

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Biodegradación de carbofurán por bacterias  
aisladas de suelos agrícolas del Distrito Santa  
Rosa del Valle Río Apurímac, Ene y Mantaro.**

**Ayacucho 2014**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE  
MICROBIOLOGÍA**

**Presentado por:**

**Bach. RAMOS CALLE, Filio Ode**

**AYACUCHO - PERÚ**

**2014**

VESIS  
B698  
Ram

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.N°:220 – 2014 – UNSCH – FCB - D

**Bach. Ramos Calle, Filio Ode**

En la ciudad de Ayacucho, el día cinco de diciembre del año dos mil catorce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, siendo las cuatro de la tarde con quince minutos, reunidos los miembros del jurado evaluador presididos por el Dr. Segundo Tomás Castro Carranza Decano de la Facultad e integrada por los profesores Blga. Sonia Haydee Palomino Felices (miembro), Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez (asesor), Mg. José Alarcón Guerrero (miembro) y secretario docente Blgo. Elbert Hermosa Valdivia, con la finalidad de recepcionar el trabajo de tesis titulada "Biodegradación de carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas del Distrito Santa Rosa del Valle Río Apurímac, Ene y Mantaro. Ayacucho 2013" presentado por el Bachiller en Ciencias Biológicas Ramos Calle, Filio Ode con la que pretende optar el Título profesional de Biólogo, con mención en Microbiología.

Con la finalidad de que el Sr. sustentante pueda dar inicio a su exposición, se da a conocer el expediente presentado y estando conforme, el Sr. Decano autoriza que dé inicio a su exposición en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos que es de reglamento, inmediatamente el Sr. sustentante inicia su exposición con el agradecimiento a la Universidad, docentes, familiares y compañeros de estudio.

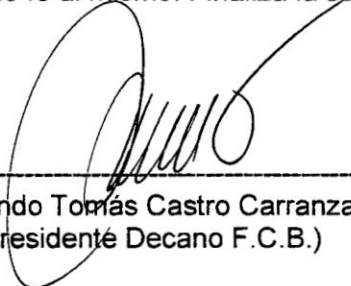
Concluido con su exposición, el Sr. Decano presidente del jurado evaluador solicita a los miembros para que puedan realizar sus preguntas o pedir las aclaraciones que crean convenientes, a los mismos que el sustentante da respuesta a cada uno de los miembros del jurado evaluador.


Terminada la parte correspondiente a las preguntas, el presidente del jurado evaluador Dr. Segundo Tomás Castro Carranza, solicita al sustentante y al público asistente para que puedan desocupar el auditorio con la finalidad de ejecutar las discusiones y realizar la calificación respectiva, quedando de la siguiente forma.

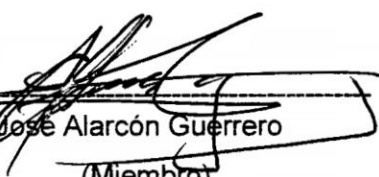
Miembro evaluador	Exposición	Respuesta a pregunta	Promedio
Dr. Segundo Tomás Castro Carranza	18	16	17
Blga. Sonia Haydee Palomino Felices	16	17	17
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez	17	17	17
Mg. José Alarcón Guerrero	15	15	15
		Promedio	17

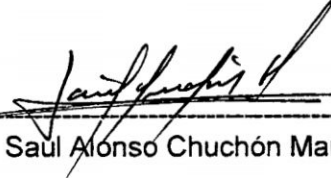
Una vez realizada la calificación se obtiene el promedio de diecisiete (17) que es aprobatorio, invitándose al sustentante y público asistente para que ingresen al auditorio, con la finalidad de dar a conocer el resultado y a su vez imponer la medalla y tomar el juramento de ley.

Concluido con el acto los miembros del jurado evaluador firman al pie de la presente acta, dando fe al mismo. Finaliza la sustentación siendo las seis de la tarde.

  
-----  
Dr. Segundo Tomás Castro Carranza  
(Presidente Decano F.C.B.)

  
-----  
Blga. Sonia Haydee Palomino Felices  
(Miembro)

  
-----  
Mg. José Alarcón Guerrero  
(Miembro)

  
-----  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
(Asesor)

  
-----  
Blgo. Elbert Hermosa Valdivia  
(Sec. Docente)

A Dios todopoderoso. A mis  
queridos padres Víctor y  
Fortunata.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Mater*, en la cultura de la humanidad, por haberme brindado una profesión.

A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Escuela de Formación Profesional de Biología a todos los docentes forjadores de hombres al servicio de la sociedad.

Al Laboratorio de Microbiología Ambiental por acceder el espacio, los materiales y los equipos para realizar el presente trabajo de investigación.

A mi asesor Dr. Saúl Chuchón Martínez, por su constante asesoramiento y apoyo incondicional en la ejecución del presente trabajo de investigación.

A mis padres Fortunata Calle Córdova y Víctor Ramos Huamán, y a mi hermano Deywigs que también se esforzó por brindarme las facilidades en mi formación y desarrollo en mi carrera profesional.

A todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron en la ejecución del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
2.1. Antecedentes	3
2.2. Xenobiótico	7
2.3. Plaguicidas	7
2.4. Evolución de los plaguicidas	8
2.5. Plaguicidas en el ambiente	9
2.6. Clasificación de los plaguicidas	11
2.7. Química de los plaguicidas	14
2.7.1 Plaguicidas organoclorados	15
2.7.2 Plaguicidas organofosforados	15
2.7.3 Plaguicidas piretroides	16
2.7.4 Plaguicidas de derivados ciclodiénicos	16
2.7.5 Plaguicidas carbamatos	16
2.7.6 Carbofurán	18
2.8. Biorremediación microbiana de plaguicidas	20
2.9. Géneros de bacterias degradadoras de plaguicidas	21
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>25</b>
3.1. Características de zona de estudio	25
3.2. Toma de muestras	25
3.3. Aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán	26
3.4. Curva patrón para la determinación de carbofurán	27
3.5. Evaluación de la capacidad degradadora de carbofurán	27
3.6. Identificación de bacterias degradadoras de carbofurán	29
3.7. Análisis estadístico	29

<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>51</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>59</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>61</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>63</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>69</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, en DL <sub>50</sub>	12
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los plaguicidas según su vida media	12
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de los plaguicidas, según la familia química	13
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de los plaguicidas según su uso	14
<b>Tabla 5.</b> Usos y dosis de CARBO-FOR 4Fw	19
<b>Tabla 6.</b> Composición del ensayo de aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán de suelos agrícolas	26
<b>Tabla 7.</b> Bacterias biodegradadoras de carbofurán a partir de suelos agrícolas del distrito Santa Rosa	32
<b>Tabla 8.</b> Consorcios de bacterias aisladas a partir de suelos agrícolas de cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao" y <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	33
<b>Tabla 9.</b> Características macroscópicas, morfología y reacción al Gram de cepas bacterianas con capacidad de carbofurán del suelo de biodegradadora cultivo de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	34
<b>Tabla 10.</b> Características macroscópicas, morfología y reacción al Gram de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del suelo de cultivo de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	35
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza de la biodegradación por consorcios bacterianos aislados de suelos con cultivo de <i>Theobroma cacao</i> "cacao" a diferentes concentraciones	46
<b>Tabla 12.</b> Análisis de varianza de la biodegradación por consorcios bacterianos aislados de suelos con cultivo de <i>Erythroxylum coca</i> "coca" a diferentes concentraciones	47
<b>Tabla 13.</b> Identificación de bacterias degradadoras de carbofurán aisladas de suelos con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	48
<b>Tabla 14.</b> Identificación de bacterias degradadoras de carbofurán aisladas de suelos con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Introducción de los plaguicidas a la cadena alimenticia	9
<b>Figura 2.</b> La distribución de un plaguicida en la naturaleza	10
<b>Figura 3.</b> Estructura química de algunos plaguicidas organofosforados	15
<b>Figura 4.</b> Estructura química general de los carbamatos	17
<b>Figura 5.</b> Fórmula global de carbofurán	18
<b>Figura 6.</b> Parámetros implicados en la Biorremediación	20
<b>Figura 7.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 10 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	36
<b>Figura 8.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 10 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	37
<b>Figura 9.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 20 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	38
<b>Figura 10.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 20 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	39
<b>Figura 11.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 30 mg/l usando consorcios bacterianos aislados de suelos agrícolas con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	40
<b>Figura 12.</b> Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 30 mg/l usando consorcios bacterianos aislados de suelos agrícolas con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	41
<b>Figura 13.</b> Porcentaje de biodegradación usando consorcio bacteriano aislado de suelos con cultivos de <i>Theobroma</i>	42

*cacao* "cacao" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán

- Figura 14.** Porcentaje de biodegradación usando consorcio bacteriano aislado de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán 43
- Figura 15.** Cantidad total de carbofurán degradado por bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán 44
- Figura 16.** Cantidad total de carbofurán degradada por bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán 45

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
<b>Anexo 1.</b> Mapa del uso actual del territorio regional de Ayacucho y zonas de muestreo	70
<b>Anexo 2.</b> Suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa-VRAEM con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao" y <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	71
<b>Anexo 3.</b> Modo de aplicación de plaguicidas en cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca", Santa Rosa-VRAEM	72
<b>Anexo 4.</b> Flujograma del aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán de suelos agrícolas. Santa Rosa-VRAEM	73
<b>Anexo 5.</b> Flujograma de estandarización de la curva patrón por la técnica cromogénica de Dapsona	74
<b>Anexo 6.</b> Curva patrón estandarizada de carbofurán. Ayacucho 2014	75
<b>Anexo 7.</b> Valores de Absorbancia obtenida y corregida de carbofurán Ayacucho 2014	76
<b>Anexo 8.</b> Flujograma de ensayo de biodegradación de carbofurán por el consorcio de bacterias aisladas de suelos agrícolas	77
<b>Anexo 9.</b> Reacción química de carbofurán con Dapsona en medio alcalino (Nagaraja y Bhaskara. 2006)	78
<b>Anexo 10.</b> Características Físicoquímicas de Dapsona	79
<b>Anexo 11.</b> Valores de absorbancia en relación a diferentes concentraciones de carbofurán obtenidas durante el ensayo de biodegradación por bacterias aisladas a partir de suelos con cultivos de <i>Theobroma cacao</i> "cacao"	80
<b>Anexo 12.</b> Valores de absorbancia en relación a diferentes concentraciones de carbofurán obtenidas durante el ensayo de biodegradación por bacterias aisladas a partir de suelos con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "coca"	81
<b>Anexo 13.</b> Prueba de Tukey para la comparación de diferencia entre las medias de los distintos tratamientos en relación a diferentes concentraciones de carbofurán en el ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos con cultivo de <i>Theobroma</i> "cacao"	82

<b>Anexo 14.</b>	Prueba de Tukey para la comparación de diferencia entre las medias de los distintos tratamientos en relación a diferentes concentraciones de carbofurán en el ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos con cultivo de <i>Erythroxyllum "coca"</i>	82
<b>Anexo 15.</b>	Características macroscópicas mostradas en agar nutritivo y microscópicas de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del cultivo de <i>Theobroma cacao "cacao"</i>	83
<b>Anexo 16.</b>	Características macroscópicas mostradas en agar nutritivo y microscópicas de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del cultivo de <i>Erythroxyllum coca "coca"</i>	85
<b>Anexo 17.</b>	Identificación bioquímica de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán	87
<b>Anexo 18.</b>	Matriz de consistencia	92

## RESUMEN

Una de las más grandes preocupaciones que existe hoy en día en el Perú es la excesiva utilización de productos químicos para la agricultura y en especial en el valle río Apurímac, Ene y Mantaro con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" y *Theobroma cacao* "cacao". En este trabajo se determinó la capacidad biodegradadora de carbofurán y se aislaron bacterias con capacidad degradadora del carbofurán con la finalidad de plantear alternativas de solución como la biorremediación, el tipo de investigación fue descriptivo. El muestreo fue realizado a partir de suelos agrícolas, con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca", del distrito de Santa Rosa contaminados con pesticidas carbamatos. A partir de dichas muestras se aislaron bacterias utilizando medio mineral Busnell Hass con 10, 20, 30, 40, 50 y 60 mg/l de carbofurán, seguido en agar Busnell Hass con 30 mg/l de carbofurán, posteriormente fueron purificadas y conservadas en agar nutritivo. El ensayo de biodegradación de carbofurán se realizó con tratamientos de 10, 20, y 30 mg/l de carbofurán por un periodo de 60 días y evaluadas por espectrofotometría mediante la técnica cromogénica de "Dapsona", en el cual se obtuvo una degradación hasta 90,59 % correspondiente al ensayo con bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao"; mientras que en el ensayo con bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" se obtuvo una degradación de 61,78 %. Logrando una máxima biodegradación en el tratamiento de 10 mg/l. Se aislaron 22 cepas de los cuales 11 fueron del cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y 11 a partir de suelos agrícolas *Erythroxylum coca* "coca". Luego las cepas recuperadas del ensayo de biodegradación fueron identificadas mediante la coloración Gram y pruebas bioquímicas como los géneros: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Aeromonas* del cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y los géneros: *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus*, *Proteus* y cuatro cepas no identificadas del cultivo de *Erythroxylum coca* "coca" así conforman el consorcio bacteriano con capacidad biodegradadora de carbofurán.

**Palabras clave:** plaguicidas, carbofurán, biodegradación, consorcio bacteriano

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas no es reciente. A principios del siglo XIX el empleo de compuestos inorgánicos con acción plaguicida como el azufre, las sales de cobre y compuestos fluorados o arsenicales estaba ampliamente extendido, e incluso hay constancia de que ya eran utilizados por las primeras civilizaciones para combatir algunas plagas y poder obtener un mayor rendimiento en los cultivos.<sup>1,2</sup> Sin embargo, no es hasta mediados del siglo XX, con el descubrimiento de las propiedades insecticidas del DDT, cuando se produce una verdadera revolución en el mundo de la agricultura. Gracias a este hecho, empiezan a sucederse con rapidez los descubrimientos de nuevos plaguicidas orgánicos que sucesivamente van sustituyendo a los inorgánicos por ser más activos, y se desarrollan las bases científicas de investigaciones posteriores. Según se relaciona en *The Pesticide Manual*.<sup>3</sup>, actualmente existen alrededor de 700 plaguicidas o principios activos disponibles, que son principalmente utilizados en agricultura (68%), en actividades industriales y comerciales (17%), y en aplicaciones domésticas (8%) y gubernamentales (7%).<sup>4</sup> Hoy en día se buscan nuevos métodos de lucha que sean más naturales y selectivos, tales como los métodos biológicos, aunque todavía están lejos de reemplazar a los plaguicidas químicos.<sup>5, 6</sup>

Se precisa que para lograr altos niveles de productividad, los cultivos de "coca" destinados al narcotráfico son sometidos a la aplicación de frecuentes y altas dosis de agroquímicos como el carbofurán, entre ellos fertilizantes, herbicidas, insecticidas y fungicidas.<sup>7</sup>

En este trabajo se aislaron bacterias con capacidad degradadora del carbofurán con la finalidad de plantear alternativas de solución como la biorremediación, ya que los suelos agrícolas del Valle río Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM) al estar constantemente sometidos al uso de agroquímicos es

posible encontrar géneros autóctonos con capacidad de degradación del carbofurán; el tipo de investigación fue descriptivo. Se espera que con éste trabajo llegue a impulsar al desarrollo demás conocimientos y así llevar acabo más investigaciones relacionadas para plantear nuevas alternativas de solución. Teniendo en cuenta las consideraciones indicadas en los párrafos anteriores, se ha planteado como objetivo general, determinar la capacidad biodegradadora del carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014 y objetivos específicos, aislar bacterias con capacidad biodegradadora del carbofurán de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" del distrito de Santa Rosa VRAEM, evaluar la capacidad biodegradadora del carbofurán en mg/l por bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" del distrito de Santa Rosa VRAEM, identificar los principales géneros de bacterias con capacidad degradadora del carbofurán aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "cacao" y "coca" del distrito de Santa Rosa VRAEM.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Castrejón *et al.*,<sup>8</sup> en el trabajo de investigación titulado "Crecimiento de bacterias aisladas de suelos agrícolas sobre plaguicidas organofosforados como sustrato", mencionan que a partir de suelos agrícolas del estado de Morelos, se aislaron dos consorcios bacterianos con capacidad de crecer en presencia de plaguicidas organofosforados. El aislamiento se llevó a cabo utilizando paratión metílico (PM) y cadusafos (CDF'S) como fuente de carbono y como fuente alterna, glucosa. La habilidad de los consorcios bacterianos aislados para crecer en estos dos plaguicidas, se determinó en medio mineral conteniendo 10, 25 y 40 mg/l de paratión metílico y por otro lado 40, 60 y 100 mg/l de cadusafos. De estos consorcios se aislaron 11 colonias. El consorcio que presentó mayor capacidad de crecimiento en presencia de plaguicida como única fuente de carbono, fue el probado sobre paratión metílico a una concentración de 10 mg/l, mientras que la cinética de crecimiento del consorcio en presencia de cadusafos presentó mejores resultados a 100 mg/l. Sin embargo ambos consorcios presentaron valores más altos de crecimiento en un proceso de cometabolismo por la presencia de glucosa. Estos resultados permiten plantear el potencial de esos consorcios para el tratamiento de plaguicidas organofosforado. Las especies identificadas fueron: *Bacillus brevis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Weeksella virosa*, *Flavobacterium odoratum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas stutzeri*. Mosquera *et al.*,<sup>9</sup> en el trabajo de investigación titulado "Biodegradación del malatión utilizando microorganismos nativos de suelos agrícolas", señalan que la degradación del plaguicida malatión con microorganismos nativos de un suelo agrícola fue estudiada tanto en condiciones de laboratorio como en campo. En campo se realizó en un suelo de una zona destinada a la ganadería de leche y al

cultivo de hortalizas, localizada en el municipio de Caldas, al sur del valle de Aburrá, Antioquia, Colombia. Se cuantificó la desaparición del malatión y la formación del principal metabolito, el malaoxón, para lo cual se validó un método analítico, que incluyó la extracción del suelo y la cuantificación del plaguicida y metabolito por cromatografía de gases. La extracción se realizó por agitación mecánica rotativa usando acetato de etilo, y la cuantificación se hizo en un cromatógrafo HP 6890 plus, acoplado a un detector de microcaptura de electrones con inyector automático, obteniéndose recuperaciones en promedio de 89,4% para el malatión y de 93,8% para el malaoxón. En el período de experimentación de 35 días, la degradación del malatión en el laboratorio fue en promedio de 81,6% para la mayor concentración utilizada (2,50 µg/g de suelo), con respecto a la dosis inicial aplicada. De este valor el 51,3% corresponde a la degradación microbiana y el restante a procesos abióticos. En condiciones de campo durante 21 días, se obtuvo una degradación en promedio de 74,8% con la dosis utilizada (1,50 µg/g de suelo). También se realizó el recuento de microorganismos del suelo determinándose en promedio  $6,8 \times 10^5$  UFC/g suelo.

En India Chandra *et al.*,<sup>10</sup> en la investigación titulada "Influencia y persistencia de los insecticidas carbofurán y forato sobre los microorganismos en el campo de arroz", realizaron un experimento en microparcels (4 m x 4 m) con dos insecticidas, forato y carbofurán a tasas de 1,5 y 1,0 kg /Ha respectivamente, para investigar su efecto sobre la población y la distribución de bacterias, actinomicetos y hongos; así como la persistencia de los residuos de insecticidas en los suelos de la rizosfera de arroz. La aplicación de los insecticidas estimuló la población de bacterias, actinomicetos y hongos en los suelos de la rizosfera, y la estimulación fue más pronunciada con forato en comparación con carbofurán. Los insecticidas no tenían marcado efecto sobre el número de *Streptomyces* y *Nocardia* en los suelos de la rizosfera. Sin embargo, el crecimiento de *Bacillus*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* con forato fue mayor y *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Aspergillus* y *Phytophthora* con carbofurán se incrementaron. Por otra parte, los números de *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Fusarium*, *Humicola* y *Rhizopus* con forato y *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Fusarium*, *Humicola* y *Rhizopus* con carbofurán fueron inhibidos. Tanto los insecticidas persistieron en el suelo de la rizosfera para un corto período de tiempo y la tasa de disipación de carbofurán.

Gómez *et al.*,<sup>11</sup> en el trabajo de investigación titulado "Elección de un consorcio bacteriano aeróbico de la Ciénaga Grande de Santa Marta con capacidad degradadora del plaguicida organoclorado (Aldrin)" señalan, de que se aislaron 53 cepas bacterianas nativas a partir de muestras de sedimento y agua del complejo lagunar de la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), Caribe colombiano, capaces de tolerar el plaguicida organoclorado Aldrin (30 mg/l) en condiciones aeróbicas. A partir de éstas se preparó el inóculo para realizar bioensayos con el fin de seleccionar un consorcio con capacidad de degradar una concentración mayor de Aldrin (60 mg/l) durante un mes. El consorcio bacteriano estuvo conformado por: *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* y *Enterobacter cloacae*, las cuales tuvieron la capacidad de degradar el Aldrin en un 50,9%, donde el 30,9% se debió a factores externos (abióticos) mientras, el 20% restante fue atribuido a la degradación bacteriana. Conociéndose estos microorganismos nativos degradadores del plaguicida Aldrin es posible a largo plazo implementar una alternativa de biorremediación en la CGSM.

Carillo *et al.*,<sup>12</sup> en el trabajo de investigación titulado " Aislamiento y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar DDT" a partir de agua, suelo y sedimento contaminado de la región de valle de Yaqui de Sonora México donde se aislaron cepas en medio mineral enriquecido con DDT encontrando que las bacterias Gram negativas fueron las principales protagonistas de la degradación de DDT principalmente del género: *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*.

Castellanos *et al.*,<sup>13</sup> en el trabajo de investigación titulado "Caracterización de bacterias degradadoras de carbofurán obtenidas de suelos bajo cultivo de papa y con diferente historia de aplicación de plaguicidas" señalan de que se realizaron ochenta y dos aislamientos bacterianos con actividad potencial de degradación de carbofurán (furadan®3SC), a partir de suelos, cultivados con papa (*Solanum tuberosum*) variedad Única, del municipio de Silos, Norte de Santander (Colombia) con diferente historia de aplicación del plaguicida. Las bacterias fueron seleccionadas por su capacidad para crecer a 25 °C durante 72 horas, en medios de cultivo conteniendo 200 mg/l de carbofurán analítico como única fuente de carbono y/o nitrógeno. Los resultados mostraron que diez cepas correspondientes al 12 % de los obtenidos, crecieron en el medio de cultivo. Ocho de los microorganismos fueron obtenidos del suelo con mayor historia de

exposición al plaguicida (ocho años de aplicación), e identificados por características macroscópicas, microscópicas y bioquímicas como *Sphingomonas paucimobilis*. Los otros dos fueron obtenidos de suelos con tres y un año de aplicación y caracterizados como *Pseudomonas aeruginosa* y *Yersinia pseudo tuberculosis*, respectivamente. Posteriormente, estas bacterias fueron evaluadas por su capacidad para degradar carbofurán por vía hidrolítica, demostrando que el plaguicida fue degradado únicamente por los aislamientos de *Sphingomonas paucimobilis* durante un tiempo de 72 horas. Los resultados obtenidos en los ensayos *in vitro* denotan la capacidad metabólica que tienen estas bacterias para la biodegradación de carbofurán, destacando su potencialidad para futuros ensayos de evaluación en campo, en lugares en donde pueda existir residualidad del plaguicida, como alternativa para controlar el posible impacto que tienen los plaguicidas N-metilcarbamatos en el medio ambiente y en la salud humana.

Betancur *et al.*,<sup>14</sup> en el trabajo de investigación titulado "Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT" señalan de que el 1, 1,1-tricloro-2,2' bis (*p*-clorofenil) etano (DDT) ha sido usado desde la segunda guerra mundial para controlar enfermedades transmitidas por insectos en humanos y animales domésticos. El uso de estos insecticidas organoclorados se ha prohibido en la mayoría de los países, debido a su persistencia en el ambiente, susceptibilidad de biomagnificación y potencial toxicidad a animales superiores. La Biorremediación involucra el uso de microorganismos para degradar contaminantes orgánicos presentes en el ambiente, transformándolos en compuestos más simples y de menor peligrosidad, inclusive inocuos. Esta estrategia de descontaminación tiene bajos costos, una amplia aceptación pública y puede llevarse a cabo en el sitio. Comparado con otros métodos, la biorremediación es una forma más promisoriosa y menos costosa de eliminar los contaminantes presentes en suelos y agua. En suelo los compuestos bifenilos clorados como el DDT, pueden ser parcialmente biodegradados por un grupo de bacterias aerobias que cometabolizan el contaminante.

Chuchón<sup>15</sup> en la investigación titulada "Biodegradación de carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas. Chiara, Ayacucho-2012" utilizó concentraciones de 5, 10, 20, 30, 40, y 50 mg/l de carbofurán en medio mineral Busnell Hass para el aislamiento de bacterias, y luego sembrado en medio sólido con 30 mg/l de carbofurán, posteriormente purificó y conservó las cepas aisladas

en agar nutritivo. El ensayo de biodegradación de carbofurán realizó con tratamientos a 10, 20, 30, 40, 50, y 60 mg/l de carbofurán por un periodo de 30 días, usando la técnica cromogénica Dapsona determinó las concentraciones de carbofurán, obteniendo una degradación de 83%, 61%, 51%, 50%, 41% y 22% respectivamente; concluye que, la concentración de carbofurán (tratamiento) influye sobre la actividad del consorcio bacteriano, logrando una máxima biodegradación en los tratamientos 40 mg/L y 50 mg/L hasta 18,6 mg y 20,9 mg de carbofurán, contrastó estos resultados mediante el análisis de varianza. Los géneros de bacterias que logró identificar fueron: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Areomonas*, y *Citrobacter*. Aisló dos cepas que no pudieron ser identificadas.

