UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas

**“ENMIENDA ORGÁNICA PARA REDUCIR LA TOXICIDAD Y
MUTAGENICIDAD EN UN SUELO VERTISOL
CONTAMINADO CON 2,4-D”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis

Para obtener el título en:

Licenciatura en Ingeniería Ambiental

Presenta:

Fabián Sánchez Madrigal

Directores:

Dra. Verónica Isidra Domínguez
Dr. Randy Howard Adams Schroeder

Villahermosa, Tabasco, México

Abril, 2019

Enmienda Orgánica Para Reducir La Toxicidad Y Mutagenicidad En Un Suelo Vertisol Contaminado Con 2,4-D

Por Fabián Sánchez Madrigal

CANTIDAD DE PALABRAS 18167

HORA DE ENTREGA

30-JUN-2025 03:49P. M.

NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO

116998704

Enmienda Orgánica Para Reducir La Toxicidad Y Mutagenicidad En Un Suelo Vertisol Contaminado Con 2,4-D

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.slideshare.net Internet	203 palabras — 1%
2	core.ac.uk Internet	190 palabras — 1%
3	aprenderly.com Internet	174 palabras — 1%
4	www.researchgate.net Internet	167 palabras — 1%
5	pt.scribd.com Internet	135 palabras — 1%
6	www.coursehero.com Internet	103 palabras — 1%
7	quimica.unmsm.edu.pe Internet	88 palabras — 1%
8	appswl.elsevier.es Internet	81 palabras — 1%
9	repositorio.unsch.edu.pe Internet	62 palabras — < 1%

10	es.scribd.com Internet	48 palabras — < 1%
11	eva.fing.edu.uy Internet	48 palabras — < 1%
12	docplayer.es Internet	41 palabras — < 1%
13	repositorio.unc.edu.pe Internet	41 palabras — < 1%
14	hdl.handle.net Internet	36 palabras — < 1%
15	www.scielo.org.co Internet	35 palabras — < 1%
16	ri.uaemex.mx Internet	32 palabras — < 1%
17	vsip.info Internet	32 palabras — < 1%
18	cdigital.uv.mx Internet	30 palabras — < 1%
19	repository.upb.edu.co Internet	28 palabras — < 1%
20	www.clubensayos.com Internet	28 palabras — < 1%
21	es.slideshare.net Internet	26 palabras — < 1%

www1.inecol.edu.mx

22	Internet	26 palabras — < 1%
23	rasisbi.uqroo.mx Internet	25 palabras — < 1%
24	1library.co Internet	24 palabras — < 1%
25	html.rincondelvago.com Internet	22 palabras — < 1%
26	plaguicidas.fandom.com Internet	22 palabras — < 1%
27	ri-ng.uaq.mx Internet	22 palabras — < 1%
28	repositorio.chapingo.edu.mx:8080 Internet	20 palabras — < 1%
29	repositorio.uaaan.mx Internet	20 palabras — < 1%
30	repositorio.unfv.edu.pe:8080 Internet	20 palabras — < 1%
31	vdocuments.site Internet	20 palabras — < 1%
32	www.ecorfan.org Internet	20 palabras — < 1%
33	www.uv.mx Internet	20 palabras — < 1%
34	dspace.udla.edu.ec	

Internet

19 palabras — < 1%

35 www.yucatan.com.mx
Internet

16 palabras — < 1%

36 noticiascd.mx
Internet

15 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 15 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCION**

MARZO 13 DE 2019

**C. FABIÁN SÁNCHEZ MADRIGAL
PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL
PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"ENMIENDA ORGÁNICA PARA REDUCIR LA TOXICIDAD Y MUTAGENICIDAD EN UN SUELO VERTISOL CONTAMINADO CON 2,4-D"**, asesorado por la Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez y Dr. Randy Howard Adams Schroeder sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Q.B.P. Leonardo García Hernández, M. en C. Marco Antonio Hernández Cobián, Dr. Randy Howard Adams Schroeder, M.E.S. Wencio Magaña Magaña y M. en C. Liliana Hernández Acosta.

**ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCION EN LA FE**

**M. EN C. ROSA MARTHA PADRON LOPEZ
DIRECTORA**

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECCIÓN

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

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 denominado: **“ENMIENDA ORGÁNICA PARA REDUCIR LA TOXICIDAD Y MUTAGENICIDAD EN UN SUELO VERTISOL CONTAMINADO CON 2,4-D”**, 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 éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 13 de Marzo de 2019

AUTORIZO

FABIÁN SÁNCHEZ MADRIGAL

DEDICATORIA

Al creador, Dios padre, motor y fuente de sabiduría para que este trabajo se llevara a cabo. Por no abandonarme en todo momento y guiarme en los momentos más difíciles en este camino. ¡GRACIAS PADRE!.

A mi grandioso padre Arnulfo, por apoyarme incondicionalmente en todo, tus buenos consejos, por qué a pesar de los momentos difíciles y económicos buscabas la forma de proveer económicamente mis estudios con tu trabajo y esfuerzo sacrificando tus fuerzas porque no me faltara nada.

A mi madrecita Julia, Porque siempre madrugabas junto conmigo preocupada porque no me faltara nada en el desayuno y no me dejara el camión, por darme tus sabios consejos, por preocuparte siempre de nuestro bienestar y por luchar día a día por mí y cada uno de mis hermanos (as).

A cada uno de mis queridos hermanos por apoyarme económicamente Viole, Willo, Kevin, Berna, Mary y Fany porque durante todo este tiempo me apoyaron sin negarse, aun a sabiendas que no tenía ni como devolverles el favor pero con la disponibilidad que los caracteriza. A Marbella por ser una gran cuñada y hacernos tios de dos niños grandiosos, Fer y Wilver.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Vero y Dr. Randy, por hacerme partícipe de su gran grupo de trabajo brindando su amistad y confianza en toda mi estancia con la calidad humana que los caracteriza, aportando su conocimiento, tiempo y su espacio en el laboratorio de Remediación, además de su paciencia en el desarrollo del presente trabajo.

Al comité de sinodales que con sus revisiones e interés ayudaron a mejorar el presente trabajo, Quim. Leonardo, Mtro. Marco Antonio y Mtro. Wencio.

A todos los amigos del laboratorio que sin lugar a dudas está lleno de grandes personas que aportaron con conocimiento, momentos de alegría en esa mesa donde el café, las galletas y el pozol circulan a diario, iniciando con la contadora Norma, Gero, Paco, Fany, Marianita, Saúl, Liliana, Anahí, Martha, el. Dr. Salas, Kristell, Tony, Zad, Paulo, Fidel, Eder.

Al grandioso grupo de los Hermanos caídos (Ana Laura, Armando, Pascual y Alex) por esos momentos en el que nos relajábamos después de una jornada *desgastante* riéndonos de unos a otros pero sin llegar a saber que nos convertiríamos en grandes amigos.

Los amigos que encontré en la universidad y que con ellos pase grandes momentos e historias que contar Tavo, Luis miguel, Pancho, Joel, Fredy, David Damas, Ana, Andrea, Cindy, Geny, Cupil, Karen, Mafer, Abisaí, Karla, Marisol, Max, Jorge y los que se escapan de mi memoria pero siguen presentes.

INDICE

RESUMEN	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	14
3. OBJETIVOS	17
3.1. Objetivo general	17
3.2. Objetivos específicos	17
4. MARCO TEÓRICO	18
4.1. Suelo	18
4.1.1. Importancia del suelo	19
4.1.2. Propiedades físicas y químicas del suelo	19
4.1.2.1. Potencial de hidrógeno (pH)	19
4.1.2.2. Conductividad eléctrica	19
4.1.2.3. Materia orgánica (M.O.)	20
4.1.2.4. Capacidad de campo (C.C.)	20
4.1.2.5. Textura	20
4.1.2.6. Potencial redox (ORP)	20
4.1.2.7. Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	20
4.2. Suelo Vertisol	21
4.2.1. <i>Vertisol éútrico (VRe)</i>	21
4.2.2. <i>Vertisol peli-éútrico (VRep)</i>	21
4.3. Plaguicidas	22
4.3.1. Clasificación de plaguicidas	22
4.3.1. Usos de los plaguicidas	23
4.3.2. Los plaguicidas en México	24
4.3.3. Concentración de plaguicidas en ecosistemas del sureste mexicano	24
4.3.4. Destino de los plaguicidas en el medio ambiente	25
4.3.5. Contaminación por plaguicidas en suelo y sedimento	27
4.3.6. Efectos de los plaguicidas en el ambiente	30
4.3.7. Herbicidas	31
4.3.7.1. Clasificación de herbicidas	31
4.3.7.2. Impactos de los herbicidas en el ambiente	32
4.3.7.2.1. Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D)	33
4.3.7.2.1.1. Rutas metabólicas del 2,4-D.	35
4.4. Tecnologías de remediación aplicadas a suelos contaminados con plaguicidas	36
4.4.1. Tecnología de remediación (enmienda orgánica Daramend)	37
4.4.1.1. <i>Beneficios de la enmienda orgánica</i>	38
4.4.1.2. <i>Desventajas de la enmienda orgánica</i>	38
4.4.1.3. <i>Métodos de aplicación</i>	38
4.4.1.4. <i>Descripción de la tecnología</i>	38
4.4.1.5. <i>Proceso de descloración</i>	42
5. METODOLOGÍA	44
5.1. Área de estudio	44

5.2. Muestreo	45
5.3. Diseño experimental.....	46
5.4. Proceso de optimización.....	47
5.5. Caracterización inicial del suelo.....	50
5.5.1. <i>Análisis de textura</i>	50
5.5.2. <i>Capacidad de campo</i>	51
5.5.3. <i>Densidad real</i>	51
5.5.4. <i>Materia orgánica</i>	52
5.5.5. <i>Análisis de pH</i>	52
5.5.6. <i>Conductividad eléctrica</i>	52
5.5.7. <i>Potencial de óxido – reducción y pH para monitoreo durante los ciclos de tratamiento</i>	52
5.5.8. <i>Toxicidad aguda</i>	53
5.5.9. <i>Mutagenicidad</i>	54
5.6. Contaminación de suelo Vertisol.....	55
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
6.1. Caracterización preliminar del suelo.....	57
6.2. Toxicidad aguda inicial de suelo limpio y suelo contaminado con 2,4-D.....	58
6.3. Monitoreo de toxicidad.....	60
6.4. Análisis de mutagenicidad.....	64
6.5. Monitoreo de condiciones reductoras durante los cinco ciclos de tratamiento.....	65
6.6. Monitoreo del pH durante la fase anaerobia.....	67
6.7. Resultados al postratamiento.....	68
6.7.1. Toxicidad.....	68
6.7.2. pH final de las muestras.....	70
6.7.3. Mutagenicidad final.....	71
7. CONCLUSIONES.....	73
8. RECOMENDACIONES.....	74
9. LITERATURA CITADA.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Perfil teórico de un horizonte, Fuente: FAO, 2014.	18
Figura 2. Clasificación de plaguicidas. Fuente: Mellado (2007), Domínguez (2015).	23
Figura 3. Esquema que representa los destinos de un plaguicida en el ambiente. Fuente: Aparicio et al. (2015).	27
Figura 4. Interacción de los plaguicidas con la biota y su destino en sistemas acuáticos. Fuente: González (2008).....	29
Figura 5. Estructura química del 2, 4, D y algunas de sus sales y ésteres. Fuente: RAPAM (2007).	33
Figura 6. Esquema que representa las rutas metabólicas del 2,4-D. Fuente: (Tayeb <i>et al.</i> 2011).	35
Figura 7. Fermentación del carbono + oxidación del Fe ⁰ (Mecanismos de descloración) (G. Seech, 2013).....	39
Figura 8. Consideraciones de diseño para la implementación de la tecnología daramend. Fuente: Elaboración propia.....	40
Figura 9. Agregados del suelo que muestra el mecanismo de biorremediación. Fuente: Mueller & Seech (2013).....	41
Figura 10. Ubicación del sitio de muestreo. Fuente: Elaboración propia.....	44
Figura 11. Recolecta de muestra.	45
Figura 12. Diseño experimental para cada uno de los tratamientos.....	46
Figura 13. Diagrama que representa el proceso de optimización y sus fases de tratamiento.	48
Figura 14. Esquema que representa las diferentes fases del tratamiento.....	49
Figura 15. Preparación de inflorescencias para prueba de mutagenicidad. Fuente: Cardoso, J. R. y Morales, E. (2011).	55
Figura 16. Contaminación de suelo Vertisol e implementación de unidades experimentales.	56
Figura 17. Toxicidad al inicio del tratamiento.	58
Figura 18. Efectos tóxicos del suelo contaminado inicial de 1a) a 1e) y de 2a) a 2c) organismos vivos en el suelo limpio.	59
Figura 19. Observaciones registradas en los organismos durante el 3er ciclo de tratamiento.	61
Figura 20. Observaciones registradas en los organismos durante el 4to ciclo de tratamiento.	62
Figura 21. Observaciones registradas en los organismos durante el 5to ciclo de tratamiento.	63
Figura 22. Identificación de Micronúcleos en suelo contaminado con 2,4-D.....	64
Figura 23. Valores de ORP (fase anaerobia) durante los 5 ciclos de tratamiento evaluados.....	65
Figura 24. Comportamiento de los valores de pH durante la fase anaerobia.....	67

Figura 25. Resultados del análisis de toxicidad para cada uno de los tratamientos.	69
Figura 26. Valores de pH final de cada tratamiento.	70
Figura 27. Número de micronúcleos identificados por tratamiento.....	72

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales procesos que determinan el comportamiento de los plaguicidas en el suelo. Fuente: De la Rosa (2014).....	30
Tabla 2. Clasificación de herbicidas. Fuente: Benedico (2002).....	32
Tabla 3. Métodos de análisis de caracterización de suelo y su referencia normativa.....	50
Tabla 4 .Propiedades fisicoquímicas del suelo Vertisol.....	57
Tabla 5. Mutagenicidad de cada una de las muestras analizadas.	71

RESUMÉN

En el presente estudio se evaluó una enmienda orgánica comercial para reducir la toxicidad en un suelo Vertisol contaminado con 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) mediante reacciones aerobias y anaerobias secuencialmente. La prueba consistió en contaminar a escala laboratorio el suelo a una concentración de 300 mg. Kg⁻¹ de 2,4-D considerando el empleo de 12 unidades experimentales (tres tratamientos y una muestra testigo con sus tres réplicas).

