

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

**CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:
EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE UN INSECTICIDA
PIRETROIDE EN MUESTRAS DE SUELO DE CULTIVO DE PAPA
MEDIANTE LA ADICIÓN DE *Trichoderma harzianum* Y *Pleurotus ostreatus***

**AUTORA:
EVELYN GABRIELA TORRES GRANDA**

**TUTOR:
LAURA ELIZABETH HUACHI ESPÍN**

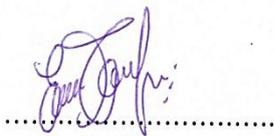
Quito, marzo de 2017

Cesión de derechos de autor

Yo, Evelyn Gabriela Torres Granda, con documento de identificación N° 1722459078, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy/somos autor/es del trabajo de grado/titulación intitulado: “Evaluación de la biodegradación de un insecticida piretroide en muestras de suelo de cultivo de papa mediante la adición de *Trichoderma harzianum* y *Pleurotus ostreatus*”, mismo que se ha desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor/es me/nos reservo/reservamos los derechos morales de la obra antes citada.

En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



Evelyn Gabriela Torres Granda

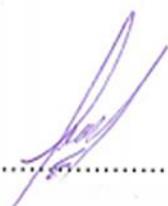
C.I: 1722459078

Quito, marzo de 2017

Declaración de coautoría del docente tutora

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, "Evaluación de la biodegradación de un insecticida piretroide en muestras de suelo de cultivo de papa mediante la adición de *Trichoderma harzianum* y *Pleurotus ostreatus*", realizado por Evelyn Gabriela Torres Granda, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, marzo de 2017



.....

Laura Elizabeth Huachi Espín

C.I: 1711113744

Dedicatoria

A mi padre, Eduardo, quien luchó con fuerza y perseverancia para entregar a su esposa e hijos toda su vida, ejemplo de sacrificio y trabajo.

A mi madre Rosita, por estar siempre a mi lado, por sus consejos y por demostrarme que a pesar de la adversidad se puede surgir.

A mi esposo Carlos, quien con su amor y ternura supo luchar a mi lado.

A mi hermosa hija Amy quien es el motor de mi vida y fuente de inspiración.

A mis hermanos Freddy, Enrique y Diana, mis cuñados Vicky, Suky y Leonardo y a mis sobrinitos Britney, Aaron, Andrés y Camila, por su constante apoyo y cariño.

Por ustedes y para ustedes por su confianza y amor infinito, mi trabajo.

Agradecimientos

A la Universidad Politécnica Salesiana por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

A MSc. Laura Huachi, mi directora de tesis, por su valiosa amistad, por su constante y paciente seguimiento y asistencia compartiendo su tiempo de manera generosa durante el desarrollo de la presente investigación.

Al grupo de profesionales del Laboratorio de la Comisión Atómica de la Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares del Ministerio de Energía y Recursos Renovables, por su guía y ayuda en los análisis realizados en la investigación.

A mis amigas y amigos por las palabras de aliento, las experiencias compartidas y por su apoyo en momentos difíciles.

Índice

Introducción	1
Marco conceptual	6
1.1. Insecticidas Piretroides	6
1.1.1. Piretroides usados en cultivo de papa en Carchi	7
1.1.2. Clasificación y estructura	7
1.1.3. Propiedades físicoquímicas	8
1.1.4. Estabilidad y persistencia	8
1.1.5. Degradación de los piretroides en el ambiente	9
1.1.6. Toxicidad y su relación con la estereoquímica	10
1.1.7. Toxicocinética y toxicodinamia	11
1.1.8. Interacción de los piretroides en el ambiente y la salud.....	12
1.2. Biorremediación	13
1.2.1. Micorremediación	14
1.2.1.1. <i>Trichoderma harzianum</i>	15
1.2.1.2. <i>Pleurotus ostreatus</i>	18
2. Metodología.....	25
2.1. Fase de campo	25
2.1.1. Georreferenciación de los sitios de muestreo.....	25
2.1.2. Muestreo de suelo	26
2.1.2.1. Muestreo de suelo para análisis físicos químicos.	26
2.1.2.2. Muestreo de suelo para obtención de <i>T. harzianum</i>	26

2.1.3.	PIRI	26
2.1.4.	Obtención de setas de <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
2.1.4.1.	Traslado de las muestras	27
2.1.4.2.	Desarrollo de setas de <i>P. ostreatus</i> en cámara climatizada	27
2.2.	Fase de laboratorio	28
2.2.1.	Descripción del lugar	28
2.2.2.	Medio de cultivo empleado	29
2.2.3.	Aislamiento e identificación de <i>Trichoderma harzianum</i>	29
2.2.3.1.	Identificación macroscópica	29
2.2.3.2.	Identificación microscópica	30
2.2.3.3.	Purificación	30
2.2.3.4.	Conservación	31
2.2.3.5.	Inoculación de <i>Trichoderma harzianum</i> al suelo con piretroide ..	32
2.2.3.5.1.	Preparación de la solución	32
2.2.3.5.2.	Conteo de esporas	32
2.2.3.5.3.	Inoculación.....	34
2.2.4.	Aislamiento e identificación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	34
2.2.4.1.	Propagación micelial de <i>Pleurotus ostreatus</i>	34
2.2.4.2.	Identificación macroscópica	35
2.2.4.3.	Identificación microscópica	35
2.2.4.3.	Resiembras	36
2.2.4.4.	Preparación del inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	36

2.2.4.4.1.	Preparación de la solución	36
2.2.4.4.2.	Conteo de basidióforos	36
2.2.4.4.3.	Inoculación.....	37
2.2.4.5.	Inoculación de mix fúngico a suelo con piretroide.....	37
2.2.5.	Montaje del experimento.....	37
2.2.5.1.	Preparación de las unidades experimentales.....	37
2.2.5.2.	Tratamientos del experimento	38
2.2.5.3.	Diseño experimental	39
2.2.5.4.	Variables del ensayo	39
2.2.5.4.1.	Temperatura y humedad	39
2.2.5.4.2.	pH y conductividad eléctrica	39
2.2.6.	Análisis fisicoquímicos	40
2.2.7.	Determinación cualitativa y cuantitativa del piretroide	41
2.2.7.1.	Extracción de las muestras de suelo mediante una variación del método de QuEChERS.....	41
2.2.7.2.	Condiciones del cromatógrafo de gases (CG)	42
3.	Resultados.....	43
3.1.	Aislamiento e identificación de <i>T. harzianum</i>	43
3.1.1.	Identificación macroscópica	43
3.1.2.	Identificación microscópica	44
3.2.	Aislamiento e identificación de <i>P. ostreatus</i>	45
3.2.1.	Identificación macroscópica	45

3.2.2.	Identificación microscópica	46
3.3.	Análisis físicoquímicos del suelo	47
3.4.	Análisis estadístico	49
3.4.1.	Temperatura	49
3.4.2.	Humedad	50
3.4.3.	Potencial de hidrógeno (pH)	52
3.4.4.	Conductividad Eléctrica	54
3.5.	Análisis de concentración del insecticida piretroide en el suelo al inicio y al final del ensayo.....	55
3.6.	PIRI	58
	Conclusiones	60
	Recomendaciones.....	61
	Bibliografía	62
	Anexos	72

Índice de tablas

Tabla 1. Reporte de registro de insecticidas piretroides permitidos	7
Tabla 2. Identidad química de los piretroides utilizados.....	8
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de los piretroides	8
Tabla 4. Taxonomía de <i>Trichoderma harzianum</i>	16
Tabla 5. Taxonomía de <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
Tabla 6. Tratamientos aplicados a las unidades de experimentación.....	38
Tabla 8. Metodologías empleadas para análisis fisicoquímicos	40
Tabla 9. Análisis cromatográfico analizado, metodología y unidades.....	41
Tabla 10. Características del piretroide cypermetrina patrón	42
Tabla 11. Identificación macroscópica de <i>T. harzianum</i>	43
Tabla 12. Identificación microscópica de <i>T. harzianum</i>	44
Tabla 13. Identificación macroscópica de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i>	45
Tabla 14. Identificación microscópica de esporas de <i>P. ostreatus</i>	46
Tabla 15. Análisis fisicoquímicos del suelo (principio y final del proyecto)	47
Tabla 16. Análisis de varianza de temperatura. Tukey al 5%	49
Tabla 17. Análisis de varianza de humedad. Tukey al 5%	50
Tabla 18. Análisis de varianza de pH. Tukey al 5%	52
Tabla 19. Análisis de varianza de conductividad eléctrica. Tukey al 5%	54
Tabla 20. Degradación del insecticida piretroide.....	55
Tabla 21. Análisis de varianza de degradación del piretroide. Tukey al 5%	55
Tabla 22. Datos de toxicidad y movilidad del piretroide obtenidos de PIRI	58

Índice de figuras

Figura 1. Isomerismo en el anillo ciclopropano.....	10
Figura 2. Los ciclos catalíticos de las enzimas peroxidasas (LiP y MnP) en su reacción con H ₂ O ₂ para formar los radicales libres Mn ⁺³ y AV ⁺	21
Figura 3. Ciclo catalítico de las enzimas citocromo P-450 monooxigenasas.	22
Figura 4. Reacciones globales de los sistemas enzimáticos.....	23
Figura 5. Determinación del lugar de muestreo.	25
Figura 6. Método para la conservación y preservación <i>Trichoderma harzianum</i> ...	31
Figura 7. Área dentro de los subcompartimentos rojos para conteo de conidios.....	33
Figura 8. Localización de campos 1 y 2 en la cámara de Neubauer	33

Índice de fórmulas

Fórmula 1. Conteo de conidias/mL	33
Fórmula 2. Conteo de esporas/mL.....	37

Índice de anexos

Anexo 1. Ciclo reproductivo de <i>P. ostreatus</i>	72
Anexo 2. Clasificación de los insecticidas según su toxicidad aguda	73
Anexo 3. Clasificación de los métodos de biorremediación	74
Anexo 4. Datos de altura (m.s.n.m) y coordenadas (UTM).....	75
Anexo 5. Gráfica promedio del porcentaje de degradación por cada tratamiento.....	76
Anexo 6. Información PIRI.....	77
Anexo 7. Procedimientos y resultados de los análisis fisicoquímicos.....	78
Anexo 8. Procedimiento de cuantificación de piretroides	87
Anexo 9. Resultados análisis de cuantificación de piretroides	90
Anexo 10. Fase de campo (recolección de muestras de suelo).....	95
Anexo 11. Fase de laboratorio (identificación, aislamiento y masificación).....	96
Anexo 12. Concentración de inóculos	100
Anexo 13. Datos de variables (Temperatura, Humedad, C.E y pH).....	101
Anexo 14. Análisis estadístico	107

Resumen

El ensayo se llevó a cabo en San Fernando de Guamaní en Quito, con el objetivo de evaluar la biodegradación de un insecticida piretroide en muestras de suelo de cultivo de papa, mediante la adición de *T. harzianum* y *P. ostreatus*. La fase de campo consistió en la georreferenciación del lugar de muestreo en el sector de El Capulí en la provincia del Carchi y la obtención de muestras de suelo. La semilla de *P. ostreatus* se obtuvo en Calacalí. En la fase de laboratorio se realizaron los análisis físicoquímicos y de cuantificación del piretroide en las muestras de suelo (al inicio y al final del ensayo); en esta fase también se realizó el aislamiento, la masificación y obtención del inóculo de cada una de las especies fúngicas. En el ensayo se empleó un diseño experimental basado en un DCA con 4 repeticiones y 4 tratamientos, T0 (testigo); T1 (suelo + *T. harzianum* + piretroide); T2 (suelo + *P. ostreatus* + piretroide); T3 (suelo + *T. harzianum* y *P. ostreatus* + piretroide). Las variables estudiadas fueron temperatura, humedad, pH y conductividad eléctrica. El T3 tuvo un porcentaje de biodegradación de 92,57% superando al resto de los tratamientos. Los resultados presentados en esta investigación muestran que *T. harzianum* y *P. ostreatus* son capaces de biodegradar al insecticida piretroide, lo que confirma su potencial y efectiva aplicación, por lo tanto, la biorremediación es una excelente alternativa en procesos de degradación de contaminantes.

Palabras clave: biodegradación, biorremediación, *T. harzianum*, *P. ostreatus*, piretroides.

Abstract

The experiment was carried out in “San Fernando de Guamaní”, Quito, with the objective of evaluating the biodegradation of a pyrethroid insecticide in potato soil samples by the addition of *T. harzianum* and *P. ostreatus*. The field consisted in georeferencing the sampling site in the “El Capulí” sector in the province of Carchi and obtaining soil samples. *P. ostreatus* seed was obtained in Calacalí. In the laboratory phase, the analysis and quantification of the pyrethroid were performed in the soil samples (at the beginning and at the end of the test); In this phase also the isolation, massification and obtaining of the inoculum of each one of the fungic species was realized. The experimental design was based on a DCA with 4 replicates and 4 treatments, T0 (control); T1 (soil + *T. harzianum* + pyrethroid); T2 (soil + *P. ostreatus* + pyrethroid), T3 (soil + *T. harzianum* + *P. ostreatus* + pyrethroid). The variables studied were temperature, humidity, pH and electrical conductivity. T3 had a biodegradation percentage of 92.57%, surpassing the rest of the treatments. The results presented in this research show that *T. harzianum* and *P. ostreatus* are able to biodegrade the pyrethroid insecticide, confirming its potential and effective application, therefore, bioremediation is an excellent alternative in contaminant degradation processes.

Keywords: biodegradation, bioremediation, *T. harzianum*, *P. ostreatus*, pyrethroid

Introducción

El cultivo de papa es uno de los rubros más importantes de los sistemas de producción en la provincia de Carchi, ubicada en el Norte del Ecuador, constituye una fuente importante de alimentación e ingresos para la familia campesina (Reinoso, 2011). Es así que, debido a las bondades de esta planta, un porcentaje significativo de agricultores se dedica a esta actividad. Aunque la papa ha sido un cultivo básico en los Andes durante mucho tiempo, el crecimiento poblacional ha conducido a la intensificación agrícola basada en el uso de insumos externos, especialmente insecticidas.

El empleo de insecticidas ha permitido un aumento en la producción de papa, pero ha tenido impactos al ambiente y a la salud. Además, esta intensificación ha contribuido a la marcada pérdida de calidad del suelo, saturándolo de insecticidas que han condicionado sus características fisicoquímicas y microbiológicas. Ecológicamente hay reducciones de la fertilidad de los suelos y un aumento de problemas de plagas (Crissman, Yanggen, & Espinosa, 2002).

En la Provincia del Carchi, en el 100% de parcelas cultivadas con papa, utilizan insecticidas, cada parcela recibe más de siete aplicaciones con 3 insecticidas en cada una. Según (Crissman, Espinosa, & Barrera, 2002) los agricultores usan más de 18 formulaciones de diferentes de insecticidas, incluidos los piretroides.

Los piretroides han proporcionado una mejora significativa en la producción agrícola y en la historia del crecimiento económico de esta provincia, permitiendo a los campesinos pasar de la agricultura de manutención a la producción comercial, elevando con eficacia los ingresos de las familias rurales, sin embargo, también han

ejercido un importante efecto adverso en el ambiente, por lo que los agricultores se resisten a abandonar los productos sobre los que parece haberse edificado su sustento.

La aplicación de los piretroides y los residuos generados, su mal manejo y disposición incontrolada, son importantes causas de contaminación ambiental, principalmente del recurso suelo (Semple, 2003, págs. 809-818). Los piretroides, en general, permanecen por más tiempo en el ambiente que las piretrinas debido a que la modificación química de su fórmula los hace más estables a la luz y al calor. Los piretroides poseen una tasa de degradación moderada en suelos. Su vida media está relacionada con el tipo de suelo (Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas en América Latina, 2009).

Las nuevas tecnologías han hecho énfasis en el desarrollo y aplicación de estrategias de remediación sostenibles, cumpliendo los microorganismos un rol importante en la descontaminación de los suelos, denominadas como “tecnologías de biorremediación”, son menos costosas y menos destructivas comparadas con las tecnologías de tratamientos físicos y químicos (Atlas, 1998, págs. 666-681).

La biorremediación utiliza microorganismos tolerantes y capaces de degradar estos compuestos xenobióticos. La micorremediación es una forma de biorremediación en la que se emplean hongos para descontaminar un área, en concreto a través del uso de micelios (Boullosa, 2011). Este tipo de biorremediación tiene ciertas ventajas sobre las bacterias, puesto que por el desarrollo micelial son capaces de penetrar los sustratos hasta alcanzar la fuente de carbono (Varsha, Naga, & Chenna, 2011).

Las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma* han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito de la biodegradación de compuestos xenobióticos por su compleja actividad enzimática. Esta capacidad bioquímica permite vislumbrar el potencial de aplicación de *T. harzianum* en la biorremediación de sitios

contaminados teniendo con ello una relevancia ecológica (Argumedo, 2009, págs. 257-269).

P. ostreatus es un hongo que se ha identificado con mayores potencialidades para ser empleado con fines de biorremediación. Dentro de las enzimas constituyentes del complejo multienzimático ligninolítico de *P. ostreatus* se encuentra la lacasa, la cual participa en la degradación de la lignina y compuestos similares en ausencia de lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa, capaz de romper una gran cantidad de enlaces diferentes y, por lo tanto, de degradar una gran variedad de compuestos orgánicos (Mayer, 2002, págs. 551-565).

Por lo tanto, la biorremediación de suelos contaminados utilizando organismos vivos como *T. harzianum* y *P. ostreatus*, es una técnica que favorecería al Buen Vivir, considerando que, el artículo 14 de la Constitución de la República del Ecuador reconoce que:

“El derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y *sumak kawsay*, la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados. Manteniendo un ambiente sano y sustentable que garantice a las personas y colectividades el acceso equitativo, permanente de calidad al agua, aire y suelo, y a los beneficios de los recursos del subsuelo y del patrimonio natural” (2013).

La presente investigación tiene como objetivo principal evaluar la biodegradación de un insecticida piretroide en muestras de suelos de cultivo de papa mediante la adición

de *T. harzianum* y *P. ostreatus*. Y como objetivos específicos: obtener las esporas de los hongos *T. harzianum* y *P. ostreatus* por técnicas microbiológicas, determinar la concentración del insecticida piretroide en muestras de suelo de cultivo de papa y evaluar la capacidad biotransformadora de *T. harzianum* y *P. ostreatus* en las muestras de suelo de cultivo de papa. A demás se presentan y se analizan los diferentes mecanismos enzimáticos empleados por los hongos y *T. harzianum* y *P. ostreatus* para degradar el insecticida piretroide.

Se plantearon dos hipótesis, la alternativa (Ha) que establece que *T. harzianum* y *P. ostreatus* podrán biodegradar el insecticida piretroide de las muestras de suelo de cultivo de papa; la nula (Ho) que establece que *T. harzianum* y *P. ostreatus* no podrán biodegradar el insecticida piretroide de las muestras de suelo de cultivo de papa.

La investigación consistió en fase de campo y de laboratorio. La fase de campo se realizó en el sector “El Capulí” del Cantón San Gabriel en la provincia del Carchi, que es considerada como una importante zona productora de papa. Mediante georreferenciación se determinaron los lugares de muestreo y con la técnica de tresbolillo se recolectaron las muestras de suelo para el análisis de cuantificación de piretroides y también muestras de suelo para la obtención de cepas nativas de *T. harzianum*. El micelio del hongo *P. ostreatus* se obtuvo en la granja “Fungus garden” ubicada en Calacalí, al noroccidente de Quito, y fue trasladado hasta un terrario climatizado con todas las condiciones ideales para la maduración del hongo hasta obtener el cuerpo fructífero con esporas.

La fase de laboratorio se realizó en tres laboratorios, en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cayambe, se realizaron los análisis físicoquímicos y textura del suelo del suelo agrícola. Para la cuantificación del

piretroide en las muestras de suelo se emplearon técnicas de química analítica que se llevaron a cabo en el laboratorio de la Comisión de Energía Atómica perteneciente al Ministerio de Energía y Recursos Renovables. El equipo empleado fue un cromatógrafo de gases con detector de espectroscopía de masas que, debido a la eficaz separación de la cromatografía de gases y la alta capacidad de detección del espectrómetro de masas, fue posible identificar el piretroide de interés de una compleja muestra (López D. , 2012). En los laboratorios de Ciencias de la Vida en la Universidad Politécnica Salesiana, campus El Girón, se realizaron procedimientos de aislamiento (cultivo, diluciones, y caracterización de las cepas) por medio de técnicas microbiológicas pertinentes para cada una de las especies. La concentración de los inóculos se determinó mediante el recuento en una cámara Neubauer hasta obtener la concentración final requerida que fue de 10^4 .

Se empleó el programa PIRI (Pesticide Impact Index Rating) versión libre 2015 para evaluar al insecticida piretroide en función del potencial impacto sobre la calidad del agua y la salud del ecosistema

El diseño experimental consistió en un DCA con 4 repeticiones y 4 tratamientos, T0 (suelo + piretroide); T1 (suelo + *T. harzianum* + piretroide); T2 (suelo + *P. ostreatus* + piretroide); T3 (suelo + *T. harzianum* y *P. ostreatus* + piretroide), obteniéndose 16 unidades experimentales, el análisis estadístico estuvo en función de promedios y ANOVA con Tukey al 5% para las variables (temperatura, pH, humedad y conductividad eléctrica). El programa estadístico empleado fue InfoStat versión libre 2013.

Capítulo 1

Marco conceptual

1.1. Insecticidas Piretroides

Los piretroides, son análogos sintéticos de las piretrinas naturales, ésteres tóxicos aislados de las flores secas del crisantemo (Santos, Areas, & Reyes, 2007, págs. 339-349), obtenidos por extracción, con disolventes metanol, acetona, etc., (Romano, 2008). Debido a su amplio espectro de acción contra todo tipo parásitos externos (insectos rastreros, voladores y ectoparásitos) se usan abundantemente para el control de plagas en la agricultura, en salud pública, la industria alimentaria, la higiene doméstica y la producción animal (Manuel, 2009).

La primera generación de piretroides, eran más activos que el piretro natural, pero eran inestables a la luz solar (López D. , 2012). Poco tiempo después del descubrimiento de la primera generación, la actividad insecticida de estos piretroides sintéticos mejoró con la adición de un grupo ciano para formar alfaciano piretroides (tipo II), tales como la cypermetrina (Bradberry, 2005). La segunda generación de piretroides, eran mucho más resistentes a la degradación por la luz y el aire, que los hizo adecuados para su uso en la agricultura, sin embargo, tenían significativamente alta residualidad, bioacumulación y carcinogénesis y por otra parte el alto efecto tóxico en organismos no plaga y contaminación a cuerpos de agua y suelo (Ártigos, 2012).

En general, estos compuestos son poco solubles en agua, tienen bajas presiones de vapor, y su persistencia en el ambiente depende de su estructura. Por ejemplo, los piretroides de última generación, como la cypermetrina, son fotoestables y de baja volatilidad (Environmental Protection Agency, 2010).

1.1.1. Piretroides usados en cultivo de papa en Carchi

Investigaciones realizadas por (Crissman, Espinosa, & Barrera, 2002), indican que el uso de insecticidas en Carchi está concentrado en el cultivo de papa. Los agricultores utilizan insecticidas piretroides para lograr un rendimiento por encima del promedio del cultivo de papa. Aunque no se emplean insecticidas prohibidos o contrabandeados, varios insumos agroquímicos notablemente peligrosos son comúnmente utilizados para controlar problemas fitosanitarios del cultivo, insectos tales como: *Premnotrypes vorax* o comúnmente llamado gusano blanco y *Epitrix cucumeris* (pulguilla) que causan daños que pueden superar el 60% de pérdidas de los tubérculos.

Los piretroides son los más difundidos en el mercado y vienen formulados como concentrados emulsionables, polvos humectables, gránulos y concentrados para aplicación de ultra bajo volumen.

Tabla 1. Reporte de registro de insecticidas piretroides permitidos y más utilizados en cultivo de papa en Ecuador

Nombre comercial	Ingrediente activo	Formulación	Dosis	Categoría Toxicológica	Plagas que controla
Latigo	Cypermtrina	Concentrado emulsionable	250 cc/ha	III	<i>Epitrix cucumeris</i> (Pulguilla) <i>Premnotrypes vorax</i> (Gusano blanco)
Pirestar	Permetrina	Concentrado emulsionable	0,65 g/L	II	
Karate	λ -Cihalotrina	Concentrado emulsionable	0,4 L/ha	III	

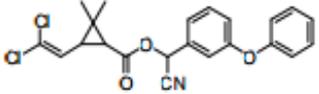
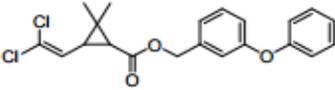
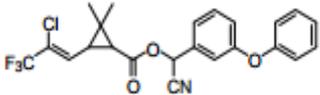
Nota: Adaptado de Lista de plaguicidas registrados. Fuente: (AGROCALIDAD, 2016). Elaborado por: La autora, 2016.

1.1.2. Clasificación y estructura

La química y la actividad de los piretroides permite clasificarlos en dos grupos (Tipo I y Tipo II) dependiendo del sustituyente alcohol. El grupo Tipo I es muy amplio e incluye a los piretroides que contienen el grupo desciano-3-fenoxibencilo (p. ej. aletrina, permetrina, tetrametrina, cismetrina y d-fenotrina). En cuanto a los piretroides de Tipo II, están más estrechamente definidos en términos de su estructura

química puesto que contienen específicamente el grupo α -ciano-3- fenoxibencilo (p. ej. cypermctrina, deltametrina, fenvalerato y fenpropatrin) (Bloomquist, 1999).

Tabla 2. Identidad química de los piretroides utilizados en cultivo de papa en Ecuador.