## **2.2. XENOBIÓTICOS**

Los xenobióticos son compuestos químicos sintéticos que no se encuentran en la naturaleza. En esta categoría se incluye una larga lista de compuestos, como plaguicidas, bifeniles policlorados (PCB, usados por las industrias eléctricas y relacionadas), municiones, tintes y disolventes clorados. Muchos xenobióticos están relacionados estructuralmente, algunos en gran medida, con compuestos naturales, por lo que pueden ser degradados lentamente por enzimas que ya existen para realizar esa tarea. En otros casos, los compuestos son de estructura tan diferente a cualquier compuesto "natural" que un organismo no ha tenido contacto anteriormente, por lo que la velocidad de degradación en la naturaleza es extremadamente baja, si es que ocurre. Sin embargo, en muchos xenobióticos se han encontrado microorganismos que pueden degradarlos. Algunos de los xenobióticos más ampliamente distribuidos son los plaguicidas, que son componentes frecuentes de los residuos tóxicos. Se han comercializado más de 1 000 plaguicidas, con la finalidad de controlar químicamente diferentes plagas. Estos incluyen principalmente herbicidas, insecticidas y fungicidas.<sup>16</sup>

## **2.3. PLAGUICIDAS**

Un plaguicida se define como una sustancia o mezcla en cualquier estado físico cuya finalidad es la de controlar, combatir y/o prevenir plagas o enfermedades y en general tienen el objetivo de proteger al hombre de organismos que afectan su ambiente, animales y/o alimentos. Esta definición incluye los materiales agrícolas de consumo madera y sus derivados, forraje para animales o

productos que puedan administrárseles para el control de insectos, arácnidos y/o diferentes plagas corporales. (Código internacional de conducta sobre la distribución y uso de plaguicidas, 1986.<sup>17</sup>

Los plaguicidas son compuestos químicos utilizados extensivamente en todo el planeta, lo que resulta en una exposición continua de la población a partir de diferentes fuentes tales como alimentos, el agua y el suelo. Aun cuando el efecto tóxico de los plaguicidas está dirigido a organismos específicos, estos compuestos se encuentran en gran cantidad en el ambiente, lo que constituye una amenaza grave a la salud pública. Tan sólo en Estados Unidos, cada año se aplican 4,5 billones de libras de plaguicidas diversos.<sup>18</sup>

Los efectos tóxicos de los plaguicidas sobre la población humana han sido motivo de preocupación por muchos años, sin embargo, los mecanismos de toxicidad de la mayoría de los plaguicidas son poco comprendidos a la fecha.<sup>19</sup>

La utilización de los plaguicidas en la agricultura representa un beneficio innegable, garantizando una mayor producción agrícola y haciendo que la misma sea mucho más estable. Los plaguicidas también brindan la ventaja de evitar la propagación de enfermedades por vectores como insectos, ácaros y roedores. El uso de los plaguicidas también contribuye a mejorar la alimentación, ya que permite tener una mayor disponibilidad de los alimentos y aumenta su vida anaquel.<sup>20</sup>

#### **2.4. EVOLUCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS**

La historia de los plaguicidas se puede resumir y dividir en tres grandes etapas: La primera a principios del siglo XIX, cuando se descubrió accidentalmente la acción plaguicida de algunos elementos naturales como el azufre, cobre, arsénico, piretrinas (sustancias obtenidas de los pétalos del crisantemo *Chrysanthemum cinerariifolium*) y fósforo; así mismo se inició el uso de los derivados del petróleo. La segunda etapa en 1922, cuando se emplearon diferentes aceites insecticidas y poco más tarde los primeros productos sintéticos. La tercera etapa, en la que Müller, en 1940 descubre las propiedades insecticidas del dicloro-difenil-tricloroetano, mejor conocido como DDT.<sup>17</sup>

A partir de esa fecha ese nuevo compuesto se utilizó para la eliminación de algunos parásitos como el piojo que transmitían enfermedades como el tifo; es así como se origina la industria de los plaguicidas órgano sintéticos.

Desde entonces se han producido potentes venenos contra los diferentes organismos plaga, siendo la mayoría organoclorados (su principal característica es que poseen átomos de carbono, cloro, hidrógeno y en ocasiones, oxígeno son muy estables en el ambiente) y organofosforados derivados del ácido fosfórico. Poseen un átomo central de fósforo en la molécula. Son los más tóxicos y menos estables en el ambiente en relación con los organoclorados.<sup>21</sup> Estos componentes producen susceptibilidad a la toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad y este hecho ha levantado un interés público por la salud. Esto ha llevado al desarrollo de otros plaguicidas "menos tóxicos" como son carbamatos (Estructura química basada en un alcaloide de la planta *Physostigma venenosum*) y componentes organofosforados. Estos últimos se empezaron a sintetizar en 1948. Los nuevos compuestos desarrollados han reemplazado gradualmente a la mayoría de los plaguicidas clorados. En el presente los carbamatos y organofosforados son los ingredientes activos de la mayoría de los insecticidas y algunos de los herbicidas en uso.<sup>22</sup>

## 2.5. PLAGUICIDAS EN EL AMBIENTE

Cuando los plaguicidas ingresan en las cadenas alimentarias se distribuyen a través de ellas, se concentran en cada nicho ecológico y se acumulan sucesivamente hasta que alcanzan una concentración letal para algún organismo constituyente de la cadena, o bien hasta que llegan a niveles superiores de la red trófica.<sup>23</sup>

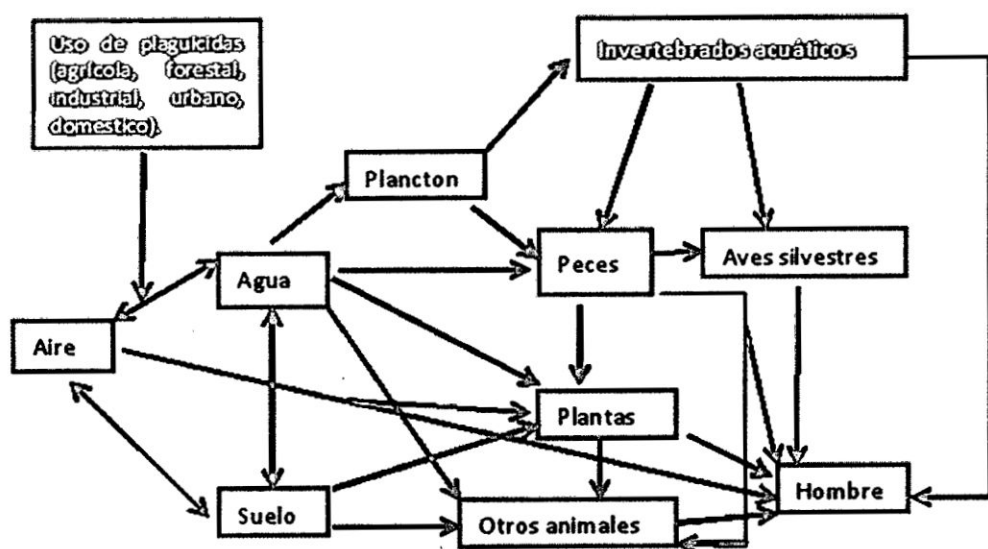


Figura 1. Introducción de los plaguicidas a la cadena alimentaria.<sup>24</sup>

La contaminación del ambiente por plaguicidas se da por aplicaciones directas en los cultivos agrícolas, derrames accidentales, lavado inadecuado de tanques contenedores, filtraciones en los depósitos de almacenamiento y residuos descargados y dispuestos en el suelo. Los restos de estos plaguicidas se dispersan en el ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico (animales y plantas principalmente) y abiótico (suelo, aire y agua) amenazando su estabilidad y representando un peligro de salud pública.<sup>25</sup>

El grado de lixiviación (el movimiento de las sustancias a través de las fases del suelo) depende de la solubilidad del compuesto en agua, de su naturaleza química y del valor del pH del suelo. La lixiviación será favorecida por una capacidad de adsorción (la adherencia del compuesto a la superficie de las partículas del suelo) de la muestra del suelo (esto varía principalmente por el porcentaje de arcillas, arenas y limos presentes en él), por altas temperaturas y por la precipitación pluvial.

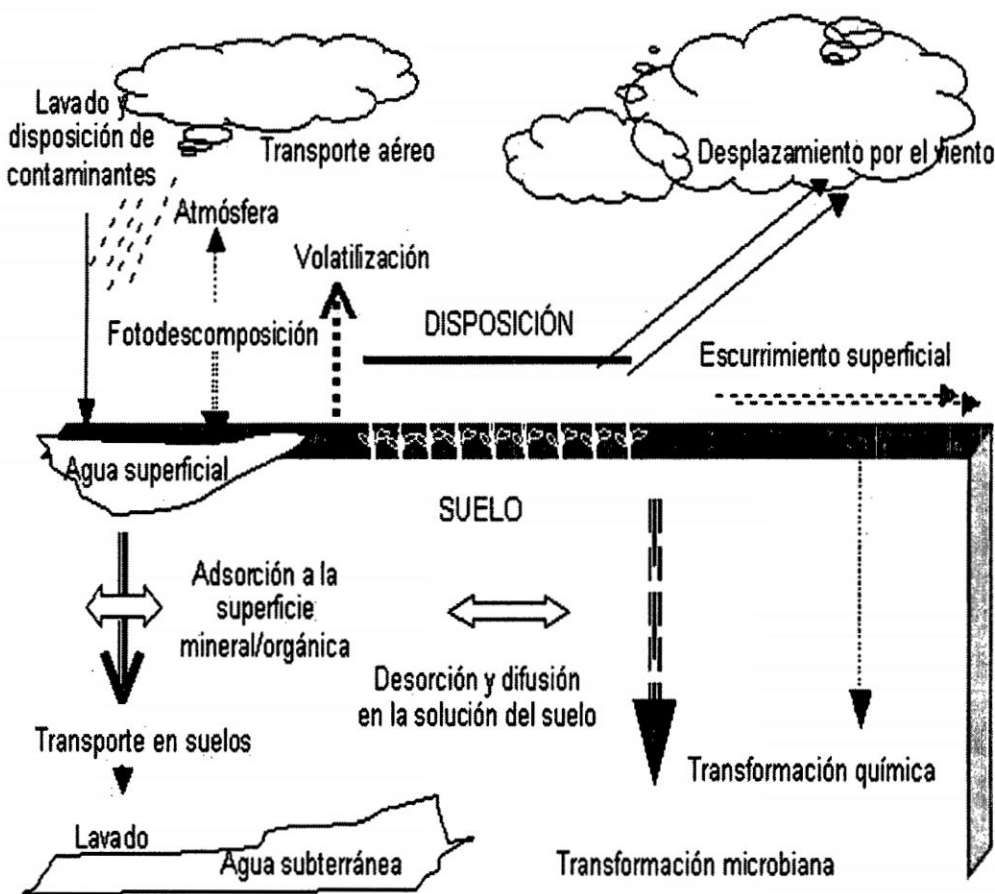


Figura 2. La distribución de un plaguicida en la naturaleza.<sup>26</sup>

Lo anterior también es decisivo para determinar la distribución del material en la biosfera, ya que las plantas y los microorganismos no pueden recibir directamente los compuestos adsorbidos sobre las partículas del suelo. Este proceso está en equilibrio con la eliminación (desorción) del compuesto en la solución del suelo. La distribución de un plaguicida en la biofase (plantas y microorganismos) depende de la capacidad de absorción de ésta y de la naturaleza del suelo. Un suelo con gran capacidad de absorción puede conducir a la inactividad total del plaguicida, ya que nunca penetrara en la plaga.<sup>26</sup>

Algunos plaguicidas son cancerígenos, pero todos causan lesiones degenerativas en hígado y riñón, son estimulantes del sistema nervioso central, y provocan reacciones alérgicas como vómito, dolor de cabeza, conjuntivitis, diarrea, calambres abdominales, dificultad para respirar, entre otros.<sup>27</sup>

El suelo como ecosistema, incluye grupos microbianos, animales invertebrados y vertebrados, así como a los constituyentes orgánicos e inorgánicos. El medio ambiente edáfico es único en diferentes aspectos, contiene gran variedad de bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios; es uno de los sitios más dinámicos de interacciones biológicas en la naturaleza; en el cual se realizan la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de la materia orgánica y la nutrición de cultivos agrícolas. La porción inorgánica del suelo tiene un notable efecto sobre los habitantes microbianos, debido a su influencia sobre la disponibilidad de nutrientes, aireación y retención de agua. En la fracción mineral se encuentran partículas de una gran variedad de tamaños, desde aquellas que son visibles al ojo humano hasta las partículas de arcilla que sólo pueden observarse con ayuda de un microscopio.

En suelos aireados adecuadamente, predominan bacterias y hongos, mientras que en los ambientes que contienen poco o nada de oxígeno únicamente las bacterias.<sup>28</sup>

## **2.6. CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS**

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus características principales, como son la toxicidad aguda, la vida media, la estructura química y su uso.<sup>29</sup>

En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda.<sup>29</sup> Definida como la

capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un período de tiempo relativamente corto.

**Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, expresada en DL<sub>50</sub> (mg/kg).<sup>30</sup>**

CLASE	TOXICIDAD	EJEMPLOS
<b>CLASE IA</b>	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
<b>CLASE IB</b>	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvos
<b>CLASE II</b>	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
<b>CLASE III</b>	Ligeramente peligrosos	Malatión

La toxicidad se mide a través de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) o de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>). Ambos parámetros varían conforme a múltiples factores como la presentación del producto (sólido, gel, líquido, gas, polvo, etc.), la vía de entrada (oral, dérmica, respiratoria), la temperatura, la dieta, la edad, el sexo, etc.<sup>29</sup>

Al basarse en la observación de especies animales, es importante señalar que estos indicadores no proporcionan información sobre los efectos crónicos, ni sobre la citotoxicidad de algún compuesto.<sup>31</sup>

Por su vida media, los plaguicidas se clasifican en permanentes, persistentes, moderadamente persistentes y no persistentes.

**Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad.<sup>31-33</sup>**

PERSISTENCIA <sup>a</sup>	VIDA MEDIA <sup>b</sup>	EJEMPLOS
<b>No persistente</b>	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
<b>Moderadamente persistente</b>	De 1 a 18 meses	Paratión, lannate
<b>Persistente</b>	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, dieldrín
<b>Permanentes</b>	Indefinidamente	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico

<sup>a</sup> Capacidad de una sustancia o un compuesto, de permanecer en un sustrato del ambiente en particular, después de que ha cumplido el objetivo por el cual se aplicó.

<sup>b</sup> Lapso de tiempo necesario para que se degrade la mitad del compuesto o mezcla aplicada.

De acuerdo a su estructura química, los plaguicidas se clasifican en diversas familias, que incluyen desde los compuestos organoclorados y organofosforados hasta compuestos inorgánicos.

**Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas, según la familia química.<sup>29</sup>**

<b>FAMILIA QUÍMICA</b>	<b>EJEMPLOS</b>
<b>Organoclorados</b>	DDT, aldrín, endosulfán, endrín
<b>Organofosforados</b>	Bromophos, diclorvos, malatión
<b>Carbamatos</b>	Carbaryl, methomyl, propoxur, carbufurán
<b>Tiocarbamatos</b>	Ditiocarbamato, mancozeb, maneb
<b>Piretroides</b>	Cypermethrin, fenvalerato, permethrin
<b>Derivados bipyridilos</b>	Clorfenatol, diquat, paraquat
<b>Derivados del ácido fenoxiacético</b>	Dicloroprop, picram, silvex
<b>Derivados cloronitrofenólicos</b>	DNOC, dinoterb, dinocap
<b>Derivados de triazinas</b>	Atrazine, ametryn, desmetryn, simazine
<b>Compuestos orgánicos del estaño</b>	Cyhexatin, dowco, plictrán
<b>Compuestos inorgánicos</b>	Arsénico pentóxido, obpa, fosfito de magnesio, cloruro de mercurio, arsenato de plomo, bromuro de metilo, antimonio, mercurio, selenio, talio y fósforo blanco
<b>Compuestos de origen botánico</b>	Rotenona, nicotina, aceite de canola

### 2.6.1. CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS SEGÚN SU USO

El uso dado a los plaguicidas ha sido múltiple y variado, como se recoge en la tabla 4, lo que explica su ubicuidad.

**Tabla 4. Clasificación de los plaguicidas, según su uso.**<sup>34</sup>

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>USO</b>
<b>Agricultura</b>	Control de las múltiples plagas que afectan las cosechas en cualquiera de sus etapas.
<b>Salud pública</b>	Control de vectores de enfermedades como malaria, dengue, enfermedad de Chagas, oncocercosis, peste, fiebre amarilla, filariasis, tripanosomiasis, esquistosomiasis, leishmaniasis y tifo. Control de plagas (roedores) y erradicación de plantaciones cuyo producto final sea droga ilícita.
<b>Ganadería y cuidado de animales domésticos</b>	En la desinfección de ganado ovino y de animales domésticos como perros y gatos.
<b>Tratamiento de estructuras</b>	Tratamiento de edificios públicos y privados, oficinas, hospitales, hoteles, cines, teatros, restaurantes, escuelas, supermercados, tiendas de departamentos, instalaciones deportivas, bodegas de almacenamiento de alimentos y en la industria ferroviaria y de navegación marítima y aérea.
<b>Mantenimiento de áreas verdes</b>	Tratamiento de parques, jardines, áreas de recreo, campos de golf y autopistas, vías férreas, andenes, torres con líneas de alta tensión y postes.
<b>Mantenimiento de reservas de agua</b>	Tratamiento de grandes reservas de agua, naturales o artificiales, presas, embalses, diques, depósitos, estanques piscícolas, canales, albercas y piscinas.
<b>Industria</b>	En la fabricación de neveras, equipos eléctricos, pinturas, resinas, pegamentos, pastas, ceras, líquidos limpiametales, tiendas de campaña, velas para navegación, redes para deporte, tapetes, alfombras y tapices, en la industria de la madera, materiales para embalaje de alimentos, cartón y múltiples productos de papel. En la industria de la alimentación, para la preservación de alimentos frescos como carnes, pescados, etc.
<b>Hogar</b>	Incorporados en productos como cosméticos, champús, jabones y repelentes de insectos. Se usan en el lavado y secado de alfombras, en desinfectantes caseros y en productos para el cuidado de mascotas y plantas, además del uso de insecticidas.

### 2.7. QUÍMICA DE LOS PLAGUICIDAS

De acuerdo a su estructura química, los plaguicidas se clasifican en diversas familias, que incluyen desde los compuestos organoclorados y organofosforados hasta compuestos inorgánicos.<sup>29</sup>

### 2.7.1. PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS

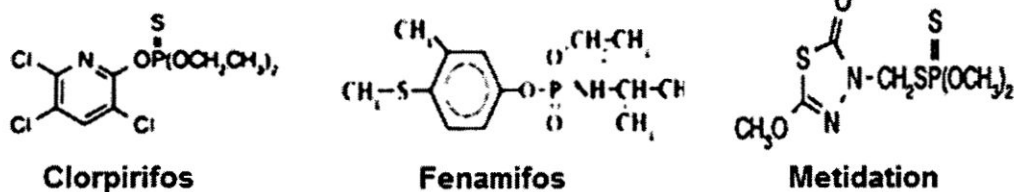
Los organoclorados (OC) son los plaguicidas más ampliamente utilizados. Su estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados.<sup>31</sup> Lo que les confiere una alta estabilidad física y química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos. Estas características favorecen su persistencia en el ambiente.<sup>31</sup>

Su lenta biodegradabilidad.<sup>32</sup> Su vida media es de 5 años, aunque varía según el producto; por ejemplo, para el beta hexaclorociclohexano es de 3 años, para el aldrín de 6 años y para el DDT es de 30 años.<sup>31</sup> El compuesto como tal o sus metabolitos son contaminantes ubicuos de varios tejidos en humanos y de los mamíferos en general. A causa de su alta lipofilia tienden a acumularse principalmente en el tejido celular subcutáneo, en el componente graso de la leche materna y de la sangre. Productos representativos de este grupo son DDT, aldrín, dieldrín, endrín, endosulfán y lindano.<sup>32</sup>

### 2.7.2. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Los compuestos organofosforados (OF), son ésteres, amidas o tioles derivados del ácido fosfórico, fosfónico y fosforico forman otro grupo.<sup>30</sup>

Se descomponen con mayor facilidad y se degradan por oxidación e hidrólisis, dando origen a productos solubles en agua, tentativamente menos persistentes y poco acumulables en el organismo humano. Pertenecen a este grupo; paratión, malatión, diazinón, clorpirifos y diclorvos.



**Figura 3.** Estructura química de algunos plaguicidas organofosforados.<sup>32</sup>

Los organofosforados (malation, paration, etc.) son muy tóxicos para el hombre, poco persistentes (días) y se eliminan en la orina. Su toxicidad es equiparable al arsénico, estricnina o cianuro. Se usan mucho en agricultura y actúan sobre el sistema nervioso de los insectos, inhibiendo la acción hidrolítica de la enzima acetilcolinesterasa. Esto produce la acumulación de acetilcolina en las terminales

nerviosas, provocando un exceso de estimulación, lo cual conduce a un ritmo cardiaco irregular y a la muerte.<sup>30</sup>

### **2.7.3. PLAGUICIDAS PIRETROIDES**

Las piretrinas (P) son plaguicidas obtenidos por secado, molienda y pulverización de la flor del crisantemo, cuyo polvo contiene del 1 al 3% del principio activo.<sup>32</sup>

Las principales piretrinas son cinerinas I y II, jasmolinas I y II, y piretrinas I y II, consideradas estas últimas como las de efecto más potente. Tienen una relativa selectividad, por lo que su toxicidad es baja en organismos no blancos. Las moléculas de piretrinas son neuroactivas, de baja absorción dérmica, con un metabolismo rápido y no dejan residuos en la atmósfera.<sup>32</sup>

Los piretroides son piretrinas sintéticas que surgen en los años cincuenta y se consideran más efectivos que aquellas. Químicamente, se dividen en dos tipos: **a)** sin grupo alfacyano, como permetrín y resmetrín, **b)** con grupo alfacyano, como fenvalerato, diametrín y cypermetrín. Todos son metabolizados por hidrólisis, oxidación y conjugación, con poca tendencia a acumularse en los tejidos. Además son rápidamente degradados en el ambiente, pues aunque se absorben masivamente por el suelo, se eliminan fácilmente con el agua.<sup>32</sup>

### **2.7.4. PLAGUICIDAS DE DERIVADOS CICLODIÉNICOS**

Su utilización ha sido cuestionada por parte de la OMS (Organización Mundial de la Salud), ya que está establecido que estos productos se acumulan en los órganos de los mamíferos y son tóxicos para los seres humanos.

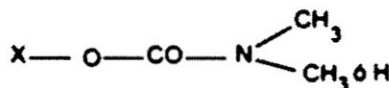
El poder insecticida de esta familia, con compuestos tan conocidos como el clordan, aldrin, heptaclor, es muy elevado, pero su utilización masiva crea muchos problemas debido a su gran persistencia en el medio ambiente.<sup>35</sup>

### **2.7.5. PLAGUICIDAS CARBAMATOS**

Los carbamatos (C) son otro grupo de plaguicidas que pueden ser de tres tipos principales: **a)** derivados de ésteres carbamatados, comúnmente usados como insecticidas, **b)** derivados del ácido tiocarbámico, utilizados como fungicida, y **c)** carbamatos propiamente dichos, que se emplean como herbicidas.<sup>30</sup> Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y cuentan con cierta selectividad.<sup>30</sup> Su degradación se realiza por

oxidación y sus metabolitos finales son hidrosolubles pudiendo excretarse por la orina y las heces fecales.<sup>32</sup>

Entre los más comunes se encuentran el lannate, el carbarilo y el carbyl.



**Figura 4.** Estructura química general de los carbamatos.<sup>32</sup>

#### **2.7.5.1. TOXICIDAD Y METABOLISMO DE LOS CARBAMATOS**

Los insecticidas carbamatos son, después de los organofosforados, los más utilizados. En este sentido, un estudio realizado en España entre 1991 y 1996 demuestra que el 33% de las intoxicaciones producidas por plaguicidas fueron debidas a carbamatos y el 40% a organofosforados.<sup>35</sup>

La principal causa de toxicidad de los carbamatos en mamíferos, insectos y nematodos, está basada en la inhibición de la acetilcolinesterasa, que es la enzima responsable de la hidrólisis de la acetilcolina en colina y ácido acético. Los carbamatos tienen un nitrógeno cuaternario a una distancia adecuada del carbonilo, de tal forma que pueden reaccionar con el sitio aniónico de la enzima produciéndose la carbamitación de ésta. La acetilcolina, al no ser hidrolizada, se acumula en la sinapsis nerviosa, la placa motora y el sistema nervioso, provocando efectos parecidos a los causados por la exposición a los insecticidas organofosforados. Ambas familias de insecticidas causan envenenamiento sistémico con mayor frecuencia que otras clases de plaguicidas. Aunque tengan efectos parecidos, los debidos a los carbamatos tienen una duración más corta porque el complejo formado entre el carbamato y la enzima se descompone fácilmente. Así por ejemplo, mientras algunos pacientes envenenados con organofosforados pueden tener síntomas durante 1 ó 2 semanas, muchos pacientes intoxicados con carbamatos se recuperan en 24 horas.<sup>36</sup> En las plantas y los insectos el metabolismo es similar al de los vertebrados.<sup>37</sup> Por último, la degradación de estos plaguicidas en el suelo es posible gracias a la acción de los microorganismos que habitan en él. Se han descrito diferentes cepas de *Pseudomonas*, *Rhodococcus* y *Sphingomonas* entre otras, capaces de transformar los insecticidas *N*-metilcarbamatos mediante la hidrólisis del enlace.<sup>22</sup>

### 2.7.6. CARBOFURÁN

El carbofurano o carbofurán es un plaguicida sistémico utilizado como insecticida, acaricida y nematicida de amplio espectro, que pertenece al grupo químico de los carbamatos (N-methyl). Conjuntamente con los insecticidas organofosforados, los compuestos piretroides y otros carbamatos, el carbofurano integra un grupo sustituto de insecticidas persistentes como el DDT, clordano y heptacloro.<sup>38</sup>

En diciembre de 2008 se cumplió el plazo para retirar del mercado europeo todos los productos que contengan este plaguicida altamente tóxico, que ha provocado muertes e intoxicaciones agudas de personas y animales en todo el mundo. En Estados Unidos está en vías de prohibición total. En América Latina estamos lejos de eso.