En los tratamientos se utilizaron diferentes proporciones (3%, 2.5% y 1%) de enmienda en (p/p, b.s) los cuales disminuirían 0.5% por cada fase de tratamiento en el que se evaluó, saturando el suelo contaminado con agua (fase anaerobia) para crear un potencial de óxido-reducción muy bajo. Posteriormente, se crearon condiciones aerobias en el suelo con aireación constante. Durante las fases de tratamiento se monitoreó el potencial de óxido-reducción y pH mediante un equipo multiparámetro. El monitoreo de toxicidad se evaluó utilizando la prueba de toxicidad aguda utilizando la lombriz *Eisenia foetida* exponiendo las lombrices directamente en una muestra de suelo durante 48 h, al final del tercer y quinto ciclo. Se adicionó una composta a cada tratamiento al 20% (p/p, b.s) (postratamiento) al final de los ciclos de tratamiento. Se determinó la mutagenicidad del 2,4-D utilizando la prueba de micronúcleos en tétradas de *Tradescantia pallida* al inicio y al final del postratamiento, hubo una reducción en cuanto a la formación de micronúcleos del 89.26% para el tratamiento tres.

La Tecnología resultó ser muy eficaz para la creación de condiciones que favorecen la descloración del 2,4-D; sin embargo, no se logró reducir el potencial tóxico a los niveles deseados. La prueba de toxicidad y mutagenicidad nos permitió inferir sobre la relación que existe entre ambos parámetros, debido a que la mutagenicidad logró reducirse considerablemente aun cuando el material resultaba ser tóxico.

1. INTRODUCCIÓN

El incremento en el uso extensivo de diferentes tipos de plaguicidas para su aplicación en los diversos tipos de cultivos, ha generado un problema ambiental debido a la acumulación de estos compuestos en el ambiente. La persistencia de estos, así como los impactos sobre la biota son uno de los problemas que ocasionan su aplicación (Cremlyn, 1995).

Debido al desarrollo industrial aunado al aumento de la población y el desarrollo agrícola, la producción y el uso de plaguicidas ha aumentado en relación a la alta demanda de insumos para la agricultura y el control de las diferentes plagas, enfermedades y malezas que afectan a los diferentes tipos de cultivos (García y Rodríguez, 2012).

La aplicación intensiva de plaguicidas en México inició con la introducción del DDT y de algunos plaguicidas organoclorados hacia 1948. Posteriormente, se usaron compuestos organofosforados y carbamatos (Albert, 2005).

Hasta el año 2008, los estados que tenían una alta producción agrícola a nivel nacional y que a su vez, destacan por el uso intensivo de los agroquímicos estaban constituidos por Chiapas, Veracruz, Tabasco, Guanajuato, Sinaloa, Tamaulipas, Zacatecas y otros de acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2008).

El valor de producción de los plaguicidas aumentó 9% en el transcurso del año 2007 al 2011 debido a la alta demanda de insumos agrícolas. En México se producen fungicidas que representan el 37% del total de producción, seguido de los herbicidas (24%) y los insecticidas con un 17% (Romero, 2013). Actualmente, existe un registro de 593 plaguicidas en México según la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS, 2016).

En el caso de los herbicidas constituyen un grupo muy importante de plaguicidas de uso agrícola que año tras año han aumentado su volumen de uso y a la vez han sustituido el laboreo mecánico y manual en el campo (Varona *et al.*, 2006). Dentro

de los herbicidas de mayor uso en México se encuentra el ácido diclorofenoxiacético (2,4-D). Es considerado como un herbicida selectivo ya que afecta solo a las plantas de hoja ancha. Además, funciona como una fitohormona debido a que actúa de modo parecido a la hormona natural auxina que producen las propias plantas cuya función es la de regular el sano crecimiento y desarrollo vegetal. La formulación de este herbicida como ácido no es conveniente ya que es muy volátil y corrosivo, de tal manera que los productos comerciales están formulados como sales aminas o ésteres del ácido de acuerdo con la Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM, 2007). En Tabasco es aplicado a malezas que se encuentran en cultivos como el arroz, caña de azúcar, maíz, sorgo y pastizales, además de potreros en los que se desea mantener el control de las plantas (CICOPLAFEST, 2004).

2. ANTECEDENTES

Los estudios realizados para evaluar los efectos ecotoxicológicos en el suelo derivados del uso intensivo de plaguicidas, han representado uno de los puntos de partida para el uso correcto, prohibición y restricción de algunos plaguicidas.

Arroyave y Garcés (2011) realizaron pruebas para evaluar la eficiencia en la degradación del plaguicida 2-(thiazol-4-yl) benzimidazole (tiabendazol) empleando procesos avanzados de oxidación mediante un fotorreactor. Encontraron que en los procesos fotoquímicos basados en la fotocatalisis heterogénea con dióxido de titanio (TiO₂) y la fotocatalisis homogénea con hierro (III), se observaron porcentajes de remoción del plaguicida, superiores al 99% y 95% respectivamente, para cada uno de los procesos de oxidación.

Mendoza *et al.* (2011) analizaron la biodegradación de los plaguicidas permetrina y cipermetrina con cuatro cepas bacterianas en concentraciones de 50 y 100 mg/L observando una mayor capacidad de biodegradación para dos tipos de cepas bacterianas (*Pseudomonas putida* y *Pseudomonas mendocina*) a partir de los primeros cinco días con un porcentaje de biodegradación del 65% para ambos plaguicidas y para los 15 días de prueba obtuvieron hasta 95% de biodegradación para el plaguicida permetrina en ambas concentraciones y para cipermetrina 90% a 50 mg/L y 89% a 100 mg/L. Con base a estos resultados, se estableció que estas bacterias tienen potencial para ser usadas en procesos de biorremediación para estos plaguicidas.

Estudios realizados por Velasco *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la adición de hierro cero valente (Fe⁰) en la degradación de DDT y sus metabolitos, DDE y DDD. Utilizaron muestras de suelo contaminadas con este plaguicida y sus metabolitos empleando concentraciones de 4.36, 0.69 y 0.3311 mg/kg suelo seco, respectivamente. El estudio se realizó por duplicado en botellas de 150 ml selladas con válvulas mininert, empleando tres gramos de suelo y 6 ml de medio mineral (triple 17 K, P, N, a una concentración 0.6 g/l) y una proporción de hierro del 10%

en peso. Los resultados encontrados indican que no hubo un efecto significativo por la presencia de hierro en la degradación de estos compuestos en comparación con las muestras sin hierro. Las poblaciones nativas fueron capaces de mineralizar los compuestos con la adición de medio mineral. Por otro lado, el empleo de Fe^0 favoreció la deshalogenación reductiva de DDT, DDE y DDD sin llegar a mineralizar los compuestos. Estos resultados sugieren que se requieren estudios para identificar los productos de la biotransformación de dichos compuestos en presencia de Fe^0 .

Mao *et al.* (2014) desarrollaron una tecnología innovadora de lavado de suelos para tratar suelos contaminados con plaguicidas organoclorados mediante el uso de un surfactante hecho a base de metilo- β -ciclodextrina (25 g l^{-1}) y aceite de girasol (100 ml L^{-1}) a una temperatura de 50°C en combinación con ultrasonidos (35 kHz , 30 min). Los cuales mediante cuatro ciclos de lavados demostraron una remoción de los plaguicidas organoclorados de hasta el 99% en DDT, endosulfán, 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano, heptacloro, y clordano. Tras tres meses de cultivo de *Portulaca oleracea* (verdolaga) y adición de nutrientes ayudó a restaurar el funcionamiento microbiológico del suelo.

Shea *et al.* (2004) usaron el hierro de valencia cero (Fe^0) para promover la dechloración reductiva de una amplia gama de contaminantes en el suelo y el agua. Emplearon Fe^0 para el tratamiento *in situ* de suelo que contiene 1000 mg metolaclor, 55 mg alaclor, 64 mg atrazina, 35 mg pendimetalina y 10 mg.kg^{-1} clorpirifos. Mientras que las concentraciones fueron muy variables dentro del suelo en hileras, el tratamiento con 5% (w/w) Fe^0 resultó en la destrucción del 60% de los cinco pesticidas dentro de 90 días y aumentó a 90% cuando se le añadió 2% (w/w) $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. El análisis por cromatografía de gases - espectrofotometría de masas (CG/SM) confirmó la dechloración de metolaclor y alaclor durante el tratamiento, estas observaciones apoyaron el uso de Fe^0 para el tratamiento *ex situ* de suelos contaminados con plaguicidas.

Yingying *et al.* (2015) evaluaron el rendimiento de eliminación de decabromodifenilo éter (BDE 209) usando el hierro de valencia cero inmovilizado en microesferas de sílice microporosas cubiertas de α -FeO (OH) (goethita). Se logró una eliminación del 78% en un lapso de 120 h usando una concentración de 0.165 g/g. Por otra parte, la eficacia de eliminación mejoró al aumentar el contenido de humedad del suelo y la disminución de la concentración inicial de 209 BDE.

Mueller & Seech (2013) evaluaron la reducción del 2,4-D mediante el uso del daramend (producto para remediar suelos contaminados con herbicidas organoclorados como el 2,4-D); lograron la reducción de una concentración de 170 mg.kg⁻¹ hasta 3.8 mg.kg⁻¹ en 97 días de tratamiento.

Przepiora *et al.*, (2010), en un sitio contaminado en Montgomery Alabama, Estados Unidos, donde se fabricaban productos químicos agrícolas se trataron 4,500 toneladas de suelo contaminado con DDT, DDE, DDD y Toxafeno. Evaluaron la enmienda orgánica daramend utilizando 12 ciclos de tratamiento en que se utilizó una proporción al 2 % de Daramend (p/p, b.s). De igual manera, se evaluó en una instalación química en Ontario, Canadá, donde se utilizaron proporciones que iban del 1 al 3% (p/p, b.s) de suelo contaminado por cada ciclo que duró el tratamiento para tratar 350 toneladas de suelo afectado por herbicidas fenoxiacéticos (2,4-D y 2,4,5-T). Las concentraciones de los contaminantes objetivo, 2,4-D y 2, 4,5-T, se redujeron en más del 96% y 84% respectivamente.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Evaluar la reducción de la toxicidad en un suelo Vertisol contaminado con 2,4-D, a partir de la aplicación de una enmienda orgánica comercial mediante pruebas de optimización basadas en reacciones anaerobias y aerobias.

3.2. Objetivos específicos

- Identificar mediante pruebas de optimización la cantidad de enmienda orgánica necesaria para la creación de condiciones reductoras en un suelo Vertisol contaminado con 2,4-D.
- Valorar mediante el bioensayo con la lombriz *Eisenia foetida* (OPPTS 850.6200 USEPA, lombriz roja californiana) la reducción de la toxicidad en un suelo Vertisol contaminado con 2,4-D.
- Cuantificar el efecto mutagénico del 2,4-D en el suelo Vertisol, a través del ensayo en tétradas de *Tradescantia* (MCN-TRAD) y el número de micronúcleos formados.
- Determinar las características iniciales de un suelo Vertisol mediante los métodos establecidos en la norma la NOM-021-RECNAT-2000.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Suelo

Se define como un cuerpo natural que consiste en capas llamadas horizontes (Figura 1). Está compuesto de materiales de minerales meteorizados, materia orgánica, aire y agua. El suelo es el producto final de la influencia del tiempo y combinado con el clima, topografía, organismos (flora, fauna y ser humano), de materiales parentales (rocas y minerales originarios) (FAO, 2016).

La norma NOM-021-RECNAT-2000 establece que, el suelo es una colección de cuerpos naturales formados por sólidos (minerales y orgánicos), líquidos y gases, sobre la superficie de los terrenos. Presenta horizontes, los cuales pueden diferenciarse del material original como resultado de pérdidas o adiciones de materia.

Figura 1. Perfil teórico de un horizonte, Fuente: FAO, 2014.