Nombre común (n° CAS)	Nombre CAS	Estructura química
Cypermctrina [52315-07-8]	Ciano (3-fenoxifenil) metil éster del ácido 3-(2,2- dicloroetenil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxílico	
Permetrina [52645-53-1]	(3-fenoxifenil) metil éster del ácido 3-(2,2- dicloroetenil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxílico	
λ -Cihalotrina [91465-08-6]	mezcla 1:1 de: (R)-ciano (3-fenoxifenil) metil éster del ácido (1S,3S)- 3-[(1Z)-2-cloro-3,3,3-trifluoro-1- propen-1-il]-2,2-dimetilciclopropanocarboxílico (S)-ciano (3-fenoxifenil) metil éster del ácido (1R,3R)- 3-[(1Z)-2-cloro-3,3,3-trifluoro-1- propen-1-il]-2,2-dimetilciclopropanocarboxílico	

Nota: Adaptado de la Tesis Estudio del comportamiento fotoquímico y determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción. Fuente: (Fernández M. , 2009, pág. 19). Elaborado por: La autora, 2016.

1.1.3. Propiedades fisicoquímicas

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de los piretroides más utilizados en cultivo de papa en Ecuador

Insecticida	Presión de vapor mmHg (25 °C)	Coefficiente de partición log K_{ow}	Solubilidad en agua mg L ⁻¹
Cypermctrina	11,5X10 ⁻⁸	6,6	0,004 (20 °C)
Permetrina	1,4X10 ⁻⁷	6,5	0,006 (20 °C)
λ -Cihalotrina	1,5x10 ⁻⁹ (20°C)	6,9	0,003 (20 °C)

Nota: Adaptado de la Tesis Estudio del comportamiento fotoquímico y determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción. Fuente: (Fernández M. , 2009, pág. 20). Elaborado por: La autora, 2016.

1.1.4. Estabilidad y persistencia

Los piretroides se volatilizan lentamente desde el suelo, puesto que estos insecticidas generalmente tienen bajas presiones de vapor. Cuando estos pesticidas se liberan al agua, se produce el rápido reparto hacia los sedimentos y los sólidos suspendidos. La

fuerte adsorción de estos compuestos sobre estas superficies atenúa significativamente los procesos de volatilización (Fernández M. , 2009, pág. 29).

La vida media de los piretroides en la superficie de las plantas es de 5 días, las pérdidas por volatilización desde las hojas son considerablemente mayores que por volatilización desde los suelos (Ponce, 2006).

1.1.5. Degradación de los piretroides en el ambiente

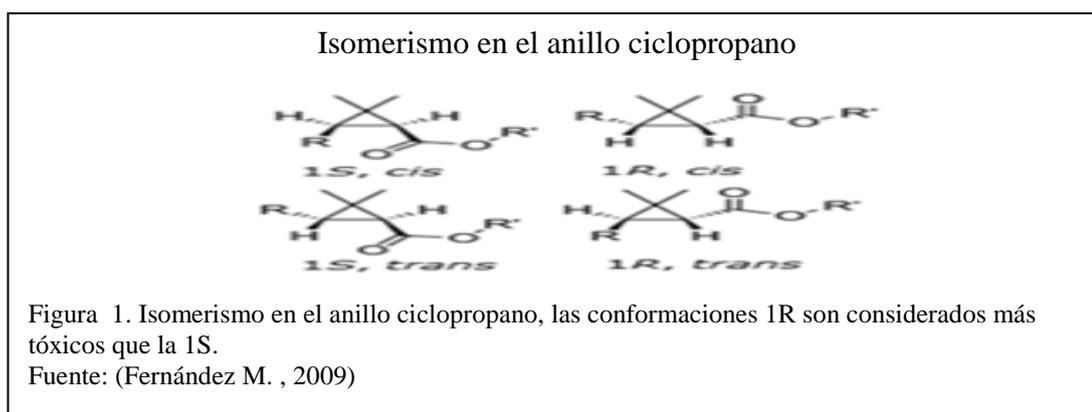
En el agua, estos insecticidas se degradan mediante fotólisis en aguas superficiales, y la velocidad de degradación se incrementa por agentes fotosensibilizantes que se encuentran en cuerpos de aguas naturales como son los ácidos fúlvicos y húmicos. La hidrólisis sólo es importante bajo condiciones alcalinas y a temperaturas de 20 °C o mayores (Fernández M. , 2009, pág. 29).

En el suelo, los piretroides se degradan más rápidamente que muchos pesticidas organoclorados, organofosforados y carbamatos (Fernández M. , 2009, pág. 29). La biodegradación por microorganismos cumple un papel importante en la desaparición de estos compuestos en suelos, tanto en condiciones aerobias como anaerobias, este proceso se inicia con reacciones de hidroxilación, seguidas por la ruptura del enlace éster central y reacciones de oxidación, para dar lugar a varios compuestos intermediarios que son posteriormente mineralizados hasta bióxido de carbono (SATA, 2016).

En el aire, los piretroides que están en fase vapor se degradan rápidamente a través de su reacción con oxidantes atmosféricos o por fotólisis directa, mientras que los que están en fase particulada se degradan más lentamente (Fernández M. , 2009, pág. 28).

1.1.6. Toxicidad y su relación con la estereoquímica

La toxicidad de los piretroides depende mucho de la estereoquímica de la molécula. Algunos piretroides pueden llegar a tener hasta 16 isómeros y cada isómero tiene su propia toxicidad (Mueller, 1990). En los piretroides que poseen el anillo ciclopropano, el isomerismo en torno a dicho anillo afecta de manera importante a la toxicidad de estos insecticidas. La presencia de dos centros quirales en el anillo conduce a la existencia de dos pares de diastereoisómeros. Estos diastereoisómeros y sus enantiómeros se muestran en la Figura 1. Las conformaciones 1R en el anillo ciclopropano son considerablemente más tóxicas que las 1S (Fernández M. , 2009, pág. 48).



Por otro lado, tanto los isómeros cis como los trans muestran actividad insecticida, pero poseen diferentes toxicidades hacia los mamíferos siendo los isómeros cis más potentes. Además, los piretroides que contienen un sustituyente ciano en la parte alcohol (Tipo II) muestran una toxicidad diferente en función del isomerismo óptico del carbono α . Se ha demostrado que la conformación S alrededor del carbono α es considerablemente más tóxica hacia los insectos si se compara con la conformación R. La producción de piretroides con diferentes relaciones isoméricas es una de las razones

por las que hay una gran variedad en las toxicidades de estos compuestos (U.S Department of Health and Human Services, 2013).

1.1.7. Toxicocinética y toxicodinamia

(IUPAC, 1993) define a la toxicocinética como el estudio de los cambios que ocurren a través del tiempo, en la absorción, distribución, biotransformación y eliminación de los tóxicos en el organismo. La toxicodinamia es el estudio de la manera en que los agentes químicos ejercen sus efectos en los organismos vivos. Y la toxicidad como la capacidad inherente a un agente químico de producir un efecto nocivo sobre los organismos vivos, una vez que es absorbido.

Los piretroides tales como Cypermctrina y λ -Cihalotrina tienen características toxicológicas de Clase III con característica toxicológica ligeramente tóxico, mientras que la Permetrina tiene característica toxicológica de Clase II que lo clasifica como moderadamente tóxico (Ver Anexo 2).

a. Vías de absorción: Los piretroides, se absorben relativamente bien por los tractos gastrointestinal y respiratorio. Su absorción a través de la piel intacta es relativamente baja (Córdoba, 1991).

b. Mecanismos de acción en el organismo: En mamíferos y humanos, la toxicidad de los piretroides en mamíferos y la actividad insecticida de los mismos están provocadas por mecanismos similares (World Health Organization, 2005) . Como el DDT y muchos otros insecticidas, los piretroides afectan al sistema nervioso, alteran el balance de los iones sodio y potasio de los axones de las células neuronales, en un inicio estimulan las células nerviosas a que produzcan descargas repetitivas, seguidas por parálisis y la muerte (López D. , 2012).

Tales efectos son causados por su acción sobre el canal de sodio, un diminuto conducto que les permite a los iones de sodio entrar al axón para causar excitación. Por lo tanto, el principal mecanismo de acción consiste en la disrupción de la permeabilidad de las membranas nerviosas a los átomos de sodio (López D. , 2012).

En insectos, afectan el sistema nervioso central y el periférico, estimulan inicialmente las células nerviosas produciendo repetidas descargas y eventuales casos de parálisis. Estos efectos se deben a la acción en los canales de sodio, a través de los poros en los cuales se permite la entrada a los axones para causar la excitación (Flores & López , 2006).

c. Biotransformación y excreción en el organismo: Ambos grupos de compuestos son biotransformados con gran rapidez por las esterasas y oxidasas microsomales hepáticas mediante mecanismos de hidroxilación y conjugación. Son eliminados en su mayor parte por los riñones. Esta rápida metabolización, junto con la pobre absorción, explican la relativamente baja toxicidad de piretroides para los humanos (Córdoba, 1991).

1.1.8. Interacción de los piretroides en el ambiente y la salud

En el agua, son muy poco solubles y quedan retenidos en las capas superficiales del suelo antes de desaparecer, por lo que no es muy probable que lleguen a alcanzar el acuífero (Asela & Suárez, 2014).

En el aire, tienen mayor relevancia cuando se trata de aplicaciones por medios aéreos; la gran extensión que abarca y el pequeño tamaño de las partículas contribuyen a sus efectos, entre los que se cuenta el "arrastre" de partículas a las zonas vecinas (Asela & Suárez, 2014).

En el suelo, una vez aplicados, los piretroides son absorbidos por los componentes del suelo y por lo tanto no es probable que alcance el agua del subsuelo, pero son degradados a productos menos tóxicos (con una vida media de 2 a 4 semanas) (Fernández M. , 2009).

En la salud, los piretroides son acusados de provocar daños a la salud, interfiriendo con el correcto funcionamiento del sistema nervioso, por ejemplo, los piretroides de Tipo I causan principalmente temblores (síndrome-T) y los piretroides de Tipo II provocan coreoatetosis y salivación (síndrome-CS) (World Health Organization, 2005). Estudios revelaron un aumento en la incidencia de tumores de células foliculares tiroideas en ratones machos y hembras, con una dieta de 57,57% de extracto de piretro durante dos años. También se mostró la concurrencia de adenomas hepatocelulares y adenomas combinados o carcinomas y tumores en órganos como el hígado. Efectos sobre los órganos reproductivos, se encuentran características anormales en los espermatozoides y una marcada reducción en la testosterona causando infertilidad (Todd, Wohlers, & Citra, 2003).

1.2. Biorremediación

La biorremediación se define como el proceso de conversión de residuos peligrosos y contaminantes en compuestos menos tóxicos mediante el uso de las propiedades catalíticas de los organismos vivos, o bien en la reducción de estos contaminantes ambientales a niveles no detectables o aceptables (Cohen & Persky, 2002, págs. 582-594).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio (autóctonos) o ajenos a éste (exógenos) y llevarse a cabo en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno molecular). Al igual que otras tecnologías de remediación,

la biorremediación puede realizarse en el mismo sitio sin necesidad de excavar el material contaminado (*in situ*), o bien excavando el material para tratarlo en el sitio “*in situ*” o fuera de él, “*ex situ*”. Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación (Ver Anexo 3) se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados por hidrocarburos totales del petróleo (HTPs), solventes, explosivos, clorofenoles, plaguicidas e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Velazco & Volke, 2002).

Es muy importante establecer que el tiempo de biorremediación depende de factores importantes como el tipo de suelo y la presencia de microorganismos. El 47% de los insecticidas piretroides se degradan en presencia de microorganismos. Sin embargo, la degradación podría ser más rápida en suelos minerales que en suelos orgánicos (Chapman, Harris, & Cole, 1981, págs. 513-519).

Lo cual podría explicarse por una mayor interacción del insecticida con las partículas de los suelos orgánicos y de esta manera se generarían resistentes complejos al ataque de los microorganismos. En condiciones anaeróbicas la degradación es menor. Por lo cual, la ruta de degradación más importante sería la aeróbica que fundamentalmente sería una hidrólisis de la unión éster (Pawlisz, Busnarda, & McLaughlin, 1998, págs. 175-210).

1.2.1. Micorremediación

Los hongos han sido aprovechados por el ser humano en diversas aplicaciones por miles de años. En cualquier ecosistema, los hongos están entre los mayores degradadores de polímeros vegetales tales como la hemicelulosa, la celulosa y la lignina. Los hongos poseen la habilidad de modificar la permeabilidad del suelo, su

capacidad de intercambio iónico y desintoxicar suelos contaminados (Singh, 2006, pág. 592).

La micorremediación emplea el micelio de los hongos y es usada para degradar o remover contaminantes del ambiente. Los hongos tienen una importante capacidad para romper largas y complejas cadenas de los contaminantes más recalcitrantes, convirtiéndolos en cadenas químicamente menos tóxicas (Stamets, 2000, pág. 574).

Ha sido demostrado a escala de laboratorio, que la micorremediación cumple su rol en periodos de tiempo de semanas a meses y que es efectiva en la remoción de componentes tóxicos, como moléculas aromáticas de alto peso molecular como productos derivados del petróleo e incluso compuestos recalcitrantes tales como los insecticidas, que son más difícilmente degradados por otros microorganismos (Singh, 2006).

1.2.1.1. Trichoderma harzianum

(Vallejo, 2014, pág. 14) menciona a los autores (Kubick & Harman, 1998), quienes establecen que *T. harzianum* es un hongo heterótrofo, filamentoso anamórfico, aerobio, con una pared celular compuesta por quitina, de rápido crecimiento que puede utilizar una gran variedad de sustratos complejos como quitina, celulosa, pectina y almidón como fuente de carbono. Puede crecer eficientemente en medios sólidos o líquidos y en un amplio rango de temperaturas, además son tolerantes a humedades bajas y tienden a crecer en suelos ácidos

T. harzianum es rápidamente identificado por sus características morfológicas distintivas, que incluyen rápido crecimiento, el color de las conidias es verde intenso o blanco y una gran cantidad de ramificaciones con conidióforos (Gams & Bissett, 1998, págs. 3-31) citado por (Caiza, 2013, pág. 52).

(Cholango, 2009, pág. 16) menciona a los autores (Gams & Bissett, 1998), quienes establecen que las colonias de *T. harzianum* crecen rápidamente, inicialmente el micelio es sumergido, con algunas variables, el micelio aéreo enmarañado, lleno de células, algodonoso y transparente o con poco color dependiendo de la cepa y del medio de cultivo utilizado, presenta varios tonos de marrones, amarillo ámbar, rojizo apagado o verde amarillento. Tiene olor a alcanfor no muy pronunciado; la esporulación se presenta de forma plana, lisa o abultada formando pústulas compactas, cuerpos verdes o a veces blancos, plomos o cafés.

Tabla 4. Taxonomía de *Trichoderma harzianum*

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	Trichoderma
Especie	<i>harzianum</i>

Fuente: RIFAI, (1969)

a. Características microscópicas: En cuanto a morfología, el micelio es fino, los conidióforos hialinos, ramificados, parecen un árbol pequeño, y se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular, terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios (Maya, 2013).

b. Características macroscópicas: *T. harzianum* posee colonias de rápido crecimiento en PDA, 7-9 cm diámetro después de 3 días, micelio aéreo flucoso, blanco a ligeramente grisáceo, conidiación que cubre toda la superficie de la placa que produce pústulas aplanadas hasta de 8 mm de diámetro, concéntricas o cerca de los márgenes de la placa, polvorienta o granular y de varios tonos verdes, está rodeado por micelio blanco (Claro, 2006).

c. Mecanismo de biorremediación: La especie *T. harzianum* es uno de los organismos celulolíticos más extensamente empleado en el mundo como un eficiente degradador de heteropolisacáridos como el xilano, mediante la producción de diversas enzimas como hemicelulasas, igualmente de amplio uso industrial (Biely, 1998), en el campo de la biorremediación, son agentes que degradan insecticidas de alta persistencia ambiental, lo que implica su completa mineralización hasta compuestos inocuos como dióxido de carbono y agua (Asela & Suárez, 2014). Todos los anteriores usos se deben a su capacidad de producción de metabolitos y enzimas, plantea novedosas posibilidades de biorremediación en áreas de suelos que se han contaminado por el uso indiscriminado e irracional de insecticidas con un alto efecto residual, causantes de grandes daños para el ambiente y la salud. *T. harzianum* posee resistencia innata a la mayoría de los agroquímicos.

Algunos de los principales grupos de enzimas de los cuales las celulasas son el grupo más representativo. En cuanto a metabolitos secundarios se reporta una amplia variedad de sustancias con actividad antifúngica (ácido fenílico, 6 pentil α pirona, viridofunginas y harzianopiridona), antisépticos (ácido fenílico, antraquinona, harzianodiona y gliotoxina), reguladores de crecimiento en plantas (cicloneerodiol, 6 pentil α pirona y harzianopiridona), péptidos antimicrobianos e incluso compuestos fitotóxicos (Koivula, 1998) citado por (Suesca, 2012, pág. 14).

T. harzianum también puede degradar diferentes fuentes de residuos lignocelulósicos, con base en esta capacidad enzimática, posee enzimas hemicelulasas que hidrolizan polisacáridos de plantas no celulósicos e incluyen las xylanases y mananasas que ayudan a la degradación inicial del material vegetal y por último enzimas de mayor

especialización que contribuyen a la simplificación de moléculas complejas (Suesca, 2012).

Las especies de *Trichoderma* pueden potencialmente contribuir en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes depositados en el suelo. De manera específica, la forma en que un microorganismo interactúa con un contaminante de naturaleza orgánica, es diferente a la de un contaminante de origen inorgánico (Varsha, Naga, & Chenna, 2011).

1.2.1.2. Pleurotus ostreatus

P. ostreatus presenta una serie de características que lo hace atractivo a la hora de desarrollar estrategias de biorremediación en ambientes contaminados. Presentan un sistema oxidativo extracelular muy versátil. La naturaleza inespecífica de los mecanismos usados por este hongo al momento de degradar lignina les permite degradar también compuestos estructuralmente relacionados (Bumpus, 1989, págs. 154-158).

Para *P. ostreatus* la expresión del sistema ligninolítico es independiente de la concentración del contaminante presente en el medio, por lo que este hongo puede llegar a degradar estos compuestos a muy bajas concentraciones (Bumpus, 1989).

El crecimiento de los hongos por extensión de las hifas, permite la colonización del suelo, ampliando su radio de acción en mayor grado que las bacterias (Reddy C. , 1995, págs. 320-328).

Aunque el suelo no es su hábitat natural, pueden crecer utilizando sustratos de bajo costo, como residuos agrícolas, que pueden ser añadidos en el lugar contaminado facilitando la degradación (Martents, Wolter, M, & Bahadir, 1999, págs. 1893-1899).

Tabla 5. Taxonomía de *Pleurotus ostreatus*

Reino	Fungi
Filo	Basidiomycota
Clase	Homobasidiomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	Pleurotus
Especie	<i>Ostreatus</i>

Fuente: (Bedri, 2006)

a. Características microscópicas: Las esporas son blancas cremosas, cilíndricas de 8-11 x 3-4 μm , lisas y hialinas (García, 1986).

b. Características macroscópicas: El cuerpo de *P. ostreatus* se constituye de sombrero (pileo), pie recudido (estípete) y láminas (himenio) (HYDROENVIRONMENT, 2010). El sombrero tiene forma similar a una sombrilla, presenta una forma redondeada, su desarrollo se da en forma de una ostra, con la superficie lisa abombada y convexa. Su tamaño oscila entre 5 y 15 cm de diámetro. El color es muy variable, blanco, crema, grisáceo, pardo, etc. La carne blanca presenta olor fuerte, suave al principio y después correoso (Gaitán, Salmones, & Mata, 2006). Las láminas están dispuestas radialmente como las varillas de una sombrilla que van desde el tallo que lo sostiene, hasta el borde. Ahí se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie, son anchas, espaciadas entre sí, de color crema. El pie es corto, oblicuo, ligeramente duro (López E. , 2002). Y presenta esporulación pálida, de color gris rosáceo (García, 1986).

c. Ciclo reproductivo del hongo: El ciclo reproductivo de *P. ostreatus* es de 7 a 8 semanas (Ver Anexo 1).

d. Mecanismos de biodegradación: *P. ostreatus* ha demostrado el gran potencial que posee para la biodegradación de un amplio espectro de xenobióticos como los

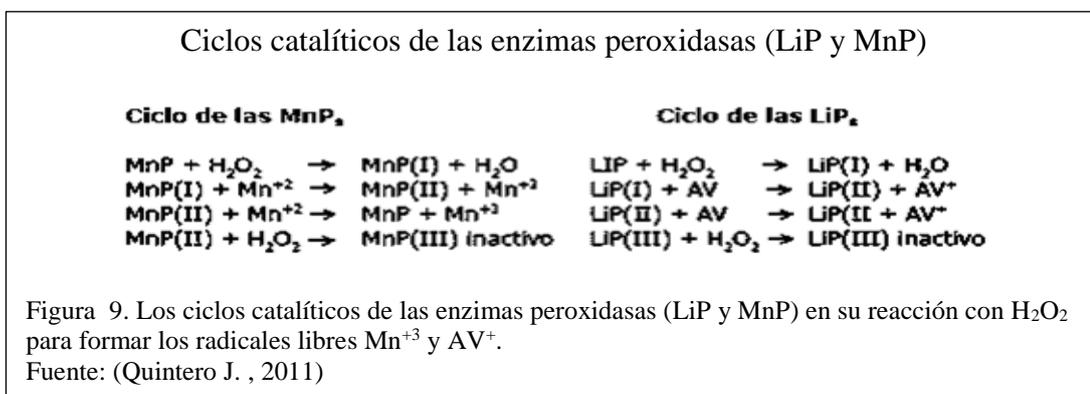
insecticidas. Estos hongos exhiben tres principales sistemas enzimáticos empleados para la degradación de contaminantes. Siendo el mecanismo ligninolítico el más ampliamente estudiado y usado en biorremediación, pues se ha demostrado que este sistema de degradación de la lignina, interviene en la oxidación de un número importante de xenobióticos (Quintero J. , 2011).

Se conocen tres principales mecanismos enzimáticos que son empleados por *P. ostreatus* para degradar contaminantes ambientales, dos de tipo oxidativo y uno reductivo: a) sistema de degradación de la lignina, que realiza ataques oxidativos a moléculas orgánicas por medio de radicales libres generados por las enzimas ligninolíticas peroxidadas; b) fase I del metabolismo, mecanismo oxidativo en que intervienen las enzimas citocromo P-450 monooxigenasas y c) fase II del metabolismo donde un conjunto de enzimas cataliza reacciones de conjugación reduciendo los contaminantes. Estos mecanismos degradan los contaminantes sin ser utilizados como substratos para su crecimiento, la degradación se hace por cometabolismo (Quintero J. , 2011).

En el caso de los *P. ostreatus*, las enzimas ligninolíticas llevan a cabo oxidaciones monoelectrónicas de compuestos contaminantes para dar lugar a radicales que evolucionan formando quinonas (Haemmerli, Leisola, & Sanglard, 1986, págs. 6900-6903). *P. ostreatus* al pertenecer al grupo de hongos de la pudrición blanca, es capaz de biodegradar el polímero natural más complejo que existe, la lignina (Kirk & Farrell, 1987, págs. 465-505). El metabolismo ligninolítico denominado “Sistema de degradación de lignina” es inducido por deficiencia de nutrientes, principalmente por carbono y nitrógeno (Moreira, Feijo, & Lema, 2000, págs. 657-661).

El sistema de degradación de la lignina consiste en un sistema catabólico de degradación de xenobióticos, la acción de este sistema es estrictamente celular y en él intervienen un grupo de hemoproteínas extracelulares denominadas enzimas peroxidadas también conocidas como lignino peroxidadas (LiPs) y manganeso peroxidases (MnP), enzimas productoras de H₂O₂ (aryl alcohol oxidasa, glioxal oxidasa), alcohol veratrílico, oxidadas (lacasas), ácidos orgánicos como malónico u oxálico (Quintero J. , 2011).

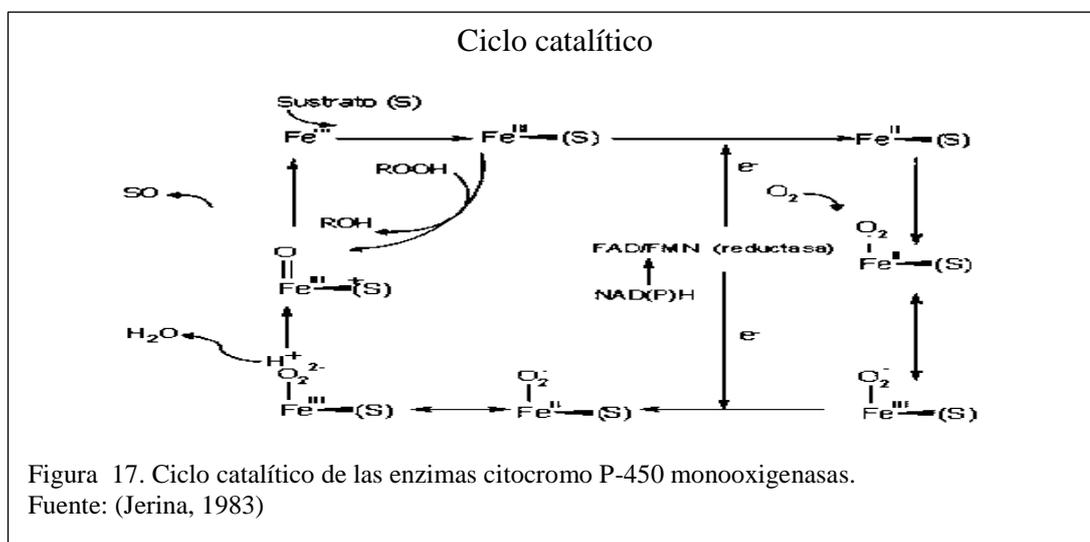
Las MnP ejercen su acción oxidativa indirectamente a través de la formación de radicales Mn⁺³ a partir del Mn⁺². El Mn⁺³ se estabiliza cuando forma quelatos con ácidos carboxílicos cuya función es actuar como mediadores de baja masa molecular eliminando electrones e hidrógenos inespecíficamente a moléculas orgánicas (Hofrichter, 2002, págs. 454-466). Las LiPs pueden ejercer por si mismas la formación de radicales libres o acción oxidativa a partir de algunos compuestos orgánicos de manera análoga a como ocurre con las MnP (Cameron, Timofeevski , & Aust, 2000, págs. 751-758). Estos radicales libres, son sustancias altamente oxidantes con la capacidad penetrar en matrices en las que las enzimas (MnP y LiP) no lo pueden hacer y así se aumenta la biodisponibilidad de xenobióticos implicados en este tipo de metabolismo (Quintero J. , 2011).