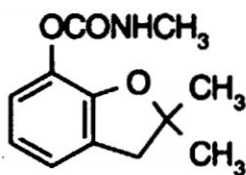


Figura 5. Fórmula global de carbofurán.<sup>39</sup>

#### 2.7.6.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

A temperatura ambiente el carbofurano es un sólido cristalino, de color blanco o gris, en forma de gránulos (similar a la arena). Es inodoro o con ligero olor fenólico, y una solubilidad en el agua que llega a 700 mg/l a 25° C. Si bien es muy poco soluble en los solventes convencionales utilizados en las formulaciones de uso agrícola, presenta solubilidades elevadas en diversos solventes orgánicos. Los propios distribuidores advierten que es tóxico y peligroso para el medio ambiente.<sup>40</sup>

#### 2.7.6.2. USOS

Se usa para el control de insectos y nematodos de una gran variedad de cultivos, especialmente maíz, trigo, arroz, soja, papas, girasol, frutas (melón, uvas) y hortalizas, entre muchos otros. En Argentina ha sido utilizado para eliminar loros y aves que se alimentan de cultivos anuales y perennes, aplicándolo en sus nidos. El tiempo de carencia es de 60 días. Se comercializa en distintas formulaciones con los nombres de Carbofurán 10 G, Carbodan, Curaterr 10% GR, Curater, Furadan 10 G, Furadán 4 F, Furacarb, Fursem, Carbofed, Carbogroz, Cropsa. Se aplica al suelo incorporado al agua de riego.<sup>40</sup>

**Tabla 5. Usos y dosis CARBO-FOR 4Fw**

CULTIVO	PLAGAS		DOSIS		P.C. (días)	L.M.R. (ppm)
	Nombre común	Nombre técnico	ml/cil	MI/moch		
Papa	"Gorgojo de los andes"	<i>Premnotrpes suturicallus</i>				
	"Pulguilla saltona"	<i>Epitrix subcinita</i>	500	50	60	1,0
Tomate	"Mosca Cecidomide"	<i>Prodiplosis longifia</i>	500	50	60	0,1
	"Pulgón"	<i>Myzus persicae</i>				
Zapallo	"Perforador de gulas y frutos"	<i>Diaphania nitidalis</i>	500	50	60	0,6
Flor.	"Mosca cecidomide"	<i>Prodiplosis longifia</i>	500	50	60	1,0
Marigold						
Plátano	"Gorgojo negro"	<i>Cosmopolites</i>	400	40	60	0,1
		<i>sordidus</i>				

Fuente: Ficha técnica de TQC.<sup>41</sup>

### 2.7.6.3. MODO DE ACCIÓN

Actúa interfiriendo los impulsos nerviosos por inhibición de la acetilcolinesterasa e ingresa en los organismos principalmente por contacto e ingestión, en menor medida por inhalación. Su efecto sistémico, al ser absorbido por las raíces de las plántulas, le confiere acción de ingestión sobre pulgón e insectos de las partes aéreas.<sup>40</sup>

### 2.7.6.4. PERSISTENCIA

Posee una vida media en suelos de 30 a 60 días. Se degrada principalmente por acción microbiológica, generando dióxido de carbono.

La persistencia ambiental del carbofurano está controlada por su degradación por vías química, fotoquímica y bioquímica. La primera de ellas está preeminentemente asociada a la hidrólisis, con tiempos de vida medios para este mecanismo de reacción comprendidos entre 2 días, a pH 9,5 y 1, 700 días, a pH 5,2 teniendo influencia directa la temperatura sobre la tasa de hidrólisis, además del pH. La fotólisis directa y la fotooxidación por el mecanismo de radicales libres constituyen una importante vía de degradación del carbofurano, habiéndose observado en estudios de laboratorio una fotodescomposición significativa

dentro de 96 horas. La volatilización no aparece como una vía significativa de remoción del carbofurano.<sup>40</sup>

## 2.8. BIORREMEDIACIÓN MICROBIANA DE PLAGUICIDAS

Biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (fundamentalmente bacterias, pero también hongos y levaduras) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, por tanto, se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas.<sup>42</sup> Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia.<sup>43</sup>

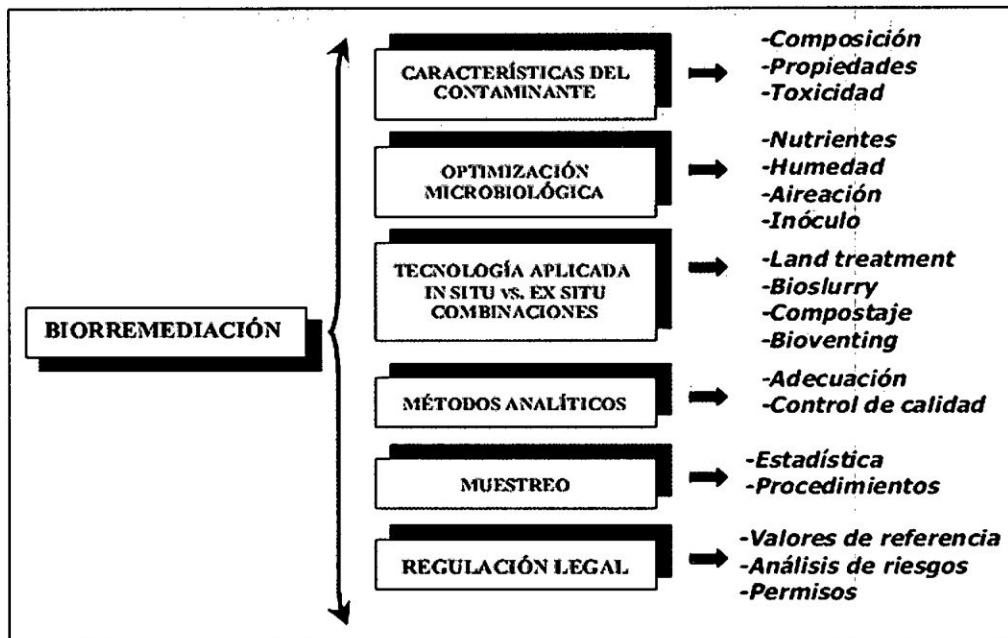


Figura 6. Parámetros implicados en la Biorremediación.<sup>44</sup>

### 2.8.1. VENTAJAS DE LA BIORREMEDIACIÓN

Como ventajas de la biorremediación se citan: son más respetuosas con el medio ya que la intrusión y modificación ambiental es reducida (para algunos la principal ventaja radica en que la calidad del suelo no se ve alterada durante el proceso, no se perjudican ni la estructura ni las características biológicas); son efectivos (los contaminantes son destruidos eficazmente) y eficientes (el coste es comparativamente bajo, salvo para los sistemas más complejos); permiten tratar la zona saturada del suelo y la insaturada; pueden aplicarse *in situ* y también a suelo excavado y al agua subterránea bombeada a la superficie; no requiere en general componentes estructurales o mecánicos complejos; pueden combinarse con otras tecnologías en un tren de tratamientos. Las técnicas de

biorremediación han conseguido por estas ventajas una muy buena imagen, resultando bien aceptadas por la opinión pública, en contraste con otros procedimientos físico-químicos, lo que se cita también como una ventaja más.<sup>45</sup>

### **2.8.2. INCOVENIENTES DE LA BIORREMEDIACIÓN**

Inconvenientes de la biorremediación son la dificultad o imposibilidad de degradar contaminantes inorgánicos (y algunos orgánicos); la imposibilidad de emplearla si las condiciones no son suficientemente favorables para el crecimiento microbiano; las dificultades para aplicarla en materiales geológicos impermeables; la lentitud, mayor para procesos anaerobios, que lleva a requerir, en ocasiones, lapsos de tiempo muy largos y difíciles de predecir; las dificultades para asegurar un aporte suficiente y homogéneo del oxígeno necesario para tratamiento aerobio; la necesidad de evaluar la toxicidad de intermediarios y/o productos. Además, las estrategias de biorrecuperación que funcionan en un lugar no tienen por qué funcionar en otro, los procesos que sí funcionan en el laboratorio a veces no puede tener éxito cuando se llevan a nivel de campo.

Un factor limitante para la extensión de la biorrecuperación es que todavía no se conocen en su totalidad los mecanismos que controlan el crecimiento y la actividad de los microorganismos en ambientes contaminados.

En la actualidad, hay un interés creciente por las tecnologías biológicas de recuperación porque las ventajas parecen superar a los inconvenientes. A pesar de las limitaciones mencionadas, el futuro es prometedor ya que la microbiología ambiental es un campo en el que se investiga y se progresa notablemente los avances en el desarrollo de modelos del metabolismo microbiano, además de los adelantos en los métodos de secuenciación de ADN y de análisis de expresión y función génica, están revolucionando este ámbito de estudio.<sup>45</sup>

### **2.9. GÉNEROS DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE PLAGUICIDAS**

Las bacterias son el grupo de organismos más abundantes en el suelo, miles de especies han sido identificadas y probablemente habrá otras miles sin identificar. Debido a su diversidad, las bacterias se encuentran en comunidades heterogéneas, algunas son degradadores primarios, esto es, inician la degradación de los compuestos orgánicos en los suelos, y otras especies crecen en los compuestos resultantes de una primera degradación parcial.

Estructuralmente, las bacterias se caracterizan por tener una capa exterior poco organizada compuesta principalmente por polisacáridos (capa mucilaginosa), una pared celular rígida, una membrana celular que encapsula el citoplasma, y la región nuclear. Su tamaño, forma, capacidad de movimiento y características metabólicas, determinan su clasificación. En el suelo los géneros más comunes son: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* y *Flavobacterium*.<sup>46</sup>

Las bacterias son organismos que pueden vivir en diferentes ambientes y consumir una gran variedad de compuestos, siendo una de sus características llamativas que toleran y usan ciertos contaminantes como fuente de energía, lo cual posibilita la remediación de ecosistemas afectados por actividades humanas o naturales. En este sentido es importante la posibilidad de llevar a cabo el saneamiento, por acción bacteriana a gran escala, de áreas contaminadas con compuestos orgánicos persistentes (COP) tales como hidrocarburos de petróleo y plaguicidas en suelos y en aguas, desarrollando una acción conocida como Biorremediación, la cual consiste en propiciar procesos biológicos bacterianos que permitan transformar los COP en sustancias no contaminantes y remover así tales compuestos con un alto porcentaje de efectividad.

Los contaminantes orgánicos persistentes (hidrocarburos, plaguicidas organoclorados) presentes en el suelo y en el medio marino son químicos que por lo general pueden llegar directamente a un ecosistema, como en la aplicación de un plaguicida, o accidentalmente, por los derrames en lagos y ambientes marinos, generando pérdidas económicas y un gigantesco desequilibrio ambiental. Hoy por hoy, es necesario conocer las tendencias y el comportamiento de los niveles de concentración de los contaminantes de mayor incidencia en el medio marino y costero (hidrocarburos, plaguicidas, metales pesados y material orgánico), para poder brindar una solución efectiva que conduzca a la recuperación de los ecosistemas vulnerados.<sup>47</sup>

Un consorcio microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. La asociación refleja estilos de vida sinérgicos o simbióticos (que significa "comiendo juntos") en el que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales. Funcionalmente, un consorcio microbiano supera la

suma de sus partes; sus miembros mantienen la compatibilidad metabólica y ecológica siempre y cuando las transformaciones ambientales que se generan permitan que ellos coexistan cercanamente.<sup>48</sup>

Las bacterias nativas aisladas de los sedimentos marinos del Caribe y Pacífico colombiano se enfrentaron a presiones selectivas en diferentes concentraciones de los contaminantes persistentes seleccionados en el estudio (ACPM, Crudo, DDT y aldrin), con el fin de escoger bacterias competitivas para conformar cultivos mixtos definir y evaluar su capacidad de degradación en ensayos con hidrocarburos o plaguicidas organoclorados. Con estos procesos de selección se obtuvo un cultivo mixto degradador de plaguicidas organoclorados para ambas regiones constituidos por los géneros bacterianos *Acinetobacter sp.*, *Rahnella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Brevibacillus sp.*<sup>11</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. CARACTERÍSTICAS DE ZONA DE ESTUDIO <sup>49</sup>

Zona de muestreo	: Santa Rosa del valle río Apurímac, Ene y Mantaro
Ubicación	: 12°41'22" latitud sur y 73°44'06" longitud oeste.
Clima	: Cálido húmedo.
Temperatura	: Máxima 30°C, mínima 19°C y media 25°C.
Zona de vida	: Bosque muy húmedo subtropical.
Altitud	: 708 msnm.
%HR	: 85%
pH del suelo	: 4,5 – 5,5
Características	: Suelo arcilloso.

#### 3.2. TOMA DE MUESTRAS

1. Los criterios de toma de muestra fueron: Suelos con mayor y constante asistencia de insecticidas, zonas de mayor producción de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca".<sup>50,51</sup>
2. Se demarcó un área de 100 cm<sup>2</sup> (10 x 10 cm) en la parte central y baja del terreno, donde se tomaron las muestras.
3. Se retiró la capa superficial de tierra de unos 10 a 15 cm, con ayuda de una paleta desinfectada.
4. Se tomó aproximadamente 1 000 g de suelo, entre los 10 y 20 cm de profundidad, luego se introdujo en una bolsa de polietileno nueva.
5. Las muestras fueron trasladadas en un *cooler* al Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH para su posterior procesamiento.

### 3.3. AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE CARBOFURÁN

1. Se tamizaron las muestras de suelo recolectadas, con malla de 2 x 2 mm para separar las piedras y partículas grandes.
2. Se pesó 10 g de suelo tamizado, luego se realizó una dilución de  $10^{-1}$  con agua peptonada estéril como diluyente.
3. Se inoculó 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  a frascos conteniendo 100 ml de caldo Busnell Hass a los que se añadió 10, 20, 30, 40, 50 y 60 mg/l de carbofurán respectivamente.<sup>15</sup>
4. Se incubó en agitación horizontal por 15 días a temperatura de 30 °C.
5. A partir de los frascos con crecimiento, evidenciado por turbidez se procedió a aislar con la técnica de agotamiento en superficie en agar Busnell Hass enriquecido con carbofurán en 5 mg/100 ml y agar nutritivo.
6. Se incubó por 15 días a temperatura de 30 °C.
7. Las colonias fueron repicadas en ceparios para su estudio.

**Tabla 6.** Composición del ensayo de aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa de los Valles del Río Apurímac, Ene y Mantaro; Ayacucho 2014.

Nº	Código	Composición del medio	Vol. final
1	10-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 10 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
2	20-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 20 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
3	30-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 30 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
4	40-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 40 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
5	50-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 50 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
6	60-BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 60 mg/l plaguicida + 1,0 ml de inóculo	100 ml
7	BH-B	Medio mineral Busnell Hass + 1,0 ml de inóculo	100 ml
8	BH	Medio mineral Busnell Hass	100 ml

### **3.4. CURVA PATRÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBOFURÁN**

#### **a) Preparación de la solución de carbofurán**

- Se preparó 100 ml de solución de concentraciones conocidas de carbofurán utilizando agua destilada: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 y 60 mg/l de carbofurán.
- Enseguida se tomó 1 ml de solución y se transfirió en un tubo de ensayo de 18 x 150 mm.
- Se procedió a añadir un 0,5 ml de metanol absoluto, luego con 25 µl de hidróxido de sodio 2M.

#### **b) Preparación de la solución de "Dapsona"**

- Se pesó 0,05 g de "Dapsona" (4,4-diaminodifenilsulfona), luego se disolvió con 1,25 ml de ácido clorhídrico 1M.
- Se agregó 0,25 ml de nitrito de sodio 1,0 % y en seguida se llevó a 25 ml con agua destilada.
- Finalmente se procedió a mantener la solución a 5 °C por 3 minutos en constante agitación.

#### **c) Reacción cromogénica de carbofurán**

- En un tubo de ensayo de 18 x 150 mm se agregó 1 ml de solución de carbofurán anteriormente preparado, luego se adicionó 0,5 ml de la solución de "Dapsona".
- En seguida se homogenizó hasta que tomó una coloración anaranjada.
- Luego se procedió a realizar la lectura a 480 nm de longitud de onda <sup>52</sup> en el Espectrofotómetro *UV-Visible Thermo Scientific GENESYS 10*, usando como blanco agua destilada.
- Con los valores de absorbancia obtenidos se procedió a determinar la curva de patrón estandarizada.

### **3.5. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEGRADADORA DE CARBOFURÁN**

#### **a) Preparación del inóculo**

- Se reactivó cada una de las cepas degradadoras de carbofurán en 5 ml de caldo nutritivo e incubado a 30°C durante 48 horas. Luego se mezcló en matraz en condiciones asépticas, hasta contar con una

densidad de crecimiento significativo comparado con el tubo N° 03 de la escala de Mac Farland.

- Se tomó 1,0 ml de cada consorcio y se inoculó en frascos de prueba conteniendo 100 ml de caldo BH con 10; 20; 30 mg/l de carbofurán respectivamente con tres repeticiones (ensayos problema).
- Se estableció frascos de control negativo, al que se añadió 10, 20 y 30 mg/l de carbofurán a los cuales no se inoculó ningún microorganismo.
- Se incubó en agitación constante a temperatura de 30°C durante 30 días en un ambiente fuera del alcance de luz.
- A partir del día cero, cada 5 días durante 60 días, se tomó una muestra de 1 ml para determinar la degradación debidamente homogenizado.<sup>52</sup>

**b) Determinación de la capacidad degradadora de carbofurán**

- Se tomó una muestra de 1 ml para determinar la degradación tomó 1 ml de muestra, luego se transfirió a un tubo de ensayo de 18 x 150 mm en condiciones asépticas.
- Se procedió a centrifugar a 2500 rpm por 5 minutos para separar el sobrenadante de la biomasa microbiana.
- Se agregó 0,5 ml de metanol absoluto más 50 µl de hidróxido de sodio 2M y se homogenizó.
- Se tomó 1 ml de la solución de carbofurán (solución problema) y se transfirió a otro tubo de ensayo 18 x 150 mm. Luego se adicionó 0,5 ml de solución de Dapsona previamente preparado.
- Enseguida se homogenizó hasta la formación de una coloración naranja.
- Se realizó la lectura a una longitud de onda de 480 nm con el Espectrofotómetro *UV-Visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10*, usando como blanco agua destilada.
- Con los valores de la lectura se determinó la cantidad de carbofurán degradado por el consorcio de bacterias, estableciendo ecuaciones y gráficos estadísticos en relación a la curva patrón estandarizado.

### **3.6. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE CARBOFURÁN**

#### **a) Características macroscópicas**

Los microorganismos aislados fueron caracterizados y diferenciados según las características culturales de cada una de las colonias.

#### **b) Observación microscópica**

Se realizó la coloración Gram para observar la morfología y las características de la pared celular de las bacterias. Finalmente agrupando: Como en coco y bacilo y en Gram positivo y negativo.

#### **c) Identificación bioquímica**

Consistió en agrupar los microorganismos según las actividades metabólicas. El tipo de pruebas bioquímicas a utilizar para un microorganismo dependió de los resultados de la diferenciación microscópica para lo cual se realizaron las siguientes pruebas: Fermentación de lactosa, Oxidasa, Catalasa, TSI, LIA, Citrato, Indol, Voges Proskauer, Rojo de metilo, Coagulasa, Hidrolisis de urea, Hemolisis, Motilidad, Hidrolisis de gelatina, Reducción de nitrato, Producción de CO<sub>2</sub>, Producción de SH<sub>2</sub>.

### **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Con los datos obtenidos de los ensayos problema y ensayo blanco cada cinco días se midió con el espectrofómetro por 60 días para ver la biodegradación por consorcios bacterianos. A los cuales fueron codificados e introducidos en la base de datos diseñada a tal efecto con la hoja de cálculo Excel 2010 para Windows.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa informático SPSS para Windows versión 18 y se aplicó ANVA que sirvió para probar todas las diferencias entre medias de tratamientos.

Se aplicó la prueba de Tukey que sirvió para ver el tamaño de las muestras seleccionadas para cada grupo.

#### **IV. RESULTADOS**

**Tabla 7.** Bacterias biodegradadoras de carbofurán a partir de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.

ENSAYO	Concentración de Carbofurán	(UFC/ml)	
		Suelos de cultivo de <i>Theobroma cacao</i> "Cacao"	Suelos de cultivo de <i>Erythroxylum coca</i> "Coca"
10-BH-B	10 mg/l	74	51
20-BH-B	20 mg/l	87	76
30-BH-B	30 mg/l	63	74
40-BH-B	40 mg/l	45	52
50-BH-B	50 mg/l	46	48
60-BH-B	60 mg/l	23	32
BH-B	0	82	103
BH	0	0	0

Dónde: BH-B es: consorcio de bacterias

**Tabla 8.** Consorcios de bacterias aisladas a partir de suelos agrícolas de cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca". Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.

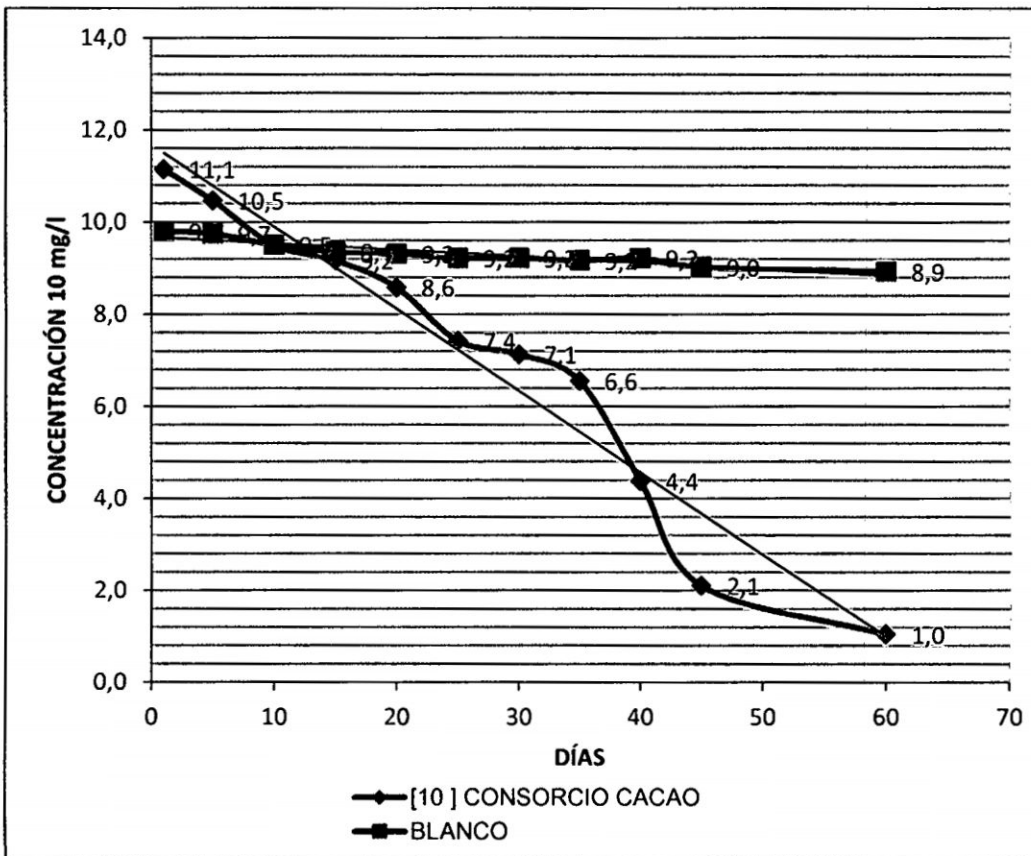
Consortio	N° de consorcios	N° de cepas
Suelos con cultivo de <i>Theobroma cacao</i> "Cacao"	1	11
Suelos con cultivos de <i>Erythroxylum coca</i> "Coca"	2	11
<b>Total</b>		22

**Tabla 9.** Características macroscópicas, morfología y reacción al Gram de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del suelo de cultivo de *Theobroma cacao* "cacao". Santa Rosa VRAEM, Ayacucho, 2014.

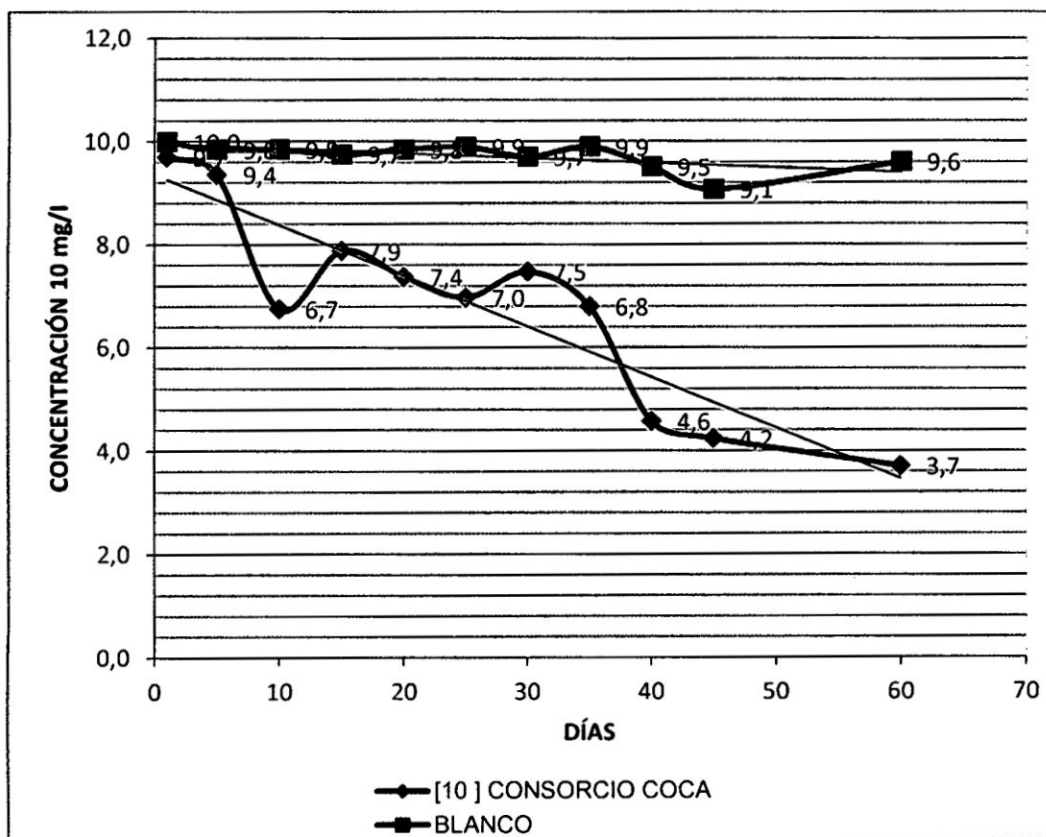
<b>CLAVE</b>	<b>CARACTERÍSTICAS CULTURALES (Agar nutritivo)</b>	<b>FORMA</b>	<b>GRAM</b>
<b>CPB1</b>	Colonias opacas, gris apagado, algo húmedas, forma irregular y rizoide	<b>Bacilos</b>	-
<b>CPB2</b>	Colonias grandes planoconvexa, mucoides, brillantes, forma irregular, también se observan redondeadas, bordes ondulados de color blanco amarillentas.	<b>Bacilos</b>	-
<b>CPB3A</b>	Colonias medianas, brillantes, convexas de color amarillo, forma circular, bordes redondeados o irregulares, acuminada y/o con protuberancia en el centro.	<b>Bacilos</b>	-
<b>CPB4</b>	Colonias opacas, gris apagado, algo húmedas, forma irregular.	<b>Bacilos</b>	-
<b>CPB5</b>	Colonias grandes, convexas, blanquecinas como cera, forma fusiforme y circular, bordes redondeados.	<b>Bacilos</b>	+
<b>CPB6</b>	Colonias grandes, convexas, blanquecinas como cera, forma fusiforme y circular, bordes redondeados.	<b>Bacilos</b>	+
<b>CPB7</b>	Colonias grandes de color grisáceas de aspecto granuloso, traslucidas, de borde irregulares.	<b>Bacilos</b>	+
<b>CPB8</b>	Colonias grandes, convexas, blanquecinas como cera, forma fusiforme y circular, bordes redondeados.	<b>Bacilos</b>	+
<b>CPB9</b>	Colonias pequeñas de borde irregulares plana y estrellado, color blanco, superficie opaca, blanda.	<b>Bacilos</b>	+
<b>CPB10</b>	Colonias planas, de borde irregular, con centro blanco y un tono más pálido alrededor.	<b>Bacilos</b>	-
<b>CPB11</b>	Colonias Grandes, planas, blanquecinas, forma irregular, bordes lobulados, dan la apariencia de estar secas, también se observa una protuberancia en el centro de las colonias lo cual les da una apariencia de huevo estrellado.	<b>Bacilos</b>	+

**Tabla 10.** Características macroscópicas, morfología y reacción al Gram de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del suelo de cultivo de *Erythroxylum coca* "coca". Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.