4.1.1. Importancia del suelo

El suelo es un importante recurso natural debido a que permite la producción de biomasa, soporte de las actividades humanas y fuente de materias primas, reserva de agua, filtro y transformación de nutrientes y reserva de biodiversidad, además de tener gran influencia sobre el medio ambiente, la economía local, regional y mundial. Además, puede considerarse como un reactor bio-fisicoquímico en donde se descompone material que es reciclado dentro del mismo (FAO, 2014).

4.1.2. Propiedades físicas y químicas del suelo

4.1.2.1. Potencial de hidrógeno (pH)

Expresa la actividad de los iones de hidrógeno en la solución del suelo. Tiene influencia en relación a la disponibilidad de nutrientes minerales que son de importancia para las plantas, así como muchos procesos químicos que ocurren en el suelo (FAO, 2009). El pH determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y formas iónicas de un contaminante y otros constituyentes del suelo (Volke y Velasco, 2002).

4.1.2.2. Conductividad eléctrica

Capacidad de un cuerpo de permitir el paso de la corriente eléctrica a través del mismo, como término ambiental, se define como la propiedad característica de cada suelo que representa la facilidad con la que los electrones pueden pasar a través de él, debido a que está directamente relacionado con la cantidad de iones intercambiables presentes. (Morales, 2010).

4.1.2.3. *Materia orgánica (M.O).*

Es una acumulación de materia de plantas y animales muertos (residuos de cultivo, hojas de árboles, gusanos, bacterias y actinomicetos) parcialmente descompuestos. Al material orgánico que ha sido transformado en una forma más estable por acción de los microorganismos se le conoce como *humus* (Bohn *et al.*, 1993).

4.1.2.4. *Capacidad de campo (C.C.)*

Es la máxima cantidad de agua que puede retener un suelo después de un riego o lluvia que lo ha saturado. En este punto el drenaje interno es insignificante (Jordán, 2005).

4.1.2.5. *Textura*

Las partículas del suelo individualizadas se distribuyen en un continuum de tamaños, si bien se agrupan en diversas fracciones atendiendo a su tamaño. La distinta proporción de arena, limo y arcilla define la textura de cada horizonte. (Porta *et al.*, 2003).

4.1.2.6. *Potencial redox (ORP)*

El potencial redox del suelo es un parámetro físico-químico importante usado para caracterizar el estado de aireación del suelo y la disponibilidad de algunos nutrientes. Es utilizado en la clasificación de la base referencial mundial del recurso suelo (WRB por sus siglas en inglés) para clasificar los suelos redoximórficos (FAO, 2009).

4.1.2.7. *Capacidad de intercambio catiónico (CIC)*

Es una medida de la cantidad de cargas negativas presentes en la superficie de los minerales y componentes orgánicos del suelo (arcilla, materia orgánica o sustancias húmicas) y representa la cantidad de cationes que las superficies pueden retener (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^{+1} , K^{+1} , NH_4^{+1} etc.) (FAO, 2016).

4.2. Suelo Vertisol

Son suelos muy arcillosos con una alta cantidad de arcillas expandibles, en temporadas de sequía forman grietas anchas y profundas por lo que el material interno de este tipo de suelo mantiene un reciclaje constante. Este tipo de suelo se presenta en ambientes con climas tropicales y subtropicales con alternancia de estaciones seca y húmeda (WRB, 2007). Su profundidad varía de 60 a más de 200 cm y solo presentan horizonte A y C. Debido al alto contenido de arcillas expandibles son suelos muy pesados para el manejo con maquinaria ya que en época de lluvias son muy resbalosos e impermeables y en temporada de secas son muy duros y con grietas profundas. En cuanto al contenido de nutrientes son suelos ricos y el uso principal dado para este tipo de suelos es con praderas extensivas de diferentes tipos de pastos, caña de azúcar, cacao, arroz y maíz (Palma y Cisneros, 1997).

En el estado de Tabasco las dos unidades existentes de Vertisol (éutrico y peli-éutrico) se localizan en los municipios de Huimanguillo, Cárdenas, Cunduacán, Comalcalco, Jalpa, Nacajuca, Teapa, Tacotalpa, Jalapa, Macuspana, Jonuta, Balancán y Tenosique (Palma y Cisneros, 1997).

4.2.1. Vertisol éutrico (VRe).

Son suelos que tienen un contenido de arcilla mayor al 35%, bajo contenido de materia orgánica, deficiencias de fósforo y potasio, pH ligeramente alcalino y una buena capacidad de retención de humedad. Debido a los bajos contenidos de materia orgánica en este tipo de suelo, pueden presentarse deficiencias de nitrógeno, fósforo y otros microelementos (Palma y Triano, 2006).

4.2.2. Vertisol peli-éutrico (VRep).

Presenta un contenido rico de materia orgánica, buen abastecimiento de potasio y una mayor Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) que los Vertisoles éutricos. En relación al resto de sus propiedades son similares con respecto a los Vertisoles éutricos (Palma y Triano, 2006).

4.3. Plaguicidas

En la agricultura moderna el empleo de diferentes tipos de plaguicidas cumple un papel fundamental como inhibidor de enfermedades y plagas que afectan a los cultivos y durante el almacenamiento de los productos agrícolas (Valencia *et al.*, 2013).

Cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte (FAO, 2016).

La OMS (2014) los define como cualquier sustancia o mezcla de sustancias con ingredientes químicos o biológicos destinados a repeler, destruir y controlar cualquier plaga o a regular el crecimiento de las plantas.

4.3.1. Clasificación de plaguicidas

La clasificación de estos compuestos generalmente es muy variada y puede estar basada en diversos criterios o de sus características principales (Castillo, 2006). Pueden ser clasificados de acuerdo a su uso, composición química, naturaleza química, acción específica, concentración, formulación, modo de acción, grado de toxicidad y persistencia (Calderón *et al.*, 2012).

Figura 2. Clasificación de plaguicidas. Fuente: Mellado (2007), Domínguez (2015).

4.3.1. Usos de los plaguicidas

La problemática ocasionada por los diferentes tipos de plagas y enfermedades que han surgido debido al desarrollo de la agricultura ha conducido al empleo de diferentes sustancias destinadas a su control (Valdez *et al.*, 2000).

Los plaguicidas se han convertido en la principal herramienta utilizada por los productores para contrarrestar el ataque de insectos y enfermedades. Las plagas han perjudicado los cultivos de grano y hortalizas con efectos negativos en el

desarrollo de la planta y los frutos, por lo tanto, el empleo de los plaguicidas juega un papel fundamental como regulador de esta problemática (García *et al.*, 2012). También permiten controlar enfermedades de los cultivos y del ganado, así como reducir o evitar las pérdidas en la producción de alimentos y contribuir al control de los vectores de diversas enfermedades (CICOPLAFEST, 2004).

4.3.2. Los plaguicidas en México

El promedio anual de consumo en México de plaguicidas en general, se encuentra en poco más de 35 mil toneladas. Dicho valor es corroborado con datos estadísticos del 2009 de la FAO, en donde México alcanzó el valor más alto de consumo en el mundo para ese año con 36.3 mil toneladas, seguido por Japón, India y Turquía con 23.4, 14.8 y 11.4 mil toneladas, respectivamente (Ortiz, 2011).

El empleo de plaguicidas es una práctica muy común y frecuente, por lo tanto, es muy difícil determinar el consumo y la cantidad de sustancias aplicadas en los diferentes cultivos (Ortiz, 2011).

4.3.3. Concentración de plaguicidas en ecosistemas del sureste mexicano

En el sureste mexicano se han llevado a cabo estudios en diversos ecosistemas con indicios de contaminación por plaguicidas, como consecuencia del uso extensivo de estos compuestos en zonas de cultivo y hortalizas, así como en el control de diferentes tipos de plagas.

En suelos de las fincas hortícolas del municipio Pueblo Llano del estado Mérida, se encontraron residuos de nueve plaguicidas organoclorados. Las concentraciones de estos plaguicidas en $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ fueron: DDT en un rango de (0.04-0.99), DDE (0.01-0.56), DDD (0.04-0.83), α -endosulfán (0.01-0.47), β -endosulfán (0.02-0.45), endosulfán sulfato (0.04-0.62), aldrín (0.005-0.009), dieldrín (0.01-0.03) y endrín (0.01-0.04). La acumulación de estos plaguicidas corresponde a la presencia

elevada de materia orgánica en las muestras de suelo, lo cual favorecía a la retención de estos compuestos (Uzcátegui *et al.* 2011).

En 22 muestras de sedimento de un sitio conservado en la región de Los Petenes y un sitio transformado en el río Champotón en Campeche, México. se cuantificaron concentraciones de plaguicidas organoclorados. Los valores en promedio para estos compuestos en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ fueron: HCH (Hexaclorociclohexano) de 6.01, endrín (0.56), heptacloro (0.09), endosulfán (0.19) y DDT (0.37). La presencia de estos compuestos se debe al arrastre de sedimentos de las zonas de cultivo cercanas a los ríos y a deposición atmosférica (González, 2008).

En 2014, se encontraron residuos de plaguicidas en nueve cuerpos de agua ubicados en el anillo de cenotes del estado de Yucatán: aldrín, clordano, HCH, endosulfán, endrín, heptacloro, metoxicloro, DDT y sus metabolitos. La concentración más alta de plaguicida encontrada fue para el DDT en un valor de $2,355.58 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$, además fue identificado en seis de los nueve cuerpos de agua analizados. Seguido el hexaclorociclohexano (HCH) presentó una concentración de $2375.96 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ en uno de los nueve cenotes. Los plaguicidas encontrados no rebasan los límites permisibles según lo establecido en la norma NOM-127-SSA1-1994, sin embargo, es necesario realizar estudios para determinar el riesgo a la salud humana por consumo de agua. Esto debido a que estos compuestos son bioacumulables, persistentes y pueden biomagnificarse y encontrarse concentraciones hasta 300 veces mayores a las encontradas en el agua (Cobos *et al.* 2014).

4.3.4. Destino de los plaguicidas en el medio ambiente

Los plaguicidas son sustancias químicamente complejas, que una vez aplicadas en el ambiente, están sujetas a una serie de transformaciones a nivel físico, químico y biológico (fenómenos de adsorción y absorción sobre suelos y plantas, volatilización, fotólisis y degradación química o microbiana). Además, pueden ser

arrastrados por las corrientes de aire y agua que permiten su transporte a grandes distancias (García *et al.*, 2011)

Los plaguicidas pueden ser retenidos en el follaje de las plantas y posteriormente llegar al suelo. Una vez que los residuos permanecen en el suelo pueden infiltrarse en el mismo (lixiviación) o acarreados lateralmente por escorrentía superficial (Yanggen *et al.*, 2002).

Durante cada uno de los procesos de transporte, estos compuestos pueden sufrir degradación y transformarse en productos secundarios (metabolitos). Los plaguicidas que son retenidos en el follaje de las plantas, así como los que llegan al suelo pueden sufrir degradación fotoquímica. Su destino en el suelo dependerá de las características fisicoquímicas de los plaguicidas y de cuán persistentes son, del momento de la aplicación (si existe o no un follaje cerrado), de la forma de aplicación (el equipo de aspersión y de la adición de otros productos químicos a la formulación o a la mezcla) y de las condiciones meteorológicas reinantes. Una vez en el interior del suelo, parte de los plaguicidas se biodegradarán como resultado de la actividad metabólica de los microorganismos (principalmente bacterias y hongos). La degradación puede ocurrir en condiciones aeróbicas y anaeróbicas; en general, una mayor degradación ocurre en los estratos superficiales del suelo, donde existe mayor abundancia de microorganismos. Además, existe transformación a través de la actividad abiótica (por interacción con arcillas y óxidos metálicos presentes en el suelo). Cabe destacar que la degradación de los plaguicidas no implica la formación de productos secundarios inocuos, sino que pueden transformarse en compuestos más tóxicos que el compuesto original (Yanggen *et al.*, 2002).

Figura 3. Esquema que representa los destinos de un plaguicida en el ambiente. Fuente: Aparicio et al. (2015).

4.3.5. Contaminación por plaguicidas en suelo y sedimento

La aplicación irracional e indiscriminada de plaguicidas en la agricultura ha tenido consecuencias negativas en relación a la capacidad productiva de los suelos, debido a que los cambios físicos, químicos y biológicos que generan traen como consecuencia la pérdida de la fertilidad y de sustancias que lo hacen productivo, afectando la capacidad de que los microorganismos reintegren los elementos necesarios a los diferentes ciclos biológicos (Danzos, 2007).

Algunas propiedades de los plaguicidas tales como la persistencia y sus efectos tóxicos deben tomarse en cuenta por sus efectos nocivos en cultivos subsiguientes, la microflora y microorganismos del suelo (Castillo, 2006). Estos compuestos no

solo afectan las plagas, sino indiscriminadamente a todos los microorganismos, impactando negativamente en la población, la cual tarda meses o años en recobrar el nivel de equilibrio en los de microorganismos (Danzos, 2007). Dentro de los impactos negativos que generan en el medio ambiente se encuentran la reducción de la actividad microbiana del suelo, el crecimiento irregular, la pérdida de biomasa, muerte de plantas sensibles a estas sustancias y otros organismos que forman parte de la biota como los insectos (Milena y Correa, 2009).