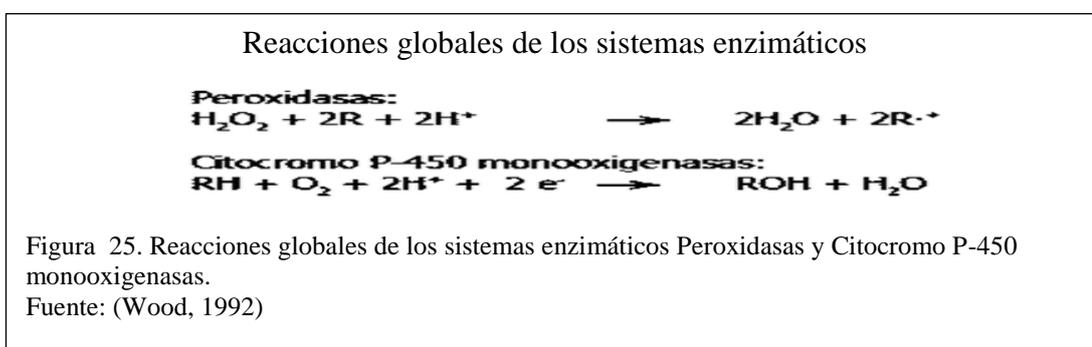
Varios de los metabolitos producidos por la degradación fúngica de contaminantes orgánicos que incluyen epóxidos, fenoles, quinonas y dihidrodioles, son producidos por reacciones similares a las conocidas farmacológicamente como fase I del metabolismo (Sutherland, 1992, págs. 53-61). En esta fase los procesos de biotransformación involucran las enzimas epóxido hidrolasa y citocromo P-450 monooxigenasas. En la fase II del metabolismo, los contaminantes orgánicos son conjugados con ácido glucorónico, glutatión, sulfato, u otras moléculas (Cerniglia, Freeman , & Mitchum, 1982, págs. 1070-1075) (Quintero J. , 2011).

En la fase I del metabolismo, las enzimas más importantes de la fase I son las citocromo P-450 monooxigenasas las cuales son una súper familia de biocatalizadores que introducen un átomo de oxígeno en un amplio rango de moléculas (entre ellas moléculas contaminantes) para producir un epóxido (Quintero J. , 2011).

En la Figura 3 se presenta su ciclo catalítico, para el transporte de electrones interviene la enzima citocromo P-450 reductasa y su cofactor NADPH. Algunos epóxidos son inestables y puede sufrir reacciones de reordenamiento a fenoles o pasar por un proceso de hidratación enzimática vía otra enzima de la fase I, la epóxido hidrolasa generando transdihidrodiol (Jerina, 1983, págs. 1-4).



P-450s son un nombre en conjunto que se les ha denominado a todas las hemoproteínas que forman un complejo Fe (II)-CO (Urlacher & Eiben, 1992, págs. 2131-2137). A diferencia de las peroxididasas, que son oxidoreductasas con el peróxido de hidrógeno actuando como aceptor de electrones, las citocromos P-450s, rompen el enlace covalente de la molécula de oxígeno (O₂) y un átomo es incorporado a la molécula de sustrato mientras que el otro es reducido a agua (Wood, 1992, págs. 349-352). Las reacciones globales de los dos sistemas enzimáticos son:



Se ha identificado la presencia de enzimas de la fase I P-450s, P-450s y epóxido hidrolasa en *P. ostreatus* (Bezalel, 1997, págs. 2495-2501). Cuando los tratamientos de biorremediación se llevan a cabo con los hongos de la pudrición blanca en condiciones no ligninolíticas, muchos investigadores han involucrado a las P-450s en la degradación de diferentes compuestos xenobióticos (Quintero J. , 2011).

La fase I del metabolismo puede actuar como intermediaria para que se lleven a cabo las reacciones de la fase II de carácter reductivo, las cuales son conocidas como vías de conjugación. Estas vías son mediadas por la glutatióntransferasa, sulfotransferasa y glucosyltransferasa, entre otras; enzimas que adicionan sulfato, glutatión, o residuos de azúcar a los xenobióticos, haciéndolos más solubles en agua (Casillas, Crow, & Heinze, 1996, págs. 205-215). Luego estos conjugados son reducidos por las enzimas reductasas generando compuestos más degradados que los xenobióticos (Reddy G. , 2001, págs. 271-277).

Al igual que con las enzimas de la fase I, se han identificado, aislado y purificado las enzimas pertenecientes a la fase II glutatión, sulfato y glucuronosyl transferasas de *P. ostreatus* (Bezalel, 1997). Estos mecanismos muestran que *P. ostreatus* presenta diversidad genética para la degradación de contaminantes ambientales; sin embargo, desde el punto de vista práctico, el mecanismo ligninolítico es el más eficiente por ser extracelular y altamente inespecífico. La presencia de mecanismos intracelulares de degradación de contaminantes vía oxidativa y reductiva les permiten tolerar altas concentraciones y hacerlos más aptos para procesos de biorremediación en donde los procesos oxidativos extracelulares con las enzimas ligninolíticas son el mecanismo usado para alcanzar la descontaminación (Quintero J. , 2011).

2. Metodología

La presente investigación se desarrolló mediante dos fases que consistieron en fase de campo y de laboratorio. La primera fase se llevó a cabo en dos lugares, en el sector “El Capulí” en la provincia del Carchi para la obtención de las muestras de suelo y del hongo *T. harzianum*; se obtuvieron ejemplares de *P. ostreatus* en “Calacalí” en la provincia de Pichincha. La fase experimental se realizó en laboratorios de tres instituciones ubicadas en la provincia de Pichincha, en Quito en la Comisión de Energía Atómica, Universidad Politécnica Salesiana sede Girón en el Laboratorio de Ciencias de la Vida y en la sede Cayambe en el Laboratorio de Análisis de Suelos.

2.1. Fase de campo

2.1.1. Georreferenciación de los sitios de muestreo

En el sector “El Capulí” ubicado en el cantón San Gabriel de la provincia Carchi se determinó la ubicación de 14 puntos para la obtención de muestras de suelo, los datos de altura (m.s.n.m.) y coordenadas (UTM), se obtuvieron mediante el sistema de GPS (Anexo 4). La semilla del hongo *P. ostreatus* se consiguió en la granja “Fungus garden” ubicada en la parroquia de Calacalí en el noroccidente de Quito en la provincia de Pichincha.



2.1.2. Muestreo de suelo

2.1.2.1. Muestreo de suelo para análisis físicos químicos.

Las muestras de suelo agrícola se recolectaron mediante el método de tresbolillo, se realizó una excavación (10-15 cm de profundidad), se tomaron muestras en varios puntos de aproximadamente 5 kg, fueron colocadas en saquillos de polietileno y se mezcló uniformemente, se seleccionaron tres muestras compuestas de 1 kg y se colocaron en fundas ziploc etiquetadas con datos (lugar, fecha, tipo de muestra, responsable y número de muestra) (Anexo 10). Y fueron trasladadas en coolers con refrigerantes hasta el laboratorio de Análisis de Suelo de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cayambe.

2.1.2.2. Muestreo de suelo para obtención de *T. harzianum*

De las muestras obtenidas mediante el método de tresbolillo, y luego de haber homogeneizado el suelo, se tomó con una pala estéril aproximadamente 500 g de suelo e inmediatamente se introdujo en una funda ziploc, y se trasladó hasta el laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana en Quito.

2.1.3. PIRI

El programa PIRI (Pesticide Impact Index Rating) versión libre 2015, es una herramienta informática para estimar la peligrosidad del uso de plaguicidas sobre la salud del ecosistema y calidad de aguas superficiales o subterráneas (Oliver, D & Kookana, 2005). PIRI clasifica la toxicidad y movilidad de los plaguicidas en una escala cualitativa como: muy bajo, bajo, alto, muy alto y extremadamente alto (Franchi, Campelo, Enrich, & Mandl, 2005). Considera datos como cobertura, textura, periodo del ciclo del cultivo, materia orgánica, temperatura, precipitación, estimación

de erosión, datos fisicoquímicos y de comportamiento ambiental del plaguicida (Ver Anexo 6). De esta forma permite que el análisis sea más preciso y objetivo, puesto que se trata con las características propias de cada lugar (Aguilar, Chin, & Ruíz, 2014, págs. 24-30).

Para obtener dicha información se descargó el programa y se continuó con los pasos determinados con el fin de obtener datos del terreno para determinar la toxicidad y movilidad del insecticida piretroide para lo cual, se seleccionó el uso de la tierra, la evaluación y el tipo de recurso agua. Se actualizó la información del suelo y se guardó los datos de uso, se actualizó la información de aplicaciones mediante la selección del insecticida piretroide usado en el suelo muestreado. Se modificó las tasas de aplicación. Al finalizar se guardó la información necesaria (descrita en el Anexo 6) y se cerró el programa.

2.1.4. Obtención de setas de *Pleurotus ostreatus*

2.1.4.1. Traslado de las muestras

Se obtuvo 6 fundas con el micelio completamente propagado en un sustrato con aserrín y yeso. Las muestras fueron trasladadas en coolers hasta la cámara climatizada y se continuó con el proceso con el desarrollo del micelio hasta obtener setas.

2.1.4.2. Desarrollo de setas de *P. ostreatus* en cámara climatizada

Las fundas con el micelio fueron colocadas en el interior del terrario climatizado con la lámpara fluorescente, en una bandeja con agua se colocó el evaporizador de agua y el calefactor de peceras. Se encendieron los equipos durante 3 horas diarias, y el riego con agua potable se hizo manual cada funda con micelio recibió 250 mL todos los días hasta la primera cosecha. Luego de obtener los primordios, fue necesario asemejar el

hábitat natural donde crece el hongo y se cambió las condiciones del cultivo aumentando la humedad relativa y las condiciones de luminosidad para inducir la formación de las setas. En la etapa de maduración se mantuvo la temperatura entre 17 a 21 °C con un rango de humedad relativa de 50-80%. La luz se suministró, durante un periodo de 3 horas diarias. Tanto en la etapa de incubación como en la etapa de fructificación, la temperatura se mantuvo con la ayuda de un calefactor de peceras y la humedad relativa mediante un humidificador (Anexo 11.B).

Se realizó la primera cosecha de las setas a los 20 días, puesto que se dividió en tres periodos, el primero en el cual se recogió aproximadamente el 50% de la producción, el segundo en donde se recogió entre el 25% y 30% y el tercer periodo menos del 20% de la producción. La recolección de los cuerpos fructíferos se realizó de forma manual mediante un movimiento suave de torsión en la base del estípe. Luego de ser cosechados fueron colocados inmediatamente en fundas ziploc con cierre hermético. Cada funda ziploc fue etiquetada con código perteneciente a: F1: 08/08/2016, F2: 08/08/2016, F3: 08/08/2016.

2.2. Fase de laboratorio

2.2.1. Descripción del lugar

Los análisis físicos químicos de suelos se realizaron en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cayambe. Los análisis de cualitativos y cuantitativos de insecticidas en las muestras de suelo se realizaron en la Comisión de Energía Atómica, cantón Quito, provincia Pichincha. Las técnicas de aislamiento, purificación, identificación y reproducción masiva de los hongos *T. harzianum* y *P. ostreatus* se realizaron en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Girón, cantón Quito.

2.2.2. Medio de cultivo empleado

Se preparó el medio de cultivo de PDA disolviendo 39 g en 1000 mL de agua destilada en un frasco boeco, se calentó y agitó hasta ebullición y se dejó hervir durante 1 minuto. Se esterilizó a 121 °C en autoclave. Se enfrió el medio hasta temperatura ambiente y se adicionó gentamicina (0,05 mg/mL), se dispensó 20 mL en cada caja Petri.

2.2.3. Aislamiento e identificación de *Trichoderma harzianum*

Para el método de aislamiento se empleó la técnica de dilución en placa, que se utilizó para cuantificar los microorganismos en placa de cultivo realizando diluciones del suelo. Se realizaron diluciones seriadas en base 10, se tomó 10 g de suelo y se colocaron en 90 mL de agua estéril con 1 g cloruro de sodio, desde la dilución 10^{-1} – 10^{-6} , las cuales se agitaron por quince minutos, luego se tomó con una micropipeta 0,1 mL de cada dilución y se realizó el método de siembra en superficie en el medio de cultivo PDA. Se sembraron las diluciones por triplicado, posteriormente se llevaron a incubar 7 días a 25 °C (Anexo 11.A).

También se realizó la técnica de siembra directa de suelo, este método consistió en introducir 5 g de suelo fresco en la superficie de medio de cultivo PDA, por triplicado. Se observó el haz y el envés de las placas, se llevaron a la incubadora durante 7 días a 25 °C con el fin de observar crecimiento fúngico.

2.2.3.1. Identificación macroscópica

Mediante observación se tomó en cuenta las características macroscópicas de la colonia como el color del micelio, forma del micelio y crecimiento (rápido

crecimiento, color verde olivo, superficie algodonosa, presencia de agregados de conidios secos y exudados hialinos).

2.2.3.2. Identificación microscópica

En cuanto a la observación de las estructuras microscópicas se empleó el método de la cinta adhesiva transparente propuesto por (Caiza, 2013, pág. 52), que consistió en tomar una tira de cinta de 5 cm, con el lado adhesivo hacia dentro se sostuvo con pinzas. En presencia de un mechero, el lado adhesivo se presionó firmemente contra la superficie del crecimiento micelial de interés. El micelio se unió a la superficie adhesiva y fue fácilmente separada. La tira de cinta con micelio se colocó en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol.

La identificación del hongo se realizó mediante el reconocimiento de estructuras microscópicas (colonias de forma ramificada, cerrada, fiálides en forma de botellas, conidióforos hialinos blanquecinos no verticilados, conidias hialinas, hifas alargadas, unicelulares ovoides que yacen en pequeños racimos terminales y de color verde) según claves taxonómicas de (Barnett, 1967), cuyas estructuras fueron observadas con un microscopio electrónico, se adicionó una gota de aceite de inmersión y observó mediante un lente de 40X y 100X.

2.2.3.3. Purificación

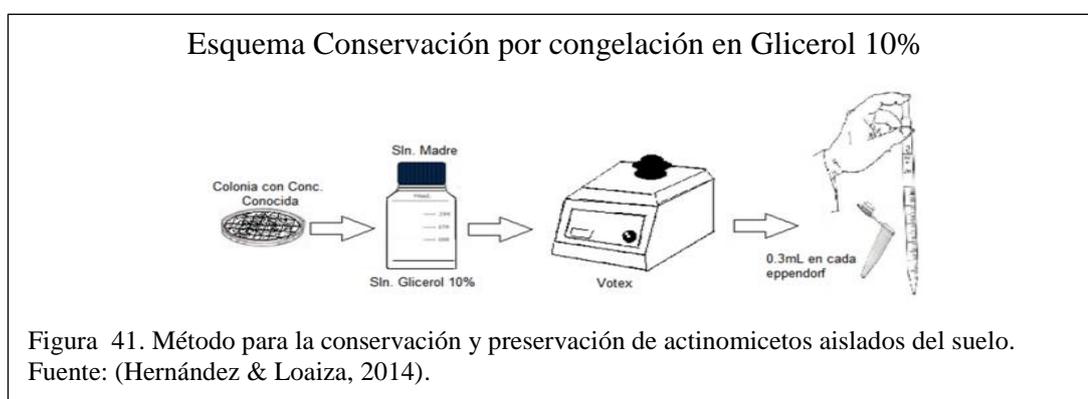
Se empleó la técnica de microcultivo que consistió en colocar portaobjetos de vidrio, dos de base y dos sobre los mismos en forma de cruz, de tal forma que dos pedazos de agar, procedentes de cultivo de *T. harzianum* se encuentren separados el uno del otro, aproximadamente tres centímetros, con la ayuda de un gotero o una piceta se colocó 1 mL de agua estéril en el interior de la caja petri, y se selló con parafilm. Las cajas se incubaron a 25 °C durante 2 semanas.

2.2.3.4. Conservación

La conservación de *T. harzianum* se realizó mediante congelación en tubos eppendorf con glicerol y en tubos crioviales con perlas. Para cada una de las técnicas se tomó una caja petri con cultivo puro del hongo y se le realizó un trozado con un bisturí completamente estéril utilizando mechero y alcohol, el contenido de la caja fue incorporado a un frasco boeco con contenido de 100 mL de una solución previamente esterilizada de glicerol al 10% y agua destilada estéril, respectivamente.

a) Conservación por congelación con glicerol

Luego de hacer una homogenización para desprender los microorganismos del agar en vórtex, se empieza a adicionar 0.3 mL en cada uno de los tubos eppendorf previamente esterilizados, luego son llevados a temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 2 meses (Sánchez C. , 2005). Para alcanzar la temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le realizó un escalonamiento (Llevar los eppendorf por una hora a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, luego pasarlos a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por el mismo periodo de tiempo y por último llevarlos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), este procedimiento se realizó para que no haya perdidas de viabilidad en los microorganismos por el cambio brusco de temperatura (Hernández & Loaiza, 2014).



b) Conservación en tubos crioviales

Se emplearon 4 crioviales y en cada uno se colocó 1 mL de la suspensión del cultivo en agua destilada estéril, se cerraron y fueron colocados en el vórtex durante 30 segundos para que en cada aro se impregnen los microorganismos y se dejó reposar durante un minuto. Con la ayuda de una jeringa estéril se extrajo todo el líquido para que no sea necesario descongelar al tomar cada perla. Se cerraron los crioviales y fueron etiquetados, se colocaron de forma horizontal y con movimientos leves se acomodaron las perlas para que se repartan a lo largo del criovial y luego sean más accesibles. Finalmente, se congelaron a temperatura de -20 °C.

2.2.3.5. Inoculación de *Trichoderma harzianum* al suelo con piretroide

Para la inoculación de *T. harzianum* en las unidades experimentales se realizaron tres pasos, los cuales consistieron en: preparación de la solución, conteo de esporas (concentración) e inoculación de la solución.

2.2.3.5.1. Preparación de la solución

Se realizó el raspado superficial del hongo en crecimiento de 8 cajas Petri con la ayuda de un asa y se colocó en 1500 mL de agua destilada. Se agitó vigorosamente hasta que se obtuvo una solución homogénea.

2.2.3.5.2. Conteo de esporas

Se empleó la metodología propuesta por (Cañedo & Ames, 2004, pág. 40). Se preparó una suspensión de conidios en 50 mL de agua destilada estéril. Se tomó 0,5 mL con la micropipeta y se llenó la cámara Neubauer con la suspensión de conidias y se cubrió con el cubreobjeto. Se observó al microscopio utilizando el lente 40X y 100X. Se contó

las conidias presentes en los cuadrados elegidos, se tomó en cuenta los cuadrados de los cuatro ángulos y el centro (figura 7). También se contó los conidios que se ubicaron tocando la primera de las tres líneas que circundan el cuadrado, las que se encontraron en la parte superior y la derecha del cuadrado. Se contaron en total 10 cuadrados, cinco en cada cámara, cinco en campo 1 y cinco en campo 2 (figura 8). Se determinó el número de conidias por mL utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Conidias / mL} = \# \text{ de conidias contadas} \times 25,000 \times \text{factor de dilución}$$

Fórmula 2. Conteo de Conidias/mL
Fuente: (Cañedo & Ames, 2004)

Áreas conteo de conidias

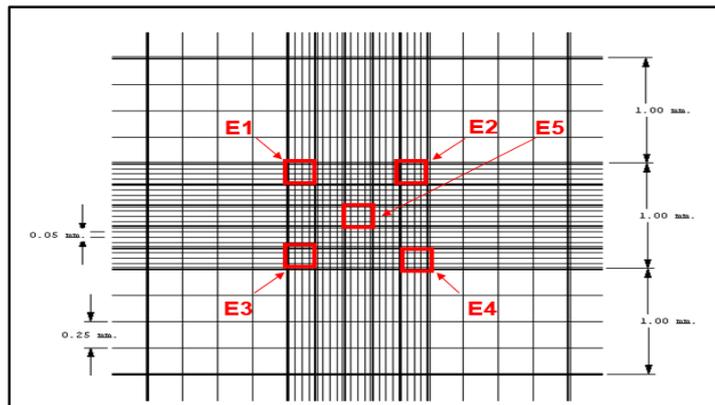


Figura 49. Área dentro de los subcompartimentos rojos para conteo de conidios de *Trichoderma harzianum*. E1, E2, E3, E4 y E5.
Fuente: (Cañedo & Ames, 2004)

Cámara de Neubauer

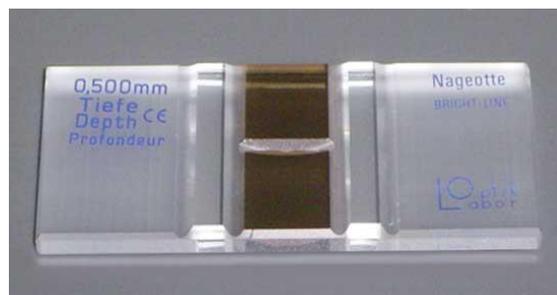


Figura 50. Localización de campos 1 y 2 en la cámara de Neubauer
Fuente: (Cañedo & Ames, 2004)

2.2.3.5.3. *Inoculación*

Se aplicaron 150 mL de la solución de agua destilada y *T. harzianum* mediante un aspersor a cada caja con el respectivo tratamiento, con la ayuda de una espátula se mezcló hasta homogenizar el suelo, la inoculación se realizó 2 veces por semana.

2.2.4. **Aislamiento e identificación de *Pleurotus ostreatus***

Para el aislamiento e identificación de *P. ostreatus* se aplicaron varias metodologías que consistieron en propagación micelial, caracterización macroscópica y microscópica y conteo de basidióforos.

2.2.4.1. *Propagación micelial de Pleurotus ostreatus*

Se empleó el método de reproducción sexual mediante esporas y reproducción asexual mediante la clonación de un trozo de seta. Se seleccionaron setas maduras, sanas y con buen aspecto. Las técnicas se realizaron en cámara de flujo laminar previamente desinfectada y en presencia de mechero, se empleó agua destilada estéril para limpiar las setas.

a) Reproducción sexual mediante esporas

Se tomó a la seta por el estipe y se partió por la mitad a lo largo con la ayuda de un bisturí estéril y se procedió a separar a las láminas internas con mayor carga de esporas. Con un asa estéril, se frotaron a las láminas, extrayéndose las esporas y se procedió a sembrarlas mediante la técnica de estrías en 8 cajas petri con medio de cultivo PDA. Se apilaron 4 cajas petri en cada columna y se envolvieron en papel aluminio, fueron puestas en cámara de incubación a temperatura de 25 °C, en oscuridad durante 7 días con constante vigilancia para prevenir que el micelio fuera contaminado por bacterias.

b) Reproducción asexual (clonación de un trozo de seta)

Se tomó la seta por el estipe y se partió por la mitad a lo largo y con un bisturí estéril se cortó un trozo de seta del interior del sombrero en cuadros de 0,5 mm². Se colocaron 5 pedazos de seta en 8 cajas petri con medio PDA, y fueron selladas con cinta parafilm. Se apilaron 4 cajas petri en cada columna y se envolvieron en papel aluminio, fueron puestas en cámara de incubación a temperatura de 25 °C, en oscuridad durante 7 días con constante vigilancia para prevenir que el micelio fuera contaminado por mohos o bacterias. Se subclonó el micelio de los pedazos de seta que estuvieron en amenaza de contaminación, fueron separados y transferidos a una caja Petri nueva.

2.2.4.2. Identificación macroscópica

Se observaron las características macroscópicas del crecimiento micelial en condiciones *in vitro* utilizando un estereomicroscopio para determinar el color, apariencia, consistencia y forma de crecimiento.

2.2.4.3 Identificación microscópica

Para determinar las características microscópicas del hongo se tomó con un asa una pequeña porción del micelio y se colocó en un portaobjetos, para identificar su estructura se colocó azul de lactofenol y se observó su morfología mediante un microscopio en lentes de 40X y 100X. Se determinó el tipo de trama del himenio, basidiosporas y determinación de sistemas hifales. Y por último se comparó las características taxonómicas, frente a lo establecido por (Hernández & Loaiza, 2014) y (Sánchez J. , 2012).

2.2.4.3. Resiembras

En cámara de flujo laminar se tomaron pedazos de 0,5 cm² de las cajas Petri con masivo crecimiento micelial, los cuales fueron colocados en el centro de nuevas cajas Petri con medio de cultivo PDA, y fueron incubadas a 25 °C por 7 días en ausencia de luz.

2.2.4.4. Preparación del inóculo de *Pleurotus ostreatus* para suelo con piretroide

Consistió en la preparación de la solución de agua destilada más el hongo, el cálculo de la concentración de los basidióforos y por último la inoculación de la solución al suelo.

2.2.4.4.1. Preparación de la solución

Con la ayuda de una espátula se realizó un raspado superficial de todo el crecimiento micelial de 8 cajas Petri, procurando no arrastrar restos de agar y se colocó en 1500 mL de agua destilada. Se agitó el recipiente hasta lograr la homogenización completa de la solución.

