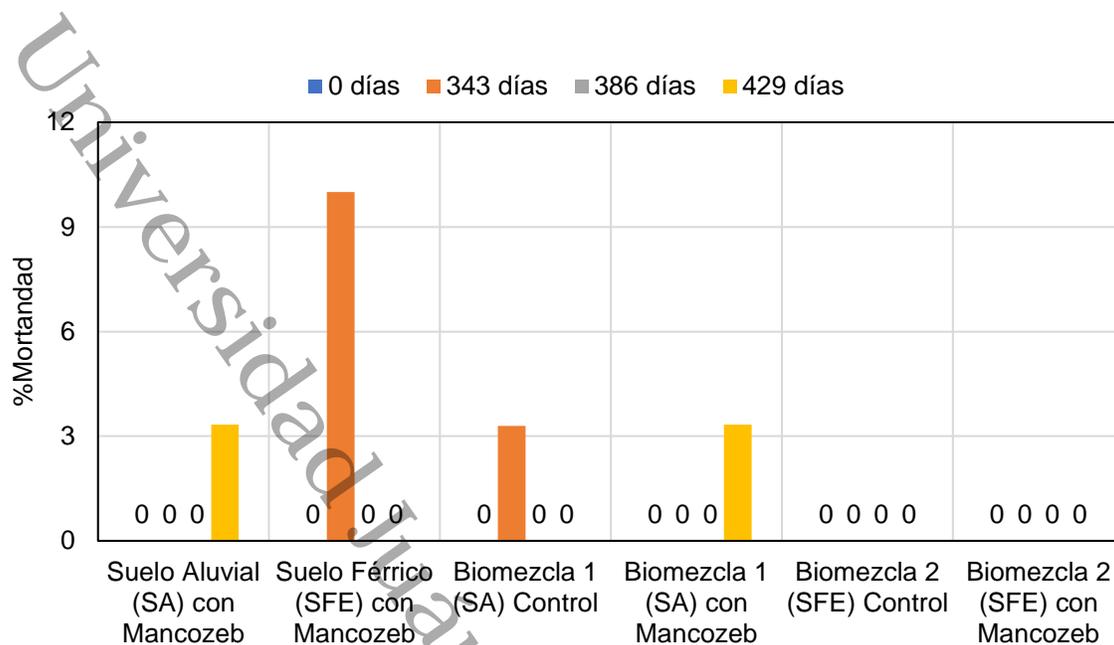


Figura 18. Porcentaje de mortandad de las lombrices californianas rojas (*Eisenia foetida*) en la prueba de toxicidad para los suelos y las biomezclas.



Figura 19. Representación visual de mortandad en la prueba de toxicidad con *Eisenia foetida*.

7.3.8. Conteo de microorganismos celulolíticos aerobios mediante la técnica del Número Más Probable (NMP)

Con base al conteo por la técnica del Número Más Probable (NMP) en las diluciones 10^{-5} , se observó una mayor cuantificación de microorganismos celulolíticos en las biomezclas

que en los suelos (Cuadro 8) en el tiempo 0, además se consideró como tubo positivo en donde hubo un cambio en la tira de papel (Fig. 20).

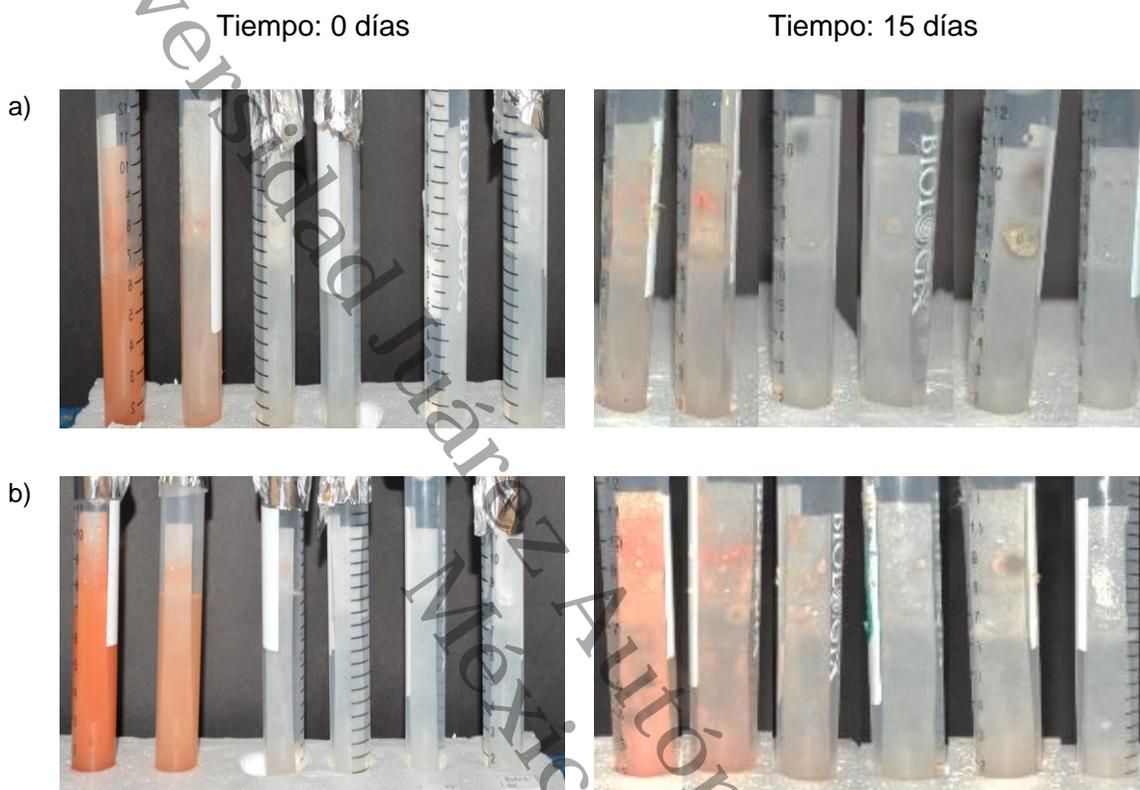


Figura 20. Ejemplo de la medición del crecimiento celulolítico de los microorganismos diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} de izquierda a derecha en el inciso a) y b) en el tiempo 0 y 15 días. a) Suelo férrico (SFE) y b) Biomezcla 2 (SFE).