La presencia de una mayor cantidad de materia orgánica ayuda a descomponer los plaguicidas en el suelo por medio de los microorganismos; en contraparte si el contenido orgánico existente en el suelo es menor, la descomposición se reduce y promueve una mayor acumulación de estos compuestos que salen de la zona de aplicación (Kellogg *et al.* (2000).

La influencia del suelo en cuanto a la acumulación de residuos agroquímicos es de gran importancia; los arcillosos y orgánicos retienen más residuos que los arenosos e impiden la infiltración vertical. Los mayores riesgos se presentan con la aplicación de algunos plaguicidas organoclorados, que son de eliminación más difícil, persistiendo en el suelo más tiempo como el caso del DDT, que puede permanecer durante períodos de 5 a 30 años. La evaluación del grado de contaminación del suelo por estos, es de gran importancia por la transferencia de ellos a los alimentos. (Del Puerto *et al.*, 2014).

En el caso de los sedimentos, juegan un papel fundamental en cuanto a la retención de contaminantes en los sistemas acuáticos. Por, naturaleza, los sedimentos de río son sustratos que permiten inferir la actividad agrícola de una región, debido a que en ellos se acumulan los residuos de estos compuestos. (Masis *et al.* 2008). La mayoría de los contaminantes que ingresan a un cuerpo del agua, son retenidos en los sedimentos que se depositan en el fondo del cauce, ocasionando efectos tóxicos en los sistemas acuáticos (Esteves *et al.*, 1996)

Figura 4. Interacción de los plaguicidas con la biota y su destino en sistemas acuáticos. Fuente: González (2008).

PROCESO	DESCRIPCIÓN
Lixiviación	Es un proceso ligado a la dinámica del agua. Los que son aplicados al suelo tienden a desplazarse con el agua y lixiviar a través del perfil, pudiendo alcanzar el acuífero.
Volatilidad	Tendencia de pasar a la fase gaseosa, dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentren y de la temperatura del ambiente.
Persistencia	Es la capacidad para conservar sus características fisicoquímicas y funcionales en el medio.
Solubilidad en agua	Determina la máxima concentración a disolverse en el agua. Los muy solubles se adhieren con baja afinidad al suelo y por lo tanto, son fácilmente transportados. Los poco solubles se adsorben fácilmente al suelo.
Humedad	Es el contenido de agua en el suelo e influye en la adsorción y solubilidad.
Temperatura pH	Influye directamente en la humedad del suelo y en la volatilización. Los plaguicidas presentan distinto comportamiento debido a los cambios de pH en el suelo.
Toxicidad	Permite evaluar la capacidad contaminante de un compuesto, ya que las reacciones de degradación transforman a los plaguicidas en compuestos de menor o mayor toxicidad.

Tabla 1 Principales procesos que determinan el comportamiento de los plaguicidas en el suelo. Fuente: De la Rosa (2014).

4.3.6. Efectos de los plaguicidas en el ambiente

El movimiento de los agroquímicos en el ambiente, junto con algunas de sus propiedades tales como toxicidad, persistencia y bioacumulación, constituyen una de las causas principales de contaminación de los sistemas bióticos (microorganismos, animales y plantas) y abióticos (suelo, aire y agua), representando un peligro para la salud pública y amenazando la estabilidad de los ecosistemas (Seoáñez, 1999).

Durante la aplicación gran parte de estos compuestos se acumulan sobre el suelo, lo que hace que planteen cierta peligrosidad y provoquen alteraciones sobre la microfauna del suelo y toxicidad sobre vegetales, sobre todo aquellos plaguicidas que son más persistentes (Seoáñez, 1999). Resulta muy difícil evaluar los efectos

tóxicos, así como los impactos de los componentes químicos individuales de cada compuesto sobre suelos contaminados (Piola, 2011).

4.3.7. Herbicidas

Los herbicidas constituyen un grupo muy importante de plaguicidas que son usados extensivamente en la agricultura, industria y en zonas urbanas (Peterson *et al.*, 2001). Año tras año ha aumentado el volumen de uso, lo cual ha permitido sustituir el laboreo mecánico y manual en el campo. (Varona *et al.*, 2006).

Son sustancias que inhiben o interrumpen el crecimiento y desarrollo de plantas indeseables (maleza o malas hierbas) que pueden crecer con los cultivos, limitando la producción agrícola y reduciendo la calidad de las cosechas, aplicándose en más del 85% de los cultivos principales como alternativa a la escarda manual utilizada en la agricultura tradicional. La mayoría de los herbicidas como los derivados fosforados y los carbamatos, sufren degradaciones microbianas y sus residuos desaparecen en tiempo relativamente corto (Herranz, 2013).

4.3.7.1. Clasificación de herbicidas

La clasificación de los herbicidas puede ser muy variada en base a diversos criterios, la cual, puede tener cierta utilidad de acuerdo con la finalidad que se clasifica. A nivel internacional la clasificación va de acuerdo al modo de acción, lo que permite hacer rotación o mezclas de ingredientes activos útiles para evitar la resistencia a estos compuestos. (Rosario, 2011).

Clasificación	Tipos de herbicidas
Toxicológica	Baja peligrosidad Nocivos Tóxicos Muy tóxicos
Modo de acción	Por absorción foliar, de contacto o traslocación Por absorción radicular o residuales
Tipo de tratamiento	Selectividad Según la superficie cubierta: total, en bandas o dirigido Según la época: de presiembra, preemergencia o postemergencia.
Formas de presentación	Líquido Polvo Gránulos o microgránulos Suspensiones o concentrados
Estructura química	Fitohormonas Compuestos inorgánicos Fenoles y cresoles Carbamatos Diazinas y triazinas Amidas Derivados de la urea Derivados del amonio cuaternario Varios: halogenados de ácidos grasos, benzonitrilos, dicamba, asociaciones de varios de los compuestos anteriores, etc.

Tabla 2. Clasificación de herbicidas. Fuente: Benedico (2002).

4.3.7.2. Impactos de los herbicidas en el ambiente

Los impactos asociados a los herbicidas en el ambiente pueden ser de dos tipos: directos e indirectos (INECC, 2011)

Los efectos directos ocasionados toma en cuenta aquellos que originan toxicidad sobre organismos no blanco (plantas y animales) expuestos sin que sean el objetivo del herbicida, la exposición del aplicador a estos tipos de compuestos químicos, contaminación de aire agua y suelo y una posible resistencia de las malezas a la aplicación de los herbicidas. Además de estos efectos están los que se ocasionan de manera indirecta, como pérdida de vegetación que sirve de refugio, sitio de

anidación y fuente de alimentos, efectos adversos en cultivos subsecuentes ocasionados por compuestos residuales del herbicida.

4.3.7.2.1. Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D)

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) es un herbicida fenoxi clorado, muy utilizado para controlar muchos tipos de malas hierbas de hoja ancha. Este herbicida sistémico se considera moderadamente tóxico por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y se sabe que afecta el sistema nervioso central de los seres humanos y animales (Souza *et al.*, 2016).

Figura 5. Estructura química del 2, 4, D y algunas de sus sales y ésteres. Fuente: RAPAM (2007).

Está catalogado como herbicida, perteneciente al grupo químico clorofenoxi y cuya categoría toxicológica se encuentra en el grupo III (moderadamente tóxicos). Es poco soluble en agua, 620 mg*L⁻¹ a 20°C, por lo que el ácido no se utiliza como tal, sino en forma de sales alcalinas, sales aminas y ésteres. Sus sales alcalinas y aminas son solubles en agua, a excepción de las de Ca (II) y Mg (II) que no lo son al igual que los ésteres (Bautista, 2001).

El suelo y los cuerpos de agua son sus medios receptores directos, pero se dispersa en todos los compartimentos del ambiente. En el aire persiste por horas y puede ser

eliminado por precipitación junto con la lluvia. En agua y suelo es degradado por hidrolisis, fotólisis y por la acción de los microorganismos. La biodegradación de este compuesto puede durar más de dos meses si existe acumulación debido a la aplicación previa de plaguicidas y conforme a las condiciones fisicoquímicas que presente el suelo (CICOPLAFEST, 2004).

Es ligero a moderadamente tóxico para organismos acuáticos y terrestres. Reduce la capacidad de microorganismos y algas para fijar el nitrógeno en suelo y agua. Cambia la composición de especies y la estructura de la vegetación, con los efectos consecuentes sobre los ecosistemas terrestres.

4.3.7.2.1.1. Rutas metabólicas del 2,4-D.

Las transformaciones que sufre el 2,4-D dependen en gran medida en el medio en que se encuentre y de las condiciones fisicoquímicas en las que se encuentre expuesto. Las principales rutas del destino ambiental del ácido 2,4-diclorofenoxiacético, el metabolismo y los efectos de la exposición en condiciones ambientales se describen en el siguiente diagrama.

Figura 6. Esquema que representa las rutas metabólicas del 2,4-D. Fuente: (Tayeb *et al.* 2011).

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético es uno de los herbicidas más utilizados en los sectores agrícolas y no agrícolas. Su formulación es variada, la cual incluye ácidos, sales, aminas, y ésteres, y su toxicidad varía entre las diferentes formas. 2,4-D tiene un alto potencial para lixiviarse y ocasionar la contaminación de las aguas subterráneas (González *et al.*, 2015). Una vez en el suelo, es hidrolizado en forma de ácidos libres y luego convertido a 2,4 diclorofenol (2,4-DCP), que es el primer producto de la degradación. La vida media en un formulado comercial de 2,4-D es de siete a 14 días (Aparicio *et al.*, 2015).

4.4. Tecnologías de remediación aplicadas a suelos contaminados con plaguicidas
Los suelos que han sido contaminados con residuos o desechos químicos peligrosos, deben ser tratados con la finalidad de alterar la composición de estas sustancias o evitar su desplazamiento (o migración) a otros medios. Al tratamiento, utilizando diversas tecnologías, se les conoce con el nombre genérico de remediación (Loayza, 2007). La selección de una tecnología requiere tener en cuenta diversos factores, entre los cuales sobresalen:

- Características específicas del sitio contaminado (caracterización).
- Propiedades fisicoquímicas del contaminante.
- Disponibilidad de la tecnología.
- Confiabilidad demostrada o proyectada.
- Estado de desarrollo (laboratorio, escala piloto o industrial).

Volke y Velasco (2002) mencionan que las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, con base en los siguientes principios:

Estrategia de remediación: Consiste en la remoción o modificación de la estructura de los contaminantes, extracción y aislamiento e inmovilización del contaminante.

Lugar en el que se realiza el proceso de remediación: En general se distinguen dos tipos de tecnologías: *in situ* (en el mismo sitio en el que se encuentra la contaminación) y *ex situ* (puede realizarse fuera de él).

Tipo de tratamiento: El tipo de tratamiento está basado principalmente en la tecnología de remediación utilizada que puede ser: biológico, fisicoquímico y térmico.

Dentro de las tecnologías de biorremediación se han usado con éxito algunos procesos de biorremediación para tratar lodos, suelos y sedimentos contaminados con plaguicidas como el 2,4-D. Dentro de las técnicas de biorremediación la bioaumentación se ha usado con éxito para tratar suelos contaminados con herbicidas (2,4-D y clorofam). La bioestimulación, biolabranza y fitorremediación han sido usados para tratar diferentes suelos contaminados con plaguicidas. En cuanto a las tecnologías fisicoquímicas el lavado de suelos es aplicable para los suelos contaminados con plaguicidas, los procesos de óxido-reducción y de los métodos térmicos la desorción térmica es aplicable.

4.4.1. Tecnología de remediación (enmienda orgánica Daramend)

De acuerdo a las especificaciones del fabricante el Daramend es un producto de biorremediación que es utilizado para la recuperación de suelos contaminados con compuestos orgánicos recalcitrantes. Ha permitido el tratamiento de millones de toneladas de suelo, sedimento y materiales sólidos que fueron contaminados con herbicidas y pesticidas clorados, compuestos explosivos orgánicos, y compuestos orgánicos volátiles clorados en muchos sitios en todo el mundo (PeroxiChem, 2014). los rangos de aplicación oscilan en menos del 5% en peso de suelo seco a tratar. Además, proporciona los beneficios de la reducción química *in situ* (condiciones fuertemente reductoras) y pH casi neutro (ambos mecanismos de degradación bióticos y abióticos). En relación con el compostaje tradicional, el tratamiento con Daramend genera resultados en duraciones de tratamiento relativamente cortos y proporciona una perspectiva de sostenibilidad debido a que el producto está compuesto de hierro reciclado y subproductos agrícolas (PeroxiChem, 2014).

4.4.1.1. Beneficios de la enmienda orgánica

- Mejora la salud del suelo: ayuda a la recuperación de la fertilidad, disminuye la toxicidad y mejora la labranza.
- Carácter hidrofílico: aumenta la capacidad del suelo para retener agua.
- Contaminantes recalcitrantes: promueve la remediación de la mayor parte de los contaminantes persistentes en el suelo (PeroxiChem, 2014).

4.4.1.2. Desventajas de la enmienda orgánica

- Esta tecnología no es técnica y económicamente viable para suelos con altas concentraciones de contaminantes.
- No es aplicada para tratar suelos contaminados con bifenilos policlorados, dioxinas o furanos.
- Para tratamientos *ex situ*, se requiere un área grande para tratar grandes cantidades de suelo contaminado (PeroxiChem, 2014).