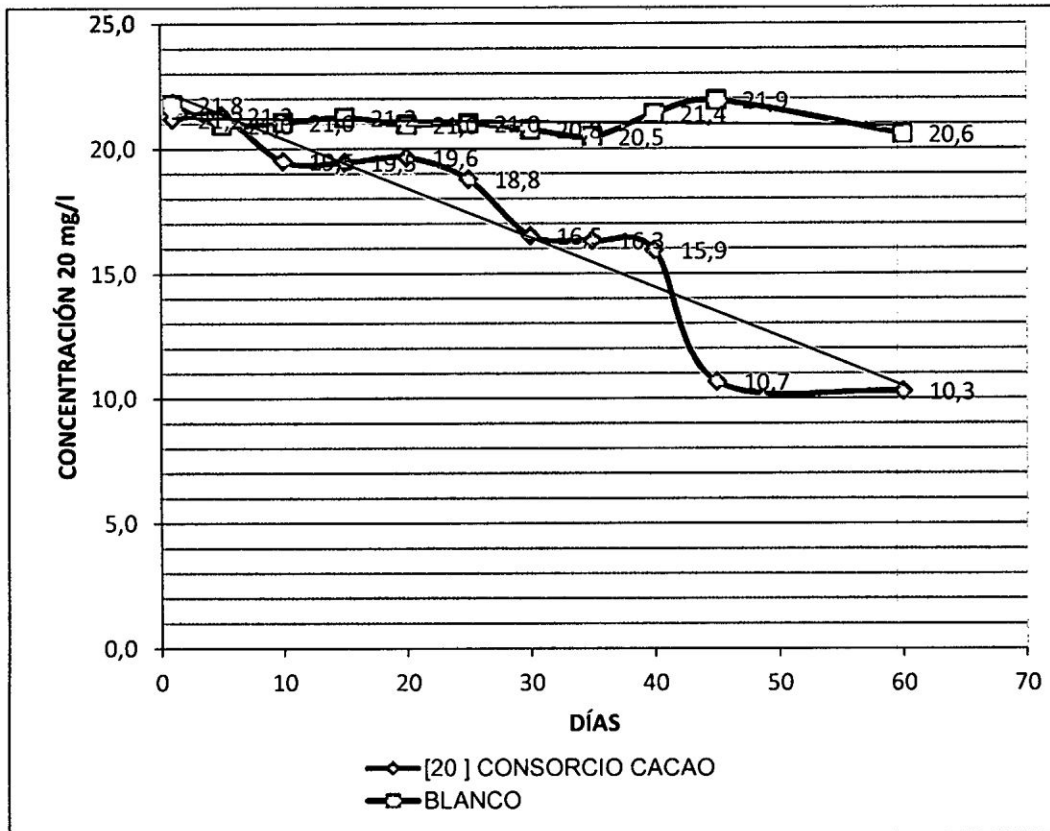
<b>CLAVE</b>	<b>CARACTERÍSTICAS CULTURALES (Agar nutritivo)</b>	<b>FORMA</b>	<b>GRAM</b>
<b>CPB1</b>	Colonias grandes, convexas, blanquecinas como cera, forma fusiforme y circular, bordes redondeados.	<b>Bacilos</b>	<b>+</b>
<b>CPB2A</b>	Colonias pequeñas de borde irregulares plana y estrellado, color blanco, superficie opaca, blanda.	<b>Bacilos</b>	<b>+</b>
<b>CPB2B</b>	Colonias medianas, rojas borde ameboide semi secas con halo turbio fondo del medio oscuro.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB3</b>	Colonias son convexas, semi opacas y brillantes, redondeadas, lisas o irregulares.	<b>Bacilos</b>	<b>+</b>
<b>CPB4</b>	Colonias medianas de bordes irregulares plana de color blanco gris y una consistencia blanda.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB5B</b>	Colonias rugosas medianas de borde entero con elevación convexa, blanco, de consistencia cremosa.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB6</b>	Colonias medianas incoloras transparentes fondo del medio oscuro.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB7</b>	Colonias medianas, cremosa con bordes irregulares, planas de color amarillo.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB8</b>	Colonias medianas, convexas, de color blanco, forma circular, bordes redondeados.	<b>Cocos</b>	<b>+</b>
<b>CPB9</b>	Colonias medianas, convexas, blanquecinas o translucidas, forma circular, bordes redondeados hay presencia de swarming.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>
<b>CPB10</b>	Colonias medianas incoloras transparentes fondo del medio oscuro.	<b>Bacilos</b>	<b>-</b>



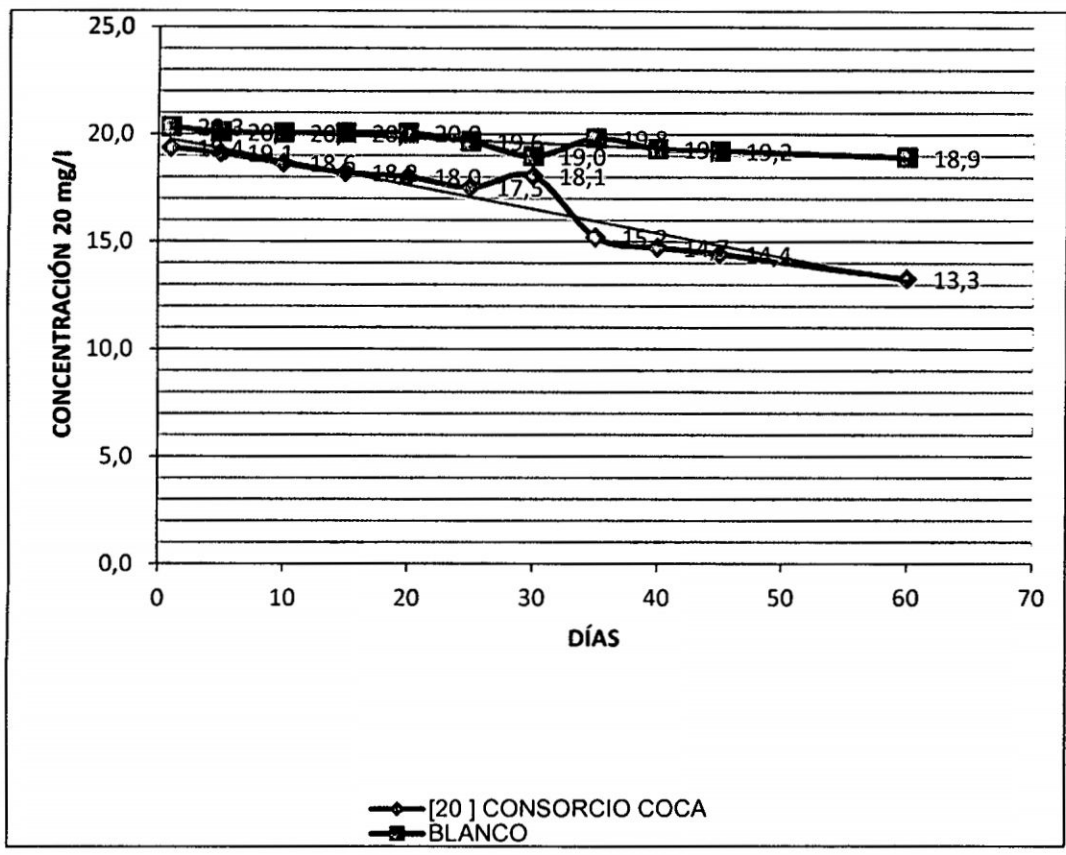
**Figura 7.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 10 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



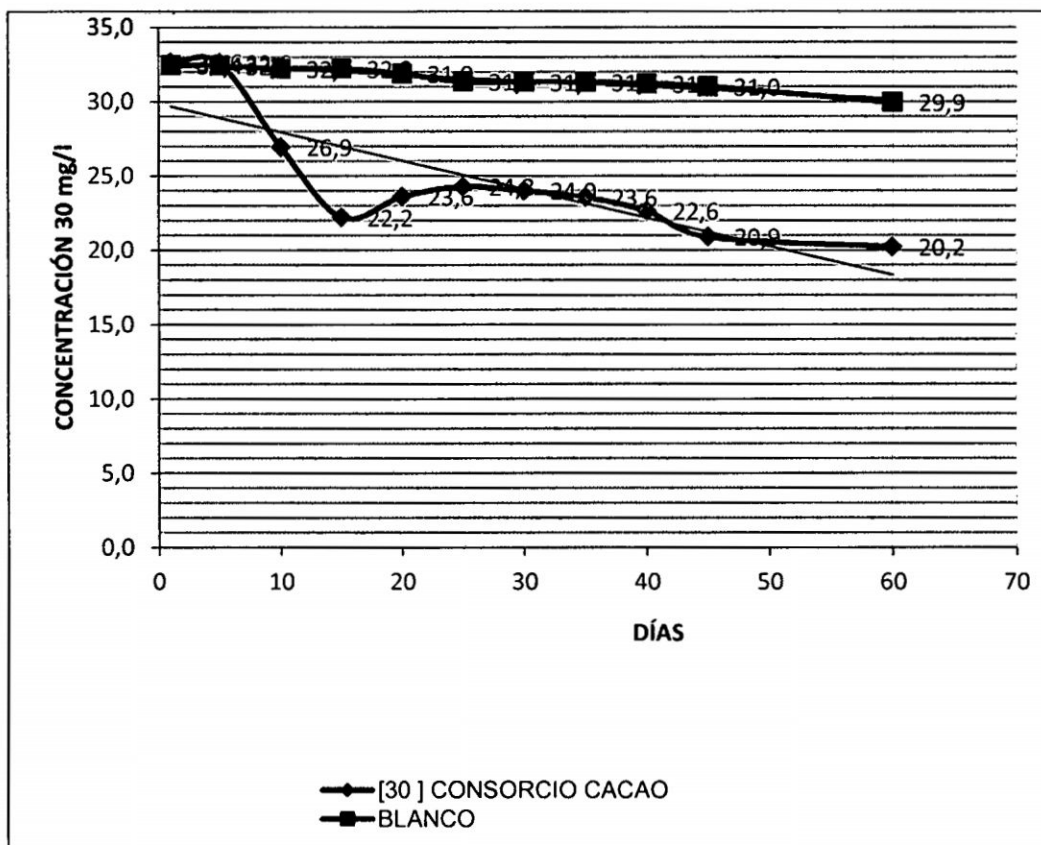
**Figura 8.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 10 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



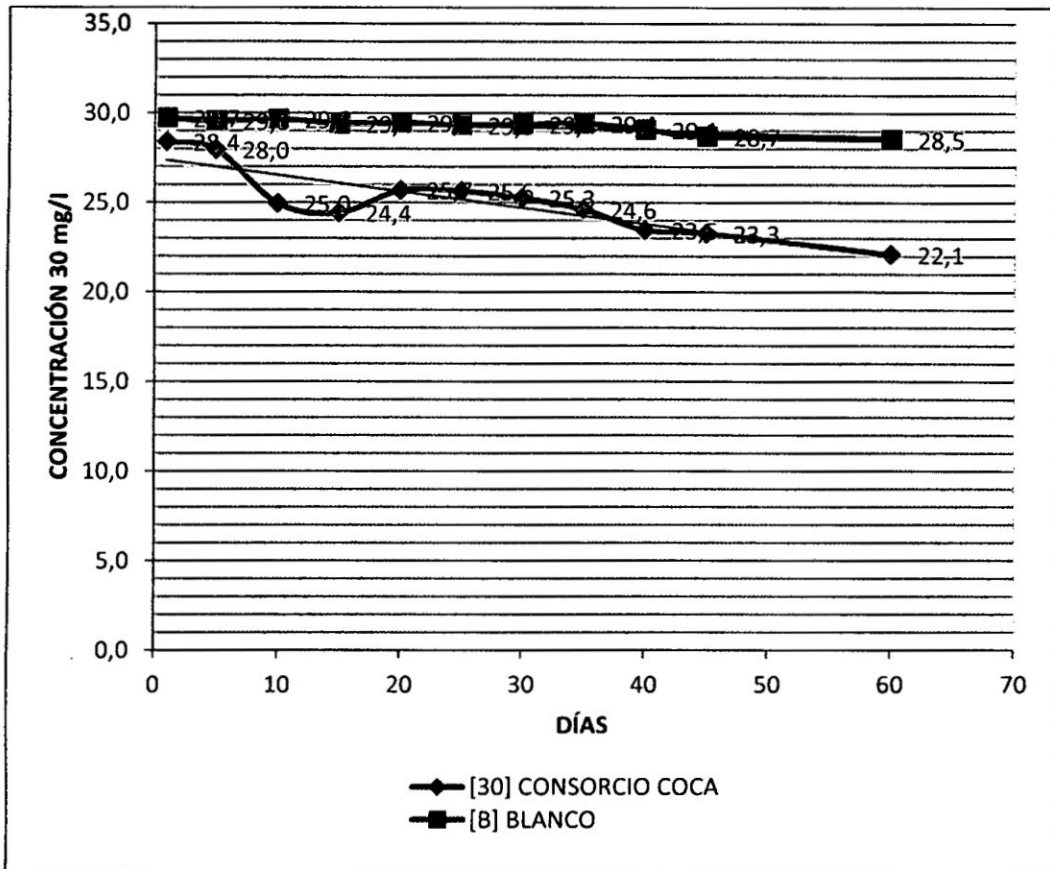
**Figura 9.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 20 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



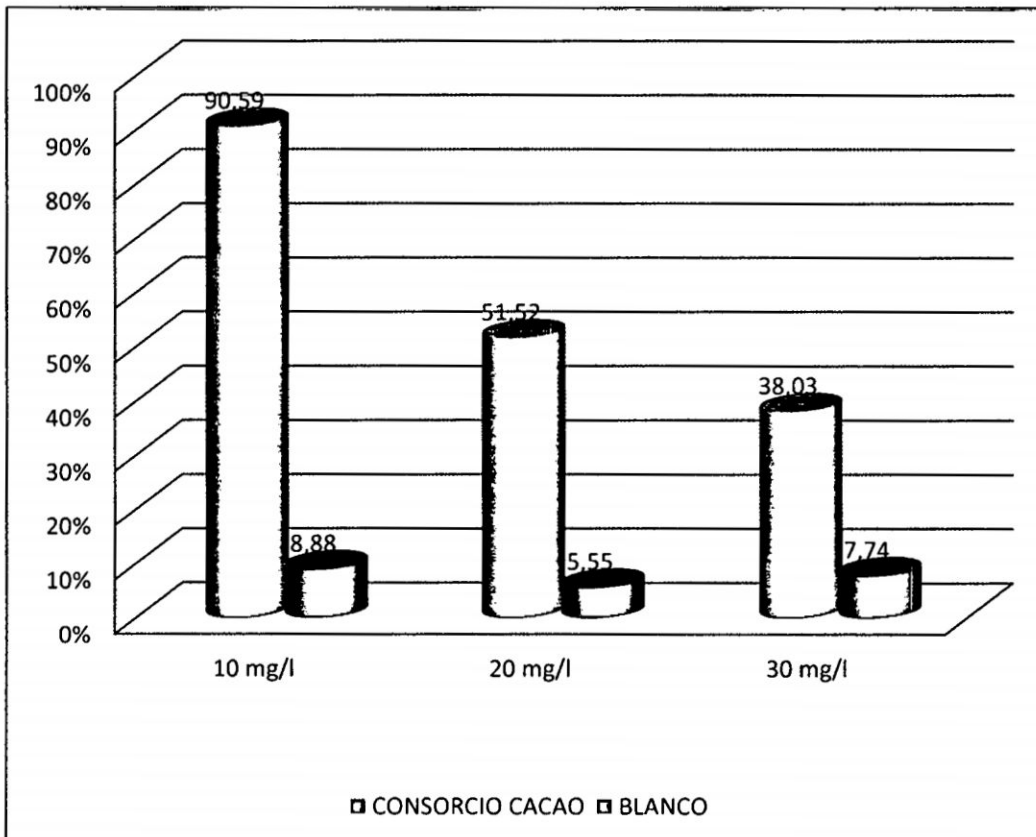
**Figura 10.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 20 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de *Erythroxyllum coca* "coca". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



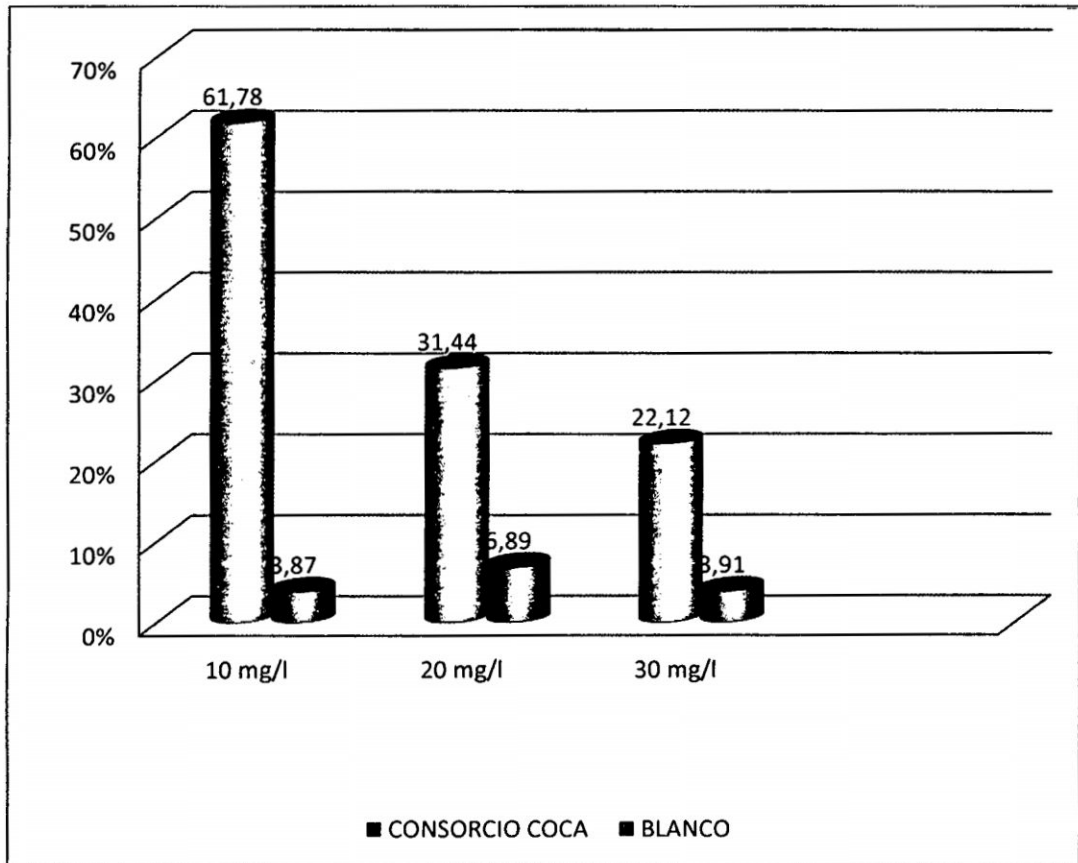
**Figura 11.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 30 mg/l usando consorcios bacterianos aislados de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



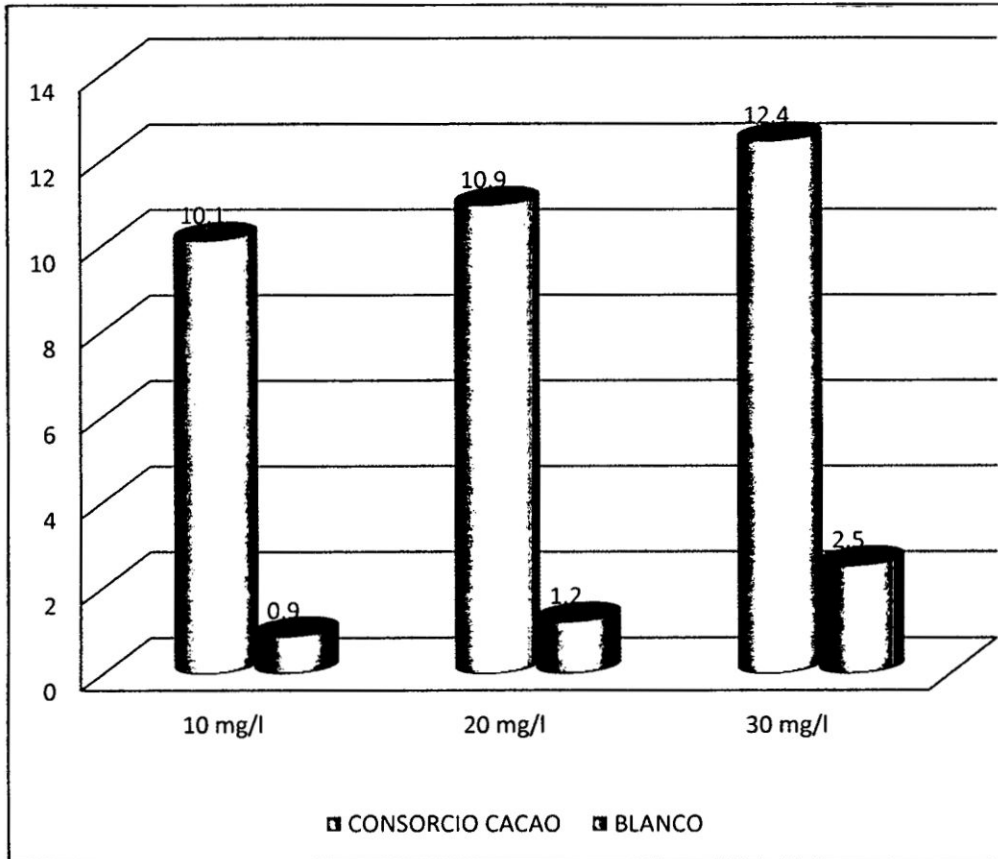
**Figura 12.** Biodegradación de carbofurán a una concentración inicial de 30 mg/l usando consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas con cultivos de *Erythroxyllum coca* "coca". Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



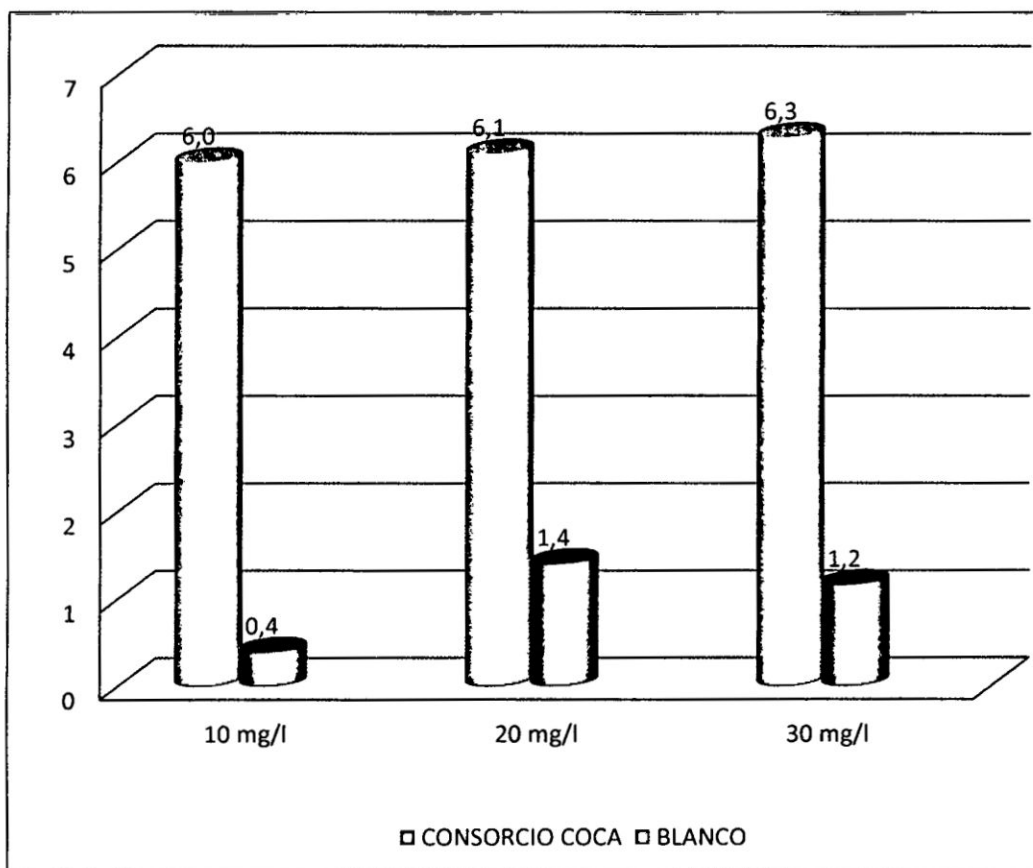
**Figura 13.** Porcentaje de biodegradación usando consorcio bacteriano aislado de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



**Figura 14.** Porcentaje de biodegradación usando consorcio bacteriano aislado de suelos con cultivos de *Erythroxyllum coca* "coca" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



**Figura 15.** Cantidad total de carbofurán degradado por bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" en relación a diferentes concentraciones de carbofurán. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



**Figura 16.** Cantidad total de carbendazim degradada por bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Erythroxyllum coca* "coca" en relación a diferentes concentraciones de carbendazim. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.

**Tabla 11.** Análisis de varianza de la biodegradación por consorcios bacterianos aislados de suelos con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" a diferentes concentraciones. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.

<b>FUENTE DE VARIABILIDAD</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Entre grupos</b>	4786,445	5	957,289	130,131	000
<b>Dentro de grupos</b>	441,382	60	7,356		
<b>Total</b>	5227,827	65			

**Tabla 12.** Análisis de varianza de la biodegradación por consorcios bacterianos aislados de suelos con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca" a diferentes concentraciones. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.