2.2.4.4.2. Conteo de basidióforos

Para la cuantificación de esporas se utilizó la cámara de Neubauer, se tomó 10 mL de la solución y se la agitó durante 30 segundos. Inmediatamente se tomó con una micropipeta 0,1 mL y se depositó en la cámara. Se dejó reposar medio minuto antes de proceder al conteo. Se colocó la cámara en el microscopio y se procedió a realizar el conteo con lente de 40X. La concentración de esporas se calculó multiplicando la suma del número de esporas contadas en los cinco cuadrados secundarios, por el inverso de la dilución empleada y por el factor de la cámara (Serpa, 2015).

Para el cálculo del número de esporas por mililitro se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Número de esporas/mL} = \text{Suma de 5 C.S.} \times \text{factor de dilución} \times 50.000$$

Fórmula 3. Conteo de esporas/mL.
Fuente: (Serpa, 2015)

Se aplicaron 150 mL de la solución de agua destilada y *P. ostreatus* con un aspersor a cada caja con el respectivo tratamiento; con una espátula se mezcló hasta homogenizar el suelo. La inoculación se realizó dos veces por semana.

2.2.4.5. Inoculación de mix fúngico a suelo con piretroide

De las soluciones ya preparadas de agua destilada con *T. harzianum* y *P. ostreatus*, se tomaron 75 mL de cada una respectivamente, hasta obtener 150 mL de una solución madre con concentración conocida de esporas (Anexo 12). Dicha solución se inoculó a las cajas con el respectivo tratamiento y con una espátula se mezcló hasta homogenizar la unidad experimental. Se realizó dos veces por semana durante dos meses.

2.2.5. Montaje del experimento

2.2.5.1. Preparación de las unidades experimentales

a) Preparación de cajas

Las cajas con dimensiones de 27 cm de ancho X 9,5 cm de alto X 16,5 de profundidad, se forraron internamente con plástico negro resistente. Se codificó a cada una de las cajas de acuerdo al tratamiento perteneciente.

b) Preparación del suelo

Del suelo obtenido en campo se escogieron y se separaron hojas secas, piedras, ramas, tubérculos, basuras, etc. Luego, se pesó 1,5 kg de suelo y se colocó en cada caja.

c) Preparación de la solución para la contaminación del suelo

Con la finalidad de tener una concentración inicial definida del insecticida piretroide en las muestras de suelo. Se preparó una solución acuosa usando la formulación comercial denominada cypermetrina, posteriormente se mezcló en el suelo asegurando una homogeneización eficaz. La determinación de la concentración del insecticida se especifica en la determinación cualitativa y cuantitativa del piretroide (numeral 2.2.7) obteniendo una concentración inicial de 50,6 ppm en el suelo, dicho valor se encuentra dentro del rango de actividad microbiana para procesos de biorremediación recomendado por (Chaudhry, Ali, & Wheeler, 1988). Además esta concentración fue fácilmente detectada por el cromatógrafo de gases del laboratorio de la Comisión Atómica, cuyo equipo detecta valores mayores a 0,06 mg/kg del contaminante.

2.2.5.2. *Tratamientos del experimento*

Tabla 6. Tratamientos aplicados a las unidades de experimentación

No. Tratamiento	Tipo de tratamiento	Peso suelo/ mL de inóculo/ Concentración de piretroide
T0	Suelo + Piretroide	1,50 kg de suelo + 50,60 ppm
T1	Suelo + <i>T. harzianum</i> + Piretroide	1,50 kg de suelo + 150 mL + 50,60 ppm
T2	Suelo + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide	1,50 kg de suelo + 150 mL + 50,60 ppm
T3	Suelo + <i>T. harzianum</i> + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide	1,50 kg de suelo + 150 mL + 50,60 ppm

Elaborado por: La autora, 2016.

2.2.5.3. *Diseño experimental*

Se utilizó DCA con 4 tratamientos descritos en la Tabla 6 y 4 repeticiones para cada tratamiento, dando un total de 16 unidades experimentales, el análisis estadístico estuvo en función de medias y ANOVA con Tukey al 5% para las variables (temperatura, pH, humedad y conductividad eléctrica) a ser evaluadas después de cada uno de los tratamientos.

2.2.5.4. *Variables evaluadas en cada ensayo*

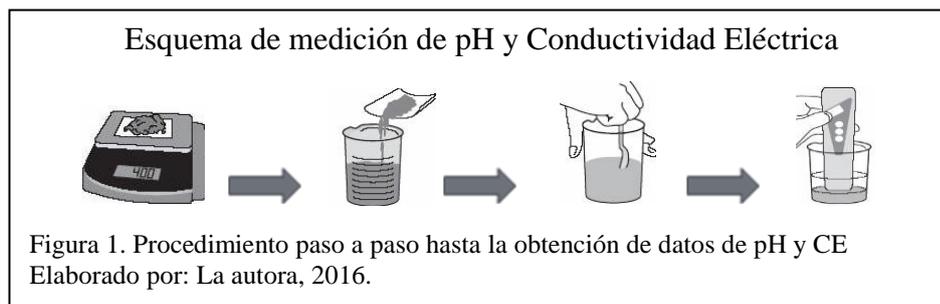
Las variables evaluadas en el ensayo fueron temperatura, humedad, pH y conductividad eléctrica (Anexo 13).

2.2.5.4.1. *Temperatura y humedad*

La toma de datos de temperatura y humedad se realizaron todos los días mientras duró el experimento, se introdujo la sonda de medición de un termohigrómetro en el centro de cada unidad experimental. Las medidas obtenidas se proyectaron en la pantalla LCD del equipo.

2.2.5.4.2. *pH y conductividad eléctrica*

Las medidas del pH de las muestras de suelo se realizaron dos veces por semana. Se pesó 40 g de suelo y se agregó 100 mL de agua destilada en un recipiente de vidrio, se agitó vigorosamente la suspensión aproximadamente 10 minutos y se dejó que repose. Se introdujo los electrodos para pH y C.E en dS/m. Se obtuvo los datos del equipo cuando se estabilizó la lectura (aproximadamente 1 minuto). El pH-metro fue calibrado con soluciones estabilizadoras (buffer) de pH conocido (4,0-7,0-10,0).



2.2.6. Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos se realizaron en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Politécnica Salesiana. Se realizaron al inicio y al final del ensayo. La muestra analizada al inicio consistió en suelo con piretroide sin inoculación de los hongos, y la muestra analizada al final del ensayo provino de la homogeneización de muestras de los tratamientos T1 (Suelo + *T. harzianum* + Piretroide), T2 (Suelo + *P. ostreatus* + Piretroide) y T3 (Suelo + *T. harzianum* + *P. ostreatus* + Piretroide). Los parámetros que se determinaron fueron: materia orgánica, nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio, magnesio asimilables y sodio, potasio magnesio y calcio intercambiables. Los procedimientos que se emplearon, pertenecen al Manual para el Análisis de Suelos (Ver Anexo 7) propuesto por (Gualavisí, 2009).

Tabla 7. Metodologías empleadas para análisis fisicoquímicos

Parámetro	Metodología/Equipo empleado	Unidades
P, K, Ca, Mg - Asimilables	Olsen modificado	meq/100 g
Ca, Mg, K, Na - Intercambiables	Acetato de Sodio - Centrífuga	meq/100 g
S	Turbidimétrico - Fotocolorimetría	mg/L
Materia Orgánica	Test de Nitratos Merck	%
pH	potenciómetro	uds
Conductividad eléctrica	conductímetro	mS/cm

Fuente: (Gualavisí, 2009). Elaborado por: La autora, 2016.

2.2.7. Determinación cualitativa y cuantitativa del piretroide

La determinación del piretroide se realizó al principio y al final del ensayo en el Laboratorio de la Comisión Atómica de la Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares del Ministerio de Energía y Recursos Renovables. El método empleado para análisis de residuos de piretroides en el suelo fue una variación del método de QuEChERS para posteriormente efectuar el análisis por cromatografía de gases acoplado a masas (GC MSMS) (Anexo 8).

Tabla 8. Análisis cromatográfico analizado, metodología y unidades

Descripción	Metodología	Unidades
Análisis de piretroide (cypermctrina)	Variación del método de QuEChERS	Concentración ($\mu\text{g/g}$)

Elaborado por: La autora, 2016.

2.2.7.1. *Extracción de las muestras de suelo mediante una variación del método de QuEChERS*

El análisis del presente estudio se realizó en los laboratorios de la Comisión Atómica, laboratorio acreditado por el Organismo Ecuatoriano de Acreditación. Para lo cual se empleó una variación del método de QuEChERS. La metodología que se llevó a cabo fue propuesta por (Asensio, 2011). Se pesaron 10 g de suelo en un tubo de 50 mL y se añadió el volumen apropiado de la disolución del IS. Se añadieron 20 mL de ACN (acetonitrilo) y se agitó vigorosamente duramente 1 minuto. Se añadió 4 g de $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1 g de NaCl, 0,5 g de citrato disódico sesquihidratado y 1 g de citrato trisódico. Se agitó nuevamente la mezcla aproximadamente 10 segundos, se introdujo en un baño de ultrasonidos durante 5 min y se centrifugó a 4400 rpm durante 8 minutos. Se llevó una etapa de limpieza mediante dSPE añadiendo el sobrenadante a un tubo de centrífuga de 15 mL que contenía 1,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 0,250 g de PSA, se agitó durante unos segundos y se sometió a ultrasonidos durante 1 minuto. Se centrifugó a

4400 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se evaporó hasta sequedad a 40 °C en un rotavapor. El residuo se disolvió en 1 mL de ciclohexano y tras colocar una pequeña cantidad de Na₂SO₄ anhidro, se filtró por una membrana de 0,20 µm de PET. Con una micropipeta se tomó un volumen determinado de la fase orgánica y se diluyó en una mezcla de acetato de etilo-hexano 1:1 y se inyectó un microlitro al cromatógrafo de gases.

2.2.7.2. *Condiciones del cromatógrafo de gases (CG)*

Luego de haber obtenido la muestra procesada fue inyectada en una columna del cromatógrafo de gases de Marca HP-5MS, así mismo se colocaron los patrones controles previamente preparados. Se utilizó softwares tales como Angilent Mass Hunter Qualitative Analysis y QQQ-Quantification. Que arrojaron datos cualitativos y cuantitativos de los piretroides que contenía la muestra (Anexo 9).

Tabla 9. Características del piretroide cypermetrina patrón

Solvente	Isoctano
Concentración	1029 µg/mL
Volumen de aforo	10 mL
Control de peso inicial	23,0595 µg
Cantidad estándar	10, 40 µg
Pureza	99 %

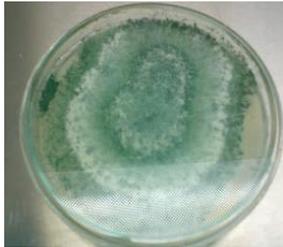
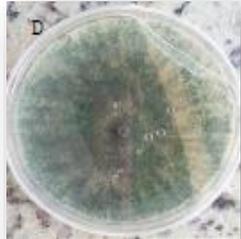
Elaborado por: La autora, 2016.

3. Resultados

3.1. Aislamiento e identificación de *T. harzianum*

3.1.1. Identificación macroscópica

Tabla 10. Identificación macroscópica de *T. harzianum*

Características	Laboratorio	Referencia bibliográfica
Formación de anillos concéntricos	 Fuente: La autora, 2016.	 Fuente: (España, 2015)
Coloración del micelio	 Fuente: La autora, 2016.	 Fuente: (España, 2015)

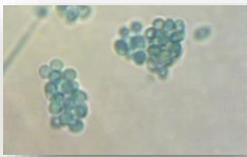
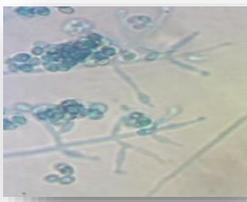
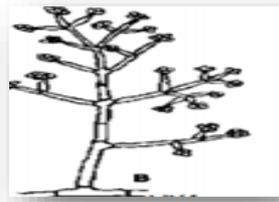
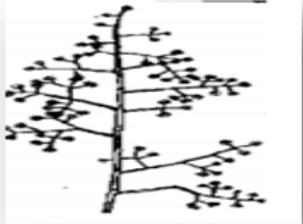
Elaborado por: La autora, 2016.

Como se observa en la tabla 11, las imágenes de la columna de la izquierda pertenecen a los resultados obtenidos en laboratorio, las cajas Petri presentaron a los 7 días de incubación a 25 °C, masivo crecimiento micelial en forma de anillos concéntricos y esporulación densa de color verde oscuro rodeado de micelio blanquecino. Estas características comparadas con la columna de la derecha que hacen referencia a características reportadas por (España, 2015, pág. 36) que describe macroscópicamente al hongo como: de rápido crecimiento, apariencia aterciopelada y de color blanquecino, verdes o amarillo verdosas; áreas con colonias que se definen

con anillos concéntricos. Por lo tanto, se comprueba que las características de las imágenes obtenidas en el laboratorio coinciden con las características de *T. harzianum* citadas por el autor.

3.1.2. Identificación microscópica

Tabla 11. Identificación microscópica de *T. harzianum*

Estructuras	Laboratorio	Referencia bibliográfica
Conidias	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Barnett, 1967)</p>
Fiálides	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Barnett, 1967)</p>
Conidióforos	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Barnett, 1967)</p>

Elaborado por: La autora, 2016.

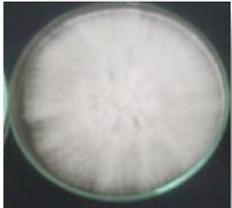
Como se observa en la tabla 12, las imágenes de la izquierda pertenecen a los resultados obtenidos en el laboratorio, muestran que las conidias tienen forma ligeramente redondeadas y agrupadas; las fiálides tienen forma de botella; los conidióforos hialinos, ramificados en forma de árboles. Y en la columna de la derecha

se observan imágenes de referencia pertenecientes a la guía de (Barnett, 1967) código 46 de *T. harzianum*, que describe a las estructuras como conidias hialinas ovoides; fiálides en forma de botella agrupadas; conidióforos hialinos, en posición vertical, muy ramificado en racimos. Se compararon las estructuras de las dos columnas y se determinó que la especie estudiada se trataba del hongo de interés.

3.2. Aislamiento e identificación de *P. ostreatus*

3.2.1. Identificación macroscópica

Tabla 12. Identificación macroscópica de crecimiento micelial de *P. ostreatus*

Características	Laboratorio	Referencia bibliográfica
Coloración del micelio	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Acosta, Bautista, & Mora, 1994)</p>
Formación de anillos concéntricos	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Acosta, Bautista, & Mora, 1994)</p>

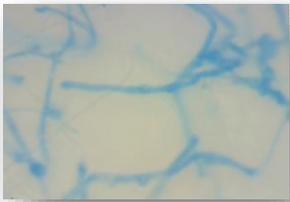
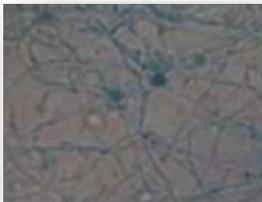
Elaborado por: La autora, 2016.

Como se observa en la tabla 13, la columna de la izquierda pertenece a imágenes obtenidas en el laboratorio, cuyas características macroscópicas son: coloración del micelio blanquecina y de apariencia algodonosa, además de la formación de anillos concéntricos sobre el medio de cultivo y que crecen ampliamente sobre el medio de cultivo. La columna de la derecha contiene imágenes de referencia establecidas por

(Acosta, Bautista, & Mora, 1994) que describen al crecimiento micelial *in vitro* de la especie *P. ostreatus* como: crecimiento micelial blanquecino con tonos amarillos y aéreos de textura algodonosa, con anillos concéntricos. Por lo tanto, se determina que las características mencionadas por el autor coinciden con las imágenes obtenidas en el laboratorio y pertenecen a *P. ostreatus*.

3.2.2. Identificación microscópica

Tabla 13. Identificación microscópica de esporas de *P. ostreatus*

Estructuras	Laboratorio	Referencia bibliográfica
Basidioporas	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Fernández & Henao, 2007)</p>
Basidios	 <p>Fuente: La autora, 2016.</p>	 <p>Fuente: (Sánchez J., 2012)</p>

Elaborado por: La autora, 2016.

Como se observa en la tabla 14, la columna de la izquierda pertenece a imágenes obtenidas en el laboratorio, en la trama del himenio las estructuras de basidiosporas se encuentran enmarañadas, cuyas hifas son finas y alargadas, además hay la formación de pequeñas esporas, que coinciden con las estructuras reportadas por (Fernández & Henao, 2007) que establecen que este hongo presenta hifas hialinas septadas delgadas o muy finas con formación de esporas de pequeño tamaño. La imagen de basidios de la columna de la izquierda tiene características elipsoidal e hialina de color blanquecino, que coincide con las características reportadas por (Sánchez J., 2012) en

sus estudios acerca de características de *P. ostreatus*, describen que microscópicamente se pueden observar estructuras que son hialinas, lisas no amiloides y esporada blanca. Por lo tanto, se puede establecer que las morfologías de las estructuras obtenidas en el laboratorio coinciden con lo reportado por los autores comprobando que el hongo aislado es *P. ostreatus*.

3.3. Análisis fisicoquímicos del suelo

Tabla 14. Análisis fisicoquímicos del suelo (principio y final del proyecto)

Parámetros	Unidades	Tratamientos	
		Inicio	Final
pH	Uds	5,63 B	5,63 B
C.E.	mS/cm	1,42 OK	1,90 OK
M.O.	%	2,23 B	2,79 B
N-Total	%	0,11 B	0,14 B
P	Ppm	24,30 OK	2,27 B
K	meq/100g	1,15 OK	2,05 A
Ca	meq/100g	12,85 OK	6,12 OK
Mg	meq/100g	3,98 OK	3,43 OK
Na	meq/100g	0,19 OK	0,23 OK
S	Ppm	5,80 B	16,95 OK

Nota: Parámetros físico químicos analizados al inicio y al final de la investigación en un suelo FRANCO ARENOSO. Simbología A: alto; B: bajo; OK: adecuado; mg/L: miligramos por litro; meq/100g: miliequivalentes por cien gramos; %: porcentaje; unidades: uds. Elaborado por: La autora, 2017.

Como se observa en la tabla 15 la muestra analizada al inicio presenta valores de materia orgánica de 2,23%; nitrógeno de 0,11%; fósforo de 24,30 ppm; potasio de 1,15 meq/100g; calcio de 12,85 meq/100g; magnesio de 3,98 meq/100g; sodio de 0,19 meq/100g; azufre de 5,80 ppm.

El valor de materia orgánica aumentó de 2,23% hasta 2,79%, esto se debe probablemente a la inoculación de los hongos y podrían retener en el suelo los nutrientes obtenidos bajo forma de biomasa y liberación de dióxido de carbono (CO₂). La concentración de Nitrógeno no varió significativamente y se mantuvo con un valor

bajo. Como lo plantea (FAO, 2000) el material menos resistente es descompuesto primero mientras que el material más resistente, es descompuesto en varias etapas. Muchos de los productos de desechos secundarios son ácidos orgánicos; por ello, los hongos ayudan a incrementar la acumulación de materia orgánica rica en ácidos húmicos, resistentes a una degradación posterior. Estos hongos son además importantes para la descomposición de las estructuras de los anillos de carbono de agentes contaminantes como los insecticidas.

La concentración de fósforo disminuyó de un nivel adecuado a bajo, tal efecto se podría responsabilizar a la inoculación de los hongos, porque *T. harzianum* y *P. ostreatus* son especies que presentan mecanismos que contribuyen a que las formas inorgánicas no disponibles, puedan ser transformadas a formas inorgánicas accesibles para la comunidad microbiana y plantas. (Goldstein, 2003, págs. 202-213) (Prada, 2013, pág. 27) establecen que algunos de los mecanismos para realizar la liberación de formas disponibles de fósforo consisten en reacciones metabólicas las cuales liberan protones (H^+) al medio, la producción de sustancias quelantes como sideróforos y la secreción de ácidos inorgánicos. El mecanismo que más aporta en la solubilización de fósforo inorgánico, es la liberación de ácidos orgánicos.

La disminución en la concentración de magnesio posiblemente se debe a la inoculación de los hongos, pero produce un aumento en la concentración de sodio. (Betancur, 2013) establece que dicha disminución se da por adsorción microbiológica de estos elementos. En previas investigaciones se ha verificado que el aumento de sodio puede incrementar la tasa de degradación de insecticidas por hongos en el suelo.

3.4. Análisis estadístico

3.4.1. Temperatura

Tabla 15. Análisis de varianza de temperatura. Tukey al 5%

Coeficiente de Variación	Significancia	Medias (°C) y Rangos			
		T0 Suelo + Piretroide	T1 Suelo + <i>T. harzianum</i> + Piretroide	T2 Suelo + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide	T3 Suelo + <i>T. harzianum</i> + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide
0,49	NS	14,81 A	14,87 A	14,81 A	14,86 A

Elaborado por: La autora, 2017.

Según la tabla 16, se observa que el coeficiente de variación es de 0,49% y se determina que los datos son confiables, puesto que se encuentra dentro de valores permitidos para este tipo de ensayos experimentales. El ANOVA muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias, lo que indica que los tratamientos son iguales.

Las temperaturas promedio de los tratamientos oscilaron entre 14,81 – 14,87 °C, valores que podrían estar relacionados a las condiciones ambientales donde se realizó el ensayo, cuyas temperaturas ambientales fueron de 10 °C y 18 °C, mínima y máxima, respectivamente. Este hecho, pudo causar un efecto de retraso en el proceso de biodegradación, ya sea por disminución de la actividad microbiana o por el retraso de los procesos fisicoquímicos que median la transformación, tales como la reducción de oxígeno o procesos de hidrólisis.

T. harzianum es conocido por ser un hongo que se adapta a temperaturas muy bajas, y en el ensayo la temperatura mínima fue de 14,81 °C, valor muy cercano a 15 °C. Según (Nampoothiri, Baiju, Sandhya, & Sabu, 2004, págs. 1583-1590) establecen que *T. harzianum* se desarrolla en temperaturas que se encuentran entre 15 – 30 °C, lo cual indica que el hongo creció en condiciones óptimas.

En los tratamientos T2 y T3, en los cuales se inoculó *P. ostreatus*, la temperatura promedio estuvo muy por debajo de la temperatura del hábitat natural donde crece el hongo, posiblemente su desarrollo normal (germinación de esporas, habilidades competitivas y producción de metabolitos) se retrasó, y este factor pudo ser determinante en el proceso de biodegradación del insecticida. (VARRA, 2003) menciona que, a temperaturas inferiores a la óptima, la velocidad de crecimiento del hongo disminuye y los periodos de latencia se alargan y el proceso de biodegradación se retarda. (Chávez, 2006) menciona que la temperatura es importante para determinar la cantidad y la tasa de crecimiento del hongo.

Según la literatura la temperatura óptima para el crecimiento del micelio de *P. ostreatus* es de 25 - 30 °C, sin embargo, la temperatura mínima donde aún hay crecimiento del hongo es de 15 °C (Soto, 2004). Este hecho indica que la temperatura a la que fue expuesto el hongo *P. ostreatus* no afectó a su crecimiento micelial.

3.4.2. Humedad

Tabla 16. Análisis de varianza de humedad. Tukey al 5%

Coeficiente de Variación	Significancia	Medias (%) y Rangos			
		T0 Suelo + Piretroide	T1 Suelo + <i>T. harzianum</i> + Piretroide	T2 Suelo + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide	T3 Suelo + <i>T. harzianum</i> + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide
1,23	**	54,20 B	54,72 B	56,36 A	56,86 A

Elaborado por: La autora, 2017.

Según la tabla 17, se observa que el coeficiente de variación es de 1,23% y se determina que los datos son confiables, porque se encuentra dentro de los valores permitidos para este tipo de ensayos experimentales. El ANOVA muestra alta significancia estadística lo que indica que al menos un tratamiento es diferente. La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo a Tukey al 5% establece que las medias de T2 y T3 son iguales al ubicarse en el rango A, difiriéndose de las medias

de T0 y T1, los cuales se ubican en el rango B. Las medias de los tratamientos T2 y T3 con valores de 56,36% y 56,86% tienen porcentajes de humedad más altos que T0 y T1 con valores de media de 54,20% y 54,72%.

En los tratamientos T2 y T3 en los cuales se inoculó *P. ostreatus*, el alto porcentaje de humedad (56,36 - 56,86%) posiblemente afectó al desarrollo (germinación de esporas, habilidades competitivas y producción de metabolitos) y al crecimiento micelial puesto que (Soto, 2004) establece que la humedad óptima para *P. ostreatus* para procesos de biorremediación es de 30 hasta al 40% para el desarrollo y crecimiento del micelio. Según (Kredics, Antal, Manczinger, & Szekeres, 2003) mencionan que la humedad puede afectar o beneficiar las actividades del hongo, en especial en la germinación de las esporas o el crecimiento del micelio y tiene un efecto crítico en la interacción entre hongos y la producción de enzimas.

El T1 en el cual se inoculó *T. harzianum* presentó un valor de humedad de 54,72%, valor que según (Perez, Torrado, Lopez, & Pastrana, 2003, págs. 343-350) se encuentra dentro de 30-75%, que es la humedad óptima para este hongo. (Nampoothiri, Baiju, Sandhya, & Sabu, 2004, págs. 1583-1590) establecen que los hongos requieren una humedad que sea suficiente para su supervivencia y que esta no interfiera en su metabolismo.

La variación de la humedad entre los tratamientos del rango A y el rango B, podría deberse a que hubo un fallo con la sonda del termohigrómetro por lo tanto, afectó en la medición. (ELC, 2015) establece que uno de los problemas más comunes que suelen tener los sensores de humedad es que las sondas que los compone comiencen a fallar. El equipo podría arrojar resultados equivocados con respecto a la humedad, perjudicando el proceso de producción o análisis de muestras.

3.4.3. Potencial de hidrógeno (pH)

Tabla 17. Análisis de varianza de pH. Tukey al 5%

Coeficiente de Variación	Significancia	Medias (uds) y Rangos			
		T0 Suelo + Piretroide	T1 Suelo + <i>T.</i> <i>harzianum</i> + Piretroide	T2 Suelo + <i>P.</i> <i>ostreatus</i> + Piretroide	T3 Suelo + <i>T.</i> <i>harzianum</i> + <i>P.</i> <i>ostreatus</i> + Piretroide
1,28	**	5,42 B	6,26 A	6,26 A	6,22 A

Elaborado por: La autora, 2017.