4.4.1.3. Métodos de aplicación

- *In situ* landfarming (granjeo).
- *Ex situ* celdas de tratamiento o hileras.
- Aplicaciones para agua subterránea en pozos poco profundas para la reducción química *in situ* (ISCR por sus siglas en inglés) (PeroxiChem, 2014).

4.4.1.4. Descripción de la tecnología

Datos proporcionados por la Environmental Protection Agency (EPA, 2005) describen la tecnología Daramend como una modificación mejorada de la tecnología de biorremediación para el tratamiento de compuestos orgánicos persistentes que implica la creación secuencial de condiciones anaerobias y procesos aeróbicos. El tratamiento implica lo siguiente:

1. La adición de la fase sólida Daramend (enmienda orgánica + hierro de valencia cero) la distribución del tamaño de partículas, perfil de nutrientes, y agua producen las condiciones reductoras.
2. Laboreo periódico del suelo para promover las condiciones anaerobio.

- La repetición del ciclo aerobio – anaerobio hasta lograr los objetivos de limpieza deseados.

Figura 7. Fermentación del carbono + oxidación del Fe⁰ (Mecanismos de descloración) (G. Seech, 2013).

Figura 8. Consideraciones de diseño para la implementación de la tecnología daramend. Fuente: Elaboración propia.

Figura 9. Agregados del suelo que muestra el mecanismo de biorremediación. Fuente: Mueller & Seech (2013).

El hierro de valencia cero y el agua estimulan el agotamiento biológico de oxígeno, generando fuertes condiciones reductoras dentro de la matriz del suelo. La difusión de oxígeno es impedida debido a que los poros del suelo son saturados con agua, el agotamiento del mismo crea un muy bajo potencial de óxido-reducción que promueve la dechloración de compuestos organoclorados. La matriz del suelo que consta de suelo contaminado más la enmienda orgánica comercial, se deja en reposo durante la duración de la fase reductora en un ciclo de tratamiento (normalmente de 1 a 2 semanas) (EPA, 2005).

Durante la fase aeróbica de cada ciclo, la labranza periódica del suelo aumenta la difusión periódica de oxígeno en los micrositos y la distribución del agua de riego en el suelo. Los productos formados durante la descloración reductiva se eliminan a través de procesos de biodegradación aeróbica, iniciado por el secado pasivo al aire y la labranza periódica para promover estas condiciones.

La adición de Daramend y las condiciones oxidantes- reductoras continúan hasta que se logran los objetivos de limpieza deseados. La frecuencia de riego se determina por monitoreo semanal de las condiciones de humedad en el suelo, está se debe de mantener dentro de un intervalo específico por debajo de su capacidad de retención de agua. El mantenimiento del contenido de humedad en el suelo facilita el rápido crecimiento de un activo de población microbiana, además de evitar la generación de lixiviado. La cantidad de Daramend añadida en los ciclos posteriores de tratamiento es generalmente menor que la cantidad añadida durante el primer ciclo (EPA, 2005).

4.4.1.5. Proceso de descloración

La descloración o deshalogenación reductiva ocurre bajo condiciones con un potencial de óxido-reducción muy bajo en el que el contaminante clorado (2,4-D) funciona como un aceptor de electrones. Estas condiciones reductoras son promovidas por la mezcla contenida en el Daramend ya que la parte orgánica contiene plantas ricas en celulosa y hemicelulosa que proveen de carbono a los microorganismos. Estos utilizan los sustratos orgánicos del Daramend generando un consumo de oxígeno y condiciones reductoras (e^- , H^+) empleando el contaminante clorado junto con la fuente reductora para obtener energía. Consecutivamente, se crean condiciones aerobias mediante la labranza del suelo para permitir la aireación y la difusión de oxígeno en este, lo cual, es aprovechado por una población de microorganismos que descomponen los subproductos de la descloración para obtener energía y biomasa. Estos subproductos de la

degradación microbiana pueden ser atrapados a nivel molecular en reacciones húmicas, lignolíticas y de condensación química (Seech, *et al.* 1995)

Cabe mencionar que hay compuestos clorados los cuales no pueden ser degradados por los microorganismos, de tal manera que el Daramend también contiene hierro de cero valencia (Fe^0) que permite la descloración química de los compuestos clorados. El Fe^0 puede reducir químicamente las moléculas por procesos de eliminación e hidrogenólisis y generar hierro ferroso (Fe^{+2}) el cual es oxidado a hierro férrico (Fe^{+3}) para luego precipitarse. Los subproductos de esta descloración química igualmente pueden ser biodegradados en condiciones aerobias a compuestos inocuos por los mecanismos microbianos antes mencionados (Seech, *et al.* 1995)

5. METODOLOGÍA

5.1. Área de estudio

El muestreo se realizó de acuerdo a las consideraciones establecidas en la norma NOM-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

Para llevar a cabo el estudio se eligió un suelo de tipo Vertisol en el estado de Tabasco. La colecta de muestra se efectuó a cabo en un suelo situado en la ranchería Buenavista del municipio de Cárdenas, en la cuenca baja del Río Blasillo situado en el cuadrante 15Q con coordenadas UTM 406447E y 2001730N.

Figura 10. Ubicación del sitio de muestreo. Fuente: Elaboración propia.

5.2. Muestreo

Se tomaron los primeros 30 cm del suelo superficial y se recolectaron 20 kg para realizar los tratamientos en el que cada unidad experimental consistía de 500 g cada una y así tener suficiente material para las diferentes pruebas y análisis que se llevaron a cabo.

Una vez colectado, el suelo se transportó a la unidad de tratamiento, ubicada en las instalaciones del Laboratorio de Remediación Integral en la DACBiol-UJAT.

Figura 11. Recolecta de muestra.

5.3. Diseño experimental

Para el cumplimiento de los objetivos, se empleó un diseño completamente aleatorizado el cual se determinó con ayuda de la hoja de cálculo de Excel, dentro del diseño experimental se contó con una muestra testigo y tres réplicas, de la misma forma para cada uno de los tratamientos. Los tres tratamientos consistieron en diferentes proporciones iniciales durante el inicio de cada ciclo para determinar la más eficiente. Fueron diseñados en base a una proporción en peso con respecto a la cantidad de suelo a tratar.

Figura 12. Diseño experimental para cada uno de los tratamientos.

5.4. Proceso de optimización

- 1) Muestreo inicial. Se realizó un muestreo y caracterización inicial del suelo a tratar en donde se analizaron los siguientes parámetros:

Capacidad de campo, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, potencial de óxido-reducción, potencial de hidrógeno, textura y toxicidad.

- 2) Preparación de unidades experimentales. Cada lote experimental consistió en un peso de 500 g, de la misma manera fue para sus respectivas réplicas.
 - a. Sin tratamiento (testigo)
 - b. Con 1% daramend en el primer ciclo, después 0.5 % en cada ciclo
 - c. Con 2.5%, 2%, 1.5%, 1% de daramend, después 0.5% para ciclo posterior.
 - d. Con 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1% de daramend, después 0.5% en cada ciclo.
- 3) Elaboración de composta para post-tratamiento. La composta consistió en un porcentaje en peso de 50% paja, 25% cachaza de caña y 25% suelo contaminado.
- 4) Manejo de unidades experimentales.
 - a. Ciclo anaerobio. Después de haber homogeneizado el suelo contaminado en las diferentes proporciones para cada unidad experimental y sus réplicas, se agregó agua hasta apenas saturarse, con una pequeña película de agua encima del suelo. Se manejó el primer ciclo por dos semanas a nivel de saturación, sin mezclarse. Se agregó un poco de agua periódicamente cuando fue necesario para compensar la evaporación, y mantener una pequeña película de agua encima de las pilas.
 - b. Ciclo aerobio. Posterior a las dos semanas, se drenó el agua en exceso hasta capacidad de campo en cada una de las unidades experimentales y se mezcló diario durante dos semanas (tratamiento

- aerobio). Se adicionó agua para mantener una capacidad de campo de aprox. 50 – 75% (como un campo agrícola).
- 5) Repetir ciclo (fase anaerobia/fase aerobia). En todos los ciclos se mantuvo la fase anaerobia por dos semanas.
 - 6) Monitoreo. Durante la fase anaerobia se determinó por sonda ORP (oxidation reduction potential) el potencial de óxido-reducción, así como pH (determinaciones *in situ*) al final de cada semana. Se determinó toxicidad aguda para todos los tratamientos en el 3er, 4to y 5to ciclo.
 - 7) Post-tratamiento con composta. En cada uno de los tratamientos después del último ciclo (anaerobio/aerobio) se agregó 20% de composta (p/p, b.s.) a cada uno de los tratamientos y se homogeneizó completamente. La humedad se mantuvo en aprox. 50% CC de la mezcla. Se analizó para toxicidad aguda después del 2do mes de tratamiento, también se analizó para mutagenicidad.

Figura 13. Diagrama que representa el proceso de optimización y sus fases de tratamiento.

Figura 14. Esquema que representa las diferentes fases del tratamiento.

5.5. Caracterización inicial del suelo.

Se determinaron las condiciones fisicoquímicas del suelo: textura, capacidad de campo, porcentaje de materia orgánica y contenido de humedad y las químicas: pH, conductividad eléctrica y potencial de óxido-reducción.

ANÁLISIS	REFERENCIA
<i>Textura</i>	NOM-021-RECNAT-2000
<i>Capacidad de campo</i>	NOM-021-RECNAT-2000
<i>Materia orgánica</i>	NOM-021-RECNAT-2000.
<i>Potencial de hidrógeno (pH)</i>	NOM-021-RECNAT-2000
<i>Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)</i>	NOM-021-RECNAT-2000
<i>Potencial de óxido-reducción.</i>	Medición por sonda multipamétrica.
<i>Conductividad eléctrica</i>	NOM-021-RECNAT-2000.
<i>Toxicidad aguda</i>	Bioensayo con la lombriz <i>Eisenia foetida</i> (OPPTS 850.6200 USEPA, lombriz roja californiana).
<i>Mutagenicidad</i>	Ensayo de micronúcleos en tétradas de <i>Tradescantia</i> (MCN-TRAD)

Tabla 3. Métodos de análisis de caracterización de suelo y su referencia normativa.

Para la caracterización inicial del suelo Vertisol se tomaron tres réplicas de éste, previamente secado, molido y tamizado y de esta manera realizar los análisis establecidos en el diseño experimental (textura, capacidad de campo, densidad real, materia orgánica, potencial de hidrógeno, capacidad de intercambio catiónico, potencial redox, y toxicidad aguda), según los métodos de la NOM-021-RECNAT-2000 (que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de los suelos, estudio, muestreo y análisis).

5.5.1. Análisis de textura

La determinación de la textura del suelo se llevó a cabo mediante el procedimiento de Bouyoucos, establecido a través del método AS-09 de la NOM-021-RECNAT-2000.

Se pesaron 60 g de suelo y se oxidó usando 40 ml de peróxido de hidrógeno hasta que no hubiera efervescencia. Después de oxidar la materia orgánica y haber secado la muestra de suelo, se pesaron 50 g de suelo y posteriormente se adicionó 10 ml de agente dispersante (hexametáfosfato de sodio). Se homogeneizó durante 5 minutos con ayuda de una licuadora y posteriormente se traspasó el contenido a una probeta de 1000 ml enjuagando el recipiente con ayuda de una pizeta para evitar la pérdida de material. Una vez aforada la probeta se agitó la suspensión con ayuda de un émbolo para posteriormente, pasados 40 segundos, efectuar la primera lectura de densidad y temperatura con ayuda del hidrómetro y un termómetro. La probeta se dejó reposar durante dos horas y se midió nuevamente la densidad y temperatura.

5.5.2. Capacidad de campo

La capacidad de campo se determinó de acuerdo al procedimiento establecido en la norma NOM-021-RECNAT-2000, basado en el principio de la columna de Colman. Se perforaron vasos de plástico en la parte inferior y se pesaron 100 g de muestra de suelo en ellos. Posteriormente se sumergieron los vasos de plástico con muestras de suelo en agua corriente hasta saturarlo completamente por un periodo de dos horas, pasadas 24 h se registró el peso (W húmedo) y se dejó secar durante 24 h más para registrar el peso en seco (W seco).

5.5.3. Densidad real.

La determinación de densidad real se llevó a cabo a través del procedimiento establecido en el método AS-04 de la norma NOM-021-RECNAT-2000, en el cual, se pesó un matraz aforado de 100 ml vacío. Posteriormente se agregaron 5 g de muestra de suelo en este matraz y se aforó registrando nuevamente el peso con la solución de suelo. Por último, se retira el suelo con agua del matraz, se lava y se seca para aforar nuevamente con agua el mismo matraz y registrar este peso.

5.5.4. Materia orgánica

Esta técnica comprende la medición de la pérdida de peso en la muestra, después de realizar una combustión seca del material orgánico. La determinación del % materia orgánica se lleva a cabo mediante la diferencia de pesos entre la muestra inicial seca y la muestra calcinada.