<b>FUENTE DE VARIABILIDAD</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Entre grupos</b>	4126,559	5	825,312	401,948	000
<b>Dentro de grupos</b>	123,197	60	2,053		
<b>Total</b>	4249,756	65			

**Tabla 13.** Identificación de bacterias degradadoras de carbofurán aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao".  
Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.

CLAVE	FORMA	GRAM	LAC	Oxid.	Catal.	Coag.	Hemol.	Urea	Mot.	Indol	TSI	LIA	VP/RM	Citr.	Gel.	Nit.	Género
											(CO <sub>2</sub> )(HS <sub>2</sub> )	(CO <sub>2</sub> )(HS <sub>2</sub> )					
CPB 1	Bacilos	-	-	-	+	+	Gama	-	+	-	A/K	K/A	+	-	+	+	<i>Enterobacter sp.</i>
CPB2	Bacilos	-	+	-	+	-	Beta	+	-	-	A/A	K/K	+	-	-	-	<i>Klebsiella sp.</i>
CPB3A	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	-	+	-	K/A	K/K	+	+	+	+	<i>Serratia sp.</i>
CPB4	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	-	+	-	A/K	K/A	+	-	+	-	<i>Enterobacter sp</i>
CPB5	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	-	+	+	K/A	K/A	+	-	-	+	<i>Bacillus sp.</i>
CPB6	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	-	+	+	K/A	K/A	+	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
CPB7	Bacilos	+	-	-	+	-	Gama	+	-	-	k/k	k/k	-	-	-	-	<i>Corynebacterium sp.</i>
CPB8	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	-	+	+	K/A	K/A	+	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
CPB9	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	-	+	+	A/A	K/A	-	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>
CPB10	Bacilos	-	-	+	+	-	Gama	-	-	-	K/K	K/K	-	-	+	-	<i>Aeromonas sp.</i>
CPB11	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	-	+	+	K/A	K/A	+	-	-	-	<i>Bacillus sp.</i>

**Tabla 14.** Identificación de bacterias degradadoras de carbofurán aisladas de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca".  
Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.

CLAVE	FORMA	GRAM	LAC	Oxid.	Catal.	Coag.	Hemol.	Urea	Mot.	Indol	TSI (CO <sub>2</sub> )(HS <sub>2</sub> )	LIA (CO <sub>2</sub> )(HS <sub>2</sub> )	VP/RM	Citr	Gel.	Nit.	Género	
CPB 1	Bacilos	+	-	+	+	-	Gama	+	-	-	K/K	K/K	-	-	-	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
CPB2A	Bacilos	+	-	-	+	-	Gama	-	+	-	K/K	K/K	-	-	-	-	+	<i>Bacillus</i> sp.
CPB2B	Bacilos	-	+	-	+	-	Gama	-	-	-	K/K	K/K	-	+	-	-	+	No identificada
CPB3	Bacilos	+	-	-	+	-	Gama	-	-	-	K/A	K/A	+	-	-	+	+	<i>Clostridium</i> sp.
CPB4	Bacilos	-	-	+	+	-	Gama	-	-	-	K/K	K/K	-	-	+	+	-	No identificada
CPB5B	Bacilos	-	-	+	+	-	Gama	-	+	-	K/K	K/K	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
CPB6	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	-	-	+	K/A	K/A	-	+	-	-	-	No identificada
CPB7	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	-	+	-	K/A	K/K	-	-	+	-	-	<i>Flavobacterium</i> sp.
CPB8	Cocos	+	-	-	+	+	Gama	-	+	-	K/A	K/A	+	-	+	-	-	<i>Staphylococcus</i> sp.
CPB9	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	+	+	+	K/K	K/K	-	-	+	-	+	<i>Proteus</i> sp.
CPB10	Bacilos	-	-	-	+	-	Gama	-	-	+	K/A	K/A	-	+	-	-	-	No identificada

## V. DISCUSIÓN

Sugieren la conveniencia de buscar microorganismos degradadores de xenobióticos en sitios expuestos a estos compuestos de interés para tener mayor probabilidad de éxito en los aislamientos, Carrillo y Yeomans<sup>12</sup>, Ortiz-Hernández *et al.*<sup>25</sup>, Alexander<sup>28</sup>, acorde a estas referencias, los puntos de muestreo para el presente trabajo tuvo lugar en el distrito de Santa Rosa; donde la actividad agrícola, principalmente el cultivo de *Erythroxylum coca* "coca", es alto en relación a otras actividades como el cultivo de *Theobroma cacao* "cacao"; por lo que, más del 90% de todos los agroquímicos que se utilizan en el VRAEM, principalmente los insecticidas, están destinados a la producción ilícita de *Erythroxylum coca* "coca"<sup>50,51</sup>; tal es el caso, que los pesticidas derivados de los carbamatos como el carbofurán, cuyo nombre comercial es el "diafurán" es el que se empleó en este trabajo, es utilizado en los cultivos de "coca". Correa *et al.*<sup>53</sup>

Por otra parte, la utilización constante de estos pesticidas, hace que existan residuos de sustancias en tierras de cultivo, y se interactúan con factores abióticos y bióticos y ser degradados.<sup>53</sup>

Castellanos *et al.*<sup>13</sup> en estudios realizados lograron aislar 82 cepas bacterianas con actividad potencial de degradación de carbofurán (furadan®3SC), a partir de suelos, cultivados con "papa" (*Solanum tuberosum*) variedad única. Las bacterias fueron seleccionadas por su capacidad para crecer a 25 °C durante 72 horas, en medios de cultivo conteniendo 200 mg/l de carbofurán analítico como única fuente de carbono y/o nitrógeno.

Con referencia a estos estudios se planteó el ensayo de aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán en torno a los diseños establecidos por Castrejón *et al.*<sup>8</sup>, Chuchón<sup>15</sup>, Johnson<sup>54</sup> en cada uno de los ensayos de aislamiento (Tabla 6).

La tabla 7, muestra los valores del recuento de microorganismo en los ensayos del aislamiento de bacterias capaces de desarrollar en medio mineral Busnell Hass enriquecidos con carbofurán, realizados mediante la técnica de recuento estándar en placa a los 15 días de incubación. Los detalles de los valores obtenidos permitió tener referencia sobre la concentración del carbofurán con la que se trabajó en los aislamientos en medio sólido; de tal manera, que no exista la inhibición por sustrato (carbofurán) ni mucho menos déficits en nutrientes durante el periodo de incubación.<sup>15</sup> Los resultados en los ensayos 10-BH-H, 20-BH-H y 30-BH-H resultaron 74 UFC/ml, 87 UFC/ml y 63 UFC/ml respectivamente, que hacen referencia al aislamiento a partir de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao"; mientras que los resultados del aislamientos a partir de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" fueron 51 UFC/ml, 76 UFC/ml y 74 UFC/ml respectivamente, observándose un mayor número de UFC/ml de bacterias en el aislamiento a partir de suelos con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao". Respecto a éstos resultados, los ensayos 10-BH-H, 20-BH-H y 30-BH-H que corresponden a las concentraciones de 10 mg/l, 20 mg/l y 30 mg/l de carbofurán respectivamente en caldo Busnell Hass; fueron mayores con respecto a los tres últimos ensayos que presentan mayor concentración de carbofurán, evidenciando que a mayor concentración del pesticida influye en el desarrollo de las colonias; que además, está influenciado por la toxicidad del pesticida (carbofurán).<sup>41</sup> En torno a ello, como a los requerimientos nutricionales<sup>16</sup> y el tiempo de incubación para el aislamiento en medio sólido<sup>15</sup>; la concentración de 30 mg/l de carbofurán, fue seleccionada como concentración óptima para su posterior utilización en el enriquecimiento de agar Busnell Hass, en la degradación del carbofurán.

Los resultados antes indicados nos hace suponer que el aislamiento directo en agar nutritivo permite el crecimiento tanto de bacterias con capacidad biodegradadora de carbofurán. De ahí la importancia el uso de agar Busnell Hass enriquecido con 30 mg/l de carbofurán como las no biodegradadoras teniendo referencia a la mayor carga microbiana del recuento estándar en placa en la Tabla 7, de tal forma que las bacterias que logren desarrollar en este medio sean efectivamente lo que presenta la capacidad para degradar carbofurán. Luego agrupadas según las características culturales y microscópicas (Tabla 9,10).

El ensayo de biodegradación en el laboratorio se realizó utilizando el consorcio bacteriano aislado de suelos agrícolas de Santa Rosa, a la vez teniendo en cuenta la influencia de las concentraciones de carbofurán sobre la actividad biodegradadora del consorcio.

En las Figuras 7 y 8 muestran los valores de biodegradación por bacterias aisladas de suelos agrícolas de cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente con los ensayos problema y valores de los ensayos blanco en relación al tiempo iniciando a una concentración referente de 10 mg/l de carbofurán, donde a medida que transcurre el tiempo las concentraciones de carbofurán en el ensayo problema comenzaron a reducir hasta 1,0 mg/l de carbofurán (Figura 7) que corresponde al ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y hasta 3,7 mg/l de carbofurán (Figura 8) que corresponde al ensayo con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca". Mientras que en el ensayo blanco la reducción es mínima que llega hasta 8,9 mg/l de carbofurán y 9,6 mg/l de carbofurán correspondientes a los ensayos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente. Al comparar éstos resultados se observa que la actividad biodegradadora del consorcio de bacterias ha logrado reducir 10,1 mg/l y 6,0 mg/l de carbofurán (Figura 15 y 16) que equivale a 90,59% y 61,78% de degradación (Figura 13 y 14) respecto a la concentración inicial referentes a los ensayos con bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente, presentando resultados similares a los resultados obtenidos por chuchón (2013)<sup>15</sup> referentes a una concentración inicial de 10 mg/l de carbofurán mediante la utilización de consorcios bacterianos.

En las Figuras 9 y 10 muestran los valores de biodegradación por bacterias aisladas de suelos agrícolas de cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente con los ensayos problema y valores de los ensayos blanco en relación al tiempo iniciando a una concentración referente de 20 mg/l de carbofurán, donde a medida que transcurre el tiempo las concentraciones de carbofurán en el ensayo problema comenzaron a reducir hasta 10,3 mg/l de carbofurán (Figura 9) que corresponde al ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y hasta 13,3 mg/l de carbofurán (Figura 10) que

corresponde al ensayo con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca". Mientras que en el ensayo blanco la reducción llega hasta 20,6 mg/l y 18,9 mg/l de carbofurán correspondientes a los ensayos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente. Al comparar éstos resultados se observa que la actividad biodegradadora del consorcio bacteriano ha logrado reducir 10,9 mg/l y 6,1 mg/l de carbofurán (Figura 15 y 16) que equivale a 51,52 % y 31,44% de degradación (Figura 13 y 14) respecto a la concentración inicial referentes a los ensayos con bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente.

En los Figuras 11 y 12 muestran los valores de biodegradación por bacterias aisladas de suelos agrícolas de cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente con los ensayos problema y valores de los ensayos blanco en relación al tiempo iniciando a una concentración referente de 30 mg/l de carbofurán donde a medida que transcurre el tiempo las concentraciones de carbofurán en el ensayo problema comenzaron a reducir hasta 20,2 mg/l de carbofurán (Figura 11) que corresponde al ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y hasta 22,1 mg/l de carbofurán (Figura 12) que corresponde al ensayo con bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca". Mientras que en el ensayo blanco la reducción es mínima que llega hasta 29,9 mg/l y 28,5 mg/l de carbofurán correspondientes a los ensayos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente. Al comparar éstos resultados se observa que la actividad biodegradadora del consorcio bacteriano es 12,4 mg/l y 6,3 mg/l de carbofurán (Figura 15 y 16) que equivale a 38,03% y 22,12% de degradación (Figura 13 y 14) respecto a la concentración inicial referentes a los ensayos con bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente.

En base a los resultados obtenidos, se muestra que en todo los ensayos blanco existe una cierta disminución de los valores en la concentración de carbofurán respecto a la concentración inicial; sin duda, los fenómenos de degradación no son exclusivos por fenómenos biológicos, ya que, existen fenómenos abióticos involucrados; éstos valores de disminución en la concentración de carbofurán en los ensayos blanco, que también fueron observados por chuchón <sup>15</sup>, se basa en

los planteamientos de Jhonson<sup>54</sup> y Jones<sup>55</sup>; quienes hacen énfasis al primer proceso de degradación del carbofurán debido a reacciones de hidrólisis química o física, mientras, menciona que la degradación de carbofurán es por procesos de óxido-reducción; de igual manera<sup>56</sup>, Chuchón<sup>15</sup> hace mención a Ajona y Vidal<sup>57</sup>; quienes describen la degradación de carbofurán por procesos fisicoquímicos con fenómenos de fotocatalisis solar y volatilización, que para éste trabajo, se tomó en cuenta dichos planteamientos; por lo que, se evitó la exposición a la luz en los ensayos de biodegradación.

En un enfoque a los gráficos de biodegradación (Figura 7 hasta Figura 12) se observan que los valores de la concentración de carbofurán en los ensayos de biodegradación con bacterias aisladas a partir de suelos con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca" son menores en respecto a los valores en el ensayo con bacterias asiladas a partir de suelos con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao"; no obstante, Chuchón<sup>15</sup>, Grady<sup>58</sup>, Ortiz-Hernández *et al.*<sup>25</sup> Carillo *et al.*<sup>12</sup> sostienen que los valores de biodegradación son significativos cuando un consorcio de microorganismos es aislada de una zona con constante aplicación de un pesticida o productos similares; sin embargo, existe una cierta contradicción en relación a los resultados de éste trabajo, ya que, se esperaba resultados de biodegradación más significativos en el ensayo con bacterias aisladas a partir de suelos con cultivo de *Erythroxylum coca* "coca", donde, la utilización de pesticidas es más prevalente en estos cultivos, Correa *et al.*<sup>52</sup> Sobre las bases de las ideas expuestas, el motivo por el cual se obtuvo estos resultados, fue porque el aislamiento de bacterias a partir de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" fueron menores en comparación a las bacterias asiladas de suelos con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" (Tabla 14).

Por tanto la biodegradación del carbofurán también depende de múltiples factores como: condiciones ambientales abióticas (Temperatura, humedad, pH, nutrientes, etc.), comunidad microbiana (especie y la relación entre ellos), características insecticidas (tipo y concentración) y reacciones biológicas y fisicoquímicas tal como reportan Ortiz-Hernández *et al.*<sup>25</sup>. Teniendo consideración estos factores durante el ensayo de biodegradación, la temperatura fue acondicionada a 30 °C, el pH semejante a sitios de muestreo que fue 5 ligeramente ácido (pH=5,5) y las concentraciones de variante de 10, 20, 30 mg/l de carbofurán.

Se han propuesto dos rutas principales de degradación bacteriana de los N-metilcarbamatos, la vía oxidante y la hidrolítica. Sin embargo, se ha comprobado que la degradación por la vía oxidante de los N-metilcarbamatos, produce metabolitos que son más tóxicos que el mismo compuesto parental. Mateen *et al.*<sup>59</sup>

En general las hidrolasas involucradas en la degradación de carbofurán parecen tener diferencias en sus características bioquímicas y en su actividad sobre un amplio rango de sustratos relacionados, bajo el mismo grupo de plaguicidas carbamatos. Estudios realizados por Mulbry y Eaton<sup>60</sup>, determinaron que la enzima carbamato hidrolasa producida por *Pseudomonas sp.* CRL-OK, fue sintetizada de forma inducible y está conformada por un dímero con subunidades idénticas de aproximadamente 85 kilo Daltones (kDa). Su temperatura óptima es de 60 °C y pH entre 8 y 9. Características relativamente parecidas han sido determinadas para las enzimas de *Achromobacter sp.* y *Rhizobium sp.* No obstante, a diferencia de la enzima carbamato hidrolasa de *Pseudomonas sp.* cepa CRL-OK, la enzima de *Pseudomonas aeruginosa* está formada por un monómero sintetizado constitutivamente por la bacteria, con temperatura óptima de reacción de 45 °C y pH óptimo 8.5. Chapalmadugu y Chaudhry.<sup>61</sup>

Otra de las características en las que difieren estas enzimas es el rango de sustratos N-metilcarbamatos sobre los cuales actúan. Las carbamato hidrolasas parecen ser capaces de hidrolizar un gran número de compuestos con enlaces químicos similares. Estudios realizados para evaluar la afinidad de sustrato de las carbamato hidrolasas, determinaron que la enzima de *Pseudomonas sp.* cepa CRL-OK, presentó afinidad semejante para los plaguicidas carbaril y carbofurán, con menor afinidad para aldicard. No se detectó actividad enzimática para EPTC (dipropiltiocarbamato de etilo), CIPC (isopropil m-cloro carbanilato) y o-NPDC (orto-nitrofenil-dimetilcarbamato). De otro lado, estudios realizados con la hidrolasa de *Rhizobium sp.*, determinaron mayor especificidad en la actividad hidrolítica para carbaril, seguida por propoxur, fenobucard e isoprocard. No se detectó actividad hidrolítica con carbofurán y clorprofam. Hashimoto *et al.*<sup>62</sup>

Ogram *et al.*<sup>63</sup> aislaron de suelos de Washington, 55 microorganismos que pudieron utilizar el carbofurán como única fuente de carbono y/o de nitrógeno. Estudios realizados con carbofurán radio marcado en la cadena lateral y en el anillo aromático, determinaron que todos los aislamientos fueron capaces de mineralizar la cadena lateral del carbofurán, pero sólo dos pudieron mineralizar

el anillo aromático. Una de esas bacterias fue la cepa CF06, un bacilo Gram negativo perteneciente al género *Sphingomonas sp.*, miembro del grupo  $\alpha$  proteobacteria, degrada el anillo aromático del carbofurán, el carbaril, gentisato, ácido procatecuico y metilamina como única fuente de carbono y de energía.

La variación de la actividad de biodegradación dada a las concentraciones de 10, 20 y 30 mg/l de carbofurán referentes a los ensayos con bacterias aisladas a partir de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente, fueron contrastadas mediante el análisis de varianza con los datos obtenidos en cada uno de los tratamientos, a un nivel de confianza del 95% como se muestran en las tablas 11 y 12. Obteniéndose diferencias significativas en los dos ensayos.

Luego del ensayo de biodegradación realizados en laboratorio y logrado la recuperación del consorcio bacteriano con capacidad biodegradadora utilizando agar Busnell Hass enriquecido con 30mg/l de carbofurán y agar nutritivo como medio de purificación, se obtuvieron 22 cepas puras en total tanto para el cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente de acuerdo a las características culturales y coloración Gram como muestra en la tabla N° 09 para el cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" y la tabla N° 10 para el cultivo *Erythroxylum coca* "coca" respectivamente.

Los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium* y *Aeromonas* son reportados como bacterias de interés ambiental que degradan diferentes xenobióticos por Castrejón *et al.*<sup>8</sup> Mosquera y Peñuela<sup>9</sup> Carillo *et al.*<sup>12</sup>, Chaudhry y Ali<sup>64</sup> fueron los primeros en aislar microorganismos de suelos con historia de aplicación de carbofurán, todos correspondieron a bacilos Gram negativos solos o en cadenas cortas, oxidasa y catalasa positivos, pertenecientes a los géneros *Flavobacterium sp.* o *Pseudomonas sp.* Castellanos *et al.*<sup>13</sup> hace referencia sobre la especie *Pseudomonas aeruginosa* son degradadoras de carbofurán obtenidas de suelos bajo cultivo de "papa" y con diferente historia de aplicación de plaguicidas. Chandra *et al.*<sup>10</sup> quienes describen a bacterias como la aplicación de los insecticidas estimuló la población de bacterias, actinomicetos y hongos en los suelos de la rizosfera, y la estimulación fue más pronunciada con forato en comparación con carbofurán. Los números de *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, con carbofurán fueron inhibidos. Tanto los insecticidas persistieron en el suelo de la rizosfera para un corto período de tiempo y la tasa de disipación de carbofurán en la

influencia y persistencia de los insecticidas carbofurán y forato sobre los microorganismos en el campo de arroz.

Por otra parte Chuchón<sup>15</sup> menciona que, la concentración de carbofurán (tratamiento) influye sobre la actividad del consorcio bacteriano, logrando una máxima biodegradación en los tratamientos 40 mg/l y 50 mg/l hasta 18,6 mg y 20,9 mg de carbofurán, lo cual contrastó éstos resultados mediante el análisis de varianza. Los géneros de bacterias que logró identificar fueron: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Areomonas*, y *Citrobacter*. Aisló también dos microorganismos no identificados.

## VI. CONCLUSIONES

1. La actividad biodegradadora del carbofurán mediante el consorcio de bacterias aisladas de suelos de cultivo de *Theobroma cacao* "cacao", muestra una remoción de hasta 90,59%; mientras que la actividad biodegradadora por bacterias aisladas a partir de suelos de cultivo de *Erythroxylum coca* "coca" muestran una remoción de 61,78 % respecto a las concentraciones iniciales.
2. Se aislaron 22 cepas de bacterias con capacidad biodegradadora del carbofurán a partir de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa de los Valles del Río Apurímac, Ene y Mantaro; de las cuales, 11 fueron aisladas a partir de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y 11 a partir de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca".
3. Las diferencias de la actividad biodegradadora de los ensayos entre el consorcio de bacterias aisladas de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca"; está influenciada por el número de microorganismos que fueron inoculadas y por la concentración de carbofurán de cada tratamiento, logrando remover mayor cantidad de pesticida a una concentración inicial de 10 mg/l de carbofurán.
4. El consorcio de bacterias con capacidad biodegradadora de carbofurán, aisladas a partir de suelos agrícolas con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" están conformadas por los géneros: *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Serratia sp.*, *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Aeromonas sp.* ; mientras que el consorcio de bacterias asiladas a partir de suelos agrícolas con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca" están conformadas por: *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Proteus sp.* y cuatro cepas no identificadas.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Continuar con las investigaciones relacionadas a este tema tales como la determinación de la biodegradación de otros xenobióticos contaminantes con la optimización de cepas de consorcios microbianos, entre ellos las bacterias, en condiciones de campo para su aplicación en la biorremediación e inducir a la proliferación de organismos capaces de degradar pesticidas y así recuperar a futuro zonas contaminadas con agroquímicos.
2. Es necesario realizar este tipo de investigación a un nivel experimental con manejo de variables, ya sea con ensayos en distintas temperaturas, distintos volúmenes de inóculo, pH.
3. Promover el manejo adecuado de diversos plaguicidas, respetando la ecología del suelo y cuidado ambiental.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baker DR, Fenyves JG, Moberg WK, Cross B. Overview of Agrochemical Development, En Synthesis and Chemistry of Agrochemicals; Baker, D.R. [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
2. Hayes W, Laws J. General Principles. En Handbook of Pesticides Toxicology, Vol. I; Academic Press: London, U.K., 1991. [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
3. Tomlin C. The Pesticide Manual: A World Compendium; Tomlin, C. Ed.; The British Crop Protection Council: Farnham, Surrey, U.K., 1997 [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
4. Cantoni C, Comi G. Changes in the Concentrations of Pesticide Residues in Food and in Human Tissues Between 1990 and 1996. Outlook on Agriculture, 1997, 26, 47-52. [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
5. Primo E. Necesidad de los Plaguicidas en el Estado Actual de la Tecnología Agrícola. En Ecología Química. Nuevos Métodos de Lucha contra Insectos; Banco de Crédito y Ahorro, Mundo-Prensa: Valencia, Madrid, 1991. [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
6. Van der Werf H. Assessing the Impact of Pesticides on the Environment. Agriculture, Ecosystems and Environment 1996, 60, 81-96. [Internet]. 1 de noviembre de 2011 [citado 15 de setiembre de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/102512688/tesisUPV1501.pdf>
7. Devida.gob.pe, Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas (DEVIDA). Problemática ambiental y la utilización de agroquímicos en la producción de coca [Sede Web]. Lima-Perú: unodc.org; 2010-[acceso 8 de mayo de 2013]. Disponible en:  
[http://www.unodc.org/documents/peruandecuador/Informes/Informes-Analiticos/Informe\\_Analitico\\_Agroquimicos.pdf](http://www.unodc.org/documents/peruandecuador/Informes/Informes-Analiticos/Informe_Analitico_Agroquimicos.pdf)
8. Castrejón M, Sánchez E, Ortiz L. Crecimiento de bacterias aisladas de suelos agrícolas sobre plaguicidas organofosforados como sustrato. Fac. Ciencias Biológicas Lab. Investig Ambient Cent Investig En Biotecnol Univ Autónoma Estado Morelos Av Univ No 1001 Col Chim Cuernavaca Morelos CP 62209 Tel 777 329-7057sanchezbuzonuaemmx Luicadoyahooconmmx [Internet]. 2009; [citado 08 de mayo de 2013]; Recuperado a partir de:  
[http://www.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EC/CAC-11.pdf](http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EC/CAC-11.pdf)
9. Mosquera B, Peñuela M. Biodegradación del malatión utilizando microorganismos nativos de suelos agrícolas. Rev Colomb Cienc Pecu Colomb J Anim Sci Vet Med [Internet]. 13 de julio de 2009 [citado 08 de mayo de 2013]; 22(2):189-98. Recuperado a partir de:  
<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/390>