Según la tabla 18, se observa que el coeficiente de variación es de 1,28%, se establece que los datos son confiables, puesto que se encuentra dentro de los valores permitidos para este tipo de ensayos experimentales. El ANOVA muestra alta significancia estadística lo que indica que al menos un tratamiento es diferente. La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo a Tukey al 5% establece que las medias de los tratamientos T1, T2 y T3 del rango A se difieren a la media del tratamiento T0 perteneciente al rango B.

Los valores de pH de 6,22 – 6,26 de los tratamientos T1, T2 y T3 indican una ligera acidez, posiblemente se debe a que los hongos cumplen con reacciones metabólicas como la respiración y pueden generar la liberación de protones (H⁺) por su translocación a través de las ATPasas, lo que genera una alta concentración de estos cationes en las superficies externas de la célula. De igual manera la asimilación de NH₄⁺ por parte de los microorganismos, debido al uso de sales de amonio produce una alta concentración de H⁺. Estos tipos de procesos metabólicos causan la acidificación del medio circundante lo que produce liberación de fósforo disponible (Paredes, 2010, pág. 125).

El pH regula la producción de enzimas extracelulares y *T. harzianum* tiene la facultad de crecer en suelo con un amplio rango de pH de 2 a 6, con un valor óptimo 4; la

producción alta de biomasa se da en un rango de pH entre 4,6 y 6,8 (Kredics, Antal, Manczinger, & Szekeres, 2003). En los tratamientos T1 y T3 en los cuales se inoculó *T. harzianum*, su pH estaba dentro de los valores para crecimiento micelial y producción de biomasa. (Soto, 2004) menciona que *P. ostreatus* crece en un pH de 5 a 6 (bajo 4 existe inhibición). Los tratamientos T2 y T3 presentaron valores de pH que se encontraban dentro del rango óptimo para el crecimiento del hongo, lo cual favoreció a su crecimiento y metabolismo.

Los valores de pH 6,22 – 6,26 de los tratamientos de la presente investigación se encuentran en el rango recomendado para una buena degradación aeróbica de contaminantes en el suelo oscila entre 5 y 9, con un óptimo de 7 (Dragun, J & Barkach, 2000, págs. 18-22).

El T0 tiene un pH más ácido que el resto de tratamientos, podría deberse a que este tratamiento también fue contaminado con el insecticida piretroide, y al no existir la ayuda de los mecanismos enzimáticos ni metabólicos de *T. harzianum* ni *P. ostreatus*, el contaminante no pudo ser degradado por estos medios alterando así las características fisicoquímicas como fue el pH. (Crosara, 2010) establece que los agrotóxicos acidifican el suelo e incluso inhiben desarrollo microbiano presente en esta matriz, dificultando procesos de biodegradación y alterando la calidad del recurso.

3.4.4. Conductividad eléctrica

Tabla 18. Análisis de varianza de conductividad eléctrica. Tukey al 5%

Coeficiente de Variación	Significancia	Media (dS/m) y Rangos			
		T0 Suelo + Piretroide	T1 Suelo + <i>T.</i> <i>harzianum</i> + Piretroide	T2 Suelo + <i>P.</i> <i>ostreatus</i> + Piretroide	T3 Suelo + <i>T.</i> <i>harzianum</i> + <i>P.</i> <i>ostreatus</i> + Piretroide
2,22	NS	1,44 A	1,43 A	1,45 A	1,45 A

Elaborado por: La autora, 2017.

Según la tabla 19, el coeficiente de variación es de 2,22% y se establece que los datos son confiables, puesto que se encuentra dentro de los valores permitidos para este tipo de ensayos experimentales. El ANOVA muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias. Lo que indica que todos los tratamientos son iguales.

Al principio del ensayo la conductividad eléctrica fue de 1,40 dS/m, pero según el análisis de varianza se presentan valores entre valores de 1,43 – 1.45 dS/m, lo que podría estar evidenciando un proceso de salinización. Por tanto, un aumento en la conductividad eléctrica puede sugerir una interacción importante entre las partículas suspendidas o disueltas en la interfase agua sedimento, con la adsorción de sustancias orgánicas como el insecticida (Agudelo, D, Flórez, & López, 2013).

3.5. Análisis de concentración del insecticida piretroide en el suelo al inicio y al final del ensayo

Tabla 19. Degradación del insecticida piretroide

	Repetición	Concentración Inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Diferencia (ppm)	Degradación (%)	LD y LC
T0	1	50,60	6,29	44,31	87,57	0,02 y 0.06
	2		5,43	45,17	89,27	
	3		5,43	45,17	89,27	
	4		6,00	44,60	88,14	
T1	1	50,60	5,14	45,46	89,84	
	2		4,86	45,74	90,40	
	3		5,52	45,08	89,09	
	4		6,00	44,60	88,14	
T2	1	50,60	5,71	44,89	88,72	
	2		5,55	45,05	89,03	
	3		5,14	45,46	89,84	
	4		4,29	46,31	91,52	
T3	1	50,60	3,71	46,89	92,67	
	2		3,43	47,17	93,22	
	3		3,43	47,17	93,22	
	4		3,71	46,89	92,67	

Nota: Límite de Detección (LD) $\mu\text{g/g}$; Límite de cuantificación (LC) $\mu\text{g/g}$. Elaborado por: La autora, 2017.

Tabla 20. Análisis de varianza de degradación del insecticida piretroide. Tukey al 5%

Coeficiente de Variación	Significancia	Promedios (dS/m) y Rangos			
		T0 Suelo + Piretroide	T1 Suelo + <i>T. harzianum</i> + Piretroide	T2 Suelo + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide	T3 Suelo + <i>T. harzianum</i> + <i>P. ostreatus</i> + Piretroide
1,02	**	88,56 B	89,37 B	89,78 B	92,95 A

Nota: Valores obtenidos del Anexo 14. Elaborado por: La autora, 2017.

Como se observa en la tabla 21, el coeficiente de variación es de 0,02% y se establece que los datos son confiables, puesto que se encuentra dentro de los valores permitidos para este tipo de ensayos experimentales. El ANOVA muestra alta significancia estadística lo que indica que al menos un tratamiento es diferente. La prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo con Tukey al 5% establece al tratamiento T3 en el rango A, difiriéndose de los tratamientos T0, T1 y T2 del rango B.

La concentración inicial del piretroide cypermetrina fue de 50,60 ppm (Tabla 20). Luego de la inoculación de los hongos en los tratamientos, la media de degradación fue reducido en 92,95% en el T3 (Suelo + *T. harzianum* + *P. ostreatus* + Piretroide), ubicándolo como el mejor tratamiento debido a la más alto media, seguido por el tratamiento T2 (Suelo + *P. ostreatus* + Piretroide) con un media de 89,78%, le sigue el T1 (Suelo + *T. harzianum* + Piretroide) con un media similar al T2 de 89,37%, y el tratamiento que presentó la menos media de degradación fue el testigo, con un valor de 88,56%.

El T3 resultó como el mejor tratamiento, debido a la inoculación del mix fúngico (*Trichoderma harzianum* + *Pleurotus ostreatus*) y se demostró su capacidad para degradar el insecticida hasta un 92,95%, una disminución cercana al 100%. Posiblemente porque la interacción entre los dos hongos potenció la degradación de la cypermetrina, esto podría deberse a que *P. ostreatus* produjo enzimas como la lacasa para resistir a *T. harzianum*, o a que la cantidad de micelio era menor por la presencia de este contaminante. Según a lo establecido por (Conrado, Flores, del Refugio, Galindo, & Serrano, 2004) las lacasas, p-difenil:dioxígeno oxidoreductasas (EC 1.10.3.2), son capaces de realizar la oxidación de compuestos xenobióticos a partir de oxígeno y *P. ostreatus* al ser un hongo lignolítico es el principal productor estas enzimas. (Murrieta, Mata, & Iglesias, 2002) han reportado que la interacción *Pleurotus-Trichoderma* causa un incremento significativo en la actividad específica de lacasa, debido a que la producción de lacasa es inducida por metabolitos extracelulares del hongo *T. harzianum*.

La degradación no se debió únicamente al metabolismo de los hongos, puesto que en el T0 no se inocularon hongos, y presentó una importante disminución de la concentración del insecticida (Anexo 5), probablemente porque el suelo ya tenía una

carga microbiana propia, por lo cual una importante actividad bacteriana pudo haber influenciado. (Betancur, 2013) establece que la degradación de insecticidas también podría deberse a factores físicoquímicos (volatilización, hidrólisis, adsorción y absorción del piretroide) o por agentes biológicos (microbiota nativa).

La temperatura cumplió un rol importante en este proceso de degradación, *T. harzianum* se desarrolló dentro del rango óptimo que estuvo entre 14,81 – 14,87 °C, y a pesar que la temperatura fue baja para el desarrollo óptimo de *P. ostreatus* según lo reportado por (Soto, 2004), éste es un hongo versátil que probablemente se adaptó al medio y también biodegradó. También se le atribuye a la temperatura y su interacción con los hongos, un aumento en la solubilidad del insecticida. De esta forma, se maximiza la biodisponibilidad del piretroide, resultando en un crecimiento en la tasa de biodegradación. Por lo tanto, el aumento de temperatura podría potenciar la biodegradación del pesticida aumentando procesos enzimáticos y metabólicos por parte de las cepas fúngicas e incluso de microorganismos nativos, proceso que se evidenció en el suelo perteneciente al T0, el cual también presentó una alta degradación del contaminante, pero no tan importante como el T3 (mix fúngico).

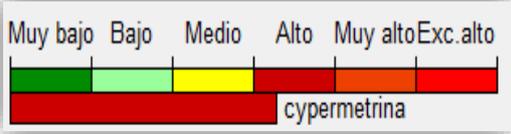
La naturaleza química del piretroide cypermetrina posiblemente influyó para su degradación, puesto que es una mezcla de 4 diastereoisómeros cada uno de los cuales aparece como un par de enantiómeros. La hidrólisis de la función éster es la principal vía de degradación; una vía menor la constituye la hidroxilación del grupo fenoxi, seguida de la hidrólisis de la función éster. El producto final de la degradación es CO₂ (Terralia, 2016).

La concentración obtenida del piretroide cypermetrina al final del ensayo fue alta (3,41 -3,73 ppm), puesto que (Ministerio del Ambiente, 2009) establece que, en la (Norma

de Calidad Ambiental del Recurso Suelo y Criterios de Remediación para Suelos Contaminados, pág. 12), el criterio de remediación (valor máximo permisible) de calidad del suelo es 0,05 ppm. A pesar que la concentración del piretroide no se encontraba dentro de los criterios establecidos por la norma, la biorremediación demostró ser una técnica aplicable a procesos de degradación de contaminantes, demostrando así el potencial biodegradador de los hongos puesto que hubo una reducción de hasta el 92,95% del insecticida.

3.6. PIRI

Tabla 21. Datos de toxicidad y movilidad del piretroide obtenidos de PIRI

Cálculo de movilidad en cuerpos de agua en cultivo de papa	<p style="text-align: center;">Alto</p> 
Cálculo de toxicidad en cultivo de papa	<p style="text-align: center;">Bajo</p> 

Elaborado por: La autora, 2017.

En la tabla 22, se observan las escalas cualitativas de movilidad y toxicidad del piretroide cypermethrin, cuyas características se obtuvieron luego de ingresar los datos del Anexo 6 en el programa PIRI. El programa predijo el impacto del contaminante cypermethrin de acuerdo a la zona de estudio denominada “El Capulí” en la provincia del Carchi. Los resultados muestran que la cypermethrin tendría un comportamiento de alta movilidad en cuerpos de agua y una baja toxicidad en la biodiversidad, bajo las condiciones agroclimáticas del cultivo de papa en dicha zona de estudio. Al presentar un comportamiento de movilidad alta en cuerpos de agua, la cypermethrin al liberarse

a cuerpos de agua se produce un rápido reparto hacia los sedimentos y los sólidos suspendidos (Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas, 1993).

El comportamiento de la toxicidad del piretroide cypermetrina es bajo en este tipo de cultivo y en la zona de estudio, posiblemente porque su vida media en el suelo se encuentra en el rango de dos a cuatro semanas. Es baja la toxicidad del compuesto para las aves (Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas, 1993). Sin embargo, las abejas pueden ser muy sensibles en las pruebas de laboratorio, en condiciones de campo, el efecto es mínimo, ya que la cypermetrina parece tener un efecto repelente en ellas. Con las proporciones de aplicación recomendadas es poco probable que la cypermetrina o sus productos de degradación alcancen niveles ambientales significativos (Plestina, 1984).

Las características establecidas por el programa PIRI, del insecticida cypermetrina, se ajustan a lo establecido en esta investigación, por lo tanto, presenta características para ser incorporado en un programa de Buenas Prácticas Agrícolas para el cultivo de papa. Y su alta movilidad podría ser atenuada o reducida si el uso del insecticida se diera bajo condiciones controladas de aplicación.

Conclusiones

- El acondicionamiento al hábitat natural del hongo *P. ostreatus* donde crece y se desarrolla, mediante el control de las condiciones del cultivo como humedad relativa y luminosidad, favoreció para que se pueda realizar a la primera cosecha a los 20 días en el cual se recogió aproximadamente el 50% de la producción.
- La variación del método de QuEChERS permitió la caracterización y cuantificación del insecticida piretroide en las muestras de suelo, demostrando que es una técnica confiable para la identificación de estos insecticidas en este tipo de matrices, lo que la convierte como una herramienta importante y reproducible para futuras investigaciones.
- La aplicación del T3 (mix fúngico de *Trichoderma harzianum* y *Pleurotus ostreatus*) al suelo contaminado con piretroide fue el mejor, puesto que se logró el mayor porcentaje de biodegradación entre los tratamientos con un valor de 92,95% lo que se debe a que la interacción entre los dos hongos activó un potente sistema enzimático de lacasas que fue aprovechado para la biodegradación del contaminante, por esta razón se aceptó la hipótesis alternativa.

Recomendaciones

- Adicionar nitrógeno y fósforo al suelo contaminado en futuros ensayos con la finalidad de estimular la biodegradación de estos compuestos e incrementar la abundancia de las especies microbianas.
- Probar concentraciones mayores del inóculo, a la propuesta en este ensayo, para comprobar que la concentración UFC/mL favorezca a la biodegradación de contaminantes.
- Mezclar al suelo contaminado con sustratos como paja, cascarilla de arroz, aserrín, puesto que *P. ostreatus* al ser un hongo de la podredumbre blanca requiere de un sustrato rico en lignina, óptimo para su desarrollo.
- Emplear el programa PIRI para predecir el comportamiento en el ambiente de plaguicidas, insecticidas y otros agrotóxicos, puesto que el programa provee de información como toxicidad y movilidad dependiendo de las características agroclimáticas y uso del suelo del sector en estudio.

Bibliografía

- Acosta, U., Bautista, V., & Mora, L. (1994). Primer cultivo de una cepa silvestre de *Pleurotus ostreatus* de México. En *V Congreso Nacional de Micología* (pág. 64). Guanajuato.
- AGROCALIDAD. (2016). *Reporte de registro de productos plaguicidas*. Recuperado el 20 de junio de 2016, de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2013/09/Lista-de-plaguicidas-registrados-antes-AGROCALIDAD-2016.pdf>
- Agudelo, D, Flórez, M., & López, C. (08 de marzo de 2013). Influencia de las condiciones fisicoquímicas del sedimento y la interfase agua-sedimento en la transferencia experimental del 0,0-dietil 0?-3,5,6 tricloro-2-piridinil fosforotiato (clorpirifos) y el 3,5,6 tricloro-2-piridinol (TCP), en el embalse Riogra. *Ingenierías*, 12(23). Recuperado el 01 de marzo de 2017, de <http://revistas.udem.edu.co/index.php/ingenierias/article/view/690/859>
- Aguilar, P., Chin, J., & Ruíz, K. (2014). Uso del “Pesticide Impact Rating Index” (PIRI) para estimar la peligrosidad del uso de plaguicidas en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L). *Mundo da Saúde*, 24-30. Recuperado el 10 de marzo de 2017, de http://bvsm.sau.gov.br/bvs/artigos/mundo_saude/uso_pesticide_impact_rating_index.pdf
- Argumedo, R. (2009). EL GÉNERO FÚNGICO *Trichoderma* Y SU RELACIÓN CON CONTAMINANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 257-269.
- Ártigos, C. d. (2012). *Piretroides, Modo de acción, Historia, Clases de piretroides, Efectos ambientales, La seguridad y eficacia*. Obtenido de http://centrodeartigo.com/articulos-de-todos-los-temas/article_31965.html
- Asela, M., & Suárez, S. (15 de abril de 2014). *Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud*. Recuperado el 27 de junio de 2016, de http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol52_3_14/hig10314.htm
- Asensio, M. (2011). *Nuevos procedimientos de extracción y determinación de plaguicidas en muestras medio ambientales*. Universidad de La Laguna , Química Analítica. Soportes Audiovisuales e Informáticos. Recuperado el 2 de octubre de 2016, de <http://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/3209/Mar%C3%ADa%20del%20Cristo%20Asensio%20Ramos.pdf?sequence=1>
- Atlas, R. a. (1998). Bioremediation. En *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology* (págs. 666-681). Washington D.C.: SM Press.
- Barnett, H. (1967). Illustrated genera of imperfect fungi. En *Library of congress catalog* (págs. 52-53).

- Bedri. (2006). *Pleurotus ostreatus*. Recuperado el 10 de mayo de 2016, de http://www.bedri.es/Libreta_de_apuntes/P/PL/Pleurotus_ostreatus.htm
- Betancur, B. (2013). *Biorremediación de suelo contaminado con el pesticida 1,1,1-tricloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano (DDT) mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*. Tesis , Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Medellín. Recuperado el 23 de febrero de 2017, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/9164/1/1088253581.2013.pdf.pdf>
- Bezalel, L. (1997). Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology* , 2495-2501.
- Biely, P. (1998). Enzymology of hemicellulose degradation *Trichoderma* and *Gliocladium*. 25-47.
- Bloomquist, J. (1999). *Insecticides: Chemistries and Characteristics*. Recuperado el 25 de junio de 2016, de <http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm>
- Boullosa, N. (26 de abril de 2011). *Biorremediación: 10 métodos de recuperación ecológica*. Recuperado el 09 de agosto de 2016, de <https://faircompanies.com/articles/biorremediacion-10-metodos-de-recuperacion-ecologica/>
- Bradberry, S. C. (2005). Poisoning due to pyrethroids. En U. L. Medicine, *Toxicology Data Network* (págs. 93-106). New Zealand.
- Bumpus, J. (1989). *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by Phanerochaete chrysosporium*.
- Caiza, V. (2013). *Colección, identificación y pruebas de eficacia in vitro de (Trichoderma sp). en el control biológico de (Botrytis cinerea) en la finca florícola picasso roses*. Tesis, Universidad Politécnica Salesiana, Carrera Ingeniería Agropecuaria , Quito-Ecuador. Recuperado el 11 de noviembre de 2016, de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5073/1/UPS-CYT00104.pdf>
- Cameron, M., Timofeevski , S., & Aust, S. (2000). Enzymology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*(54). Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11152065>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. *Centro Internacional de la papa*, 40.
- Casillas, R., Crow, S., & Heinze, T. (1996). Initial oxidative and subsequent conjugative metabolites produced during the metabolism of phenanthrene by fungi. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* , 205-215.
- Cerniglia, C., Freeman , J., & Mitchum, R. (1982). Glucuronide and sulfate conjugation in the fungal metabolism of aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*(43), 1070-1075. Obtenido de

<http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC244187/pdf/aem00186-0104.pdf>

- Chapman, R., Harris, C., & Cole, C. (1981). Persistence of five pyrethroid insecticides in sterile and natural, mineral and organic soil. En *Bull Environ Contam Toxicol* (págs. 513-519). Recuperado el 9 de agosto de 2016, de <http://ambiental.uaslp.mx/docs/FDB-DDTAmbiental.pdf>
- Chaudhry, G., Ali, A., & Wheeler, W. (1988). Isolation of a methyl parathion degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the opd gene from a *Flavobacterium* sp. En *Appl. Environ. Microbiol* (págs. 288-293).
- Chávez, M. (2006). *Producción de Trichoderma sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (Dendranthema grandiflora)*. Tesis, Pontificia Universidad Javeriana, Microbiología industrial, Bogotá. Recuperado el 23 de febrero de 2017, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis286.pdf>
- Cholango, L. (2009). *Selección de cepas de Trichoderma sp. in vitro, para el control de problemas radiculares en flores de verano. Checa-Ecuador*. Escuela Politécnica del Ejército, Departamento de Ciencias de la Vida Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias IASA I, Quito. Recuperado el 02 de 11 de 2016, de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2599/1/T-ESPE-IASA%20I-004154.pdf>
- Claro, O. (2006). *Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas*. (I. d. (INISAV), Productor) Recuperado el 29 de septiembre de 2016, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis98.pdf>
- Cohen, R., & Persky, L. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. En *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (págs. 582-594).
- Conrado, V., Flores, C., del Refugio, M., Galindo, E., & Serrano, L. (2004). *Producción de lacasas y generación de nuevas isoformas en cultivo sólido de Pleurotus ostreatus y Agaricus bisporus infectados con Trichoderma spp.* Instituto de Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Morelos, México. Recuperado el 01 de marzo de 2017, de http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_IV/Orales/OIV-3.pdf
- Constitución de la República del Ecuador. (2013). *SUMAK KAWSAY*. Recuperado el 01 de 12 de 2016, de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Sitios/LIBRO%20buen%20vivir/files/assets/downloads/page0026.pdf>
- Córdoba, D. (1991). *Piretrinas y piretroides*. Recuperado el 27 de junio de 2016, de http://www.bvsde.paho.org/foro_hispano/Unidad_6.htm

- Crissman, C., Espinosa, P., & Barrera, V. (2002). *El uso de plaguicidas en la producción de papa en Carchi*. Quito, EC: INIAP.
- Crissman, C., Yanggen, D., & Espinosa, P. (2002). *Los plaguicidas: impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador*. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa. Abya-Yala. Recuperado el 27 de septiembre de 2016
- Crosara, A. (2010). *El suelo y los problemas ambientales*. Recuperado el 12 de marzo de 2017, de <http://edafologia.fcien.edu.uy/archivos/Suelos%20y%20problemas%20ambientales.pdf>
- Dragun, J., & Barkach, J. (2000). Overview: Fate of Petroleum in Soil systems. (A. S. Publications., Ed.) *Assessment and remediation of oil contaminated soils*, 18-22.
- ELC. (2015). *Equipos y Laboratorios de Colombia*. Recuperado el 12 de marzo de 2017, de http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=4703
- Environmental Protection Agency. (2010). *The Agricultural Worker Protection Standard Definition of Pesticide Handler*. Recuperado el 2016 de junio de 15, de <http://www.epa.gov/oecaagct/factsheets/epa-305-f-98-029.pdf>
- España, K. (2015). *Aislamiento, caracterización y evaluación de Trichoderma spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (Lolium perenne) y trébol blanco (Trifolium repens) en la hacienda "La Alegría" cantón Pedro Moncayo*. Tesis , Universidad Politécnica Salesiana, Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, Quito. Recuperado el 10 de marzo de 2017, de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9365/1/UPS-QT07105.pdf>
- FAO. (2000). *Materia orgánica y actividad biológica*. Recuperado el 22 de febrero de 2017, de http://www.fao.org/ag/Ca/Training_Materials/CD27-Spanish/ba/organic_matter.pdf
- Fernández, J., & Henao, L. (2007). *Evaluación de tres hongos basidiomycetos inmovilizados por luffa Cylindrica y fotocatalisis con TiO2 para la remoción del negro reactivo 5*. Tesis, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Departamento Microbiología, Bogotá. Recuperado el 21 de febrero de 2017
- Fernández, M. (2009). *Estudio del comportamiento fotoquímico y determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción*. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Santiago de Compostela. Recuperado el 10 de junio de 2016, de https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2586/9788498872484_content.pdf;jsessionid=A78068A899377836351E929D52FCF942?sequence=1

- Fernández, M. (2009). *Estudio del comportamiento fotoquímico y determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción*. Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Santiago de Compostela: Universidad Santiago de Compostela.
- Flores , A., & López , B. (diciembre de 2006). *Modo de acción de los insecticidas*. Recuperado el 27 de junio de 2016, de http://www.respyn.uanl.mx/vii/4/ensayos/modo_accion.htm
- Franchi, S., Campelo, E., Enrich, N., & Mandl, B. (2005). Aplicación del software P.I.R.I. (Pesticide Impact Ranking Index) para la evaluación del eventual impacto de la actividad agrícola sobre la calidad del agua en una micro cuenca afluente del Arroyo Santa Rosa en Bella Unión. *CSIRO Land and Water Technical Repor*. Recuperado el 10 de marzo de 2017, de http://www.mgap.gub.uy/DGSSAA/Proyectos/Documentos/FIN/OIEA_RLA_5_050_%20act2007.pdf
- Gaitán, R., Salmones, D., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas, aislamiento, siembra y producción*. Instituto de Ecología, A.C., Veracruz, México.
- Gams & Bissett. (1998). Morphology and identification of Trichoderma. *Trichoderma and Gliocladium, 1*, 3-31.
- García, M. (1986). Manual para buscar setas. 3.
- Goldstein, H. (2003). *Phosphate solubilizing microorganisms vs. phosphate mobilizing microorganisms: What separates a phenotype from a trait?*
- Gualavisí, O. (25 de febrero de 2009). Manual para el análisis de suelos. 1-23.
- Haemmerli, S., Leisola, M., & Sanglard, D. (1986). Oxidation of benzo(a)pyrene by extracellular ligninases of Phanerochaete chrysosporium. En *J. Biol. Chem* (págs. 6900-6903).
- Hernández, D., & Loaiza, A. (2014). *Selección de un método para la conservación y preservación de actinomicetos aislados del suelo del jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira*. Pereira.
- Hofrichter, M. (2002). Lignin conversion by manganese peroxidase MnP. *Enzyme and Microbial Technology*(30), 454-466.
- HYDROENVIRONMENT. (septiembre de 2010). *El cultivo del hongo seta Pleurotus ostreatus*. Recuperado el 10 de mayo de 2016, de http://www.hydroenvironment.com.mx/catalogo/index.php?main_page=page&id=130&chapter=12
- IUPAC. (1993). *Definiciones de Interés en Toxicología*. Obtenido de http://www.bvsde.paho.org/bvstox/e/cursos/peru_julio07/dia04/03_Gonzalez.pdf