Durante la etapa experimental, hubo disminución en la densidad poblacional (LOG células/g de suelo) a través del tiempo en los tratamientos (Figura 21; Kruskal Wallis, $p < 0.05$). Esta disminución se debió posiblemente a la contaminación y mineralización de la materia orgánica. A los 224 días, la baja densidad en la población microbiana se debió a diversos factores como la falta de oxigenación en las unidades experimentales por las precipitaciones, lo que produjo un ambiente anaeróbico (Bueno Márquez *et al.*, 2008). A pesar de ello, la degradación de ETU en los tratamientos fue adecuada.

En la cuantificación de la población microbiana, a pesar de que posiblemente los tratamientos sean homogéneos (Tukey, $p > 0.05$) cuando es considerado en forma logarítmica (Fig. 21), se observó que en los tratamientos con suelo férrico la población de

microorganismos celulolíticos son ligeramente, pero consistentemente, mayor que las mezclas con suelo aluvial. Se podría inferir que las características fisicoquímicas del suelo férrico contribuyeron en la población microbiana de la biomezcla 2 y que la microbiota presente en este tipo de suelo es más eficaz para la degradación del Mancozeb, tanto en las biomezclas como en el suelo a comparación del suelo aluvial.

Los microorganismos celulolíticos se vieron afectados por diferentes variables como pH, la relación C/N y la humedad. Se ha reportado que tanto la población fúngica como bacteriana disminuye en concentraciones mayores a 100 mg/L de Mancozeb en un suelo arenoso, sin embargo, conforme incrementa el tiempo de contaminación la población fúngica aumenta ligeramente (Walia *et al.*, 2014), ya que utilizan el Mancozeb y sus metabolitos como fuente de carbono. En el 2013, Gil y colaboradores aplicaron distintos tratamientos para tratar la infección de raíces afectadas por *P. cinnamomi* en un cultivo de aguacate en Donmantías, Antioquia-Colombia. En la cuantificación de microorganismos celulolíticos aerobios, reportaron que en la aplicación de una combinación de Mancozeb+metalaxyl (Ridomil gold) a una concentración de 3.75 g/L correspondiente a su producto comercial obtuvieron 58 UFC/g.s. mientras que en el tratamiento con mantillo orgánico hubo una presencia de 200 UFC/g.s, por lo tanto se considera que disminuyó esta población con el Mancozeb.

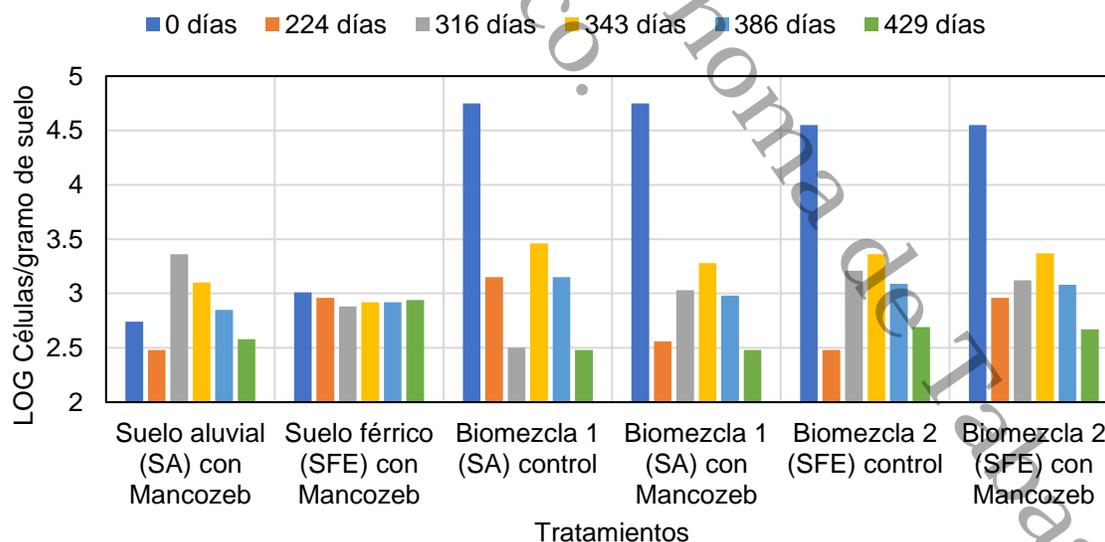


Figura 21. Cuantificación de los microorganismos celulolíticos aerobios (LOG células/gramo de suelo) en las biomezclas y suelos durante 429 días en la evaluación de la contaminación con Mancozeb mediante la técnica del NMP (Kruskal-Wallis, $p > 0.05$).