10. Chandra A, Chakravarty A, Sukul P, Mukherjee D. Influencia y persistencia de los insecticidas carbofurán y forato sobre los microorganismos en el campo de arroz. *Chemosphere [Revista on-line]* 2003 julio. [8 de mayo de 2013]; 1033(5). Disponible en:  
[http://www.researchgate.net/publication/9083376\\_Influence\\_and\\_persistence\\_of\\_phorate\\_and\\_carbofuran\\_insecticides\\_on\\_microorganisms\\_in\\_rice\\_field/file/32bfe50f163f2ca69c.pdf](http://www.researchgate.net/publication/9083376_Influence_and_persistence_of_phorate_and_carbofuran_insecticides_on_microorganisms_in_rice_field/file/32bfe50f163f2ca69c.pdf).
11. Gómez G, Campos N, Dussán J, Suarez A. Selección de un consorcio bacteriano aeróbico de la Ciénaga Grande de Santa Marta con capacidad degradadora del plaguicida organoclorado (Aldrin). *COLACMAR [Revista on-line]* 2003 setiembre. [acceso 18 de abril de 2013]; 26(5). Disponible en:<http://www.alicmar.org/congresos/documentos/decimo/Orales%20Extensos/contaminacion%20varios.pdf>.
12. Carrillo E, Ruiz A, Yeomans H. Aislamiento, Identificación y Evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar DDT. *Univ. Sonora México [Internet]*. 2004 [citado 2 de octubre de 2014]; 20 (2) 69-75. Recuperado a partir de:  
[http://ccaunam.atmosfcu.unam.mx/editorial/rica/acervo/vol\\_20\\_2/3.pdf](http://ccaunam.atmosfcu.unam.mx/editorial/rica/acervo/vol_20_2/3.pdf)
13. Castellanos J, Sánchez J, Uribe D, Moreno L, Marina L, Melgarejo M. Caracterización de Bacterias Degradadoras de Carbofurán Obtenidas de Suelos Bajo Cultivo de Papa y con Diferente Historia de Aplicación de Plaguicidas. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín [Revista on-line]* Noviembre 13, 2012. [acceso 18 de setiembre de 2014] Recuperado a partir de:  
[www.revistas.unal.edu.co/index.php/prefame/article/view/39511](http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/prefame/article/view/39511)
14. Betancur B, Pino N, Gustavo A, Cardona S. Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT. *Revista Gestión y Ambiente Vol. 16 (3): 119-135. [Revista on-line]* Diciembre de 2013. [Acceso 07 de octubre de 2014]; Recuperado a partir de  
[www.redalyc.org/pdf/1694/169429726008.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/1694/169429726008.pdf)
15. Chuchón E. Biodegradación de carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas. Chiara, Ayacucho. [Ayacucho, Perú]: Proyecto de tesis Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2013.
16. Madigan M, Martinko J, Parker J. *Biología de los microorganismos*. 10ª Edición. Madrid-España: Prentice Hall; 2003.
17. Estrada, M. (1998). *Uso Moderado de Plaguicidas en México*. Memorias, Ciclo de conferencias "Hacia una renovación ambiental en México". Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México. [Internet]. 15 de julio de 2013 [citado 30 de agosto de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
[http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico\\_sociedad.pdf](http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico_sociedad.pdf)
18. Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F. (2004). Health effect of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu. Rev. Public Health* 25: 155-197. BRO-RASMUSSEN, F., Noddegard, [Internet]. 15 de julio de 2013 [citado 30 de agosto de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
[http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico\\_sociedad.pdf](http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico_sociedad.pdf)
19. Ferrer A. (2003). Pesticide poisoning. *Annales Sis. San Navarra*. 26: 155-171. [Internet]. 15 de julio de 2013 [citado 30 de agosto de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
[http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico\\_sociedad.pdf](http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico_sociedad.pdf)
20. Weiss B, Amler S, Amler RW. Pesticides. *Pediatrics*. 113: 1030-1036. [Internet]. 15 de julio de 2013 [citado 30 de agosto de 2014]; 47(8):917-23. Recuperado a partir de:  
[http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico\\_sociedad.pdf](http://www.tecnociencia.uach.mx/numeros/numeros...cientifico_sociedad.pdf)

21. Cremlyn R. (1979). *Pesticides, Preparation and Mode of Action*. John Wiley & Sons, 360 pág. N.Y., E.U.A
22. Chapalamadugu S, Chaudhry G. (1992). *Microbiological and Biotechnological Aspects of Metabolism of Carbamates and Organophosphate*
23. Campbell R. (1987). *Ecología Microbiana*. Limusa, 268 pág. México
24. Monterrosas M. (1998). *Biodegradación de Paratión Metílico, en Medio Acuoso y en Suspensión de Suelos*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 58 pág. México.
25. Ortiz-Hernández M, Sánchez-Salinas E, Vázquez-Duhalt R, Quintero-Ramírez R. (1997). *Plaguicidas Organofosforados y Ambiente*. *Biotecnología* 3(2): 129-151. México
26. Cremlyn R. (1990). *Plaguicidas Modernos y su Acción Bioquímica*. Limusa, 356 pág. México
27. Martiniano J. *prevención laboral: Los Plaguicidas la Salud*. [Internet]. 2013 [citado 28 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: <http://prevencioncolonia.blogspot.com/2011/03/los-plaguicidas-y-la-salud.html>
28. Alexander M. *Introducción a la microbiología del suelo*. México D.F.: Editorial AGT S.A.; 1980
29. López CL. *Exposición a plaguicidas organofosforados. Perspectivas en Salud Pública N° 18*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1993. [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
30. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), División Salud y Ambiente. *Plaguicidas y salud en las Américas*, Washington: OMS/OPS, 1993. [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
31. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. *Serie Vigilancia, 9. Plaguicidas organoclorados*. México: OMS/OPS, 1990. [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
32. Briggs SA. Rachel Carson Council. *Basic guide to pesticides. Their characteristics and hazards*. Washington: Taylor & Francis publishers, 1992. [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
33. Al-Saleh I A. *Pesticides: a review article*. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1994; 13:151-161. [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
34. Moses M. *Pesticides*. En: Paul M, editor. *Occupational and environmental reproductive hazards: a guide for clinicians*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993; 296-305. . [Internet]. 2013 [citado 15 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de:

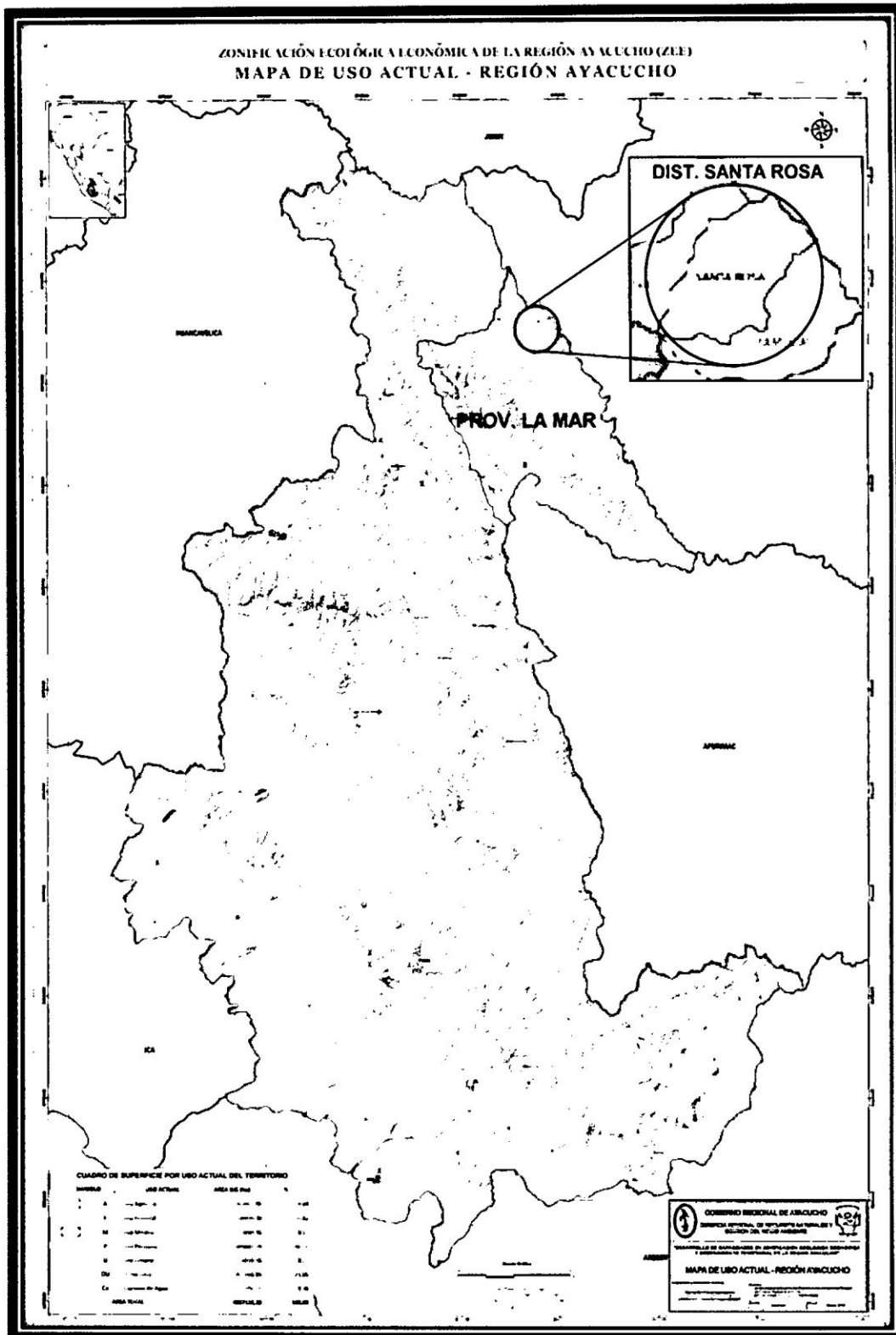
- [http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://psistemamid.companeluploadsbiblioteca2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
35. Ware G, Whitacre D. Introducción a los Pesticidas: Compendio de los Nombres Comunes de los Pesticidas. Mesiter Pro [Internet]. 2004 [citado 10 de diciembre de 2013]; Recuperado a partir de:  
<http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/W&WinsectSP.htm>
  36. O'Malley M. Clinical Evaluation of Pesticide Exposure and Poisoning. The lancet 1997,349, 1161-1166. [Internet]. 2004 [citado 10 de diciembre de 2013]; Recuperado a partir de:  
<http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/W&WinsectSP.htm>
  37. Metcalf RL, Fukuto TR, Collins C, Borck K, Muñoz R, Cassil CC. Metabolism of 2,2-Dimethyl-2,3-dihydrobenzofuranyl-7 N-Methylcarbamate (Furadan) in Plants, Insects, and Mammals. J.Agric. Food Chem. 1968, 16, 300-311.
  38. Maldonado A, Martínez AL. Impacto de las fumigaciones aéreas en las bananeras de Las Ramas-Salitre-Guayas. FEDESO [Internet]. enero de 2007 [citado 8 de mayo de 2014]; Recuperado a partir de: [http://www.rap-al.org/db\\_files/PlaguiAL\\_InfoPa\\_Ecuador\\_Fumig\\_Aereas\\_Banan\\_07.pdf](http://www.rap-al.org/db_files/PlaguiAL_InfoPa_Ecuador_Fumig_Aereas_Banan_07.pdf)
  39. Wood A. 2004. Compendio de los Nombres comunes de los Pesticidas. Universidad de Minnesota, ecuador y empleados igualitarios.
  40. Rap-al.org. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL). Rap-Alorg [Internet]. 2008 [citado 30 de julio de 2013]; Recuperado a partir de:  
[http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Carbofurano\\_Enlace\\_83.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Carbofurano_Enlace_83.pdf)
  41. Tecnología Química y Comercio (TQC). Ficha técnica de carbofor-for 4Fw [Internet]. 2010 [citado 8 de mayo de 2014]. Recuperado a partir de: [http://www.tqc.com.pe/wp-content/uploads/2011/11/carbo\\_for\\_b\\_ficha.pdf](http://www.tqc.com.pe/wp-content/uploads/2011/11/carbo_for_b_ficha.pdf)
  42. Levitus G, Acuña C, Lede S, Parody B, Segretín M. Biorremediación: organismos que limpian el ambiente [Internet]. 2004 [citado 25 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de:  
<http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tip=1&note=36>
  43. Atlas RM, Unterman R. (1999). Bioremediation. In: Demain AL y Davies JE (Eds) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology 2nd ed (pp 666-681), ASM Press, Washington D.C. 33. [Internet]. 2004 [citado 25 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de:  
[www.httpdatateca.unad.edu.cocontenidos358046ENTORNO\\_DE\\_CONOCIMIENTOUNIDAD\\_2Fundam\\_Biorremediacion.pdf](http://www.httpdatateca.unad.edu.cocontenidos358046ENTORNO_DE_CONOCIMIENTOUNIDAD_2Fundam_Biorremediacion.pdf)
  44. Walter MV. (1997). Bioaugmentation. In: Hurst, CJ (Ed) Manual of Environmental Microbiology (pp 753-765). ASM Press, Washington, D.C. [Internet]. 2004 [citado 25 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de:  
[www.ingenierosdeminas.orgdocudocumentosfundamentos\\_%20biorremediacion.pdf](http://www.ingenierosdeminas.orgdocudocumentosfundamentos_%20biorremediacion.pdf)
  45. Callaba A, Miguel E, Llamas F. (eds.) 1998 Terceras Jornadas sobre Suelos Contaminados. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid. 33 [Internet]. 2004 [citado 25 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de:  
[www.ingenierosdeminas.orgdocudocumentosfundamentos\\_%20biorremediacion.pdf](http://www.ingenierosdeminas.orgdocudocumentosfundamentos_%20biorremediacion.pdf)
  46. Eweis JB, Ergas SJ, Chang DP, Schroeder ED. 1999 Principios de biorrecuperación. Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. Ed. Mc Graw- Hill, Madrid. 35
  47. Ortiz Bernad I, Sanz García J, Dorado Valiño M, Villar Fernández S. 2007 Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Col. Informes de

- vigilancia tecnológica N° 6. CITME, CEIM, Universidad de Alcalá, Comunidad de Madrid. Madrid. 36, 41, 42 Disponible [pdf] en [Internet]. 2004 [citado 25 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de: <http://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/Vigilanciaticologica/default.asp>
48. Ochoa DC, y Montoya A. Consorcios microbianos: Una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuaria. Universidad Nacional de Colombia. rev. fac. cienc. econ., Vol. XVIII (2), Diciembre 2010, 55-74 Disponible [pdf] en [Internet]. 2004 [citado 01 de enero de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfce/v18n2/v18n2a04.pdf>
  49. Municipalidad Distrital de Santa Rosa "Mejoramiento y Ampliación de los Servicios Limpieza Publica, Recolección y Disposición Final de los Residuos Sólidos de las Localidades de Santa Rosa, Marintari y Comunpiari del Distrito de Santa Rosa" Provincia La Mar- Ayacucho 2011 [Internet]. mayo de 2011 [citado 2 de octubre de 2014]; 31(4):43-8. Recuperado a partir de: <http://www.cdam.minam.gob.pe/multimedia/guiasnip02Perfiles%20PAT%202011%20STEM%20MINAMPPerfiles%20PAT%20Diplomado%201%20-%202011Santa%20RosaPIP%20Santa%20Rosa.pdf>
  50. SENASA VRAE. Agroquímicos en cien comunidades del VREA [Internet]. Info región. 2009 [citado 01 de octubre de 2014]. Recuperado a partir de: <http://www.inforegion.pe/portada/44532/alistan-campana-de-recojo-de-envases-de-agroquimicos-en-cien-comunidades-del-vrae/>
  51. Info-Región. Agencia de Prensa Ambiental. venta de agroquímicos en zonas coccaleras del VRAEM [Internet]. Info región. 2010 [citado 11 de agosto de 2014]. Recuperado a partir de: <http://www.inforegion.pe/portada/62439/fernan-valer-pide-limitar-venta-de-agroquimicos-en-zonas-coccaleras-del-vrae/>
  52. Nagaraja P, Bhaskara BL. Sensitive spectrophotometric assessment of carbofurán using dapsone as a new chromogenic reagent in formulations and environmental samples. Eclética Quím [Internet]. enero de 2006 [citado 8 de octubre de 2013]; 31(4):43-8. Recuperado a partir de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0100-46702006000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0100-46702006000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
  53. Correa L, Salgado H, Sáenz M, Castro L, Guayazan S, Galdrón MX, et al. Características Agropecuarias de los Cultivos de coca. [Internet]. Unodc; 2010 [citado 25 de julio de 2014]. Recuperado a partir de: <http://www.odc.gov.co/Portals/1/publicaciones/pdf/oferta/estudios/OF04012010-caracteristicas-agropecuarias-cultivos-coca-colombia-.pdf>
  54. Johnson AW. Degradation of Fenamiphos in Agricultural Production Soil. J Nematol [Internet]. marzo de 1998 [citado 6 de octubre de 2014]; 30(1):40-4. Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620284/>
  55. Jones RL, Norris FA. Factors Affecting Degradation of Aldicarb and Ethoprop. J Nematol [Internet]. marzo de 1998 [citado 6 de octubre de 2014]; 30(1):45-55. Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620275/>
  56. Stoorvogel J, Jaramillo R, Merino R, Kosten S. Plaguicidas en el Medio Ambiente [Internet]. Ecuador; 2003 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de: <http://edepot.wur.nl/38625>
  57. Ajona JI, Vidal A. The use of CPC collectors for detoxification of contaminated water: Design, construction and preliminary results. Sol Energy

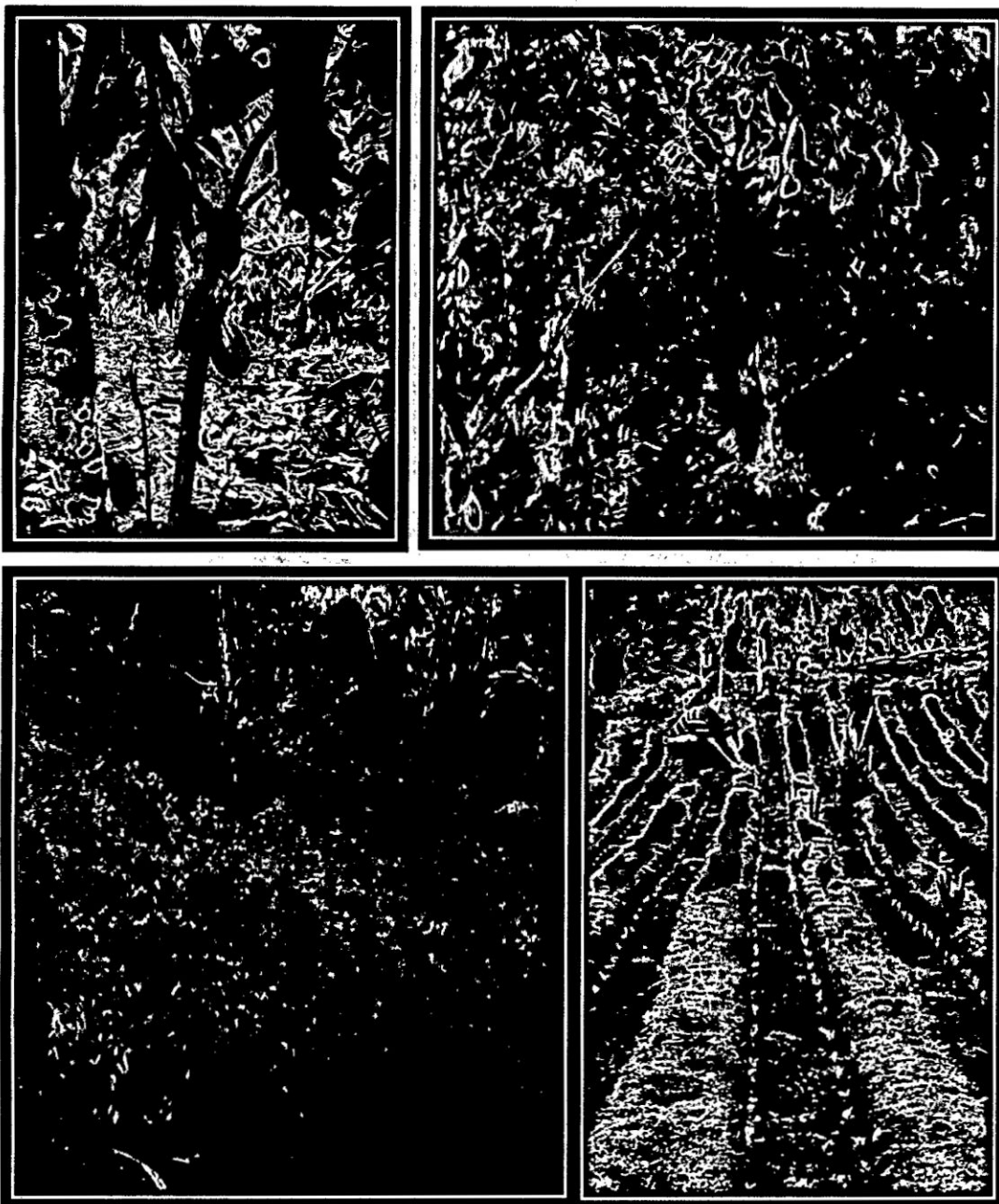
- [Internet]. enero de 2000 [citado 4 de septiembre de 2014]; 68(1):109-20. Recuperado a partir de:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038092X9900047X>
58. Grady CPL. Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. *Biotechnol Bioeng* [Internet]. 1 de mayo de 1985 [citado 27 de agosto de 2014]; 27(5):660-74. Recuperado a partir de:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.260270516/abstract>
  59. Mateen A, Chaudhry GR, Kaskar B, Sardesai M, Bloda M, Bhatti AR, Walia SK. (2002). Induction of carbofurán oxidation to 4-hydroxycarbofurán by *Pseudomonas* sp. 50432. *FEMS Microbiol. Lett.* 214, 171-6. A [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de:  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  60. Mulbry W, Eaton RW. (1991). Purification and characterization of the N-methylcarbamate hydrolase from *Pseudomonas* strain CRL-OK. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 3679-3682. A [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de:  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  61. Chapalmadugu S, Chaudhry GR. (1993). Isolation of a constitutively expressed enzyme for hydrolysis of carbaryl in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 175, 6711-6716. Disponible en [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de:  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  62. Hashimoto M, Fukui M, Hayano K, Hayatsu M. (2002). Nucleotide sequence and genetic structure of a novel carbaryl hydrolase gene (*cehA*) Disponible en [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de from *Rhizobium* sp. Strain AC100. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1220-1227.  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  63. Ogram AV, Duan YP, Trabue SL, Feng X, Castro H, Ou LT. (2000). Carbofurán degradation mediated by three related plasmid systems. *FEMS Microbiol. Ecol.* 32, 197-203. Disponible en [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de:  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  64. Chaudhry GR, Ali AN. (1988). Bacterial metabolism of carbofurán. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1414-1419. Disponible en [Internet]. E; 2012 [citado 22 de setiembre de 2014] p. 62-5. Recuperado a partir de:  
[www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393](http://www.journals.unam.mxojsindex.phpricaarticle...38393)
  65. Plan de desarrollo urbano Santa Rosa 2006-2015 Ministerio de Vivienda, Construcción y saneamiento. Disponible en [Internet]. E; 2006 [citado 15 de setiembre de 2014]. Recuperado a partir de:  
[http://eudora.vivienda.gob.pe/OBSERVATORIO/PAZYDESARROLLO/2006/AYACUCHO\\_LAMAR/PDU\\_SANTA\\_ROSA.pdf](http://eudora.vivienda.gob.pe/OBSERVATORIO/PAZYDESARROLLO/2006/AYACUCHO_LAMAR/PDU_SANTA_ROSA.pdf)
  66. Sociedad Española de Reumatología, Marqués de Duero, 5, 1º, Madrid 28001 Quím [Internet]. enero de 2006 [citado 8 de octubre de 2014]; 31(4):43-8. Recuperado a partir de:  
<http://www.ser.es/wiki/index.php/Dapsona>
  67. Winn H, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. *Diagnóstico microbiológico*. 6ª Edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2008.
  68. Mendo M. *Medios de Cultivo en Microbiología, Manual de Laboratorio*. 5ª ed. Lima: Ediciones Laborales; 2005.

**IX. ANEXOS**

Anexo 1. Mapa del uso actual del territorio regional de Ayacucho y zonas de muestreo.<sup>65</sup>



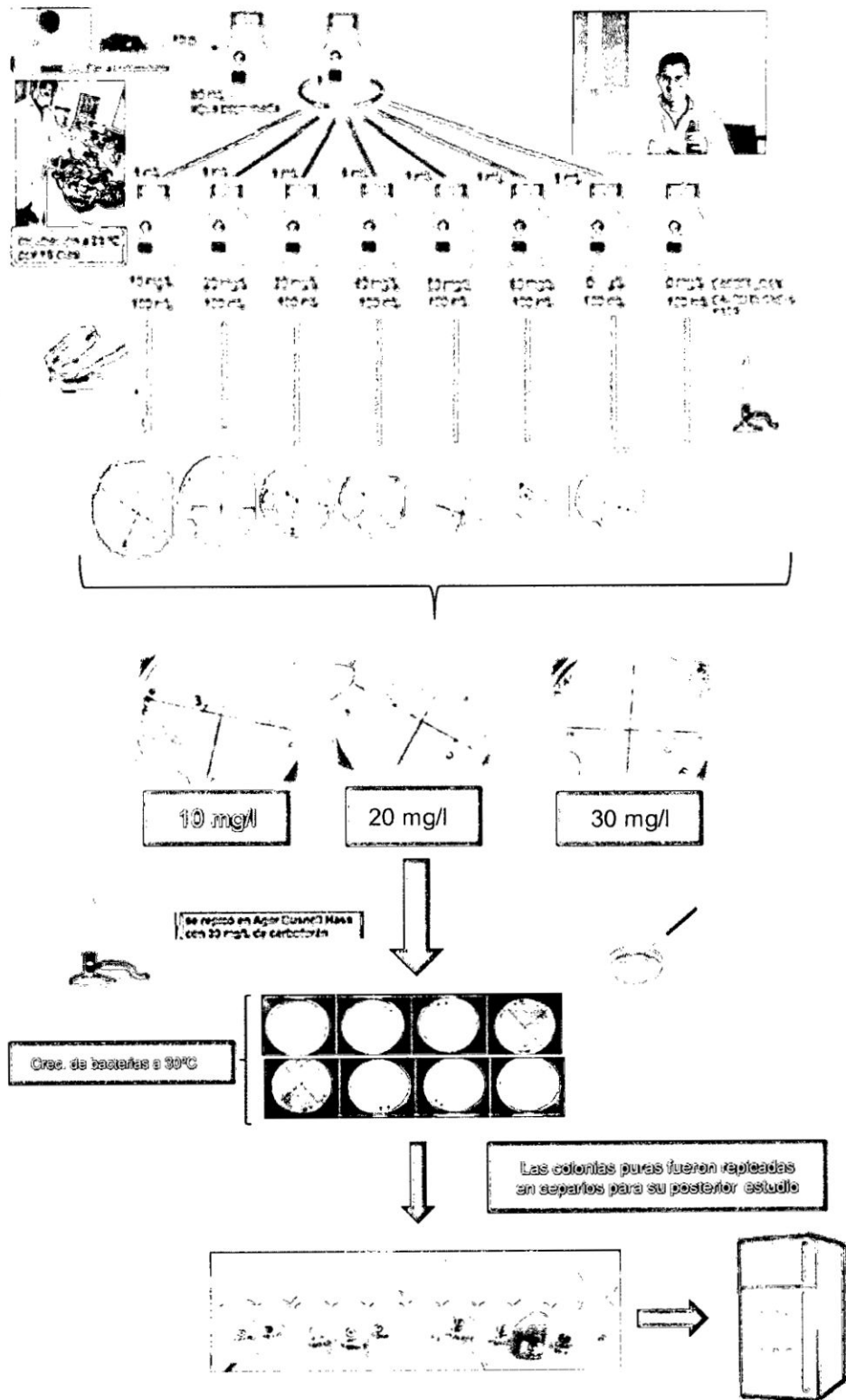
**Anexo 2.** Suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa-VRAEM con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao" y *Erythroxylum coca* "coca", Ayacucho 2014.