- Jerina, D. (1983). Metabolism of aromatic hydrocarbons by the cytochrome P-450 system and epoxide hydrolase. *Drug Metabolism and Disposition*, 1-4.
- Kirk, T., & Farrell, L. (1987). Enzymatic "combustion": The microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*(41), 465-505. Recuperado el 29 de septiembre de 2016
- Koivula, A. (1998). Structure-function relationships in *Trichoderma* cellulolytic enzymes. *Trichoderma and Gliocladium*, 3-24.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., & Szekeres, A. (2003). Influence of Environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. En *Food Technology and Biotechnology* (Vol. 41, págs. 37-42).
- Kubick, C., & Harman, G. (1998). "Trichoderma and Gliocladium". *Basic biology, taxonomy and genetics*, 150-300.
- López, D. (2012). *Determinación de residuos de plaguicidas en tomate riñón (Lycopersicum esculentum) por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masa (GC-MSD)*. Tesis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Quito.
- López, D. (2012). *Determinación de residuos de plaguicidas en tomaters riñón (Lycopersicum esculentum) por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MSD)*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Ciencias Químicas, Quito. Recuperado el 9 de agosto de 2016, de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7113/4.7.001895.pdf?sequence=4>
- López, E. (2002). *Hongos comestibles*. Recuperado el 10 de mayo de 2016, de http://www.visionchamanica.com/alimentacion_sana/Orellanas.htm.
- Manuel, C. (2009). *"Determinación de plaguicidas en mieles de Melipona beecheii y Tetragonisca angustula (hymenoptera: apoidea) y evaluación de la lc50 sobre las obreras"*. Guatemala.
- Martents, R., Wolter, M., & Bahadir, M. (1999). Mineralization of Clabelled highly-condensed polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by *Pleurotus* sp. . En *Soil Biol. Biochem* (págs. 1893-1899). Florida.
- Maya, V. (2013). *Trichoderma harzianum*. Recuperado el 01 de agosto de 2016, de http://www.ecured.cu/Trichoderma_harzianum
- Mayer, A. S. (2002). Laccase: New functions for an old enzyme. En *Phytochemistry* (págs. 551-565).
- Ministerio del Ambiente. (2009). *Norma de Calidad Ambiental del Recurso Suelo y Criterios de Remediación para Suelos Contaminados*. Ministerio del Ambiente, Quito, Ecuador. Recuperado el 01 de marzo de 2017
- Moreira, M., Feijo, G., & Lema, J. (2000). Manganese peroxidase production by *Bjerkandera* sp. BOS55. 1. Regulation of enzymatic production. *Bioprocess*

and Biosystems Engineering(23), 657-661. Recuperado el 29 de septiembre de 2016

- Mueller, D. (1990). The toxicology and environmental fate of synthetic pyrethroids. En *J. Pestic. Reform* (págs. 32-38).
- Murrieta, D., Mata, G., & Iglesias, L. (2002). Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. Cultivado en pulpa de café en confrontación con *Trichoderma viride* Pers., un moho contaminante. *Foresta Veracruzana*, 4(1), 47-52. Recuperado el 01 de marzo de 2017, de <http://www.redalyc.org/pdf/497/49740109.pdf>
- Nampoothiri, K., Baiju, T., Sandhya, C., & Sabu, A. (2004). Process optimization for fungal chitinase production by *Trichoderma harzianum*. En *Process Biochemistry* (Vol. 39, págs. 1583-1590).
- Oliver, D., & Kookana, R. (2005). Pesticide use in the 6th Creek sub-catchment, Mt. Lofty Ranges, S.A. and assessment of risk of off site movement using Pesticide Impact Rating Index (PIRI). Recuperado el 10 de marzo de 2017, de site movement using Pesticide Impact Rating Index (PIRI)
- Paredes, M. (2010). *Aislamiento y caracterización bioquímica de metabolitos producidos por rizobacterias que solubilizan fósforo*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Pawlisz, A., Busnarda, J., & McLauchlin. (1998). Canadian water quality guidelines for deltamethrin. En *Environ Toxicol Water Qual* (págs. 175-210). Recuperado el 9 de agosto de 2016
- Perez, N., Torrado, A., Lopez, C., & Pastrana, L. (2003). Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. En *Electronic Journal of Environmental* (Vol. 2, págs. 343-350).
- Plestina, R. (1984). Prevention, diagnosis, and treatment of insecticide poisoning. *World Health Organization*, 889.
- Ponce, P. (2006). *Modo de acción de los insecticidas*. Recuperado el 04 de julio de 2016, de http://www.respyn.uanl.mx/vii/4/ensayos/modo_accion.htm
- Prada, L. (2013). *Identificación de ácidos orgánicos causantes de la solubilización de fósforo inorgánico sintetizados por actinomicetos aislados de suelos en los andes orientales colombianos*. Tesis, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias, Instituto De Biotecnología Universidad Nacional De Colombia, Bogotá, Colombia. Recuperado el 28 de febrero de 2017, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/10706/1/luisdanielpradasalcedo.2013.pdf>
- Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas. (1993). Cipermetrina, Guía para la Salud y la Seguridad. *Guía para la Salud y la Seguridad No. 22*, 10-13. Recuperado el 01 de marzo de 2017, de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/036116.pdf>

- Puerto, A. (2014). *Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud*. Recuperado el 04 de julio de 2016, de http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol52_3_14/hig10314.htm
- Quintero, J. (2011). *Degradación de plaguicidas mediante hongos de la pudrición blanca de la madera*. Artículo científico, Universidad de Antioquía, Departamento de Ingeniería Química, Medellín. Recuperado el 28 de septiembre de 2016, de <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/26394/37123>
- Quintero, J. (2011). Degradación de Plaguicidas Mediante Hongos de la Pudrición Blanca de la Madera. *Grupo Bioprocesos*, 1-16. Recuperado el 04 de julio de 2016, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a12v64n01.pdf>
- Quintero, J. (2011). DEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS MEDIANTE HONGOS DE LA PUDRICIÓN BLANCA DE LA MADERA. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 64(1).
- Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas en América Latina. (2009). *Permetrina*. Recuperado el 12 de marzo de 2017, de http://www.rap-al.org/articulos_files/Permetrina_Enlace_86.pdf
- Reddy, C. (1995). The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants. En *Curr. Opin. Biotechnol* (págs. 320-328).
- Reddy, G. (2001). Purification and characterization of glutathione conjugate reductase: a component of the tetrachlorohydroquinone reductive dehalogenase system from *Phanerochaete chrysosporium*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 271-277.
- Reinoso, I. (2011). *El cultivo de papa y su participación en la economía ecuatoriana*. Quito: EESC.
- Romano, M. (2008). Determinación de residuos de contaminantes orgánicos en miel y zumos.
- Sánchez, C. (2005). *Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas*. Cundinamarca.
- Sánchez, J. (2012). *Pleurotus ostreatus*. En *Setas Comestibles y Tóxicas Diferencias y Semejanzas* (pág. 198). Madrid: MundiPrensa.
- Santos, M., Areas, M., & Reyes, F. (2007). Piretróides - Uma visão geral. *Alimentos e Nutrição*, 18(3), 339-349.
- SATA. (11 de abril de 2016). *Insecticidas piretroides*. Recuperado el 20 de junio de 2016, de Guía para la protección y nutrición vegetal: http://laguiasata.com/joomla/index.php?option=com_content&view=article&id=556:lambda-cialotrina&catid=46:principios-activos&Itemid=58
- Semple, K. A. (2003). Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, 809-818.

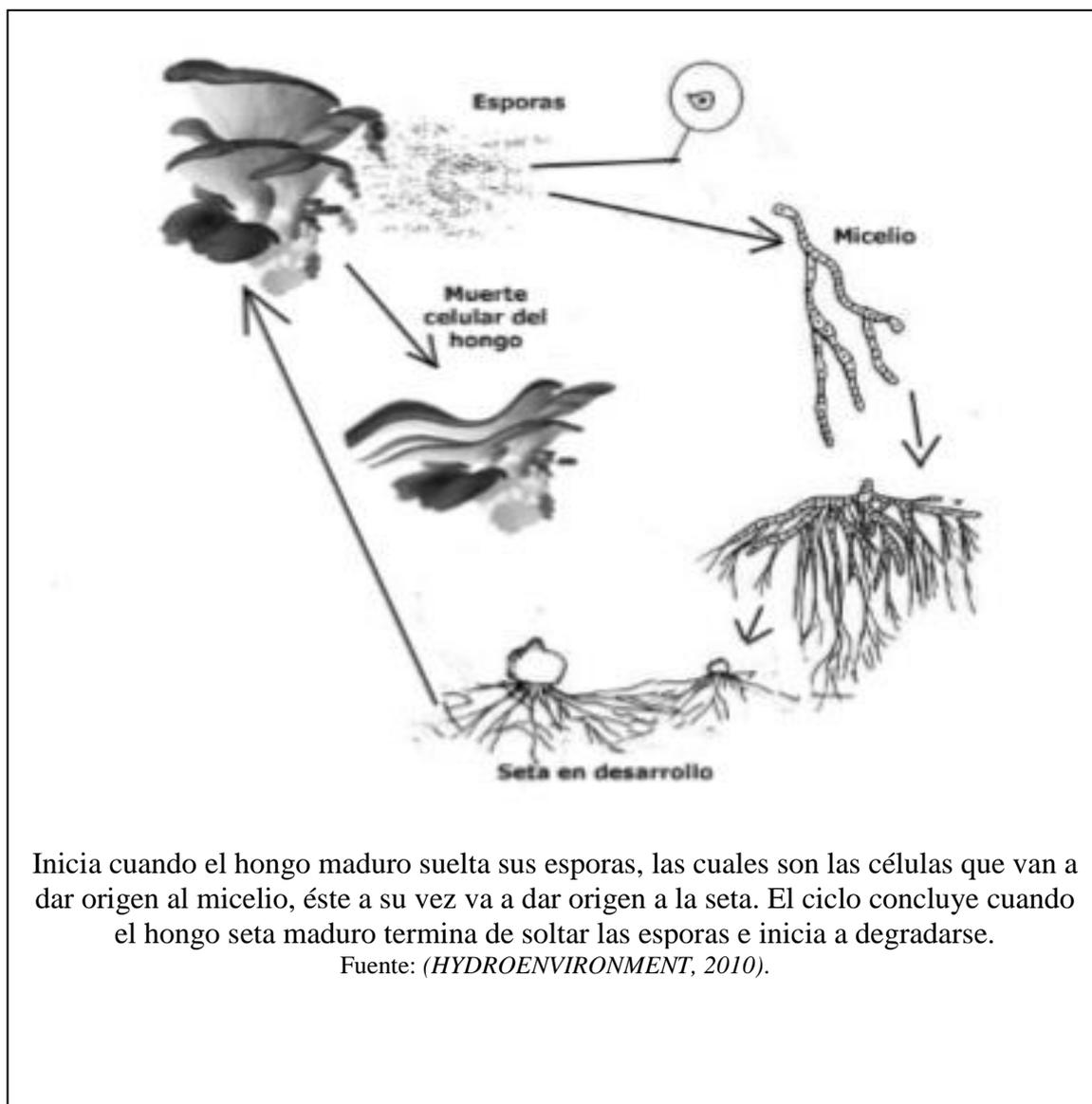
- Serpa, M. (2015). *Eficiencia del crecimiento del hongo Trichoderma harzianum Rifai para la producción de bioplaguicida, aprovechando el residuo agroindustrial de cáscara de haba (Vicia faba L.)*. Tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba. Recuperado el 20 de enero de 2017, de <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4864/1/236T0167.pdf>
- Singh, H. (2006). *Mycoremediation: Fungal bioremediation*. Nueva York, EEUU: John Wiley & Sons. doi: 978-0-471-75501-2
- Soto. (2004). *Hongos de Chile*. Recuperado el 23 de febrero de 2017, de <http://hongos.cl/es/pleurotus-ostreatus>
- Stamets, P. (2000). Growing gourmet and medicinal mushrooms. En *Ten Speed Press* (3 ed., pág. 574). Berkeley, EEUU. doi:978-1-58008-175-7
- Suesca, A. (2012). *Producción de enzimas celulolíticas a partir de cultivos de Trichoderma sp. con biomasa lignocelulósica*. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Bogotá-Colombia. doi:as
- Suesca, A. (2012). *Production of cellulolytic enzymes using Trichoderma sp. with lignocelulosic biomass*. Tesis, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Bogotá. Recuperado el 29 de septiembre de 2016
- Sutherland, J. (1992). Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*(9), 53-61.
- Terralia. (2016). *Información técnica actualizada sobre productos fitosanitarios y nutricionales para la agricultura convencional, orgánica, noticias y empresas del sector*. Recuperado el 01 de marzo de 2017, de http://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/view_composition?composition_id=12756
- Todd, D., Wohlers, D., & Citra, M. (2003). *Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids*. Public health service agency for toxic substances and disease registry, U.S Department of health and human services. .
- U.S Department of Health and Human Services. (2013). *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. Recuperado el 17 de febrero de 2016, de Toxicological Profile for Pyrethrins and Pyrethroids: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp155.pdf>
- Urlacher, V., & Eiben, S. (1992). Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-p-dioxin by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Bacteriology*, 2131-2137.
- Vallejo, M. (2014). *Caracterización y clasificación de Trichodermas nativos aplicando diferentes medios de cultivo a nivel de laboratorio artesanal*. Tesis, Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Ambato-Ecuador. Recuperado el 03 de 11 de 2016, de [70](http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7691/1/tesis-</p>
</div>
<div data-bbox=)

026%20Maestr%C3%ADa%20en%20Agroecolog%C3%ADa%20y%20Ambiente%20-%20CD%20256.pdf

- VARRA. (2003). *Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos*. Recuperado el 23 de febrero de 2017, de <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/09-factores%20de%20supervivencia.htm>
- Varsha, Y., Naga, C., & Chenna, S. (2011). *An emphasis on xenobiotic degradation in environmental clean up*. Recuperado el 31 de julio de 2016, de J Bioremed Biodegrad: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.S11-001>
- Velazco, J., & Volke, T. (2002). *El composteo: alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México*. Recuperado el 01 de agosto de 2016, de <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/gacetas/381/volke.html#top>
- Wood, P. (1992). A comparison of peroxidase and cytochrome P-450. *Biochemical Society Transactions*, 349-352.
- World Health Organization. (2005). Safety of Pyrethroids for Public Health Use. En *Communicable Disease Control, Prevention and Eradication, WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES) & Protection of the Human Environment Programme on Chemical Safety (PCS)*.

Anexos

Anexo 1. Ciclo reproductivo de *P. ostreatus*



Inicia cuando el hongo maduro suelta sus esporas, las cuales son las células que van a dar origen al micelio, éste a su vez va a dar origen a la seta. El ciclo concluye cuando el hongo seta maduro termina de soltar las esporas e inicia a degradarse.

Fuente: (HYDROENVIRONMENT, 2010).

Anexo 2. Clasificación de los insecticidas según su toxicidad aguda expresada en DL50

Clase	Por vía oral		Por vía dérmica	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Clase IA. Sumamente tóxico	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Clase IB. Muy tóxico	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
Clase II. Moderadamente tóxico	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
Clase III. Ligeramente tóxico	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000

Adaptado de (Puerto, 2014). Elaborado por: La autora, 2016.

Anexo 3. Clasificación de los métodos de biorremediación

Métodos biorremediación	Definición
Micorremediación	La micorremediación es una forma de biorremediación, se emplean hongos para descontaminar un área, en concreto a través del uso de micelios.
Fitorremediación	La fitorremediación se refiere al tratamiento de problemas medioambientales mediante el uso de plantas, un proceso más sencillo y mucho menos costoso que modalidades tradicionales, como excavar el material contaminante y depositarlo en un lugar controlado.
Bioventilación	La bioventilación se sirve de microorganismos para descomponer sustancias tóxicas que han sido absorbidas por el agua.
Bioaumentación	Se refiere a inocular cepas microbianas que han sido modificadas en el laboratorio para tratar con mayor rapidez y eficacia suelos y agua contaminada.
Rizofiltración	Emplea plantas cultivadas hidropónicamente (sin tierra, sólo con un suero enriquecido que incorpora todos los nutrientes necesarios para la planta), para absorber con sus raíces la toxicidad concentrada en el agua.

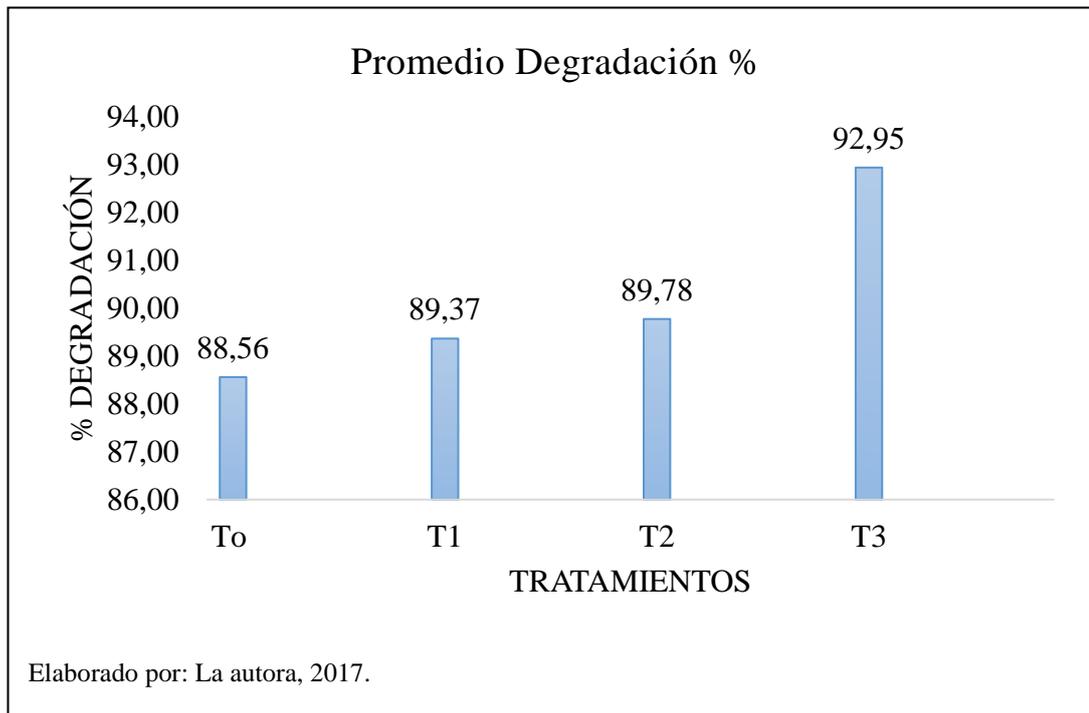
Adaptado de (Boullosa, 2011). Elaborado por: La autora, 2016.

Anexo 4. Datos de altura (m.s.n.m) y coordenadas (UTM) de las muestras de cultivo de papa

Puntos de Muestreo	Altura (m.s.n.m)	Coordenadas (UTM)
P1	2779	018N 4818 0063420
P2	2779	018 4820 0063421
P3	2779	018 N 4823 0063324
P4	2779	018 N 4836 0063421
P5	2779	018 N 4833 0063410
P6	2779	018 N 4820 0063412
P7	2779	018 N 4820 0063412
P8	2779	018 N 4814 0063433
P9	2779	018 N 4825 0063469
P10	2779	018 N 4823 0063463
P11	2779	018 N 4811 0063469
P12	2779	018 N 4792 0063470
P13	2779	018 N 4782 0063432
P14	2779	018 N 4786 0063347

Elaborado por: La autora, 2016.

Anexo 5. Gráfica promedio del porcentaje de degradación por cada tratamiento



Anexo 6. Información PIRI

6.A. Datos del terreno empleados para la determinación de la toxicidad y movilidad del insecticida piretroide en el programa PIRI

Uso del suelo	papa
Tipo de suelo	Franco arenoso
Mes de inicio para el periodo de interés (incluido)	Abril
Mes de finalización para el periodo de interés (incluido)	Mayo
Cobertura	Descubierta
Media de la pérdida estimada de suelo (Tn /Ha) durante el periodo de interés	Erosión
Condiciones de humedad del suelo durante el periodo de interés	Húmedo
Contenido de materia orgánica (%)	2,5
Precipitación total durante el periodo de interés (mm)	600
Irrigación total durante el periodo de interés (mm)	400
pH del suelo	5,80
Media de la temperatura mínima del aire durante el periodo de interés (grados °C)	9
Media de la temperatura máxima del aire durante el periodo de interés (grados °C)	20
Diámetro del cuerpo de agua más cercano (metros)	3
Distancia desde el borde del cultivo al cuerpo del agua (metros)	10
Pendiente del terreno al cuerpo del agua	18
Ancho de la zona buffer o amortiguadora (metros)	2
Número mínimo de días a partir de la aplicación del pesticida y la primera lluvia /irrigación	1

Fuente: La autora, 2016.

6.B. Información sobre el uso del suelo: papa. Programa PIRI

PIRI-Español1.5 Información sobre uso del suelo: papa

Toxicidad a especies blanco	LD50, Rat (mg/kg)	▼
Cobertura	suelo desnudo	▼
Indicativo de la severidad de pérdida de suelo	toque de sedimentos en el agua	▼
Condiciones de humedad del suelo durante el periodo de interés	húmedo	▼
Contenido de materia orgánica (%)	2.5	
Precipitación total durante el periodo de interés (mm)	600	
Irrigación total durante el periodo de interés (mm)	400	
pH del suelo	5.8	
Rango de recargo durante el periodo de interes (mm)	<input checked="" type="radio"/> estimado <input type="radio"/> actual	
Media de la temperatura mínima del aire durante el periodo de interés (grados C)	9	
Media de la temperatura máxima del aire durante el periodo de interés (grados C)	20	
Profundidad de la tabla de agua (metros)	3	
Diámetro del cuerpo de agua más cercano (metros)	10	
Distancia desde el borde del cultivo al cuerpo de agua (metros)	18	
Pendiente del terreno al cuerpo de agua	<input checked="" type="radio"/> grados <input type="radio"/> %	18
Ancho de la zona búfer o amortiguadora (metros)	2	
Número mínimo de días a partir de la aplicación del pesticida y la primera lluvia/irrigación	1	
<p>Haga clic para guardar la información de los archivos Uso del suelo (.inf) & Aplicación (.dat) archivos. Cambie el nombre dentro de un archivo diferente en uso del suelo.</p>		papa

Fuente: PIRI, 2017

Anexo 7. Procedimientos y resultados de los análisis fisicoquímicos

7.A. Procedimientos para los análisis fisicoquímicos del suelo

Análisis	Metodologías
Determinación del pH del suelo	<p>Principio: Es el logaritmo de la actividad de hidrógeno y iones de un suelo. El grado de acidez o alcalinidad de un suelo determinado por un vidrio quinidrona y otro electrodo adecuado o indicador de un contenido específico de humedad o proporción de suelo y agua, expresado en función de la escala pH, de 0 a 14.</p> <p>Equipo: Potenciómetro equipado de un electrodo universal, balanza de precisión (1 mg), vasos de 100 ml de vidrio o de plástico, varillas de vidrio de 10 cm de largo y de 5 mm de ancho.</p> <p>Reactivos: Agua destilada fresca y hervida, solución de cloruro de potasio (KCl) N en agua. Pesar 74.6 g de KCl y pasar a un balón aforado de 1 litro y aforar con agua destilada. Soluciones tampones fresca de pH 4, 7 y 9.</p> <p>Procedimiento: Partir de un suelo tamizado a 2 mm perfectamente homogenizado.</p>
Determinación de la conductividad eléctrica del suelo	<p>Principio: La conductancia es el recíproco de la resistencia, es decir la mayor facilidad que puede existir al paso de la corriente eléctrica.</p> <p>El conductímetro consiste en dos celdas de platino, las cuales se conectan entre sí por el agua que pasa entre ellas, de allí que mientras más concentradas están las sales en esa solución mayor es el paso de corriente.</p> <p>Equipos: Conductímetro eléctrico de lectura directa, con corrección de temperatura, balanza de precisión (1 ml), agitador oscilante, vasos de precipitación de 1000 mL, embudos buchner con quitasatos y bomba de vacío.</p> <p>Reactivos: Agua destilada.</p>

	<p>Extracción: Partir de una muestra de suelo tamizado a 2 mm, perfectamente homogenizado. Pesar 100 g de suelo, directamente en un vaso de 1000 mL, marcando el número de la muestra.</p> <p>Agregar 500 mL de agua destilada. Tapar e instalar sobre el agitador oscilante por 15 minutos. Dejar en reposo por 2 horas, agitando con una varilla de vidrio cada 30 minutos. Verter la muestra sobre un embudo Buchner equipado de su filtro y poner en marcha la bomba al vacío, hasta recuperar el máximo de solución.</p> <p>Pasar esta solución a un recipiente cerrado.</p> <p>Procedimiento: Enjuagar bien la celda de conductividad con agua destilada. Leer la temperatura de la solución a medirse. Ajustar la temperatura del aparato a la de la solución. Enjuagar y llenar la celda con esta solución, efectuar la lectura.</p>
<p>Determinación materia orgánica</p>	<p>Principio: La oxidación, en frío, del carbón por un exceso de dicromato de potasio en medio sulfúrico. Después dosificación del dicromato no consumido con la sal de morh.</p> <p>Materiales: Balanza analítica. Erlenmeyers de 500 mL, buretas de precisión de 25 mL, Pipetas de diferentes volúmenes, probetas, vasos, cronómetro.</p> <p>Reactivos: Ácido sulfúrico concentrado. Ácido ortofosfórico concentrado.</p> <p>Solución de dicromato de potasio 1N: Pesar muy precisamente, por medio de una balanza, 49.04 g de dicromato de potasio conservado en un desecador, verter en un balón aforado de 1000 mL, completar y aforar con agua destilada.</p> <p>Difenilamina (indicador colorado): Disolver 0.5 g de difenilamina en 100 mL de ácido sulfúrico concentrado, y</p>

	<p>verter en 20 mL de agua destilada. Conservar en frasco obscuro.</p> <p>Solución sal de morh: 0.5N Pesar 139.01 g de sulfato de hierro II heptahidratado y agregar alrededor de 500 mL de agua destilada. Añadir 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, mezclar y completar con agua destilada hasta 1000 ml. Para determinar la normalidad de la sal de Morh; medir 5 mL de dicromato de potasio 1N, añadir 100 mL de agua destilada, 5 mL de ácido fosfórico y 5 gotas de difenilamina. Titular con sal de Morh y calcular el factor de corrección de la normalidad.</p> <p>Procedimiento: La muestra de suelo debe estar molida y libre de raicillas y restos de materia orgánica grandes para el efecto la muestra deberá ser tamizada sobre papel encerado (tamiz de 0.25 mm). Pesar 0.1 g de suelo cuando existe mucha materia orgánica y 0.5 g cuando el suelo tiene poca materia orgánica. Agregar 5 ml de dicromato de potasio 1 normal por muestra y añadir 10 mL de ácido sulfúrico concentrado al 97% por muestra. Agitar muy suavemente durante un minuto a fin de homogenizar, evitando que la muestra se adhiera a las paredes.</p> <p>Dejar en reposo durante 30 minutos. Luego de ese tiempo agregar en el siguiente orden, 100 mL de agua destilada, 5 mL de ácido fosfórico al 85% y 10 o 15 gotas de difenilamina.</p> <p>Titular el exceso de dicromato por medio de la solución sal de morh de concentración 0.5 N. El viraje de color se hace azul hasta verde, anotar el volumen consumido. Siempre se analizará un blanco siguiendo el mismo procedimiento con la muestra.</p>
Nitrógeno Total	<p>Para obtener el nitrógeno total en porcentaje, multiplicar el porcentaje de materia orgánica por 0.05, conociendo que el</p>

nitrógeno total es el 5% de la materia orgánica como promedio.