7.3.9. Suposición de la extensión de la vida útil

De acuerdo con lo reportado por Balcázar López (2019), hay parámetros que permiten suponer la eficacia de una biomezcla (Cuadro 8).

La humedad es un parámetro esencial en la interacción de los microorganismos y funcionamiento de las biomezclas que debe mantenerse entre 40% y 60% (Román *et al.*, 2013); sin embargo, en los tratamientos se mantuvo entre 5 a 29% y no afectó en la degradación de ETU. Posteriormente, los valores de pH discrepan de lo reportado por Balcázar López (2019); a pesar de que algunos tratamientos obtuvieron valores ácidos, no perjudicaron en la disminución del marcador ambiental y atribuyeron al crecimiento de los microorganismos celulolíticos. En los valores de la materia orgánica, nitrógeno total y del carbono orgánico total es mayor en las biomezclas contaminadas que en los suelos y que el reportado por el autor de comparación, puede deberse a los sustratos orgánicos utilizados en las biomezclas.

La concentración de ETU en las biomezclas fueron menores que lo reportado por Balcázar López (2019); lo que infiere que la eficacia de degradación de ETU en los tratamientos de estudio y a los resultados obtenidos en la prueba de toxicidad, son adecuadas para su uso en el campo agrícola.

Al comparar los datos obtenidos en la evaluación de estudio con los de Balcázar López (2019), donde evaluó hasta 15 meses, más se sugiere el cambio de biomezcla cada 12 meses de acuerdo con sus resultados. Esto permite inferir que las biomezclas utilizadas en este experimento podrían extender su uso, ya que sus sustratos orgánicos dan una mejor eficiencia en la degradación del Mancozeb. A pesar de los resultados favorables en los tratamientos donde están presente únicamente los suelos, podría considerarse continuar su evaluación debido a que la estimación de la vida útil es principalmente para el uso de biomezclas.

Cuadro 8. Comparación de los parámetros identificados como indicadores de referencia y en la eficiencia de degradación de ETU en las biomezclas a los 14 meses, obtenidos en el estudio y reportados por Balcázar López (2019).

		Tratamientos del estudio (14 meses)		Balcázar López, 2019 *Capa superficial-14 meses
		Biomezcla 1 (SA) con Mancozeb	Biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb	Biomezcla: Pizonte (50%) + Suelo arcilloso (25%) + cachaza de caña (25%)
Indicadores de referencia	Parámetros			
	Humedad (%)	28.87	29.64	35
	pH	4.55	4.52	8
	MO (%)	26.0	32.3	10
	COT (%)	15.10	18.74	6
	NT (%)	0.18	0.38	0.10
Relación C/N	82.47	49.31	60	
Eficiencia de degradación	ETU (mg/L)	0.35	No detectado	>12
	Mortandad por <i>Eisenia foetida</i> (%)	3.3	0	>5
	NMP	300	360	-

Al analizar los parámetros se observa mayor contenido de MO y COT, y concentraciones bajas de ETU en las biomezclas 1 (SA) y 2 (SFE), en comparación con el estudio realizado por Balcázar López (2019). La reducción en la MO de la biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb fue de 4.4% mientras que en la biomezcla 1 (SA) de 11.2%, siendo así que fue 2.5 veces menos en la biomezcla con suelo férrico vs suelo aluvial. Con base a la gráfica de extrapolación (Fig. 22 y 23), con un manejo adecuado de monitoreo, la composición de la biomezcla 2 (SFE) podría tener aproximadamente el doble de tiempo de vida útil que la biomezcla reportado por Balcázar López (2019).

Tres de los parámetros contemplados en el estudio (materia orgánica (%MO), pH y la concentración de ETU) pueden permitir la suposición del tiempo de vida útil mediante la extrapolación lineal. Se utilizaron las fórmulas de “ $y = -0.0137x + 10.72$ ” y “ $y = -0.012x + 9.704$ ”

para el parámetro de pH y para %MO las fórmulas de “ $y = -0.0279x + 35.84$ ” y “ $y = -0.0273x + 39.45$ ” en las biomezclas 1 y 2 respectivamente.

En la simulación extrapolar de %MO (Fig. 22), la biomezcla 2 (SFE) con Mancozeb se extendería su uso hasta los 900 días (aprox. 29 meses) y todavía tendría un porcentaje mayor que el reportado por Balcázar López (2019) a los 12 meses. Con respecto al pH (Fig. 23), las biomezclas contaminadas presentaron pH de 4.5 en la última evaluación y no se detectó el ETU. Sin embargo, se sugiere el uso de cal agrícola (carbonato de calcio) para aumentar el pH a 5-5.5, ya que valores >4 podrían ser perjudiciales para la microbiota y desfavorecer la degradación del ETU. Se podría considerar que el pH sería uno de los factores a monitorear durante el uso de la combinación de estos sustratos en las biomezclas.