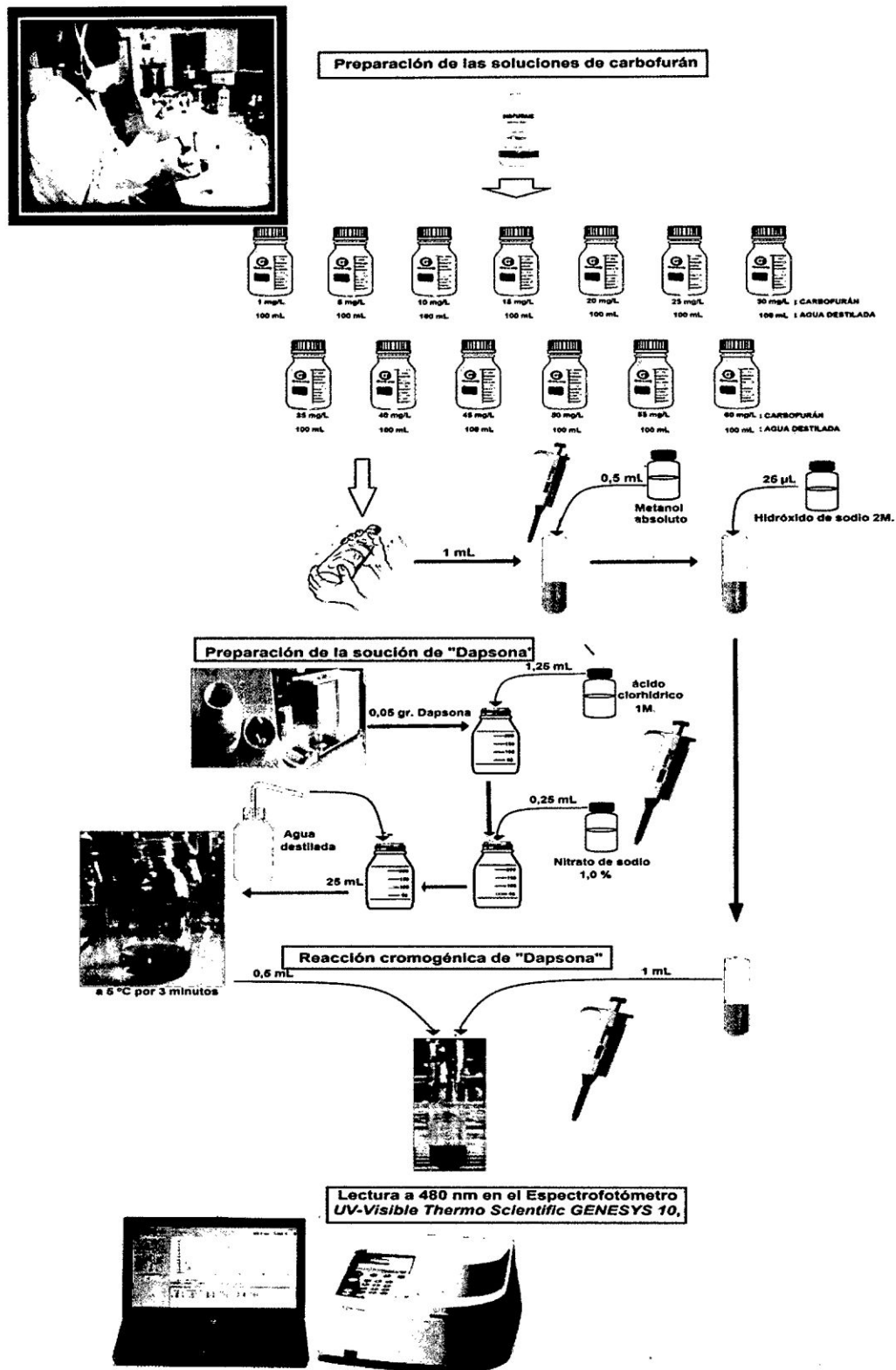
**Anexo 3.** Modo de aplicación de plaguicidas en cultivos de *Erythroxylum coca* "coca", Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



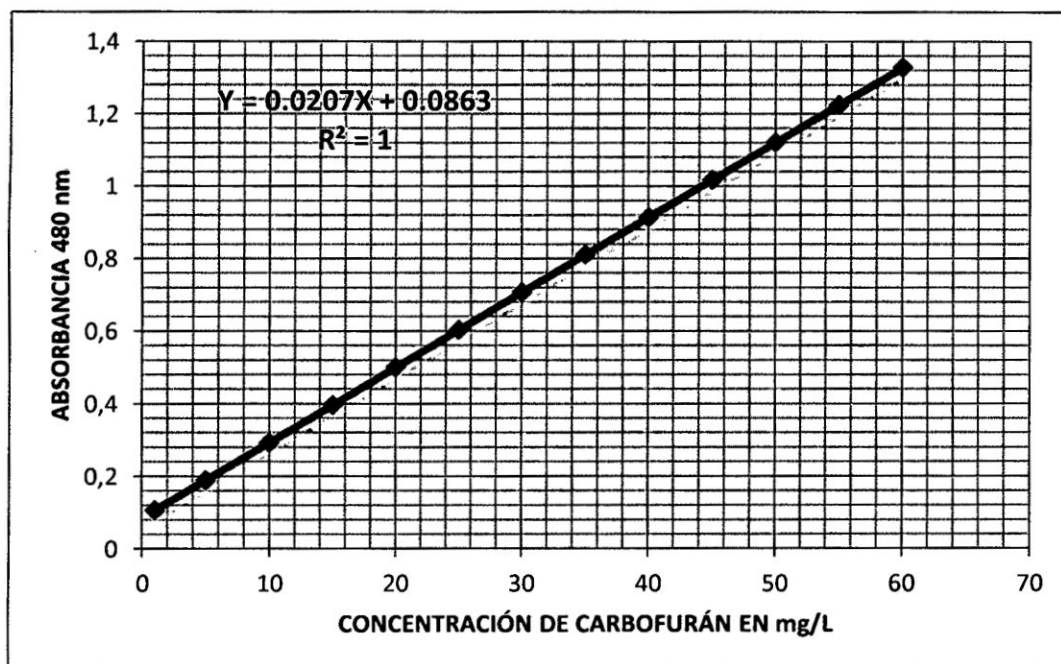
**Anexo 4. Flujoograma del aislamiento de bacterias degradadoras de carbofurán de suelos agrícolas. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.**



**Anexo 5.** Flujoograma de estandarización de la curva patrón por la técnica cromogénica de Dapsona, Ayacucho 2014.



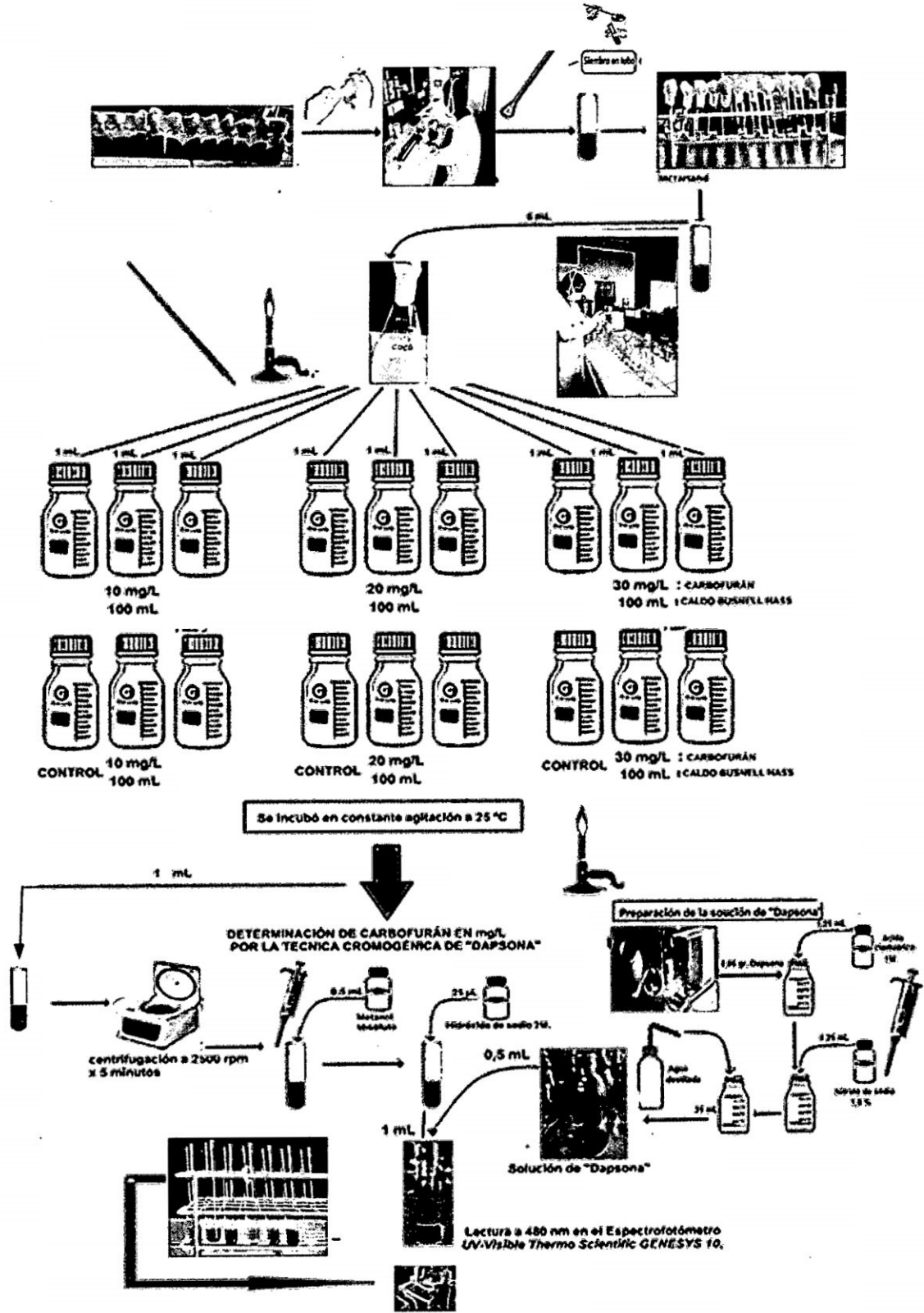
**Anexo 6.** Curva patrón estandarizada de carbofurán. Ayacucho 2014.



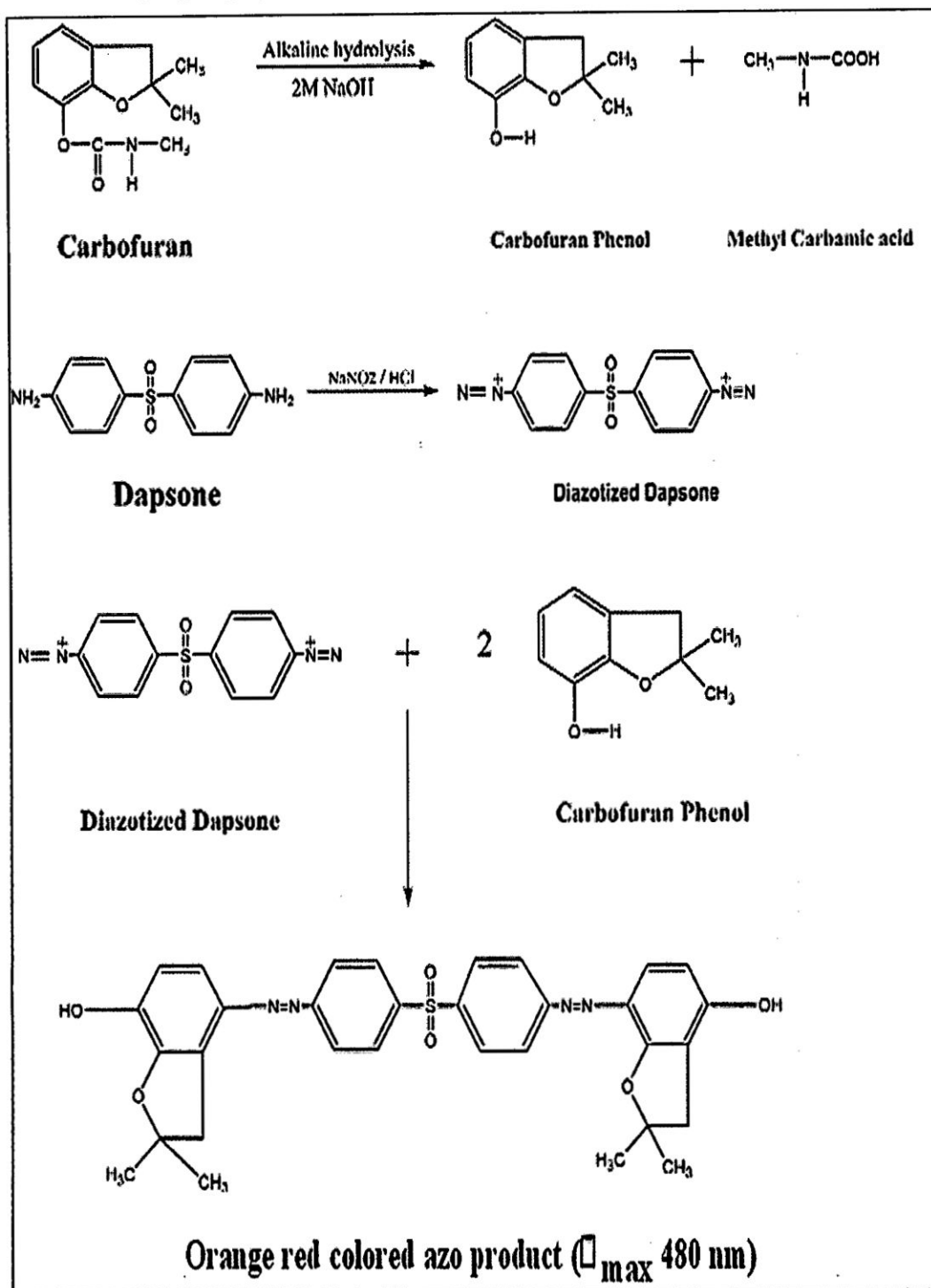
**Anexo 7.** Valores de Absorbancia obtenida y corregida de carbofurán Ayacucho 2014.

<b>Nº</b>	<b>CARBOFURÁN [mg/l]</b>	<b>ABS. OBTENIDA</b>	<b>ABS. CORREGIDA</b>	<b>ECUACIÓN OBTENIDA</b>
1	1 mg/l	0,115	0,107	$Y = 0.0207X + 0,0863$ $R^2 = 0,9961$
2	5 mg/l	0,157	0,1898	
3	10 mg/l	0,269	0,2933	
4	15 mg/l	0,394	0,3968	
5	20 mg/l	0,513	0,5003	
6	25 mg/l	0,650	0,6038	
7	30 mg/l	0,703	0,7073	
8	35 mg/l	0,823	0,8108	
9	40 mg/l	0,916	0,9143	
10	45 mg/l	1,018	1,0178	
11	50 mg/l	1,159	1,1213	
12	55 mg/l	1,204	1,2248	
13	60 mg/l	1,291	1,3283	

**Anexo 8.** Flujoograma de ensayo de biodegradación de carbofurán por el consorcio de bacterias asiladas de suelos agrícolas. Santa Rosa-VRAEM, Ayacucho 2014.



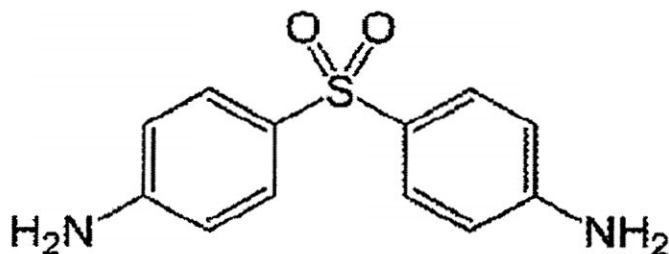
**Anexo 9.** Reacción química de carbofurán con Dapsona en medio alcalino  
(Nagaraaja y Bhaskara.2006.<sup>53</sup>)



## Anexo 10. Características Fisicoquímicas de Dapsona.<sup>66</sup>

- Nombre químico: 4,4-diaminodifenilsulfona.
- Fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S.
- Peso molecular: 248,30 g/mol.
- Características físicas: polvo cristalino, blanco o amarillo pálido sin olor.
- Punto de fusión: 175-176 °C (existe una forma con un punto de fusión de 180.5 °C).
- Solubilidad: Casi insoluble en agua, ligeramente soluble en etanol y muy soluble en acetona
- Características especiales: producto fotosensible

Es un antibiótico bacteriostático, pero no bactericida, usado para el tratamiento de la lepra, malaria, desórdenes dermatológicos de origen autoinmune, acné, artritis reumatoide y además tiene algunas propiedades quimioterapéuticas.



Estructura química de DAPSONA

**Anexo 11. Valores de absorbancia en relación a diferentes concentraciones de carbofurán obtenidas durante el ensayo de biodegradación por bacterias aisladas a partir de suelos con cultivos de *Theobroma cacao* "cacao".**

Nº	ENSAYO	REPETICIÓN	0º día	5 días	10 días	15 días	20 días	25 días	30 días	35 días	40 días	45 días	60 días
1		10 mg/l	0,388	0,326	0,314	0,303	0,311	0,263	0,253	0,251	0,25	0,23	0,168
2		10 mg/l	0,295	0,293	0,248	0,247	0,271	0,246	0,237	0,215	0,164	0,051	0,05
3	I	10 mg/l	0,268	0,291	0,286	0,279	0,209	0,211	0,211	0,201	0,118	0,11	0,107
4		Suma	0,951	0,91	0,848	0,829	0,791	0,72	0,701	0,667	0,532	0,391	0,325
5		Promedio	0,317	0,303	0,283	0,276	0,264	0,240	0,234	0,222	0,177	0,130	0,108
6		10 mg/l	0,301	0,309	0,299	0,302	0,295	0,299	0,291	0,293	0,292	0,292	0,286
7		10 mg/l	0,306	0,274	0,273	0,279	0,258	0,291	0,281	0,289	0,265	0,285	0,281
8	BLANCO	10 mg/l	0,261	0,281	0,276	0,259	0,284	0,241	0,259	0,247	0,273	0,243	0,246
9		Suma	0,868	0,864	0,848	0,84	0,837	0,831	0,831	0,829	0,83	0,82	0,813
10		Promedio	0,289	0,288	0,283	0,280	0,279	0,277	0,277	0,276	0,277	0,273	0,271
11		20 mg/l	0,497	0,475	0,488	0,416	0,475	0,44	0,44	0,437	0,417	0,41	0,402
12		20 mg/l	0,578	0,576	0,575	0,537	0,494	0,533	0,428	0,423	0,421	0,105	0,1
13	II	20 mg/l	0,499	0,533	0,408	0,514	0,511	0,453	0,415	0,413	0,41	0,406	0,396
14		Suma	1,574	1,584	1,471	1,467	1,48	1,426	1,283	1,273	1,248	0,921	0,898
15		Promedio	0,525	0,528	0,490	0,489	0,493	0,475	0,428	0,424	0,416	0,307	0,299
16		20 mg/l	0,475	0,48	0,477	0,53	0,48	0,511	0,509	0,597	0,599	0,569	0,537
17		20 mg/l	0,599	0,55	0,565	0,524	0,53	0,527	0,517	0,532	0,519	0,511	0,545
18	BLANCO	20 mg/l	0,536	0,53	0,525	0,524	0,55	0,525	0,523	0,402	0,469	0,539	0,455
19		Suma	1,61	1,56	1,567	1,578	1,56	1,563	1,549	1,531	1,587	1,619	1,537
20		Promedio	0,537	0,52	0,522	0,526	0,52	0,521	0,516	0,510	0,529	0,540	0,512
21		30 mg/l	0,788	0,796	0,544	0,466	0,405	0,484	0,481	0,456	0,411	0,313	0,305
22		30 mg/l	0,769	0,777	0,688	0,57	0,611	0,635	0,621	0,618	0,607	0,605	0,6
23	III	30 mg/l	0,729	0,711	0,699	0,601	0,71	0,649	0,647	0,647	0,646	0,64	0,609
24		Suma	2,286	2,284	1,931	1,637	1,726	1,768	1,749	1,721	1,664	1,558	1,514
25		Promedio	0,762	0,761	0,644	0,546	0,575	0,589	0,583	0,574	0,555	0,519	0,505
26		30 mg/l	0,755	0,74	0,783	0,774	0,735	0,761	0,761	0,757	0,721	0,741	0,743
27		30 mg/l	0,765	0,767	0,741	0,727	0,738	0,732	0,705	0,708	0,752	0,729	0,741
28	BLANCO	30 mg/l	0,753	0,764	0,736	0,758	0,766	0,7122	0,735	0,736	0,722	0,715	0,633
29		Suma	2,273	2,271	2,26	2,259	2,239	2,2052	2,201	2,201	2,195	2,185	2,117
30		Promedio	0,758	0,757	0,753	0,753	0,746	0,735	0,734	0,734	0,732	0,728	0,706

**Anexo 12.** Valores de absorbancia en relación a diferentes concentraciones de carbofurán obtenidas durante el ensayo de biodegradación por bacterias aisladas a partir de suelos con cultivos de *Erythroxylum coca* "coca".

N°	ENSAYO	REPETICIÓN	0° día	5 días	10 días	15 días	20 días	25 días	30 días	35 días	40 días	45 días	60 días
1		10 mg/l	0,311	0,299	0,226	0,256	0,239	0,216	0,275	0,24	0,197	0,189	0,18
2		10 mg/l	0,264	0,282	0,226	0,246	0,24	0,24	0,23	0,225	0,127	0,12	0,11
3	I	10 mg/l	0,285	0,259	0,226	0,246	0,238	0,236	0,217	0,215	0,218	0,213	0,2
4		Suma	0,86	0,84	0,678	0,748	0,717	0,692	0,722	0,68	0,542	0,522	0,49
5		Promedio	0,287	0,280	0,226	0,249	0,239	0,231	0,241	0,227	0,181	0,174	0,163
6		10 mg/l	0,301	0,296	0,295	0,295	0,295	0,286	0,299	0,288	0,298	0,295	0,295
7		10 mg/l	0,288	0,285	0,287	0,299	0,278	0,289	0,286	0,291	0,295	0,292	0,281
8	BLANCO	10 mg/l	0,291	0,29	0,288	0,271	0,296	0,299	0,277	0,294	0,257	0,236	0,279
9		Suma	0,88	0,871	0,87	0,865	0,869	0,874	0,862	0,873	0,85	0,823	0,855
10		Promedio	0,293	0,290	0,290	0,288	0,290	0,291	0,287	0,291	0,283	0,274	0,285
11		20 mg/l	0,491	0,479	0,49	0,482	0,461	0,456	0,451	0,348	0,336	0,33	0,31
12		20 mg/l	0,481	0,488	0,478	0,472	0,47	0,45	0,478	0,41	0,408	0,406	0,363
13	II	20 mg/l	0,489	0,479	0,447	0,435	0,445	0,44	0,45	0,445	0,428	0,418	0,411
14		Suma	1,461	1,446	1,415	1,389	1,376	1,346	1,379	1,203	1,172	1,154	1,084
15		Promedio	0,487	0,482	0,472	0,463	0,459	0,449	0,460	0,401	0,391	0,385	0,361
16		20 mg/l	0,522	0,521	0,519	0,498	0,506	0,495	0,4497	0,501	0,499	0,485	0,481
17		20 mg/l	0,502	0,498	0,499	0,507	0,504	0,498	0,489	0,5	0,482	0,485	0,456
18	BLANCO	20 mg/l	0,497	0,486	0,484	0,498	0,493	0,486	0,499	0,487	0,477	0,483	0,496
19		Suma	1,521	1,505	1,502	1,503	1,503	1,479	1,438	1,488	1,458	1,453	1,433
20		Promedio	0,507	0,502	0,501	0,501	0,501	0,493	0,479	0,496	0,486	0,484	0,478
21		30 mg/l	0,699	0,687	0,634	0,611	0,611	0,61	0,649	0,63	0,61	0,605	0,6
22		30 mg/l	0,631	0,629	0,564	0,508	0,606	0,61	0,547	0,539	0,487	0,48	0,42
23	III	30 mg/l	0,692	0,68	0,61	0,658	0,637	0,63	0,63	0,62	0,62	0,618	0,612
24		Suma	2,022	1,996	1,808	1,777	1,854	1,85	1,826	1,789	1,717	1,703	1,632
25		Promedio	0,674	0,665	0,603	0,592	0,618	0,617	0,609	0,596	0,572	0,568	0,544
26		30 mg/l	0,701	0,695	0,704	0,695	0,699	0,693	0,701	0,689	0,698	0,695	0,669
27		30 mg/l	0,703	0,702	0,711	0,693	0,697	0,701	0,695	0,698	0,688	0,665	0,667
28	BLANCO	30 mg/l	0,699	0,698	0,685	0,697	0,691	0,685	0,686	0,698	0,677	0,681	0,695
29		Suma	2,103	2,095	2,1	2,085	2,087	2,079	2,082	2,085	2,063	2,041	2,031
30		Promedio	0,701	0,698	0,700	0,695	0,696	0,693	0,694	0,695	0,688	0,680	0,677

**Anexo 13.** Prueba de Tukey para la comparación de diferencia entre las medias de los distintos tratamientos en relación a diferentes concentraciones de carbofurán en el ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos con cultivo de *Theobroma cacao* "cacao".