5.5.5. Análisis de pH

El procedimiento para determinar el pH del suelo se llevó a cabo bajo el método AS-02 de la norma NOM-021-RECNAT-2000 utilizando una relación suelo – agua 1:2, agregando 10 g de muestra de suelo en 25 ml de agua desionizada y agitándolo durante 30 min a 80 rpm. Posteriormente se utilizó un potenciómetro en la medición, marca Thermo Electron Corporation modelo Orion 3 star para uso en laboratorio, previamente calibrado.

5.5.6. Conductividad eléctrica

La determinación de la conductividad eléctrica se realizó bajo el método de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. En donde se pesaron 10 g de muestra y se disolvieron en 50 ml de agua para ser medidos por un equipo multiparámetro previamente calibrado.

5.5.7. Potencial de óxido – reducción y pH para monitoreo durante los ciclos de tratamiento

La determinación de los parámetros potencial de óxido- reducción (ORP por sus siglas en inglés) y pH se llevó a cabo mediante el uso del equipo multiparametro marca HANNA modelo HI9628. Esta medición se realizó únicamente durante la fase anaerobia en el que el suelo se encontraba saturado con agua, introduciendo la sonda del equipo previamente calibrada para obtener mediciones confiables directamente en las unidades experimentales y sus respectivas réplicas. Este procedimiento se efectuó al final de la primer y segunda semana en los cinco ciclos

de tratamiento evaluados, tomando en cuenta que la duración de esta fase es de dos semanas.

Figura 15. Monitoreo de ORP y pH durante la fase anaerobia.

5.5.8. Toxicidad aguda

La prueba de toxicidad aguda se llevó a cabo exponiendo directamente los organismos (*Eisenia foetida*) al suelo. La prueba consistió en utilizar 5 g de muestra de suelo contaminado y colocarla sobre un frasco de vidrio de 7 cm de ancho por 9 cm de alto, cubiertos con papel para evitar la exposición de los organismos a la luz debido a su fotosensibilidad, se utilizaron lombrices adultas cliteladas con un peso entre 300 y 600 mg. Para la exposición de las lombrices al suelo contaminado y suelo limpio, se determinó utilizar una humedad del 40% considerando los requerimientos de las lombrices y evitar su mortandad por falta de humedad. Los organismos fueron expuestos durante 48 h monitoreando a las 24 y 48 h respectivamente.

Esta prueba (No. 207 OECD) está basada en evaluar la toxicidad aguda con lombriz roja californiana *Eisenia foetida*, variando la forma de exposición de los organismos prueba, es decir, se determinó exponer a las lombrices directamente en la matriz suelo, debido a que este tipo de exposición nos permitiría inferir sobre el

comportamiento de los organismos en condiciones reales o de campo (OECD, 1984).

5.5.9. Mutagenicidad

El ensayo de mutagenicidad o la prueba de micronúcleos en tétradas de *Tradescantia* (test trad-MCN) se llevó a cabo mediante la identificación de micronúcleos como resultado del rompimiento de los cromosomas en la fase de tétrada de la meiosis celular. El empleo de *Tradescantia pallida* (purpurina) para la observación de efectos genotóxicos, ha permitido el uso de esta prueba para el monitoreo de diversos contaminantes por ser muy sensible, confiable y económica. De acuerdo a lo propuesto por Ma. (1981), el método consistió en la selección de inflorescencias jóvenes para exponerlas durante 24 h en un extracto acuoso de suelo contaminado. Pasadas las 24 h de exposición las inflorescencias se fijan en una solución de alcohol – ácido acético (3:1) durante 24 h, después de haber fijado, las muestras se preservaron en una solución de alcohol al 70%. Se diseccionaron los brotes de cada inflorescencia para seleccionar las anteras y se maceraron con ayuda de una varilla de vidrio sobre un portaobjetos. Una vez maceradas las anteras se tiñeron con acetocarmin y se colocó el cubreobjetos para calentar la muestra a 80°C para asegurar la tinción del material genético. Posteriormente se procedió a colocarlo sobre el microscopio para la observación de las células meióticas de granos de polen en la etapa de tétrada y realizar el conteo de 1500 tétradas por cada unidad experimental.

Figura 15. Preparación de inflorescencias para prueba de mutagenicidad. Fuente: Cardoso, J. R. y Morales, E. (2011).

5.6. Contaminación de suelo Vertisol

Se pesaron 6.3 kg de suelo seco considerando la cantidad de material a utilizar planteado en el diseño experimental para cada una de las muestras. Posteriormente el suelo se dividió en tres lotes para llevar a cabo la homogeneización con el 2,4-D y asegurar un mezclado eficiente (figura 11a).

El suelo previamente procesado (secado, molido y tamizado) se contaminó a una concentración de 300 mg/kg de suelo en base seca, empleando un producto comercial que contiene el 2,4-D como ingrediente activo (figura 11b).

Cada lote consistió en 2.1 kg y se agregó agua hasta capacidad de campo durante el mezclado para homogeneizar el material. Una vez obtenido el suelo contaminado se dejó secar durante una semana. Después de haber secado el suelo, se molió y

tamizó nuevamente para dividir en los diferentes tratamientos que se emplearon en este estudio (figura 11c).

Figura 16. Contaminación de suelo Vertisol e implementación de unidades experimentales.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización preliminar del suelo

C.C. %	C.E. dS. m ⁻¹	pH	%M.O.	TEXTURA			O.R.P mV	D.R.
				%A	%L	%R		
34.83	0.034	6.32	12.78	19.4	24.6	56	157.7	2.38 g/cm ³

Tabla 4 .Propiedades fisicoquímicas del suelo Vertisol.

C.C. Capacidad de campo,

%L. Porcentaje de limos

C.E. Conductividad eléctrica

%R. Porcentaje de arcillas

pH. Potencial de hidrógeno

O.R.P. Potencial de óxido reducción

%M.O. Porcentaje de materia orgánica

(oxidation reduction potential por sus siglas en inglés)

%A. Porcentaje de arenas

D.R. Densidad real

El suelo presentó una capacidad con un porcentaje de retención de 34.83%. La conductividad eléctrica fue muy baja 0.034 dS.m⁻¹ considerándose con efectos despreciables de salinidad de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000. El valor del pH medido (6.32) se clasifica en el rango de suelos moderadamente ácidos conforme a lo descrito en la misma norma. El porcentaje de materia orgánica representó valores para suelos con alto contenido de materia orgánica, de igual manera, la textura del suelo es definida como un suelo arcilloso con un alto contenido de arcillas (56%) y la densidad real del suelo (2.38 g/cm³) es característica de los suelos Vertisoles conocidos como suelos pesados (Palma y Triano, 2006).

6.2. Toxicidad aguda inicial de suelo limpio y suelo contaminado con 2,4-D

Para la caracterización del suelo Vertisol limpio, se llevó a cabo el bioensayo de toxicidad aguda exponiendo directamente las lombrices al suelo y de esta manera descartar una posible toxicidad originada por el mismo. Los resultados obtenidos indican que existe una toxicidad nula para este tipo de suelo, debido a que la mortandad registrada en esta prueba fue del 0%, además, se registró un aumento en el peso del 50% de las lombrices expuestas y los cambios morfológicos fueron muy bajos, asociados más a la falta de alimento que a las propiedades del suelo analizado.

Figura 17. Toxicidad al inicio del tratamiento.

Los resultados de toxicidad aguda inicial para el suelo contaminado con 2,4-D, confirman una mortandad del 100% de los organismos (*Eisenia foetida*) a las 24 h de exposición. De la misma forma, se observaron algunos efectos sobre el sistema reproductor del organismo, específicamente sobre el clitelo, en el que se logró identificar a simple vista un aumento de tamaño, además de sangrado y expulsión de líquido celómico.

Figura 18. Efectos tóxicos del suelo contaminado inicial de 1a) a 1e) y de 2a) a 2c) organismos vivos en el suelo limpio.

6.3. Monitoreo de toxicidad

Conforme al diseño experimental planteado para el presente trabajo, se estableció monitorear la reducción de la toxicidad del 2,4-D como un parámetro fundamental en cada uno de los tratamientos evaluados durante la evaluación de la enmienda orgánica en los tres últimos ciclos evaluados (3ro, 4to y 5to ciclo), mediante la prueba de toxicidad aguda con lombrices de tierra (*Eisenia foetida*).

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de toxicidad, se encontró una mortandad del 100% en cada uno de los tratamientos evaluados. Esta mortandad fue registrada en todos los ciclos evaluados, lo que determina la persistencia de la toxicidad aún con la adición de la enmienda orgánica. Las observaciones hechas fueron referidas a los efectos que el plaguicida ocasionaba en los organismos prueba (*Eisenia foetida*), por otra parte, cabe mencionar que, de los organismos utilizados en el suelo control o blanco (suelo Vertisol limpio) no se registró mortandad alguna en ninguno de los análisis realizados, solo cambios menores que pueden asociarse a la falta de alimento que a algún elemento potencialmente tóxico presente en el suelo.

Figura 19. Observaciones registradas en los organismos durante el 3er ciclo de tratamiento.

Los resultados de toxicidad encontrados durante el 3er ciclo de tratamiento evaluado indicaron que el suelo continuaba siendo muy tóxico, debido a que se registró la mortandad de los organismos durante las 24 h posteriores al inicio de la prueba. Los cambios morfológicos con mayor presencia en los organismos fueron por presentar clitelo inflamado, esta afectación registrada se presentó por encima del 50% en cada uno de los tratamientos, así como en la muestra testigo (muestra contaminada sin tratar). Este trastorno fisiológico es mayormente conocido como síndrome proteico o gozzo ácido. Se debe posiblemente a la actividad generada por los microorganismos del suelo, la cual genera gases, ácidos orgánicos y aumento de la acidez del medio, por lo tanto, las lombrices ingieren alimento con acidez elevada que no pueden neutralizar por la limitada secreción de sus glándulas calcíferas. Consecuentemente, el proceso de fermentación continúa en el buche y

en el ventrículo del animal presentando inflamaciones o abultamiento anormal en la zona clitelar (Rovesti, 2003).

Se observó la liberación de fluido sanguíneo en los organismos como resultado de las alteraciones morfológicas en el clitelo, además, de la expulsión de un líquido amarillo viscoso conocido como fluido celómico como respuesta ante la posible irritación física producida por 2,4-D (Edwars y Bolhen, 1996).

Los cambios registrados en la muestra control o blanco, pertenecen a la pérdida de peso ocasionado por la falta de alimento, la pérdida de respuesta a los estímulos y a la falta de movimiento en menor porcentaje, por lo tanto, no fueron considerados como cambios significativos en los organismos prueba.

Figura 20. Observaciones registradas en los organismos durante el 4to ciclo de tratamiento.

Al igual que el tercer ciclo de tratamiento se registró una mortandad del 100% de los organismos en cada uno de los tratamientos utilizados durante la prueba a excepción de la muestra control, que solo presentó pérdida de peso y de movimiento. La alteración fisiológica más recurrente fue la de clitelo inflamado, para todos los tratamientos y en menor grado la expulsión de fluido sanguíneo, además de fluido celómico.

Figura 21. Observaciones registradas en los organismos durante el 5to ciclo de tratamiento.

Se registraron los efectos ocurridos en los análisis de los ciclos anteriores, donde la persistencia de la alteración inducida al clitelo de la lombriz fue observada como en los análisis de los ciclos que le preceden. Se observó una disminución en cuanto a la expulsión de fluido sanguíneo, así como la de fluido celómico y una mayor

resistencia de los organismos, aunque aún no se logró reducir la toxicidad en este último ciclo. Para la muestra control, solo se observó una disminución de peso en todos los organismos prueba.

6.4. Análisis de mutagenicidad

Se realizó un conteo de 1500 tétradas para cada suelo analizado con una sola réplica, los resultados encontrados en ambos suelos se reportan como el número de micronúcleos por cada 100 tétradas, a esto se le conoce como frecuencia de micronúcleos (FCM). Se analizó el efecto mutagénico del 2,4-D al inicio del tratamiento para el suelo contaminado a 300 mg/kg de 2,4-D y el suelo Vertisol limpio con una FCM de 6.8 y 0.6 para cada uno, de la misma forma, se evaluó al final del pos tratamiento (compostaje) en cada una de las unidades experimentales para determinar si hubo una reducción en cuanto a la inducción de micronúcleos o aberraciones cromosómicas.

Figura 22. Identificación de Micronúcleos en suelo contaminado con 2,4-D.

6.5. Monitoreo de condiciones reductoras durante los cinco ciclos de tratamiento
 Durante los cinco ciclos de tratamiento en el que se evaluó la enmienda orgánica (Daramend) se monitoreo en la fase anaerobia el potencial de óxido-reducción (ORP) y el potencial de los iones hidrógeno (pH), con el fin de determinar los efectos reductores que permiten la descloración reductiva del 2,4-D, en cada una de las proporciones utilizadas en los tratamientos evaluados. Tomando en cuenta que por cada ciclo en cada tratamiento la proporción de enmienda orgánica iba disminuyendo 0.5% en relación a la anterior.

Figura 23. Valores de ORP (fase anaerobia) durante los 5 ciclos de tratamiento evaluados.