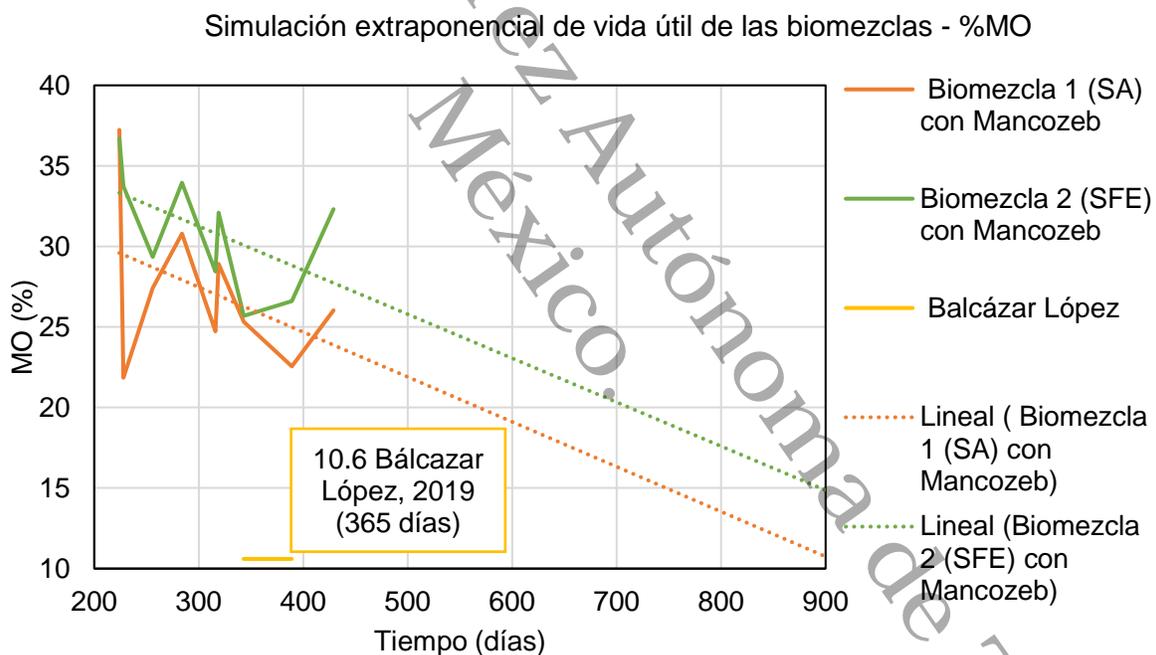


Figura 22. Simulación extrapolación lineal en la vida útil con respecto a la materia orgánica de las biomezclas contaminadas evaluadas en el proyecto de investigación a los 900 días.

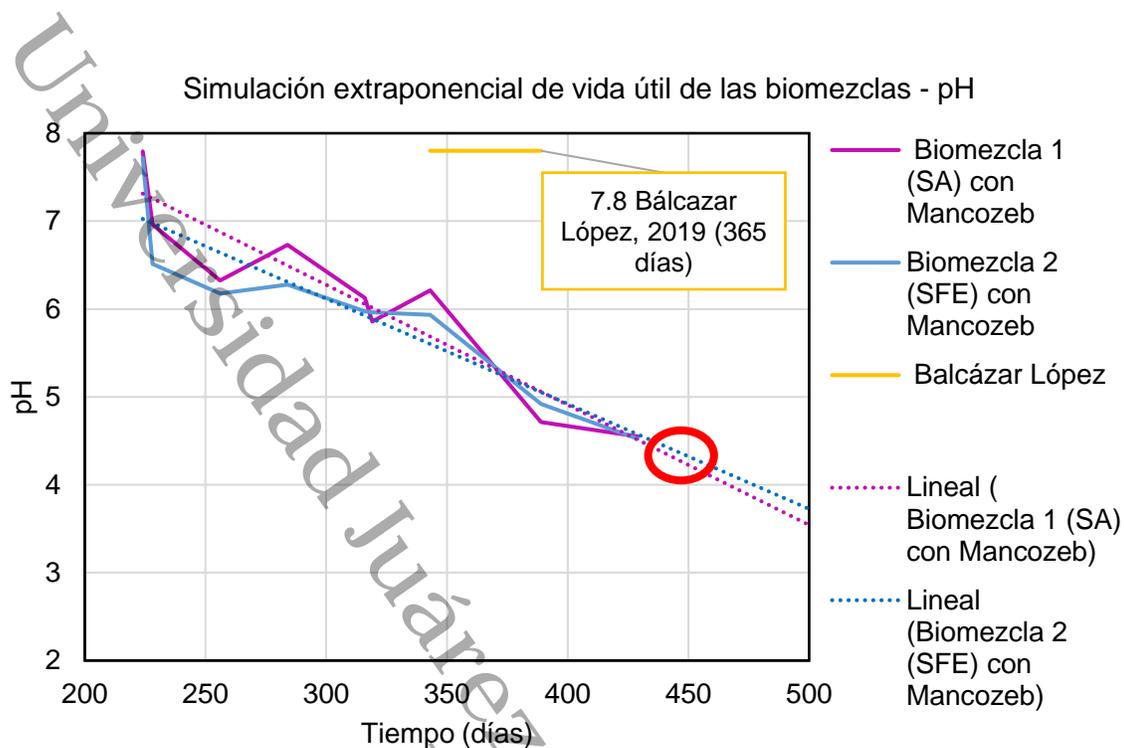


Figura 23. Simulación extrapolar lineal de la vida útil con respecto al pH de las biomezclas contaminadas evaluadas en el proyecto de investigación a los 500 días.

7.4. Correlación de los parámetros evaluados en el proyecto de investigación

El rango de los coeficientes de correlación va de -1 a +1 y miden la fuerza de asociación entre las variables. La correlación se realizó con respecto al tipo de suelo en cada biomezcla, tomando en cuenta los tratamientos contaminados (Cuadro 9).