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
10 mg/l	11	7,0475				
10 mg/l blanco	11	9,3135				
20 mg/l	11		17,2362			
20 mg/l blanco	11			21,0966		
30 mg/l	11				24,8735	
30 mg/l blanco	11					31,5622
<b>Sig.</b>		,377	1,000	1,000	1,000	1,000

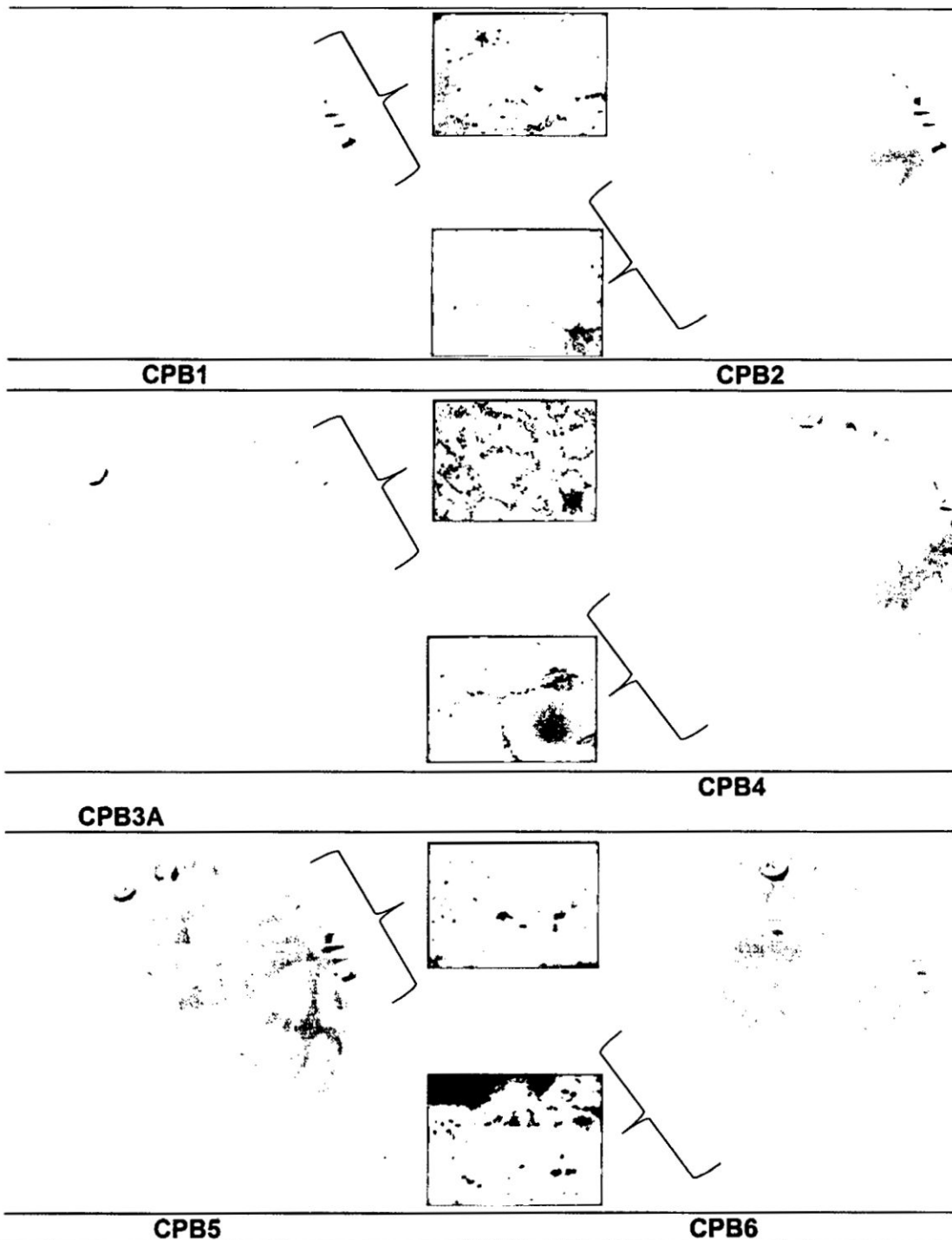
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 11,000.

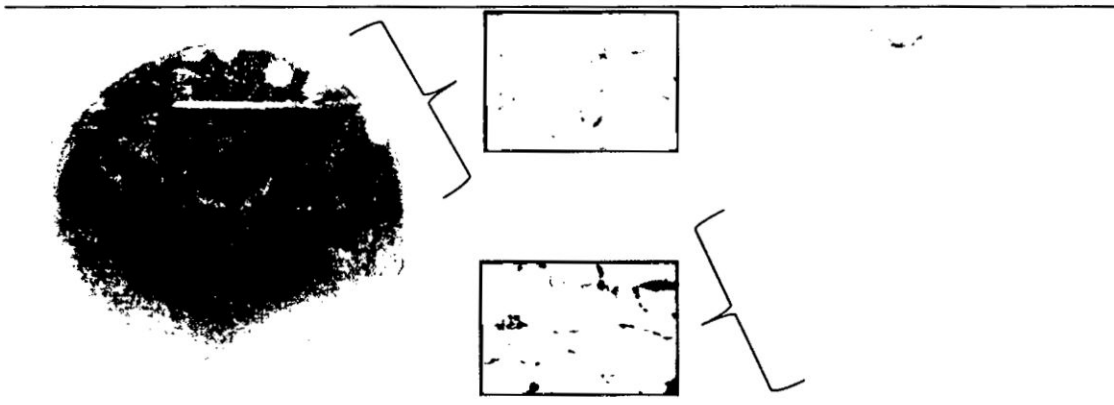
**Anexo 14.** Prueba de Tukey para la comparación de diferencia entre las medias de los distintos tratamientos en relación a diferentes concentraciones de carbofurán en el ensayo de biodegradación con bacterias aisladas de suelos con cultivo de *Erythroxyllum coca* "coca".

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
10 mg/l	11	6,8015					
10 mg/l blanco	11		9,7178				
20 mg/l	11			16,9553			
20 mg/l blanco	11				19,6694		
30 mg/l	11					25,0712	
30 mg/l blanco	11						29,2828
<b>Sig.</b>		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 11,000.

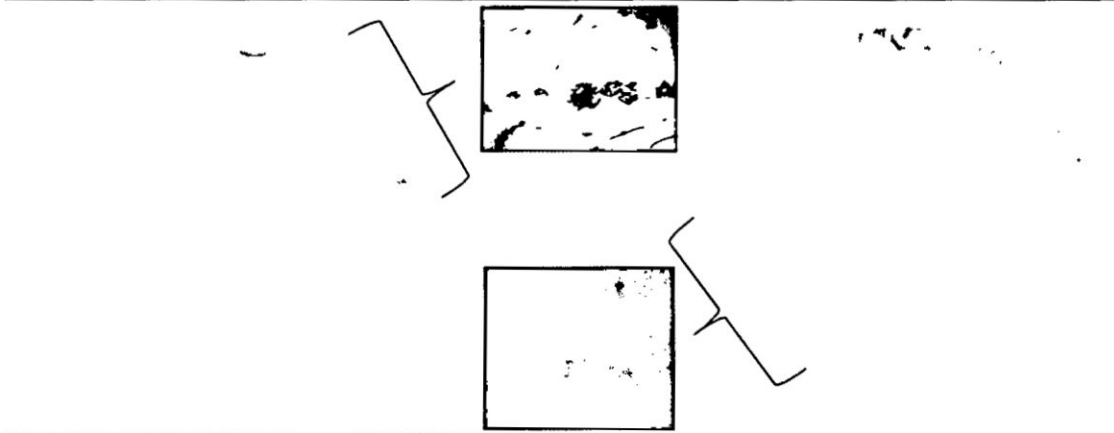
**Anexo 15.** Características macroscópicas mostradas en agar nutritivo y microscópicas de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del cultivo de *Theobroma cacao* "cacao" Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.<sup>67</sup>





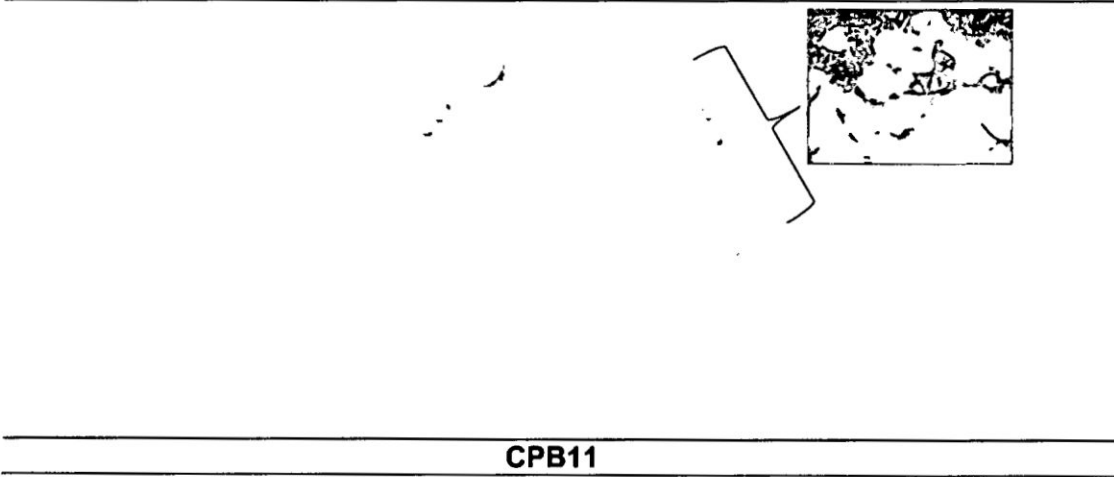
**CPB7**

**CPB8**



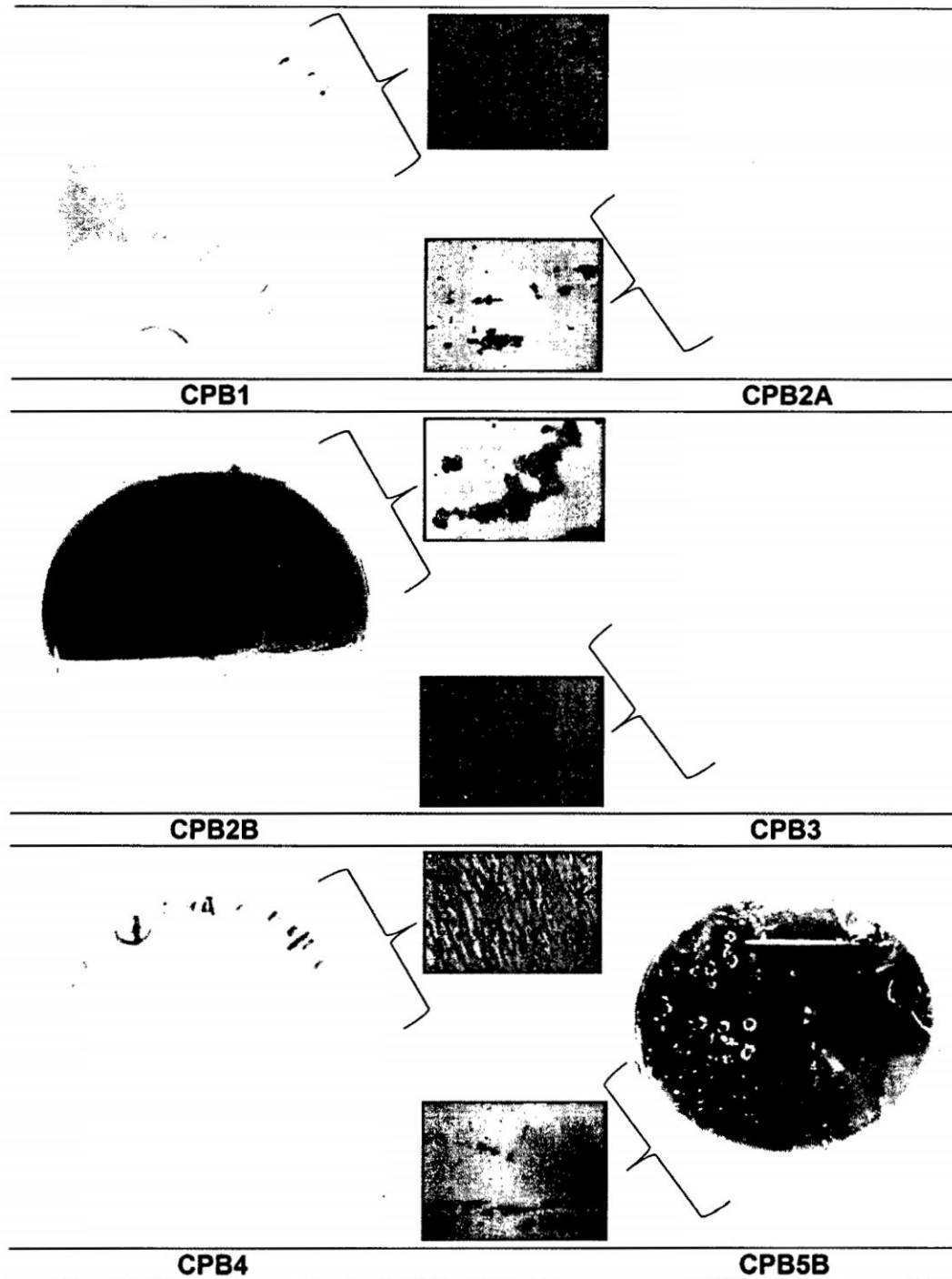
**CPB9**

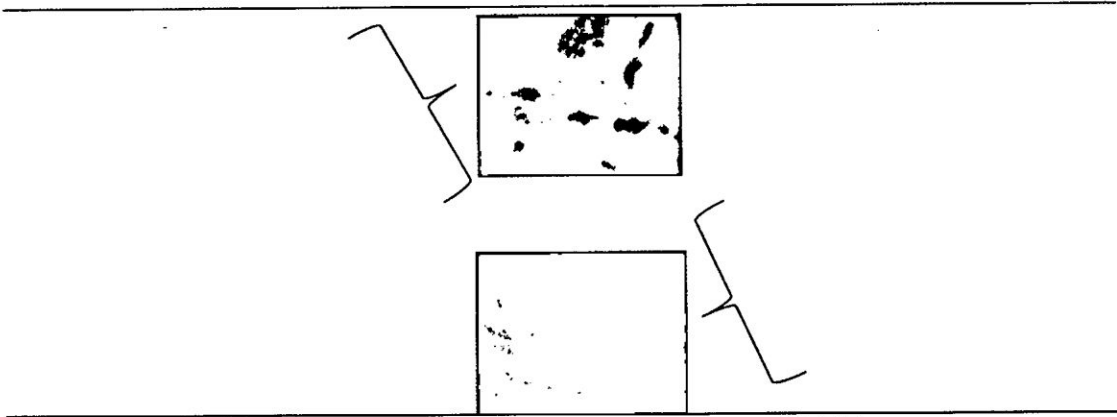
**CPB10**



**CPB11**

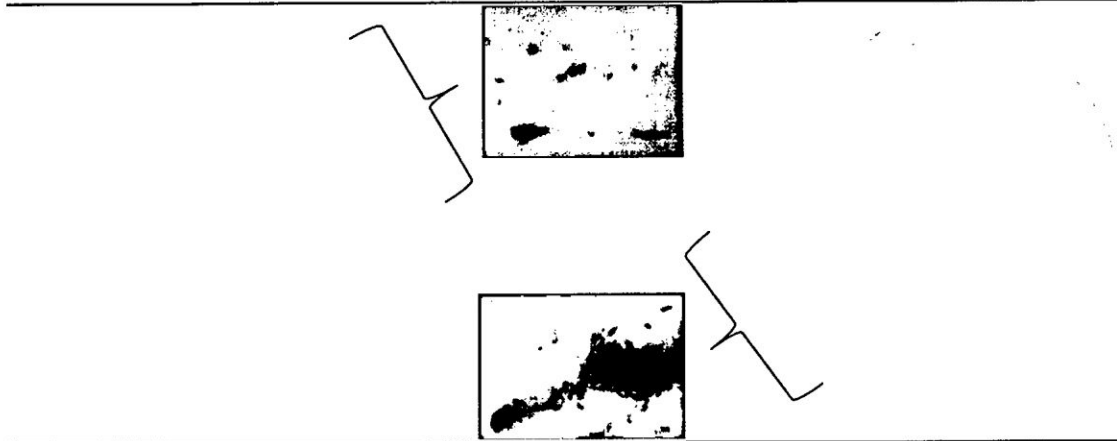
**Anexo 16.** Características macroscópicas mostradas en agar nutritivo y microscópicas de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán del cultivo de *Erythroxylum coca* "coca". Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.<sup>66</sup>





**CPB6**

**CPB7**



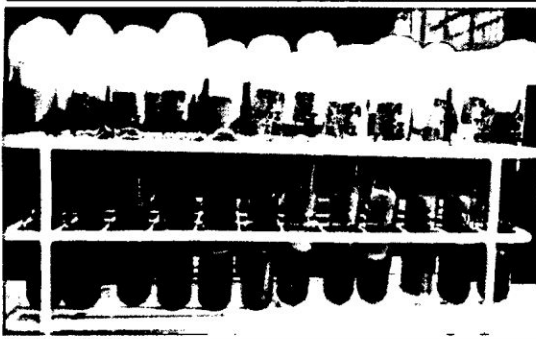
**CPB8**

**CPB9**



**CPB10**

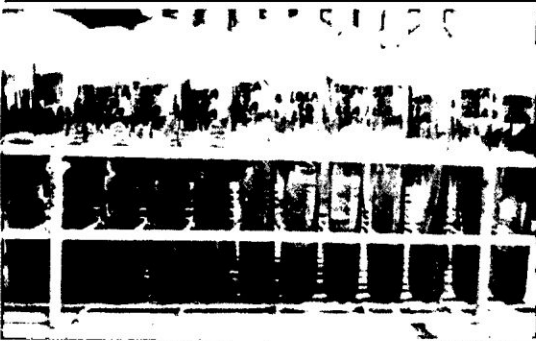
Anexo 17. Identificación bioquímica de cepas bacterianas con capacidad biodegradadora de carbofurán. Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2014.<sup>68</sup>



**Agar triple azúcar y hierro**



**TSI para su control**



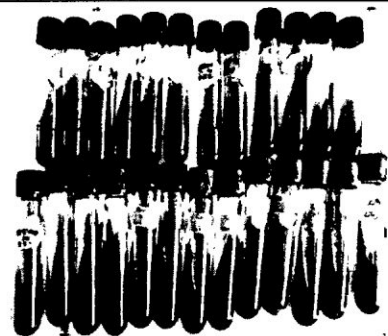
**Agar lisina hierro**



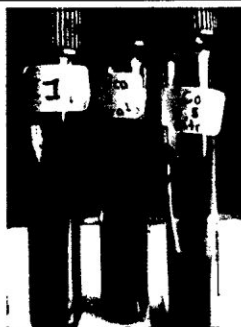
**LIA para su control**



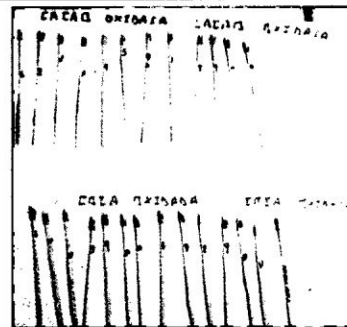
**SIM**



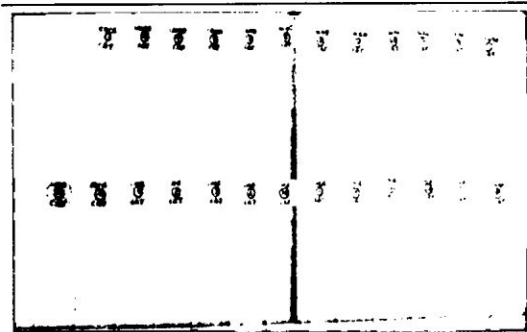
**CITRATO**



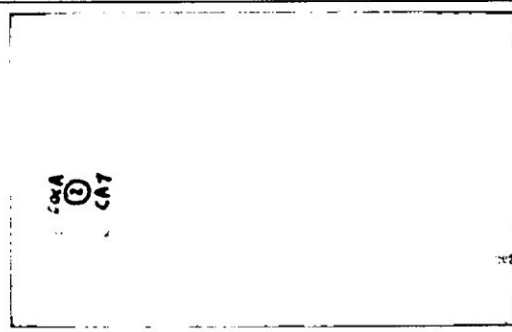
**CITRATO con su control**



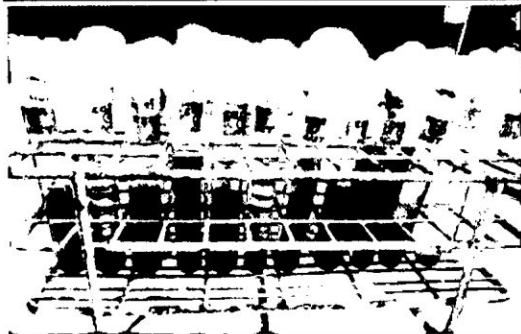
**PRUEBA OXIDASA**



**PRUEBA CATALASA**



**POSITIVO EN PRUEBA CATALASA**



**CALDO NITRATO**



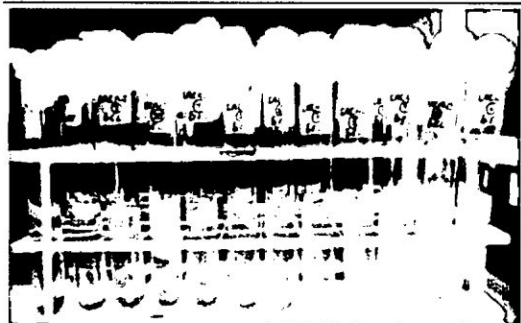
**NITRATO para su control**



**PRUEBA DE LA COAGULASA**



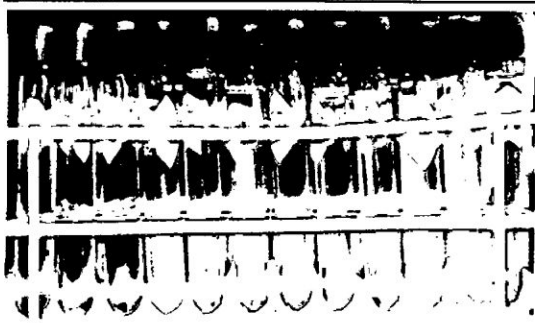
**COAGULASA para su control**



**PRUEBA DE LA GELATINASA**



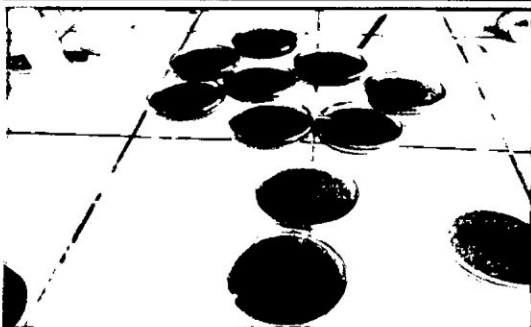
**GELATINASA para su control**



**PRUEBA DE VOGES PROSKAUER**



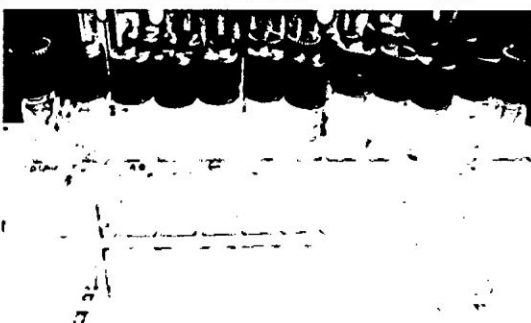
**V. PROSKAUER para su control**



**AGAR SANGRE**



**RESULTADOS DE AGAR SANGRE**



**CALDO UREA**



**UREA para su control**

## Anexo 18. MATRIZ DE CONSISTENCIA

### BIODEGRADACIÓN DE CARBOFURÁN POR BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS AGRÍCOLAS DEL DISTRITO DE SANTA ROSA VRAEM, AYACUCHO 2013.

BIODEGRADACIÓN DE CARBOFURÁN POR BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS AGRÍCOLAS DEL DISTRITO DE SANTA ROSA VRAEM, AYACUCHO 2013.		VARIABLES E INDICADORES		METODOLOGÍA	
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	
<p><b>1. PROBLEMA GENERAL</b> ¿Tendrán la capacidad de degradadora carbofurán las bacterias aisladas a partir de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013?</p> <p><b>2. PROBLEMA ESPECÍFICO</b> ¿Se logrará aislar bacterias con capacidad del biodegradadora de carbofurán de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013?</p> <p>¿Cuál será la capacidad de biodegradadora del carbofurán en mg/l por bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013?</p> <p>¿Qué géneros de bacterias tendrán capacidad de degradadora del carbofurán aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013?</p>	<p><b>1. OBJETIVO GENERAL</b> Determinar la capacidad de biodegradadora del carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013</p> <p><b>2. OBJETIVO ESPECÍFICO</b> Aislar bacterias con capacidad de biodegradadora del carbofurán de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013</p> <p>Evaluar la capacidad de biodegradadora del carbofurán en mg/l por bacterias aisladas de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013</p> <p>Identificar los principales géneros de bacterias con capacidad de degradadora del carbofurán aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013.</p>	<p><b>1. HIPÓTESIS GENERAL</b> La microbiota de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa ésta constantemente sometida a sustancias xenobióticas con diversos pesticidas como el carbofurán por lo que existe bacterias degradadoras del carbofurán.</p> <p><b>2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</b> Existen bacterias con capacidad biodegradadora del carbofurán en suelos agrícolas con cultivo de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013</p> <p>La concentración de carbofurán disminuye en mg/l por la capacidad degradadora de los bacterias aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013</p> <p>La capacidad degradadora del carbofurán se manifiesta por los géneros más representativos de bacterias degradadoras de pesticidas aisladas de suelos agrícolas con cultivos de "coca" y "cacao" del distrito de Santa Rosa VRAEM, Ayacucho 2013.</p>	<p><b>1- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> Química de los pesticidas 1.1.1. Organofosforados 1.1.2. Insecticidas carbamatos. 1.1.2.1. Carbofurán.  a. Usos b. Modo de acción c. Persistencia d. Efectos en la salud e. Efectos n el medio ambiente 1.2. Biorremediación 1.2.1. Tipos de biorremediación 1.2.2. Degradación microbiana de plaguicidas</p> <p><b>2. ANTECEDENTES</b> 1.-Crecimiento de bacterias aisladas de suelos agrícolas sobre plaguicidas organofosforados como sustrato. 2.-Biodegradación del malation utilizando microorganismos nativos de suelos agrícolas". 3.-La degradación microbiana de carbofurán en suspensión de la tierra de arroz". 4.-"La caracterización metodológica y degradación bacteriana del carbofurán de las tierras de granjas hortícolas en el Valle de la Henedura y Kenya Central" 5.-"Elección de un consorcio bacteriano aeróbico de la ciénaga grande de santa marta con capacidad degradadora del plaguicida organoclorado (ALDRIN)"</p>	<p><b>1. VARIABLE PRINCIPAL:</b> - Degradación del carbofurán</p> <p><b>Indicador</b> - Concentración de carbofurán en mg/l.</p> <p><b>2- VARIABLE SECUNDARIA:</b> - Bacterias degradadoras de carbofurán</p> <p><b>Indicador</b> - Género de bacterias degradadoras de carbofurán</p>	<p><b>1. TIPO DE INVESTIGACIÓN</b> - Descriptivo</p> <p><b>2-NIVEL DE INVESTIGACIÓN</b> - Básico</p> <p><b>3.DISEÑO</b> - Transversal</p> <p><b>4.MÉTODO</b> - Analítico</p> <p><b>5. POBLACIÓN</b> Microbiota de suelos agrícolas del distrito de Santa Rosa</p> <p><b>6. MUESTRA</b> Suelos Agrícolas y su microbiota con mayor actividad agraria de "coca" y con resistencia a insecticidas seleccionadas al azar en el distrito de Santa R osa.</p> <p><b>7. TÉCNICA</b> Método cromogénico de Dapsona</p>