Determinación de Nitratos

Principio: El ácido fenol disulfónico produce con los nitratos un complejo amarillo muy estable que puede determinarse por métodos colorimétricos.

Equipos: Agitador rotativo, fotómetro Genesys 20, matraces de 125 mL y 50 mL, pipetas de diferentes volúmenes, refrigerador.

Reactivos: Óxido de calcio en polvo, ácido fenol disulfónico, pesar 25 g de fenol en 150 mL de ácido sulfúrico concentrado, añadir 75 ml de ácido piro-sulfúrico fumeante bajo campana extractora. Mezclar la solución y calentar a baño maría a 100°C por lo menos dos horas (guardar en frasco oscuro y en refrigeración). Solución de hidróxido de amonio (2:1) Diluir 2 volúmenes de hidróxido de amonio concentrado en un volumen de agua destilada concentrada.

Procedimiento: Pesar 5 g de suelo en un erlenmeyer de 125 mL. Añadir 0.1 g de CaO (para clarificar la muestra) y 25 mL de agua destilada. Agitar por 10 minutos a 400 rpm (revoluciones por minuto).

Permitir que se decante 5 minutos y filtrar. Del filtrado tomar 5 ml en un erlenmeyer pequeño de 50 mL y evaporar toda la noche a sequedad a 80 °C.

Enfriar y poner 1 mL de ácido fenol sulfónico, agitar vigorosamente y dejar reposar 15 minutos.

Añadir 24 mL de agua destilada y 5 mL de hidróxido de amonio (2:1) y agitar (presenta una coloración amarilla).

Leer en el colorímetro después de 15 minutos a una longitud de onda de 460 nm

<p>Determinación de fósforo asimilable</p>	<p>Principio: Extracción del fósforo por una solución alcalina (bicarbonato de sodio 0.5N, pH 8.5). Dosificación después por colorimetría a 660 nm con el reactivo sulfo-molibdico.</p> <p>Equipos: Balanza analítica, embudos de papel filtro, fotómetro Genesys 20, pipetas de diferentes volúmenes, erlenmeyer de 50 ml.</p> <p>Reactivos: Solución de bicarbonato de sodio (CO_3HN_a) 0.5N de un pH 8.5. Para dos litros de solución: Pesar separadamente 84 g de bicarbonato de sodio PA y 7.44 g de EDTA sobre una balanza de precisión, posteriormente pasarlos a un balón aforado de 2 litros, aforar el balón con agua destilada, ajustar el pH a 8.5 con una solución de sosa concentrada. Solución sulfo-molibdica Pesar en la balanza de precisión 25 g de molibdato de amonio PA, pasar a un balón aforado de un litro y completar con una solución de ácido sulfúrico 10N, conservarlo en un frasco oscuro y mantenerlo en la obscuridad.</p> <p>Procedimiento: Pesar 2.5 g de la muestra tamizada a 0.5 mm, colocar la muestra en matraces de 150 ml para posteriormente agregar 25 ml de la solución extractante (CO_3HN_a).</p> <p>Pasar la muestra a un agitador oscilante por 10 minutos. Durante este tiempo, instalar el papel filtro sobre los vasos de precipitación 100 mL. Filtrar la muestra tratando de hacer pasar el máximo de suelo sobre el filtro. En un erlenmeyer de 50 mL agregamos en el siguiente orden 10 mL de agua, 2 mL de la muestra y 8 mL de la solución molibdato de amonio-ácido ascórbico.</p> <p>Dejar desarrollar la coloración en el lapso de 20 a 30 minutos. Realizar la lectura en el fotómetro a 660 nm.</p>
<p>Determinación de Potasio</p>	<p>Principio: La determinación de este método está bien estudiada, existiendo métodos adecuados para su análisis.</p>

	<p>La determinación de potasio se realizará utilizando el método de fotometría de llama, cuyas lecturas se efectúan en meq K/l solución.</p> <p>Equipos: Balones de 1000 mL y 100 mL. Fotómetro de llama. Pipetas de diferentes volúmenes. Vasos de precipitados de 150 mL. Vasos de precipitados plásticos de 50 mL.</p> <p>Reactivos: Solución de bicarbonato de sodio (CO_3HN_a) 0.5N de un pH 8.5. Para dos litros de solución: Pesar separadamente 84 g de bicarbonato de sodio PA y 7.44 g de EDTA sobre una balanza de precisión, posteriormente pasarlos a un balón aforado de 2 litros, aforar el balón con agua destilada, ajustar el pH a 8.5 con una solución de sosa concentrada.</p> <p>Procedimiento: Pesar 2.5 g de la muestra tamizada a 0.5 mm, colocar la muestra en matraces de 150 mL para posteriormente agregar 25 mL de la solución extractante (CO_3HN_a).</p> <p>Pasar la muestra a un agitador oscilante por 10 minutos. Durante este tiempo, instalar el papel filtro sobre los vasos de precipitación 100 mL.</p>
<p>Determinación de Calcio y Magnesio juntos</p>	<p>Principio: El Calcio es el quinto elemento en abundancia, y tercero entre los metales indispensables para la nutrición de las plantas, existe en la naturaleza como yeso, dolomita, carbonato de calcio, etc.</p> <p>El Magnesio es el único constituyente mineral de la molécula de la clorofila y su ausencia impedirá el proceso de la fotosíntesis.</p> <p>Materiales: Balón de 1000 mL, buretas graduadas, 25 mL Erlenmeyer, 250 mL, gotero o pipetas de diferentes volúmenes. o microcuchara</p> <p>Reactivos:</p>

	<p>Acetato de amonio 1N (C₂O₂NH₇) pH 7: Pesar 77 g de acetato de amonio, disolver en agua destilada y llevar a volumen de 1000 ml. Ajustar el pH de la solución empleando NaOH, si es inferior a 7 o ácido acético glacial si es superior a 7.</p> <p>Buffer para Calcio y Magnesio: Sobre un vaso de precipitado de 1000 mL, en 200 ml de agua destilada disolver 67 g de Cloruro de Amonio e incorporar posteriormente 570 mL de Amoniaco concentrado. Llevar el volumen a 1000 mL en una probeta graduada, mezclar bien la solución.</p> <p>Solución 0,01N de EDTA: Versenato (sal di sódica del ácido etilen di amino tetracético) Pesar 2 gr de ácido etilen-di-amino-tetracético (EDTA) y 50 mg (0,05 gr) de Cloruro de Magnesio. Disolver en agua destilada y aforar a 1000 mL.</p> <p>Buffer para Calcio: NaOH 1N Disolver 40 gr de Hidróxido de Sodio en agua destilada, la solución refrigerarla y posteriormente aforar a 1000 mL. Indicador para Calcio: Pesar 1 gr de Eriocromo black T, disolverlo en 80 mL de trietanol amina. Llevar el volumen a 100 mL con agua destilada. Indicador Calcio y Magnesio: Pesar 10 gr de sulfato de potasio anhidro y agregar 1 gr de Murexida. La mezcla homogenizar y refinar en un mortero. Guardar en un frasco oscuro.</p> <p>Procedimiento: Pesar 2,5 gr de suelo seco al aire, tamizado por el tamiz de 2 mm y colocarlo en un Matraz de 125 mL y agregar 50 mL de Acetato de Amonio 1 N. Colocar el matraz con la solución en un agitador rotativo a 350 revoluciones por minuto por 10 minutos. Posterior a la agitación dejar reposar la solución por 15 minutos, a continuación, proceder a filtrar la muestra.</p>
--	--

	<p>Calcio y Magnesio juntos: De la solución resultante del filtrado proceder a tomar una alícuota de 10 mL de extracto y colocarlo en un matraz de 250 mL, seguidamente agregar 10 mL de agua destilada, 10 mL de buffer para calcio magnesio y unas gotas de indicador para calcio y magnesio el líquido presenta un color rojo vinoso.</p> <p>Finalmente, titular con EDTA hasta que la solución valorada presente un color azul.</p> <p>Calcio: De manera similar a la valoración de calcio y magnesio se procede a colocar 10 mL de extracto y 10 mL de agua destilada, agregar 10 mL de hidróxido de sodio normal y con una micro cuchara agregar una mínima cantidad de indicador para calcio. A continuación, valorar con EDTA hasta que presenta una tonalidad azul.</p>
--	--

Nota: Adaptado de Manual para el análisis de suelos (Gualavisí, 2009). Elaborado por: La autora, 2016.

7.B. Resultados de análisis fisicoquímicos del suelo



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA
SALESIANA**
ECUADOR



**SALESIANOS
DON BOSCO**

LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA

Cliente: Laura Elizabeth Huachi Espín

Dirección: Nicolás Vásconez N 5725 y Borrero - Quito

Contacto: Ing. Agr. Janss Beltrán

Cantidad de muestras: 1

Fecha de Ingreso: 07/02/2017

Nº de Informe: 17062

Identificación de Usuario: I-A

Tel./Cel: 3962900

E-mail: luhuchi@ups.edu.ec

Tipo de Cultivo: Sin identificación

Fecha Emisión: 14/02/2017

Total de pag. 1

Código de Laboratorio: SA17-98

INFORME DE RESULTADOS

pH	C.E.	M.O.	N (total)	P	K	Ca	Mg	Na	S
uds	mS/cm	%	%	mg/L	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g	mg/L
5,63 B	1,90 OK	2,79 B	0,14 B	2,27 B	2,05 A	6,12 OK	3,43 OK	0,23 OK	16,95 OK

B	Fe	Mn	Cu	Zn	RELACIONES				Sum Bases
mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	Fe/Mn	Ca/Mg	Mg/K	Ca+Mg/K	meq/100g
0,79 B	318,33 A	50,96 A	12,74 A	0,00 B	6,25 A	1,79 B	1,68 B	10,26 OK	11,82 OK

Origen del criterio de valoración:
Estación Experimental Pichilingue-INIAP, 2012

Método de ensayo:
P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn - Asimilables: Olsen Modificado;
Ca, Mg, K, Na - Intercambiables: Acetato de Sodio-Centrífuga
Conductividad Eléctrico- pH 1:1,25 H₂O;
Pasta Saturada: Conductividad Eléctrica, S. B;
Materia Orgánica: 0,1-0,5 K₂Cr₂O₇ 0,8 N; NO₃-N: Test de Nitratos Merck

Simbología
A: alto; B: bajo; OK: adecuado
mg/L: miligramos por litro; meq/100g: miliequivalentes por cien gramos
uds: unidades; %: porcentaje
...: parámetro no valorado

TEXTURA (%)		
ARENA	LILO	ARCILLA
76	17	7
FRANCO ARENOSO		



Ing. Agr. Orlando Guataivi
Técnico de Suelos y Agua



Quim. De Alim. Paola Simbaña
Responsable de Laboratorio

-

+

Nota Aclaratoria: Los resultados corresponden únicamente a las muestras entregadas por el cliente.

Anexo 8. Procedimiento de cuantificación de piretroides



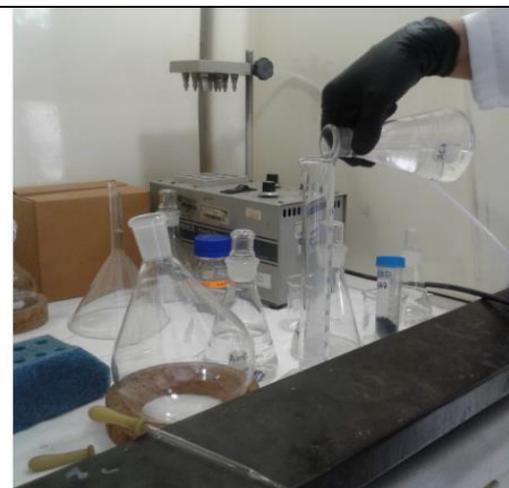
a. Suelo tamizado



b. Se pesó 10 g de suelo en un tubo Falcon



c. Se añadió 20 mL de ACN (acetonitrilo)



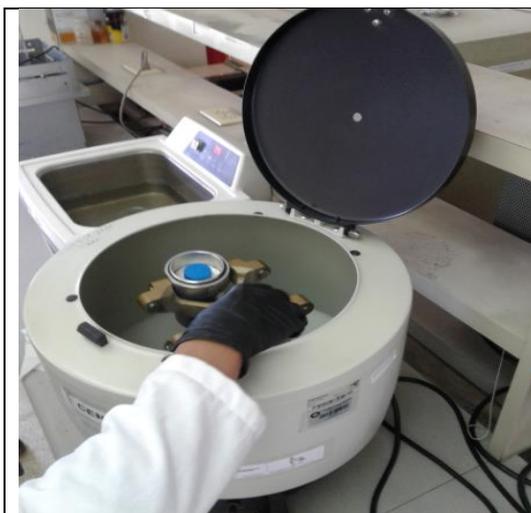
d. Se añadió 4 g de $MgSO_4 \cdot H_2O$, 1 g de NaCl



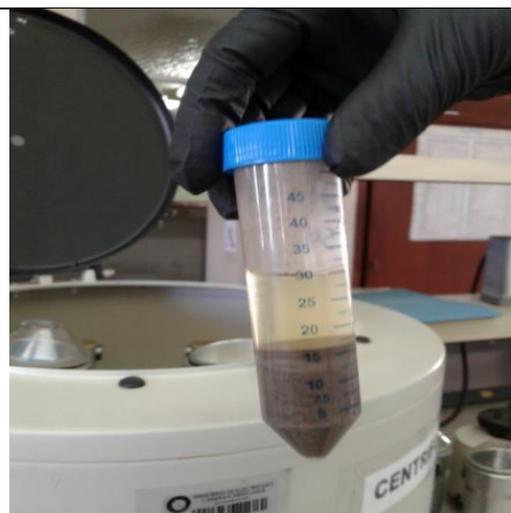
e. Se añadió 0,5 g de citrato disódico sesquihidratado y 1 g de citrato trisódico



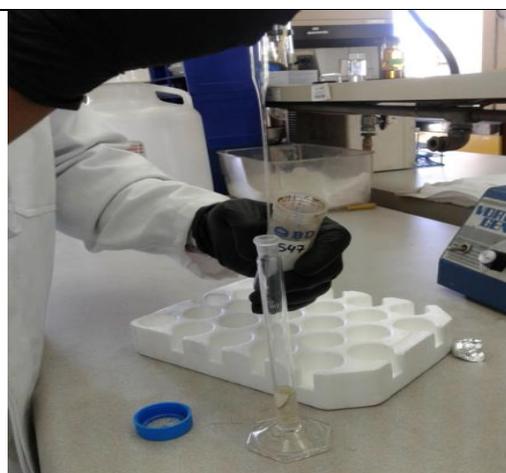
f. Se introdujo en un baño de ultrasonidos durante 5 min



g. Se centrifugó a 4400 rpm durante 8 min



h. Dos fases (precipitado de interés)



i. Se llevó una etapa de limpieza mediante dSPE



j. Se colocó en el sobrenadante a un tubo de centrífuga de 15 mL que contenía 1,5 g de $MgSO_4 \cdot H_2O$ y 0,250 g de PSA,



k. Se mezcló en un vortex durante dos minutos



l. El residuo se disolvió en 1 mL de ciclohexano y tras colocar una pequeña cantidad de Na_2SO_4 anhidro



m. Sobrenadante que fue inyectado en el cromatógrafo

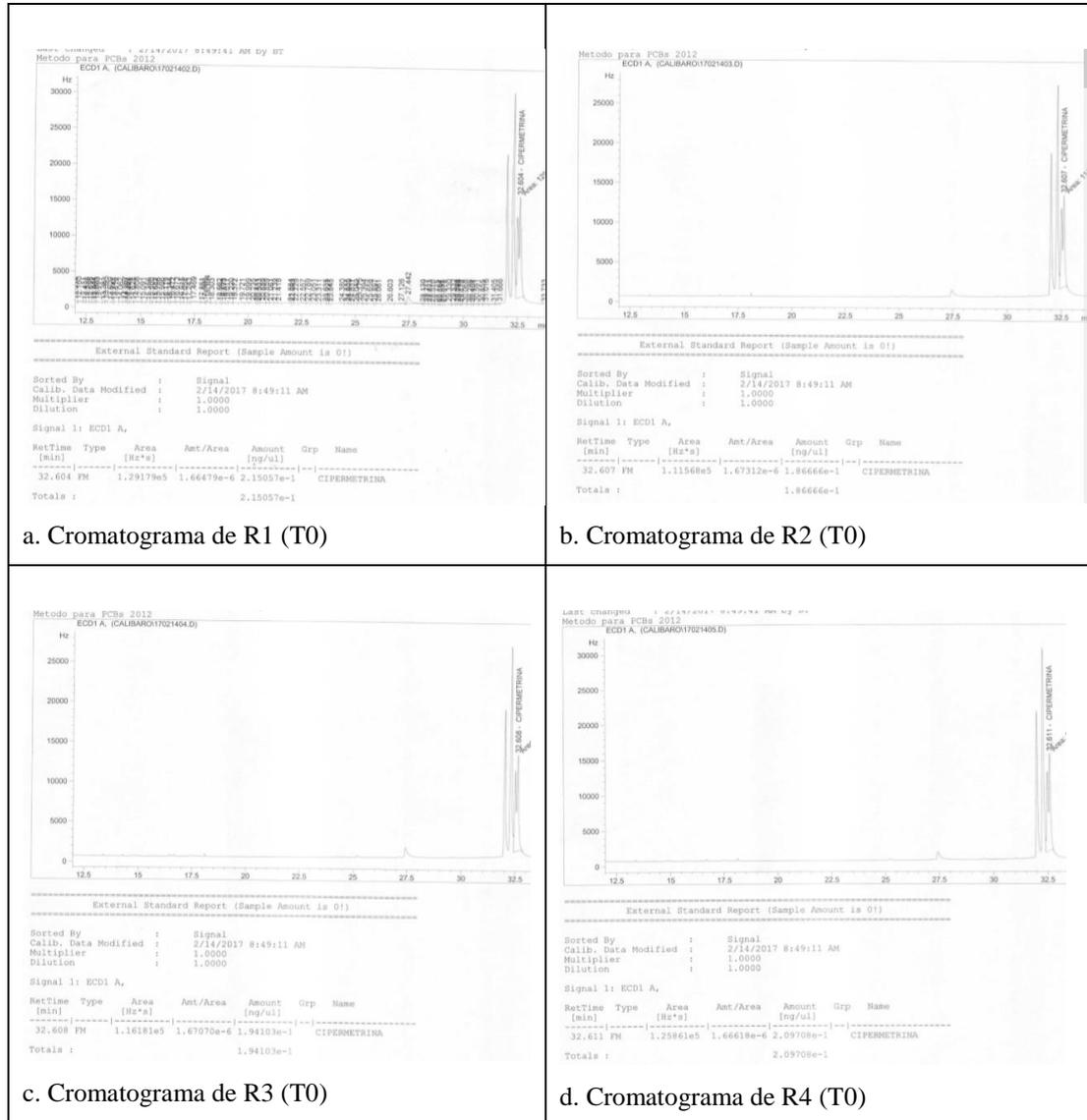


n. Cromatógrafo de gases acoplado a masas de marca Agilent Technologies 7890B GC System

Elaborado por: La autora, 2017.

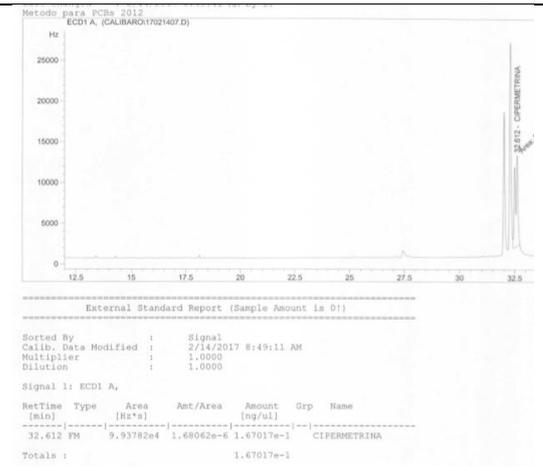
Anexo 9. Resultados análisis de cuantificación de piretroides

9.A. Cromatogramas de las 16 muestras procesadas por Cromatografía de Gases Acoplada a Masas

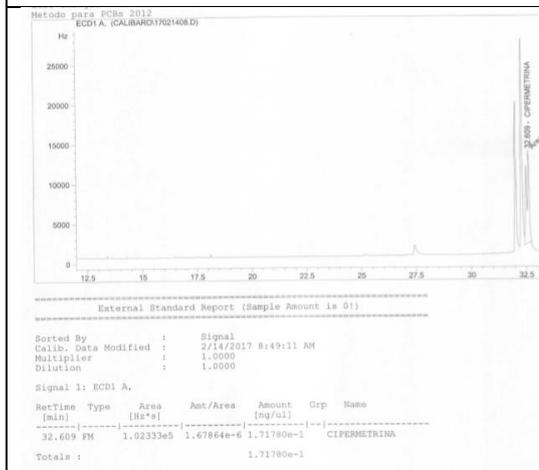




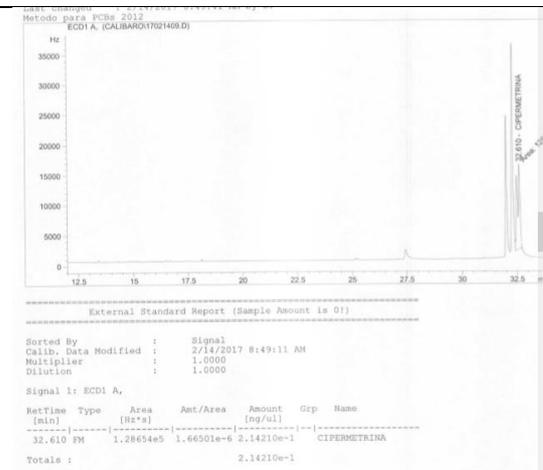
e. Cromatograma de R1 (T1)



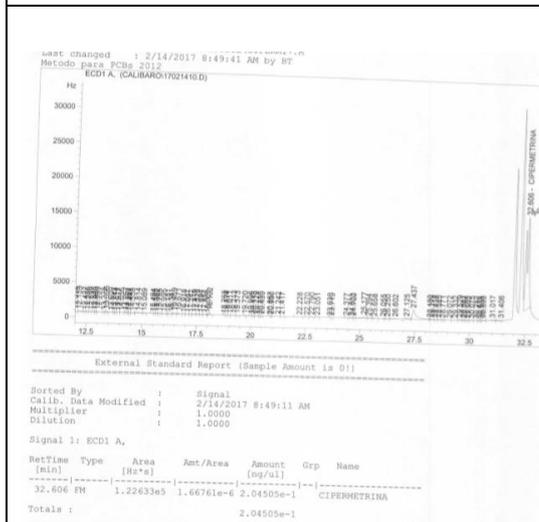
f. Cromatograma de R2 (T1)



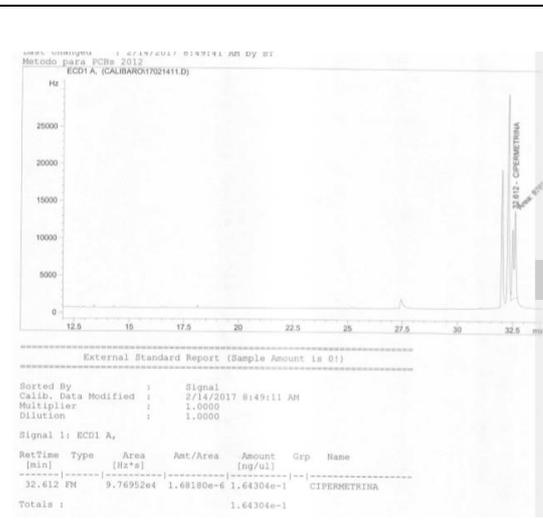
g. Cromatograma de R3 (T1)