Hay una muy ligera correlación entre el ETU con respecto al pH en el suelo aluvial ($R = 0.5556$), mientras que en los demás parámetros no se relaciona tanto en el suelo férrico como en el aluvial. Igualmente, el pH no tuvo mucha correlación en el suelo aluvial, pero sí una muy leve correlación C/N en el suelo férrico ($R = 0.5409$). En términos de humedad, solo se observó una ligera correlación negativa con el NMP en el suelo aluvial ($R = -0.6640$). En este suelo, posiblemente pudo ser un exceso de humedad ocasionalmente que redujo el crecimiento de los microorganismos, pero sin resultar en una biocama no funcional (según los datos de ETU y toxicidad).

La cuantificación de los microorganismos celulolíticos (NMP) está correlacionado débilmente con el pH, ETU, %MO, %COT y la relación C/N en el suelo aluvial, mientras que

en el suelo férrico las correlaciones son similares a excepción del parámetro de ETU. La correlación de los parámetros de %MO, %COT y la relación C/N en ambos suelos se comportan de manera similar con los demás parámetros obteniéndose relaciones débiles, a excepción de la relación C/N con el pH en el suelo férrico ($R = 0.5409$) y con el %MO en el suelo aluvial ($R = 0.4420$) donde son cercanas a correlaciones ligeras; indicando así que el comportamiento en estos parámetros es independientemente del tipo de suelo utilizado en las biomezclas.

En las demás variables hay correlaciones inferiores a 0.4720 y negativas entre las variables restantes del análisis, indicando así una correlación débil (<0.5) y en los valores negativos la correlación está alejada. Teniendo en cuenta los datos obtenidos, se podría inferir que las variables de respuesta están más correlacionadas en el suelo aluvial que en el suelo férrico en las biomezclas para la degradación del ETU.

Cuadro 9. Matriz de la correlación de Pearson para los parámetros %COT (carbono orgánico total), %Humedad, %MO (materia orgánica), %NT (nitrógeno total), C/N (relación C/N), ETU (mg/L), densidad poblacional de los microorganismos celulolíticos aerobios (NMP) y pH en la degradación del xenobiótico en la biomezcla con suelo aluvial y férrico con Mancozeb.

Parámetros	Relación							
	%NT	pH	%Humedad	ETU	%MO	%COT	C/N	NMP
Biomezcla 1 con suelo aluvial								
%NT		-0.1778	-0.0893	-0.3430	0.1030	0.1030	-0.7222*	-0.1364
pH	-0.3190		-0.2188	0.5556	0.3402	0.3402	0.1623	0.3868
%Humedad	-0.2420	0.0924		0.1575	-0.2045	-0.2045	-0.0279	-0.6640
ETU	0.0000	0.0000	0.0000		0.0199	0.0199	0.2225	0.3361
%MO	0.1024	0.3031	-0.0075	0.0000		1.0000	0.4420*	0.1776
%COT	0.1024	0.3031	-0.0075	0.0000	1.0000		0.4420*	0.1776
Relación C/N	-0.6378*	0.5409*	0.1552	0.0000	0.1564	0.1564		0.4441
NMP	-0.1089	0.2493	-0.1284	0.0000	0.1201	0.1201	0.4720	
Biomezcla 2 con suelo férrico								

*Indica diferencias estadísticamente significativas.

8. Conclusión

La cáscara de cacao y la astilla de pino fueron sustratos orgánicos eficientes en el uso de las biomezclas para la degradación del Mancozeb en climas cálidos tropicales, ya que permiten una adecuada adsorción del xenobiótico y su porcentaje de materia orgánica mejoran el tiempo de utilidad de las biomezclas (14 meses). Mediante los parámetros de pH, humedad, materia orgánica, nitrógeno total, carbono orgánico total y la relación C/N se pudo estimar que el tipo de suelo influye en el tiempo de vida útil de la biomezcla (como se observó en la sección 7.3.9), siendo así la mejor opción el suelo férrico para ampliar su utilidad.

En la biomezcla con presencia del suelo férrico se obtuvo una mejor reducción en la concentración del xenobiótico, no hubo mortandad de los organismos en la toxicidad y la cuantificación de los microorganismos celulolíticos (LOG células/g.s.) fue mayor que en la biomezcla donde se utilizó el suelo aluvial.

8.1. Observaciones

- La coloración rojiza del suelo férrico puede interferir en la lectura de espectrofotometría de algunos parámetros.
- El crecimiento vegetativo mejoró los niveles de pH en los tratamientos, por lo que se podría considerar realizar un estudio con la biomezcla 2 (SFE) con césped y así evitar su acidificación; tomando en cuenta que este tratamiento fue más eficaz. En caso de llevar a cabo dicha evaluación, se debe considerar utilizar de la familia Poaceae y Cyperaceae (Fig. 12) natales del estado de Tabasco.
- Si se considera emplear únicamente la biomezcla 2 (SFE) en la degradación del Mancozeb, se debe tomar en cuenta añadir cal agrícola para aumentar su pH y verificar este parámetro de manera periódica.
- Al finalizar el uso del tratamiento, se tiene que llevar a cabo un post-compostaje y añadir sustratos orgánicos en caso de que la concentración de ETU sea mayor de 1 mg/L, de acuerdo con lo recomendado por Balcázar López (2019).

9. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo-Sandoval O., Ortiz-Hernández E., Cruz-Sánchez M. y Cruz-Chávez E. (2004). El papel de óxidos de hierro en suelos. *Terra Latinoamericana*, 22, 485–487.
- Adak T., Mahapatra B., Swain H., Naveenkumar B. P., Pandi G. G. P., Basana G., Annamalai M., Pokhare S. S., Sankari Meena K., Rath C. y Jena M. (2020). Indigenous biobed to limit point source pollution of imidacloprid in tropical countries. *Journal of Environmental Management*, 272(July), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111084>
- Alef K. y Nannipieri P. (1995). Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* (pp. 142–161). Academic Press.
- Álvarez E., Pantoja A., Gañán L. y Ceballos G. (2013). *La Sigatoka negra en plátano y banano*. <https://www.fao.org/3/as089s/as089s.pdf>
- Atlas W. (2021). *Previsión meteorológica y clima mensual, Villahermosa, Tabasco*. <https://www.weather-atlas.com/es/mexico/villahermosa-clima>
- Balcázar López M. (2019). *Vida útil de biomezcla con raquis de plátano en camas biológicas*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Bedmar F. (2011). Informe Especial Sobre Plaguicidas Agrícolas. *Ciencia Hoy*, 21(122), 11. <https://www.agro.uba.ar/users/semmarti/Usotierra/CH%20Plaguicidas%20fin.PDF>
- Beltrán Pineda M. E., Rocha Gil Z. E., Bernal Figueroa A. A. y Pita Morales L. A. (2017). MICROORGANISMOS FUNCIONALES EN SUELOS CON Y SIN REVEGETALIZACIÓN EN EL MUNICIPIO DE VILLA DE LEYVA, BOYACÁ. *Facultad Del Medio Ambiente y Recursos Naturales - Proyecto Curricular de Ingeniería Forestal*, 20(2), 158–170. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.2.a05>
- Betrán A. J. y Pardo J. A. (2015). *Ejercicios prácticas de Edafología*. Pressas de la Universidad de Zaragoza.
- Bolda M. y Dara S. K. (2015). *Manual de Producción de Fresa para los Agricultores de la*

- Costa Central (2a ed.). Mimeo. <http://cesantabarbara.ucanr.edu/files/228580.pdf>
- Boopathy R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74, 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)
- Bozdogan A. M., Yarpuz-Bozdogan N., Aka-Saglikler H., Eren Oztekin M. y Daglioglu N. (2014). Determination of absorption and degradation of some pesticides in biobed. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12(1), 347–351.
- Brenes Alfaro L. (2020). *Manual de uso de biobeds*. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Contaminación Ambiental.
- Bueno Márquez P., Díaz Blanco M. J. y Cabrera F. (2008). Factores que afectan al proceso de compostaje. En *Compostaje* (pp. 93–108). Mundi-Prensa Libro.
- Camacho A., Giles M., Ortegón A., Palao M., Serrano B. y Velázquez O. (2009). Cuenta en placa de bacterias. En *Técnicas para el Análisis Microbiológicos de Alimentos* (2da ed., pp. 7–9). UNAM.
- Carniel L. S. C. (2015). *AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO DE MANCOZEBE E CLORPIRIFÓS PARA REPRESENTANTES DA MACRO E MESOFAUNA DO SOLO E EFICIÊNCIA DE LEITOS LAGES BIOLÓGICOS DE DESCARTE*. Universidade do Estado de Santa Catarina.
- Castillo M. D. P. y Torstensson L. (2007). Effect of biobed composition, moisture, and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5725–5733. <https://doi.org/10.1021/jf0707637>
- Castillo M. D. P., Torstensson L. y Stenström J. (2008). Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Use-A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6206–6219. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf800844x>
- Company H. (1999). *Determinación de nitrógeno amoniacal. Método de Nessler*.
- Córdova Méndez E. A., Gongora Echeverría V. R., Giacomán-vallejos G., Quintal-Franco C. y Ponce-Caballero C. (2017). *Influencia de la humedad y temperatura en la disipación de cinco plaguicidas*. <http://www.amica.com.mx/issn/Tabasco/AMI-202.pdf>
- Dean W. E. (1974). Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments

- and sedimentary rocks by loss on ignition; comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Research*, 44(1), 242–248.
- Del Pilar C. M. y Pizzul L. (2018). Biobeds - Una contribución sueca para la minimización de la contaminación por el uso de plaguicidas. In L. Brutti, M. Beltrán, y I. García S. (Eds.), *Biorremediación de los Recursos Naturales* (pp. 58, 61). Instituto de Suelos, Centro de Investigación de Recursos Naturales. https://inta.gob.ar/sites/default/files/biorremediacion_de_los_recursos_naturales.pdf
- Diez Jerez M. C., Palma Cifuentes G., Altamirano Quijada C., Briceño Muñoz G., Calderón Ramírez C., Díaz Sánchez J., Rubilar Araneda O. y Tortella Fuentes G. (2013). *Manual de construcción y operación de lechos biológicos*. <https://lechosbiologicos.files.wordpress.com/2013/08/manual.pdf>
- Domínguez-Rodríguez V. I., Adams R. H., Obrador-Olán J. J., Zavala-Cruz J., Guerrero-Peña A., Vaquera-Huerta H. y Miranda-Cruz E. (2015). Eco-friendly Spectrophotometric Method As Alternative For Carbon Disulfide-free Determination of Ethylenethiourea in Surface Water. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 19(5), 1–7.
- Domínguez M. C., Peñuela G. y Flórez M. T. (2009). Método analítico para la determinación de etilentiourea (etu) subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueño. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 49, 42–49.
- Domínguez R. V. I. (2015). *Biocamas para el tratamiento de aguas contaminadas con fungicidas en la zona platanera de Teapa, Tabasco*. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.
- Dubey H. D. y Rodriguez R. L. (1970). Effect of Dyrene and Maneb on Nitrification and Ammonification, and Their Degradation in Tropical Soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 34, 435–439.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Generalidades del suelo*. http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/FAO_Training/FAO_Training/General/x6706s/x6706s01.htm

- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017). Mapa de carbono orgánico del suelo. In *FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <http://www.fao.org/3/i8195es/I8195ES.pdf>
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019). *Propiedades biológicas*. FAO. <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-biologicas/es/>
- Fernández Linares L. C. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos*. Instituto Mexicano del Petróleo, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, y el Instituto Nacional de Ecología.
- Froni, L. (2006). *Microbiología básica, ambiental y agrícola*. Universidad de la República - Facultad de Agronomía.
- Gebler L., Pizzutti I. R., Cardoso C. D., Filho O. K., Miquelluti D. J. y Santos R. S. S. (2015). Bioreactors to Organize the Disposal of Phytosanitary Effluents of Brazilian Bioreactors to Organize the Disposal of Phytosanitary Effluents of Brazilian Apple Production. *Chemical Engineering Transactions*, 43, 343–348. <https://doi.org/10.3303/CET1543058>
- Gil J. G. R., Sánchez D. A. C. y Osorio J. G. M. (2013). Dinámica microbial del suelo asociada a diferentes estrategias de manejo de *Phytophthora cinnamomi* Rands en aguacate. *Revista Ceres*, 60(6), 811–819. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000600009>
- Gupta P., Samant K. y Sahu A. (2012). Isolation of Cellulose-Degrading Bacteria and Determination of Their Cellulolytic Potential. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2012/578925>
- Gutiérrez-García C. y Félix-Herrán J. A. (2014). Evaluación de microorganismos cultivables de suelos y abonos orgánicos sólidos. In *Técnicas de caracterización de suelos y abonos orgánicos* (pp. 110–111). Fundación Produce Sinaloa, A.C.
- Hatakka A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: Production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiology*, 13, 125–135.
- Hatakka A. y Hammel K. (2010). Fungal biodegradation of lignocelluloses. In: *Mycota X*

- Industrial Applications. *Springer-Verlag*, 319–340.
- Hernández Cervantes E. (2017). *Efectividad de camas biológicas para reducción de etilentiourea en aguas residuales a escala de campo*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Hernández H., Rodríguez-Pérez W. y Rosas-Patiño G. (2013). Determinación de materia orgánica y nitrógeno total en suelos de Cimaz-Macagual, Puerco Rico y el Doncello (Caquetá, Colombia). *Revista Colombia Amazónica*, 6, 101–109.
- Jackson M. (1976). *Análisis químico de suelos*. OMEGA.
- Jiménez P. G., Lucena Marotta J. J., Ruano Criado S. y Nogales García M. (2010). *Guía Práctica de la fertilización racional de los cultivos en España*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Jorgensen E. (2010). *Ecotoxicology*. Academic Press.
- Julca-Otiniano A., Menses-Florián L., Blas-Sevillano R., y Bello-Amez S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA (Chile)*, 24(1), 49–61.
- La Manna L., Buduba C. y Alonso V. (2007). Comparación de métodos analíticos para la determinación de materia orgánica en suelos de la región Andino-Patagónica: efectos de la vegetación y el tipo de suelo. *Ciencia Del Suelo*, 25(2), 179–188.
- Lancho-Gallardo J., González-Hernández M. I. y Perez-García C. (1982). *La materia orgánica del suelo. Su importancia en suelos naturales y cultivados*.
- León González F. y Etchevers, J. D. (1999). *Materia orgánica en el suelo y disponibilidad de nitrógeno*. XIV Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo.
- León Najera J., Gómez Álvarez R., Hernández Daumás S., Álvarez Solís J. y Palma López D. (2006). Mineralización en suelos con incorporación de residuos orgánicos en los altos de Chiapas, México. *Univeridad y Ciencia Trópico Húmedo*, 22(2), 163–174.
- Lescano M. R., Masin C. E., Rodríguez A. R., Godoy J. L. y Zalazar C. S. (2020). Earthworms to improve glyphosate degradation in biobeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(1997), 27023–27031.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-020-09002-w>

- Madigan M. T., Martinko J. M., Bender K. S., Buckley D. H. y Stahl D. A. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos* (14th ed.). Pearson Educación, S.A.
- Mena-Espino X. y Couch-Uicab Y. (2015). Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública. *Tecnociencia Chihuahua*, IX(2), 91–98.
- Muñoz Iniestra D. J., Aburto A. S., López Galindo F., y Hernández Moreno M. M. (2013). *Edafología: Manual de métodos de análisis de suelos*. UNAM.
- Narvaes J., Palacio J. y Molina F. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad. *Revista Gestion y Ambiente*, 3, 27–38. <http://www.bdigital.unal.edu.co/35839/1/36278-151112-1-PB.pdf>
- Norma Mexicana. NMX-FF-109-SCFI-2008. (2008). *HUMUS DE LOMBRIZ (LOMBRICOMPOSTA) - ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA*. Diario Oficial de la Federación.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-021-SEMARNAT-2000 (2002) *ESTABLECE LAS ESPECIFICACIONES DE FERTILIDAD, SALINIDAD Y CLASIFICACIÓN DE SUELOS, ESTUDIO, MUESTREO Y ANÁLISIS*. Diario Oficial de la Federación.
- OECD, Guide for testing of chemicals. (1984). 207. *Earthworm, Acute Toxicity Tests*. <https://doi.org/10.1787/9789264070042-en>
- OHAUS. (n.d.). *Manual de instrucciones de la termobalanza OHAUS MB35*.
- Orozco-Santos M., García-Mariscal K., Manzo-Sánchez G., Guzmán-González S., Martínez-Bolaños L., Beltrán-García M., Garrido-Ramírez E., Torres-Amezcuca J. A. y Canto-Canché B. (2013). *La sigatoka negra y su manejo integrado en banano*. SAGARPA, INIFAP, CIRCAC, Campo Experimental Tecomán.
- Ortiz-hernández M. L., Rodríguez A., Sánchez-salinas E. y Castrejón-godínez M. L. (2014). Bioremediation of Soils Contaminated with Pesticides: Experiences in Mexico. In *Bioremediation in Latin America: Current Research and Perspectives* (p. 70). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-05738-5>