De acuerdo a lo registrado en la Figura 24, se observa que la muestra testigo (muestra contaminada sin enmienda orgánica) no presentó valores de ORP con condiciones reductoras, sino que eran condiciones oxidantes, las cuales, no favorecen los procesos de descloración que se desean en los tratamientos. El tratamiento 1, presentó valores debajo de -100 mV y se mantuvo durante casi todos los ciclos excepto al final del 5to ciclo donde disminuyó aún más. En el caso de los tratamientos dos y tres, su comportamiento fue muy similar, aunque el tratamiento tres presentó mayores condiciones reductoras debido a la cantidad de enmienda que se añadió respecto al tratamiento dos. Estas condiciones de potencial de óxido-reducción para ambos tratamientos, específicamente las que mantenían en el 2do ciclo, son condiciones fuertemente reductoras y óptimas que promueven de manera efectiva la descloración del 2,4-D y mediante el uso de más ciclos de tratamiento ayudarían a promover condiciones para la descloración.

Los resultados del monitoreo del potencial de óxido-reducción (ORP) muestran que existe una tendencia en relación a la proporción de enmienda añadida al suelo y su influencia sobre las condiciones reductoras, una mayor cantidad de enmienda orgánica añadida al suelo promueve mayores condiciones reductoras en relación a los tratamientos donde existe menor cantidad de esta. Este efecto reductor se debe principalmente a la parte orgánica presente en la misma, que proporciona una fuente de carbono y energía a los microorganismos propiciando una mayor actividad microbiana y a su vez, un mayor consumo de oxígeno. Este agotamiento microbiológico de oxígeno, genera las condiciones anóxicas o reductoras.

Por otra parte, se observa una disminución del potencial redox a partir del 3er ciclo para los tratamientos dos y tres (los tratamientos con mayor proporción de enmienda orgánica). Este comportamiento puede estar asociado a los procesos químicos inducidos, en el que posiblemente haya ocurrido una transformación del 2,4-D a su metabolito primario 2,4-diclorofenol (2,4-DCP), que resulta ser más tóxico que su precursor el 2,4-D, por lo tanto, al estar en contacto con los microorganismos del

suelo resulta tener un efecto tóxico mayor y por ende, ocasiona una disminución en la población microbiana (Russel, 2001). Esta disminución de microorganismos ocasiona que el agotamiento de oxígeno sea menor durante el inicio del tercer ciclo y los posteriores para la fase anaerobia y por ende hay un aumento en el potencial de óxido-reducción con respecto a los anteriores.

6.6. Monitoreo del pH durante la fase anaerobia

Figura 24. Comportamiento de los valores de pH durante la fase anaerobia.

Los resultados mostrados en la figura 25 muestran una fluctuación en los valores de pH, debido a que aumentan y disminuyen en cada uno de los ciclos de tratamiento. Este comportamiento se debe a las diferentes transformaciones que la enmienda orgánica sufre por efecto de la actividad microbiana en el que se liberan diferentes compuestos. En el proceso de degradación de los compuestos orgánicos, los diferentes microorganismos existentes en el suelo transforman estos compuestos para extraer el máximo rendimiento energético posible (Díaz, 2017).

Debido a que se liberan compuestos orgánicos solubles provenientes de la enmienda, estos son metabolizados por los microorganismos que existen en el suelo. En esta situación, predominan organismos de respiración aeróbica, muy activos y de rápido crecimiento que acumulan gran cantidad de carbono (C) en su biomasa. A medida que la disponibilidad de O₂ del suelo disminuye producto de la actividad metabólica de los microorganismos aeróbicos del suelo, son reemplazados por organismos fermentadores que producen ácidos orgánicos y alcoholes, lo cual produce una variación simultánea de pH durante los ciclos de tratamiento evaluados (Carrasco,1992). Cuando en los poros del suelo se reestablece la disponibilidad de O₂, los productos de la fermentación son oxidados hasta CO₂ y H₂O. Ambos mecanismos, respiración y fermentación, se presentan de manera sucesiva o simultánea en el suelo, debido a que las condiciones del suelo eran muy variadas (ciclos aerobios – anaerobios).

6.7. Resultados al postratamiento

Se analizaron cada uno de los tratamientos con sus respectivas réplicas en relación a los indicadores de respuesta (toxicidad, mutagenicidad y pH) para determinar el tratamiento que logró reducir con mayor eficiencia los niveles de toxicidad y mutagenicidad respectivamente.

6.7.1. Toxicidad

Al finalizar el postratamiento, se llevó a cabo la prueba de toxicidad, para determinar si la composta que fue utilizada para el postratamiento, ayudó a reducir los niveles de toxicidad presentes en el suelo contaminado.

Figura 25. Resultados del análisis de toxicidad para cada uno de los tratamientos.

Se observó que los efectos del 2,4-D sobre las lombrices se redujeron en cuanto a intensidad y lesiones presentadas en relación en con la muestra inicial contaminada. En los tres tratamientos se observó que los organismos de prueba tuvieron menor respuesta a los efectos tóxicos del plaguicida (no presentaban fluido celómico, clitelo inflamado y sangrado) y por ende sobrevivían a las 24 h. Después de haber sido expuestas se registró mortandad para los tres tratamientos a las 48 h de haber iniciado la prueba, sin embargo, en relación a estas observaciones los organismos presentaban una mayor resistencia a la exposición al plaguicida en consideración con los análisis iniciales y podían interactuar dentro del suelo contaminado. Esta reducción de toxicidad nos permite inferir sobre la posible transformación que el plaguicida sufre, producto de la degradación y actividad microbiana hasta llegar a sus precursores iniciales o metabolitos primarios. Sin

embargo, en muchos casos algunos metabolitos como el 2,4-diclorofenol, suelen ser más tóxicos que el compuesto original en el caso del 2,4-D (Singh *et al.*, 2008).

6.7.2. pH final de las muestras

Se llevó a cabo la medición de pH en cada uno de los tratamientos para determinar si el material obtenido presentaba un valor por el cual, podría ser considerado un residuo peligroso de acuerdo al rango de valores de pH que menciona la norma correspondiente (NOM-052-RECNAT-2005).

Figura 26. Valores de pH final de cada tratamiento.

Conforme al análisis de pH realizado, se observa una disminución significativa en los tratamientos a excepción de la muestra testigo (muestra contaminada sin tratar). Esta disminución se puede asociar a la producción de ácidos orgánicos, provenientes de materiales orgánicos incluidos en el Daramend y la composta preparada. Los cuales, fueron añadidos en diferentes fases de tratamiento. El tratamiento que mostró un pH mayor en relación a los demás fue el tratamiento tres (T3) y se encuentra dentro de los suelos clasificados como moderadamente ácidos de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, por lo tanto, no existe una diferencia en

comparación a suelos Vertisol no contaminados debido a que su pH se encuentra dentro de estos valores.

6.7.3. Mutagenicidad final

MUESTRA	NÚMERO DE MICRONUCLEO (n)	FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS (%FCM)
Suelo vertisol contaminado inicial	102	6.8
Muestra sin tratamiento	59	3.93
Tratamiento 1	31	2.07
Tratamiento 2	14	0.93
Tratamiento 3	11	0.73
Suelo sin contaminar	0	0.6

Tabla 5. Mutagenicidad de cada una de las muestras analizadas.

La prueba de mutagenicidad nos indica que hubo una reducción significativa del 89.26% del número de micronúcleos en el tratamiento 3 con respecto a la concentración inicial.

Figura 27. Número de micronúcleos identificados por tratamiento.

Los resultados de mutagenicidad indican que existe una diferencia entre los diferentes tratamientos y la muestra testigo. Esto nos muestra que la tendencia de reducción de micronúcleos fue mayor en el tratamiento tres (T3) en relación a los tratamientos cuyos porcentajes de daramend añadidos fueron menor. Esta reducción se debe posiblemente al efecto que promueven los componentes de la enmienda orgánica daramend, donde el Fe^0 permite la descloración del 2,4-D durante las fases anaerobias o reductoras del tratamiento, de tal manera que los subproductos de la descloración del 2,4-D no son mutagénicos y a su vez, estuvieron más disponibles para los microorganismos aerobios del suelo para su posterior mineralización o humificación.

7. CONCLUSIONES

El tratamiento que registró un ORP óptimo fue el T3, con el mayor valor promedio de -392.64 Mv resultando en condiciones que permiten la descloración reductiva. Pero solo por un ciclo de tratamiento.

La prueba de mutagenicidad nos indica que hubo una reducción significativa del 89.26% del número de micronúcleos en el tratamiento 3 con respecto a la concentración inicial resultando en el mejor tratamiento en la reducción de mutagenicidad.

El análisis de toxicidad nos permite inferir lo que ocurriría en condiciones de campo para contaminantes cuya extracción y análisis resulta ser poco efectiva.

La cantidad de enmienda orgánica aplicada en los tratamientos fue insuficiente para mantener las condiciones reductoras adecuadas por un tiempo necesario para efectuar una descloración del 2,4-D y reducir la toxicidad al nivel umbral.

8. RECOMENDACIONES

- utilizar más ciclos de tratamiento, una proporción de 3% y mantener la misma cantidad durante los ciclos que se evalúen para mantener los valores de ORP en los niveles que se desean.
- Evaluar el postratamiento durante más tiempo, ya que al terminar el postratamiento se observó una reducción en los efectos tóxicos del 2,4-D.

9. LITERATURA CITADA

Alavanja M.C., Dosemeci M., Samanic C., Lubin J., Lynch C.F., Knott C., Barker J., Hoppin J.A, Sandler D.P., Coble J., Thomas K. y Blair A. (2004). Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. *Am. J. Epidemiol.* 160(1), 876-885.

Albert, L. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Rev. Toxicología en línea (retel)*. No. 8. 17 pp.

Aparicio, V., De Gerónimo, E., Hernández, K., Pérez, D., Portocarrera, R., Vidal, C. (2015). Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. Recuperado de:

http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_plaguicidas_agregados_al_suelo_2015.pdf

Arroyave, J. A., Garcés, L.F. (2011). Evaluación de la degradación del pesticida Mertect empleando procesos avanzados de oxidación (PAO). *Revista de producción más limpia*, 6(2), 9-18.

Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v6n2/v6n2a02.pdf>.

Bautista Sánchez, A. (2001). Nuevos métodos luminiscentes para la determinación de pesticidas en aguas. (Tesis doctoral, Universidad de Extremadura Facultad de Ciencias).

Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/325.pdf>

Benedico, E.C. (2002). Herbicidas, ¿qué debemos saber los profesionales de Atención Primaria?. *Revista de ciencia Elsevier*, 28(8), 424-427.

Recuperado de <http://www.elsevier.es/es-revista-semergen-medicina-familia-40-pdf-13036634-S300>.

Bohn, H. L., Mcneal, B. L. O' connor, G. A. (1993). Química del suelo (1ª ed.). México: editorial Limusa.

Calderón, S., Gómez, S., Villalobos, R., Martínez, C., Carbajal, L., Calderón, C., Cortés, J., García, R., Flores, D., Rodríguez, R., Méndez, P., Bañuelos, R. (2012). Evaluation and genotoxic and cytotoxic effects in human peripheral blood lymphocytes exposed in vitro to neonicotinoid insecticides news. Toxicology, 612647. Recuperado de <http://www.hindawi.com/journals/jt/2012/612647/>.

Castillo López, D. I. (2006). Degradación fotocatalítica de carbofurán en diferentes sistemas ópticos de colección solar. (Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México). Recuperado de: <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/jspui/bitstream/132.248.52.100/686/13/castillolopez.pdf>

Cobos-Gasca, V., Barrientos-Medina, R., Navarro-Alberto, J. y Rendón-Von Osten. (2014). Plaguicidas organoclorados persistentes en cenotes de Yucatán. Bioagrocencias. 7(1), 24-27.

Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, (CICOPLAFEST). (2004). Catálogo Oficial de Plaguicidas, México. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas.

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). (2016). Catálogo de plaguicidas. Recuperado de: http://snics.sagarpa.gob.mx/Documents/revistas/AI_enero2013.pdf

Cremlyn, R. (1995). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica, México: Ed. Limusa.

Cruz, M.R. (2003). Biodegradación del DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano] en suelos agrícolas, por el hongo de la pudrición blanca *Phanerochaete chrysosporium*. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma Metropolitana). Recuperado de:
http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/1175/Biodegradacion_del_DDT.pdf?sequence=1.

Danzos, H. (2007). La agricultura orgánica como alternativa al uso de plaguicidas: El caso de Huatusco, Veracruz. (Tesis de maestría, Universidad Iberoamericana). Recuperado de: <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/014931/014931.pdf>

De la Rosa, N. L., Sánchez, E., Ortiz, M. L. (2014). Biosurfactantes y su papel en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 4(1), 47-67. Recuperado de <http://www.globalsciencejournals.com/article/10.7603%2Fs40682-013-0004-0>.

Del Puerto-Rodríguez, A. M., Suárez-Tamayo, S., Palacio-Estrada, Daniel E.; (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(1), 372-387. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223240764010>

Díaz, M.V. (2007). Estudios del sistema suelo-surfactante-plaguicida en los procesos de adsorción y desorción de atrazina, MBT y clorpirifos. (Tesis de maestría). Universidad de Chile (facultad de ciencias químicas y farmacéuticas), Santiago de Chile.