- Palma-López D. J., Cisneros Dominguez J., Moreno Caliz E. y Rincon-Ramirez J. A. (2006). *Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco Vol. I* (3rd ed.). ISPROTAB-FUNDACION PRODUCE TABASCO-COLEGIO DE POSTGRADUADOS.
- Palma-López D. J., Jiménez-Ramírez R., Zavala-Cruz J., Bautista-Zúñiga F., Gavi-Reyes, F. y Palma-Cancino D. Y. (2017). Actualización de la clasificación de suelos de Tabasco, México. *Agroproductividad*, 10(12), 29–35.
- Perdomo C. y Barbazán M. (1998). *Nitrógeno*.
- Pulido B. A. (2007). *Nociones de hidrogeología para ambientólogos*. Universidad de Almería.
- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A. y Frede H. G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. *Science of the Total Environment*, 384, 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.046>
- Rodríguez-Eugenio N., McLaughlin M. y Pennock D. (2019). *La contaminación del suelo: una realidad oculta*. FAO.
- Roede J. R. y Miller G. W. (2014). Mancozeb. En *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* (Vol. 3, pp. 144–146). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00157-3>
- Román P., Martínez M. y Pantoja A. (2013). *Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en América Latina*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Ruiz Marrondo S. (2001). *Desarrollo de métodos de electroforesis capilar en fase micelar. Aplicación al análisis de herbicidas y de sus productos de degradación*. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Ruiz Suárez L. E. (2009). *Degradación y transporte de etilentiourea (ETU) en suelo y agua de una zona tropical del sureste de México* [El Colegio de la Frontera Sur]. https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1749/1/100000041242_documento.pdf

- Sadeghian S. (2016). *La acidez del suelo, una limitante común para la producción de café* (Issue Tabla 1).
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). *Producción agrícola*. Gobierno de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Servicio Meteorológico Nacional (2021). *Normales climatológicas de Villahermosa (DSE) 1984-2010*. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>
- Singh H. (2006). Mycoremediation: Fungal Bioremediation. In *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*. <https://doi.org/10.1002/0470050594>
- Solís J. N. (2000). *Fundamentos de edafología* (2da ed.). Universidad Estatal a Distancia.
- Tinal-Ortiz S., Palma-López D. J., Zavala-Cruz J., Salgado-García S., Palma-Cancino D.-J. y Hidalgo-Moreno C. I. (2020). Degradación química en Acrisoles bajo diferentes usos y pendientes en la sabana de Huimanguillo, Tabasco, México. *Agroproductividad*, 13(2), 69–75.
- Toledo M. (2016). *Manejo de suelos ácidos de las zonas altas de honduras*. IICA.
- Tortora G. J., Funke, B. R., y Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- Tripathi S., Srivastava P. y Devi R. S. (2020). Influence of synthetic fertilizers and pesticides on soil health and soil microbiology. In *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation*. LTD. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00002-7>
- Vareli C. S., Pizzutti I. R., Gebler L., Cardonoso C. D., Gai D. E. H. y Fontana M. E. Z. (2018). Analytical method validation to evaluate dithiocarbamates degradation in biobeds in South of Brazil. *Talanta*, 184(1), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.03.009>
- Verma J. P., Jaiswal D. K. y Sagar R. (2014). Pesticide relevance and their microbial degradation: a state-of-art. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 13, 429–466. <https://doi.org/10.1007/s11157-014-9341-7>
- Viteri-Florez P. A., Castillo-Guerra D. A. y Viteri-Rosero S. E. (2016). Capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats tropicales en Boyacá, Colombia.

Acta Agronómica, 65(4), 362–367.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n4.50181> Capacidad

Walash M. I., Belal F., Metwally M. E. y Hefnawy, M. M. (1993). Spectrophotometric determination of Maneb, Zineb and their decomposition products in some vegetables and its application to kinetic studies after greenhouse treatment. *Food Chemistry*, 47(4), 411–416. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90188-L](https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90188-L)

Walia A., Mehta P., Guleria S., Chauhan A. y Shirkot C. K. (2014). Impact of Fungicide Mancozeb at Different Application Rates on Soil Microbial Populations, Soil Biological Processes, and Enzyme Activities in Soil. *The Scientific World Journal*, 2014(November), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/702909>

World Health Organization. (2010). *The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009*. WHO.

Xu S. (2000). *Environmental fate of Mancozeb*.

ANEXO 1. Valores promedio del LOG NMP (Células/g.s) en las biomezclas y suelos al finalizar el composteo de 50 días para la selección de las diluciones utilizadas durante la evaluación.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
	Diluciones de 10^{-1} a 10^{-4}	Diluciones de 10^{-2} a 10^{-4}	Diluciones de 10^{-3} a 10^{-5}
Suelo aluvial (SA)	21	231.33	570
Suelo férrico (SFE)	385.33	1,633.33	1,420
Biomezcla 1 (SA)	1,400	26,000	78,333.33
Biomezcla 2 (SFE)	1,400	24,000	58,666.67