Domínguez Rodríguez, V.I. (2015). Biocamas para el tratamiento de aguas contaminadas con fungicidas en la zona platanera de Teapa, Tabasco. (Tesis inédita de doctorado). Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, H. Cárdenas, Tabasco.

Edwards, C. A., Bohlen P. J., (1996). Biology and Ecology of earthworms. 3ra. Ed. Chapman & Hall. E. U.

Environmental Protection Agency (EPA). (2005). Bioremediation using Daramend for treatment of Pop's in Soils in Soils and sediments.

Esteves, J., Gil, M. y Harvey, M. (1996). Evaluación de la contaminación por metales en sedimentos y materiales en suspensión de la cuenca Turbio-Gallegos. Informe técnico N° 12 del plan de manejo integrado de la zona costera patagónica. Puerto Madryn, Argentina, 21 p.

García-Gutiérrez, Cipriano, Rodríguez-Meza, Guadalupe Durga, Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. (2012). Ra Ximhai [en línea]. [Fecha de consulta: 28 de enero de 2016]. Recuperado de: www.redalyc.org/articulo.oa?id=46125177005> ISSN 1665-0441

González-Jáuregui. M. (2008). Relación de concentraciones residuales de una mezcla de plaguicidas organoclorados y policlorobifenilos con la concentración de hormonas sexuales de dos poblaciones *Crocodylus moreletii*. (Tesis de maestría). Instituto de ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México.

González, S., Galíndez, J., Ruiz, N., Murugesan, S., Piña, A., García, J., Lima, E., Santoyo, F. (2015). Aerobic biofilm reactor for treating a commercial formulation of the herbicides 2,4-D and dicamba: Biodegradation kinetics and biofilm bacterial

diversity. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107, 123-131.
Recuperado de: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830515301360.

Herranz de Andrés, S. (2013). Nuevas herramientas analíticas para la determinación de contaminantes en el medio ambiente y alimentos. (Tesis doctoral, universidad complutense de Madrid).

Recuperado de: <http://eprints.ucm.es/23968/1/T34952.pdf>

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, (INECC). (2011). Información general sobre los herbicidas, Dirección General de Investigación Sobre la Contaminación Urbana y Regional. Fecha de consulta: 15 de marzo de 2016.

Recuperado de:

http://www.inecc.gob.mx/descargas/bioseguridad/2011_simp_ogm_tolerancia_pres1.pdf

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática (INEGI). (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos: Salamanca, Guanajuato.

Recuperado de: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/11/11027.pdf>

Jordán, A. (2005). Manual de edafología. Recuperado de: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30157/AVA/2014/Unidad_1/manual_De_Edafologia-Jordan.pdf

Russell, J (.2001). June Russell's Health Facts Pesticides – 2, 4-D and Roundup. Recuperado de: <http://www.jrussellshealth.com/pests24d.html>.

Kellogg RL, Nehring R, Grube A, Goss DW, and Plotkin S (2000), Environmental indicators of pesticide leaching and runoff from farm fields. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service.

Loayza Pérez, J. E. (2007). Boletín electrónico informativo sobre productos y residuos químicos.

Recuperado de: http://quimica.unmsm.edu.pe/pdf/ing%20loayza/BOLETIN_30.pdf

Ma, T. H. (1981). Tradescantia Micronucleus Bioassay and Pollen Tube Chromatid Aberration Test for in Situ Monitoring and Mutagen Screening. Environmental Health Perspectives Vol. 37, pp. 85-90.

Mao, Y., Mingming, S., Feng, H., Fredrick, O. K., Xin, J., Yongming, L., Xinlun, Y. (2014). Remediation of organochlorine pesticides (OCPs) contaminated site by successive methyl- β -cyclodextrin (MCD) and sunflower oil enhanced soil washing – *Portulaca oleracea* L. cultivation. Chemosphere, 105, 119-125.

Recuperado de: <http://ac.els-cdn.com/S0045653513017232/1-s2.0-S0045653513017232-main.pdf>

Masis, F., Valdez, J., Coto, T. y León, S. (2008). Residuos de agroquímicos en sedimentos de ríos, Poás, Costa Rica. Agronomía Costarricense. 32(1) ,113-123.

Mellado, M. V. (2007). Determinación de plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases, en agua subterránea del municipio de Guasave, Sinaloa. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena Vista Saltillo, Coahuila. México. 150 p.

Cardoso, J. R. y Moraes, E. (2011). Use of the Micronucleus Test on Tradescantia (Trad-MCN) to Evaluate the Genotoxic Effects of Air Pollution, Air Pollution – New Developments, Prof. Anca Moldoveanu (Ed.), ISBN: 978-953-307-527-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com>.

Carrasco, M. A., (1992). El suelo como sistema químico. En Vera: Suelos, una visión actualizada del recurso. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 38, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, 345p.

Mendoza, J. C., Perea, Y. S., Salvador, J. A., Morales, J.A. & Pérez, G. (2011). Biodegradación bacteriana de plaguicidas permetrina y cipermetrina en cultivo lote. Revista de ingeniería BUAP, 2(3), 45-55. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3751637.pdf>

Milena, S. & Correa, F.J. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: Revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. Semestre económico, 23(12), 20-21 pp.

Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/seec/v12n23/v12n23a2>.

Morales, C.M. (2011). Aplicación y evaluación de intercambio catiónico con Ca (OH)₂ en un suelo contaminado con aguas congénitas (tesis de maestría) universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Mueller, M., Seech, A. (2013). In situ chemical reduction (ISCR) for remediation of soil containing chlorinated pesticides and herbicides. Recuperado de http://www.peroxychem.com/media/23898/AquaConSoil_Pesticides_Poster.pdf

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). (1984). OECD Guideline for Testing of Chemicals, No. 207, Earthworm Acute Toxicity. OECD, Paris, France.

Organización Mundial de la Salud OMS. (2014). Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas. Roma, Organización Mundial de la Salud.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (2002). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (2009). Guía para la descripción de suelos. Roma. Recuperado de: www.fao.org/3/a-a0541s.pdf

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO (2014). Atlas de suelos de América Latina y el Caribe. Fecha de consulta: 9 de marzo de 2016. Recuperado de <http://www.fao.org/3/contents/7ef41d70-68b2-4362-892b-15af355f5c11/av050s.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO (2016). Definiciones para los fines del codex alimentarius, depósito de documentos de la FAO. Fecha de consulta: 8 de marzo de 2016. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm>.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO (2016). Portal de suelos de la FAO, definiciones clave. Fecha de consulta: 9 de

marzo de 2016. Recuperado de <http://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (FAO) (2016). [Fecha de consulta: 26 de febrero de 2016]. Recuperado de: <http://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO (2016). Portal de suelos de la FAO, definiciones clave. Fecha de consulta: 25 de abril de 2016. Recuperado de: <http://www.fao.org/soils-portal/levantamiento-de-suelos/propiedades-del-suelo/propiedades-quimicas/es/>

Ortiz, I., Ávila, M.A., Torres, L.G. (2013). Plaguicidas en México: Usos, riesgos y marco regulatorio. Revista latinoamericana de biotecnología ambiental y algal, 4(1), 26-46. Recuperado de: <http://download.springer.com/static/pdf>

Palma-López, D.J. y Triano Sánchez, A. (Comps.) 2006. Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco, Vol. II. Ed. COLEGIO DE POSTGRADUADOS-ISPROTAB. Villahermosa Tabasco, México. 160 Pág.

Palma López, D. J. y Cisneros Domínguez, J. (1997). Plan de Uso Sustentable de los Suelos de Tabasco, Volumén I. Fundación Produce Tabasco A.C. Villahermosa, Tab. 116 p.

PeroxiChem. (2014). Solid-Phase Treatment of Soils and Sediments.

Peterson, D. E., C. R. Thompson, D. L. Regehr and K. Al-Khatib. 2001. Herbicide mode of action. Kansas State University. C-715. 24 p.

Przepiora, A., Seech, A., Mueller, J. (2010). Remediation of soils impacted by organochlorine pesticides using the daramend technology. Recuperado de: <https://tpsalliance.org/pdf/conference/2010/5C-Przepiora-RemediationOf-2010.pdf>

Piola, L. (2011). Ensayos ecotoxicológicos para la evaluación del impacto de plaguicidas en suelos agrícolas de argentina. (Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires). Recuperado de http://digital.bl.fcen.uba.ar/gsd1-282/cgi-bin/library.cgi?a=d&c=tesis&d=Tesis_4887_Piola

Porta C., Jaime. López A., Marta y Roquero D., Carlos. (2003). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 3ra edición. Edit. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM). (2007). 2,4-D Razones para su prohibición mundial. Recuperado de http://www.rap-al.org/articulos_files/EI_2,4-D.pdf

Romero, A. "Sin plaguicidas 40% de la cosecha estaría en riesgo". El economista: Agointeligente. México, D.F. 31 de enero de 2013. 15 pp. Col.7. (En sección: La entrevista).

Rosario, J. M. (2011). Resistencia de Sinapis alba L.A herbicidas inhibidores de la ALS: bases agronómicas bioquímicas y moleculares. (Tesis doctoral, Universidad de Córdoba). Recuperado de: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/5154/9788469447635.pdf?sequence=1>

Rovesti, L. 2003. Lombricultura. Manual Práctico. CU. 99 pp.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2008). Anuario estadístico de la producción agrícola. Cierre de la producción agrícola por estado. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. (En línea). Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351

Sánchez, E. & Ortiz, L. (2011). Riesgos y estrategias en el uso de plaguicidas. *Inventio*14, 21-27. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3747111.pdf>.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Norma Oficial Mexicana NOM-052-RECNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) (2002). Norma Oficial Mexicana, NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) (2002). Norma Oficial Mexicana, NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico-infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo.

Seech, A., Cairns, J., Marvan, I. (1995). Method for dehalogenation and degradation of halogenated organic contaminants. Recuperado de:

<https://patentimages.storage.googleapis.com/c5/24/5d/394c00d1677300/US5411664.pdf>

Shea, P.J., Machacek, T.A., Comfort, S.D. (2004). Accelerated remediation of pesticide-contaminated soil with zerovalent iron. *Environmental pollution*, 132(2), 183-188. Recuperado de:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749104001873>.

Seoáñez, M. (1999). Contaminación del suelo: estudios, tratamiento y gestión, España: Ed. Mundi-Prensa.

Singh, S., Kang, S.H., Mulchandani, A., Chen, W. (2008). Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. *Current opinion in biotechnology*.19 (5):437–444.

Stamatiu, K. (2013). Tolerancia y biodegradación de plaguicidas con hongos filamentosos. (Tesis doctoral, Colegio de postgraduados Campus Montecillo). Recuperado de:

www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/10521/2175/1/Stamatiu_Sanchez_K_DC_Entomologia_Acarologia_2013.pdf

Souza, F.L., Saéz, C., Lanza, M.R.V., Cañizares, P., Rodrigo, M.A. (2016). Removal of pesticide 2,4-D by conductive-diamond photoelectrochemical oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 180, 733-739. Recuperado de:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337315300576>.

Tayeb, W., Chaieb, I., Hammami, M. (2011). Environmental fate and effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic herbicide. *Herbicides: Properties, Crop Protection and Environmental Hazards*. 161-187.

Uzcátegui, J., Araujo, V. y Mendoza, L. (2011). Residuos de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros fisico-químicos en suelos del municipio Pueblo Llano, estado Mérida. *Bioagro*. 23(2), 115-120.

Valdéz, B., Durán, J., Rivera, C., López, G. (2000). Impacto de los plaguicidas en la salud de los habitantes del Valle de Mexicali, México. *Rev. Ecol. Lat. Amb.* Recuperado de: <http://desarrollandome.net/ambiens/plaguicidas/archivos/impacto-de-los-plaguicidas-en-la-salud-de-los-habitantes-del-Valle-Mexicali-2010.pdf>

Valencia, Q., Sánchez, A., Gómez, A., Cortés, E., Waliszewski, S., Villalobos, P. (2013). Genotoxicidad de plaguicidas en sistemas vegetales. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 29. Número especial sobre plaguicidas 133-157.

Varona, M.; Varona, M; Groot, H.; Torres, C.; Patino, I. (2006). Determinación de la exposición a glifosato y otros plaguicidas y evaluación del daño en el ADN en trabajadores que laboran en cultivos de caña de azúcar en el Valle del Cauca. *Medicina Ac. Col*. 28(1):30-35.

Velasco, A., López, G., Ramírez, M., Ortiz, I. (2010). Efecto de la adición de Fe⁰ en la degradación de DDT en suelos. XIV Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería. Recuperado de: <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/IV/orales/OIV-08.pdf>.

Volke, T.; Velasco, J. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT.

WRB. 2007. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No.103. FAO, Roma.

Yanggen, D., Crissman, C. & Espinoza, P. (2002). Los plaguicidas: Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador. Recuperado de: http://cipotato.org/wpcontent/uploads/Documentacion%20PDF/Los_plaguicidas_100.pdf

Yingying, X., Wen, C., Pokeung, E. T., Zhanqiang, F. (2015). Remediation and phytotoxicity of decabromodiphenyl ether contaminated soil by zero valent iron nanoparticles immobilized in mesoporous silica microspheres. *Journal of Environmental Management*, 166(1), 478-483.