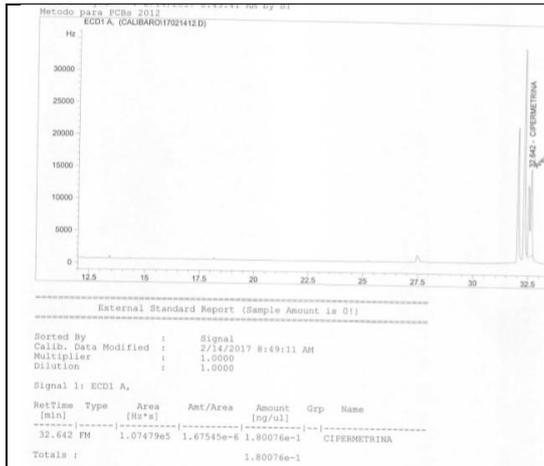
h. Cromatograma de R4 (T1)



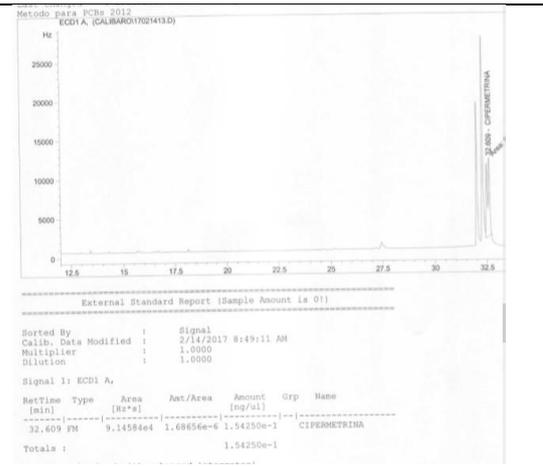
i. Cromatograma de R1 (T2)



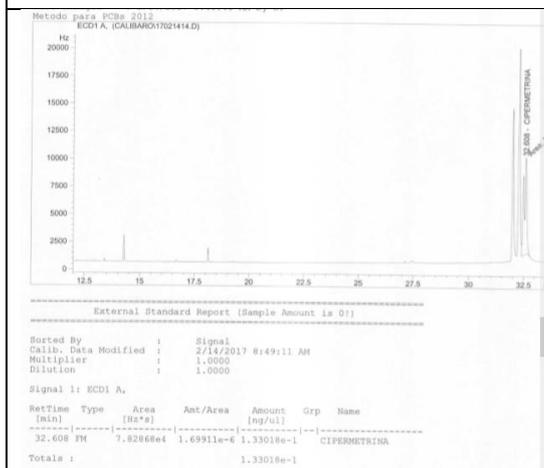
j. Cromatograma de R2 (T2)



k. Cromatograma de R3 (T2)



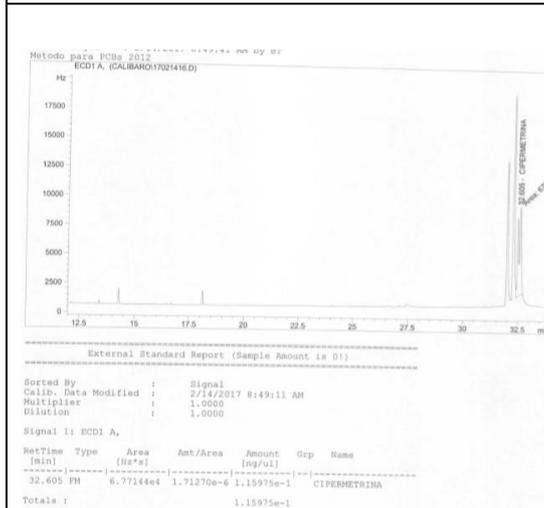
l. Cromatograma de R4 (T2)



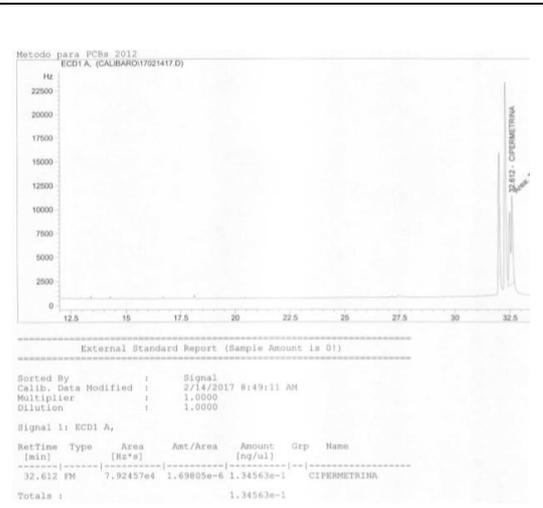
m. Cromatograma de R1 (T3)



n. Cromatograma de R2 (T3)



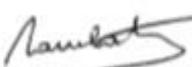
o. Cromatograma de R3 (T3)



p. Cromatograma de R4 (T3)

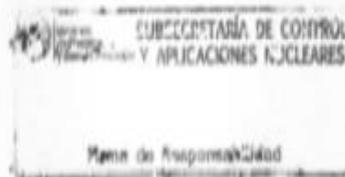
Elaborado por: La autora, 2017.

9.B. Resultados de concentración de cypermetrina en la muestra de suelo al inicio del ensayo ($\mu\text{g/g}$)

 <p>Ministerio de Electricidad y Energía Renovable</p>	<p>LABORATORIO DEL MINISTERIO DE ELECTRICIDAD Y ENERGÍA RENOVABLE</p> <p>ANÁLISIS QUÍMICO CONVENCIONAL</p>	<p>LMEER</p>																											
<p>REPORTE DE ANÁLISIS</p>																													
<p>Factura N° 4332</p>																													
<p>Solicitante: Universidad Politécnica Salesiana Dirección solicitante: Isabela Católica y Veintimila Muestras de: Suelos Muestreado por: Universidad Politécnica Salesiana Número de muestras: tres Fecha de ingreso al laboratorio: 11 - Noviembre - 2016 Fecha de procesamiento de muestra: 15 - Noviembre - 2016 Fecha de análisis instrumental: 25 - Noviembre - 2016 Fecha de emisión de reporte: 24 - Enero - 2017</p>																													
<p>RESULTADOS DE ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN SUELO</p>																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Plaguicidas Encontrados /Código de muestras</th> <th style="text-align: center;">Suelo A* 547</th> <th style="text-align: center;">Suelo B* 548</th> <th style="text-align: center;">Suelo C* 549</th> <th style="text-align: center;">Límite de Detección (LD) ug/g</th> <th style="text-align: center;">Límite de Cuantificación (LC) ug/g</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Carbofuran</td> <td style="text-align: center;">< LD</td> <td style="text-align: center;">< LD</td> <td style="text-align: center;">61.3</td> <td style="text-align: center;">0.02</td> <td style="text-align: center;">0.06</td> </tr> <tr> <td>Chlorpirifos</td> <td style="text-align: center;"><LD</td> <td style="text-align: center;">1245</td> <td style="text-align: center;">< LD</td> <td style="text-align: center;">0.01</td> <td style="text-align: center;">0.03</td> </tr> <tr> <td>Cypermetrina</td> <td style="text-align: center;">50.6</td> <td style="text-align: center;">< LD</td> <td style="text-align: center;">< LD</td> <td style="text-align: center;">0.02</td> <td style="text-align: center;">0.06</td> </tr> </tbody> </table>	Plaguicidas Encontrados /Código de muestras	Suelo A* 547	Suelo B* 548	Suelo C* 549	Límite de Detección (LD) ug/g	Límite de Cuantificación (LC) ug/g	Carbofuran	< LD	< LD	61.3	0.02	0.06	Chlorpirifos	<LD	1245	< LD	0.01	0.03	Cypermetrina	50.6	< LD	< LD	0.02	0.06					
Plaguicidas Encontrados /Código de muestras	Suelo A* 547	Suelo B* 548	Suelo C* 549	Límite de Detección (LD) ug/g	Límite de Cuantificación (LC) ug/g																								
Carbofuran	< LD	< LD	61.3	0.02	0.06																								
Chlorpirifos	<LD	1245	< LD	0.01	0.03																								
Cypermetrina	50.6	< LD	< LD	0.02	0.06																								
<p>* Concentración en microgramos de plaguicida por gramo de muestra (ppm).</p>																													
<p>Notas:</p> <ol style="list-style-type: none"> Los resultados de este informe son exclusivos para las muestras analizadas que corresponden a la UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA (UPS), entregada en el laboratorio el 11 de Noviembre de 2016. El método de análisis utilizado es una variación del método de QuEChERS, extracción con acetonitrilo y análisis por GC/MSMS. Documento confidencial para el uso de la UPS. No puede reproducirse total ni parcialmente sin autorización del laboratorio. El laboratorio no se responsabiliza de la interpretación dada a estos resultados. Los datos asociados con este estudio (cromatogramas, curvas de calibración, etc.) se mantendrán en custodia por un plazo de seis meses después de emitido el reporte. Posterior a este período se descartarán. Compuestos analizados: Chlorpirifos, Cypermetrina y Carbofuran 																													
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Quím. Ramiro Castro RESPONSABLE LMEER - AQC</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> <p>Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares</p> <p>AQC Firma de Responsabilidad</p> </div> <div style="text-align: right;"> <div style="display: flex; gap: 10px;"> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px 10px;">-</div> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px 10px;">+</div> </div> </div> </div>																													
<p>LARPO-AC-150 R- 24/01 /17</p>																													

9.C. Resultados de concentración de cypermetrina en muestras de suelo al final del ensayo ($\mu\text{g/g}$)

RESULTADOS				
Muestra	Concentración (ng/ul)	Peso (g)	Volumen (ul)	Concentración ($\mu\text{g/g}$)
587	0,22	10,15	14500	6,29
588	0,19	10,39	14840	5,43
589	0,19	10,38	14820	5,43
590	0,21	9,96	14230	6,00
591	0,18	10,73	15330	5,14
592	0,17	10,35	14790	4,86
593	0,17	10,24	16630	5,52
594	0,21	9,78	13970	6,00
595	0,20	9,66	13800	5,71
596	0,16	9,8	17000	5,55
597	0,18	9,95	14210	5,14
598	0,15	9,82	14029	4,29
599	0,13	11,72	16740	3,71
600	0,12	12,16	17370	3,43
601	0,12	12,16	17370	3,43
602	0,13	11,01	15730	3,71



Anexo 10. Fase de campo (recolección de muestras de suelo).

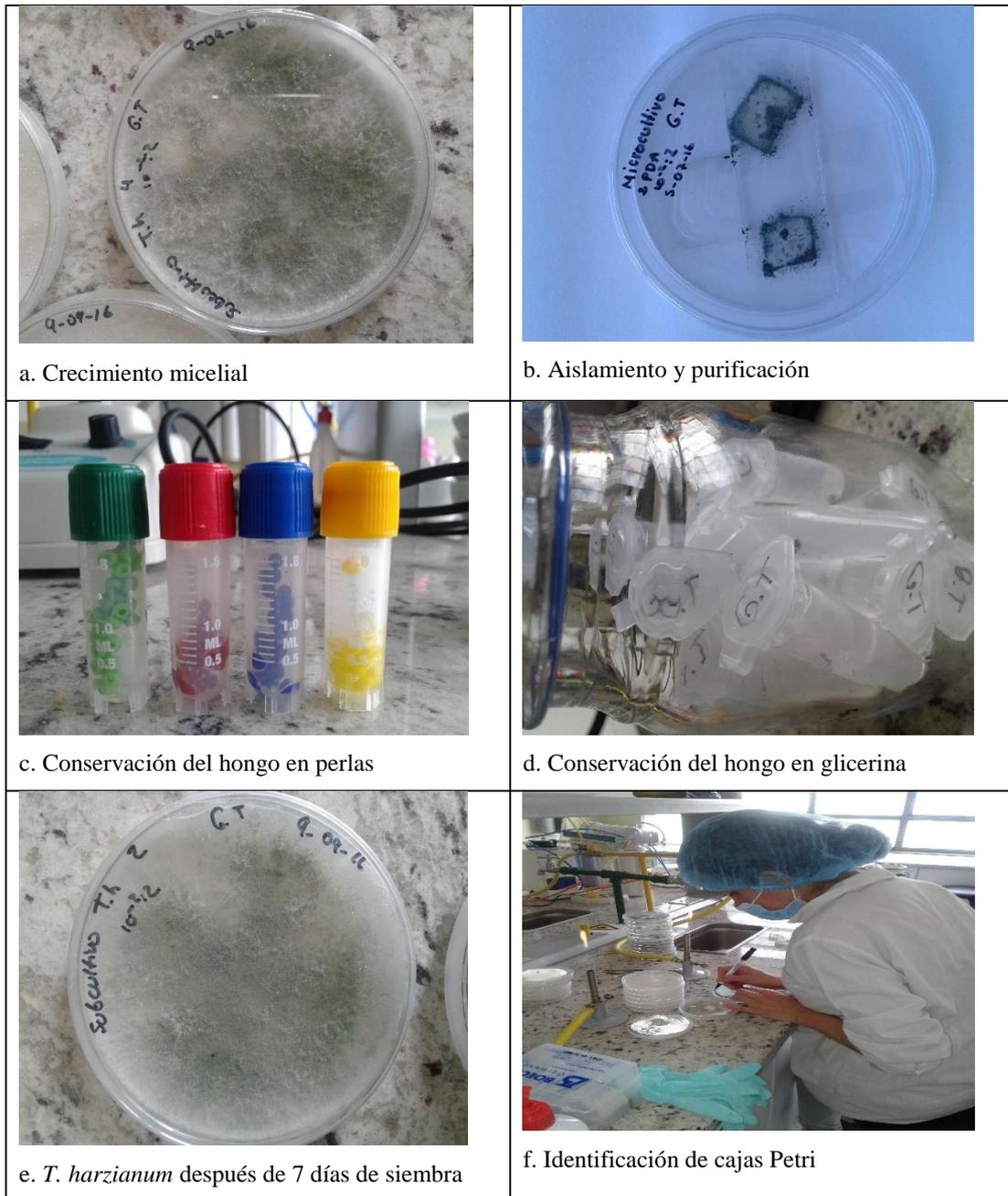
Recolección de muestras de suelo



Elaborado por: La autora, 2016.

Anexo 11. Fase de laboratorio (identificación, aislamiento y masificación de cepas)

11.A. Obtención de *T. harzianum*, identificación, aislamiento, conservación y masificación



Elaborado por: La autora, 2016.

11.B. Obtención de *P. ostreatus*, identificación, aislamineto, conservación y masificación



a. Sustrato inoculado con semilla



b. Primordios de *P. ostreatus*



c. Formación de setas



d. Setas juveniles



e. Masiva fructificación



f. Aumento de humedad relativa mediante evaporizador



g. Maduración de setas



h. Setas maduras listas para cosecha



i. Evaluación de crecimiento de setas



j. Luz proveniente de foco fluorescente (3 horas diarias)



k. Cosecha de los hongos



l. Cuerpos fructíferos cosechados



m. Identificación de muestras cosechadas



n. Corte y extracción de laminillas en cámara de flujo laminar



o. Crecimiento micelial a partir de un pedazo de seta



p. Masivo crecimiento micelial a los 8 días de siembra

Elaborado por: La autora, 2016.

Anexo 12. Concentración de inóculos

	<i>T. harzianum</i>	<i>P. ostreatus</i>	Mix fúngico
28/11/2016	3,07	4,21	4,15
02/12/2016	3,81	3,99	3,13
05/12/2016	3,92	3,92	3,57
09/12/2016	4,02	2,23	3,13
12/16/2016	3,67	4,08	3,90
19/12/2016	3,19	4,12	3,66
23/12/2016	2,22	4,45	3,88
26/12/2016	3,31	3,89	3,60
30/12/2016	3,08	5,21	3,34
02/01/2017	4,09	4,67	4,38
07/01/2017	4,05	3,09	3,57
09/01/2017	4,52	4,23	4,38
14/01/2017	3,78	4,12	3,95
16/01/2017	2,89	4,32	3,61
21/01/2017	4,55	3,01	3,78
23/01/2017	3,91	4,32	4,12
27/01/2017	2,44	3,87	3,16

Nota: Todas las concentraciones fueron ajustadas hasta 10^4

Elaborado por: La autora, 2017.

Anexo 13. Datos de variables (Temperatura, Humedad, Conductividad eléctrica y pH)

13.A. Datos de Temperatura (°C)

Tratamientos	T0				T1				T2				T3			
Repeticiones	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
28/11/2016	14,70	14,60	14,70	14,60	14,60	14,50	14,60	14,70	14,50	14,50	14,60	14,50	14,60	14,70	14,50	14,50
29/11/2016	15,20	15,20	15,20	15,20	15,30	15,20	15,10	15,10	15,30	15,20	15,20	15,10	15,20	15,20	15,40	15,10
30/11/2016	15,50	15,80	15,50	15,40	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,50
01/12/2016	16,10	16,30	16,20	16,20	16,10	16,20	16,30	16,20	16,10	15,90	15,90	16,20	16,10	16,10	16,00	15,90
02/12/2016	14,30	14,20	14,30	14,30	14,30	14,30	14,20	14,50	14,30	14,50	14,50	14,60	14,20	14,20	14,30	14,20
03/12/2016	15,50	15,40	15,30	15,60	15,60	15,70	15,70	15,60	15,60	15,60	15,60	15,40	15,60	15,50	15,70	15,60
04/12/2016	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,90	14,80	14,90
05/12/2016	15,00	15,10	15,20	15,00	15,10	15,10	15,00	15,20	15,30	15,30	15,30	15,00	15,20	15,30	15,20	15,20
06/12/2016	15,40	15,20	15,30	15,20	15,20	15,20	15,30	15,30	15,30	15,30	15,20	15,40	15,20	15,10	15,00	15,40
07/12/2016	16,10	16,20	16,10	16,20	16,20	16,30	16,10	16,20	16,00	16,30	16,20	16,00	16,10	16,20	16,10	16,20
08/12/2016	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,50	13,20	13,40	13,60	13,50	13,30
09/12/2016	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,40	15,40	15,50	15,60	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60
10/12/2017	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30
11/12/2016	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90
12/12/2016	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,50	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40
13/12/2016	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90
14/12/2016	13,40	13,60	16,30	13,50	13,60	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,40	13,60	16,30	13,50	13,60
15/12/2016	15,40	15,50	15,60	15,40	15,40	15,50	15,40	15,50	15,60	15,40	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,50
16/12/2016	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,70	14,70
17/12/2016	14,80	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,90	14,90	14,90
18/12/2016	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90
19/12/2016	14,80	14,80	14,80	14,40	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,90	14,90
20/12/2016	15,50	15,50	15,80	15,50	15,40	15,40	15,50	15,60	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,80
21/12/2016	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90

22/12/2016	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,40	13,30	13,80
23/12/2016	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90
24/12/2016	13,60	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70
25/12/2016	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90
26/12/2016	14,80	14,70	14,70	14,70	14,70	14,90	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90
27/12/2016	14,80	14,70	14,80	14,70	14,80	14,70	14,80	14,70	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90
28/12/2016	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,80	15,50	15,40	15,40	15,50	15,60	15,60	15,40	15,60
29/12/2016	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,30	13,20
30/12/2016	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90
31/12/2016	15,40	15,50	15,60	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,50
01/01/2017	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	14,80	14,70	14,70
02/01/2017	14,70	14,70	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90
03/01/2017	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	15,10	15,30	15,50
04/01/2017	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	13,60
05/01/2017	15,80	15,50	15,80	15,50	15,40	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,60	15,50	15,40	15,40	15,60	15,60
06/01/2017	14,80	14,90	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,80	14,90	14,80	14,70	14,70
07/01/2017	13,50	13,50	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30
08/01/2017	14,80	14,80	14,90	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,50
09/01/2017	13,50	13,50	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	15,40	15,50	15,60	15,60	15,60	15,60
10/01/2017	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,50	13,60	16,30	13,50	13,60	13,60	13,30	13,40	14,70	14,80	14,70
11/01/2017	15,40	15,60	15,50	15,60	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,80	15,50	15,40	15,40	15,50
12/01/2017	14,90	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,90	14,80	14,70	14,70	14,90
13/01/2017	14,80	14,80	14,90	14,80	14,80	14,70	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90
14/01/2017	14,70	14,80	14,80	14,70	14,80	14,70	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90
15/01/2017	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,40	15,50	15,60	15,40	15,60	15,50	15,40	15,40	15,60
16/01/2017	14,70	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,70	14,70	14,90	14,90	14,70	14,80	14,80	14,70
17/01/2017	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,80	14,80	14,90	14,80	14,70	14,80	14,80	14,70	14,80	14,70

Elaborado por: La autora, 2017.

13.B. Datos de humedad (%)

Tratamientos	T0				T1				T2				T3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
28/11/2016	55	54	66	63	62	60	59	55	53	58	60	52	60	59	59	59
29/11/2016	57	60	51	63	57	53	58	60	62	61	53	53	62	61	53	60
30/11/2016	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	61	60	59	55	55
01/12/2016	49	53	55	49	62	55	62	63	62	60	59	55	53	58	60	52
02/12/2016	40	62	52	52	53	53	49	53	57	53	58	60	62	61	53	53
03/12/2016	53	56	49	56	65	49	62	61	60	62	61	53	59	59	59	59
04/12/2016	61	66	61	49	61	61	61	61	61	61	61	61	60	60	62	61
05/12/2016	55	62	58	55	57	58	63	52	52	59	51	58	47	47	61	59
06/12/2016	52	61	68	59	55	51	48	61	53	61	49	51	59	55	53	58
07/12/2016	49	47	48	48	55	52	53	53	49	53	57	53	58	60	62	49
08/12/2016	48	67	48	48	48	59	59	59	59	59	59	49	48	48	48	48
09/12/2016	51	51	51	47	51	52	62	62	62	62	62	61	51	51	51	51
10/12/2017	52	59	51	66	63	53	55	49	62	55	62	63	62	60	52	52
11/12/2016	53	61	49	47	48	62	52	52	53	53	49	53	57	53	53	53
12/12/2016	52	59	63	63	59	56	49	56	65	49	62	61	60	62	52	52
13/12/2016	60	58	55	57	58	63	52	52	59	51	58	57	53	58	60	60
14/12/2016	65	68	59	55	51	48	61	53	61	49	51	55	55	55	61	61
15/12/2016	54	49	54	49	54	58	55	62	63	62	60	49	53	57	53	58
16/12/2016	62	53	53	59	51	66	63	52	52	59	51	66	63	52	62	62
17/12/2016	52	54	52	61	49	47	48	48	55	58	59	61	48	61	61	60
18/12/2016	59	59	59	59	59	59	59	62	61	60	62	61	53	59	63	59
19/12/2016	62	62	62	62	62	52	52	52	52	62	62	62	62	62	62	62
20/12/2016	60	48	58	58	49	59	59	62	62	62	62	59	66	63	59	60
21/12/2016	48	49	47	67	59	62	62	49	47	67	60	58	48	48	47	48
22/12/2016	58	65	49	59	58	60	48	58	58	49	47	62	63	59	56	59

23/12/2016	58	53	59	62	55	48	65	49	59	59	62	62	57	58	60	67
24/12/2016	60	58	58	60	48	58	58	49	47	62	68	59	55	51	61	60
25/12/2016	55	57	55	48	65	49	59	59	62	62	62	62	59	60	59	48
26/12/2016	53	45	49	53	53	59	48	61	58	66	55	57	58	53	58	60
27/12/2016	58	65	49	58	60	48	58	59	62	61	60	62	61	57	62	61
28/12/2016	57	57	44	49	51	43	43	45	55	57	57	57	57	57	57	57
29/12/2016	54	56	49	58	58	63	60	62	52	59	56	56	56	56	56	56
30/12/2016	58	60	58	51	47	52	49	43	45	55	60	59	55	61	58	59
31/12/2016	44	58	42	41	58	55	58	63	60	48	48	58	57	61	58	60
01/01/2017	49	51	48	51	63	60	62	52	59	58	49	49	58	55	56	59
02/01/2017	58	58	49	58	58	63	60	62	52	53	53	49	48	58	57	60
03/01/2017	58	58	49	58	58	63	60	62	52	59	58	55	49	49	58	58
04/01/2017	51	47	58	51	47	52	49	43	45	55	57	53	66	55	57	58
05/01/2017	59	57	58	58	63	60	62	52	59	58	55	49	60	59	55	64
06/01/2017	57	57	51	47	52	49	43	45	55	57	53	49	48	58	57	57
07/01/2017	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	65	62	56	56	56
08/01/2017	56	61	55	61	48	61	43	49	49	55	61	61	63	59	63	66
09/01/2017	53	54	54	54	51	43	43	45	55	57	53	49	48	58	54	54
10/01/2017	56	47	42	48	49	49	49	55	49	49	49	49	49	49	60	60
11/01/2017	61	49	42	41	58	55	58	63	60	48	61	58	66	55	54	54
12/01/2017	50	53	48	51	63	60	62	52	59	58	55	49	60	59	62	60
13/01/2017	48	59	50	49	47	51	47	52	52	52	59	58	55	56	59	57
14/01/2017	47	45	51	49	42	41	58	55	58	63	60	48	61	58	62	62
15/01/2017	42	52	51	53	48	51	63	60	62	52	59	58	55	49	50	53
16/01/2017	48	49	51	59	50	49	47	51	47	52	52	52	59	58	52	52
17/01/2017	51	45	46	59	42	50	51	49	50	53	49	52	49	48	50	50

Elaborado por: La autora, 2017.

13.C. Datos de pH (uds)

Tratamientos	T0				T1				T2				T3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
28/11/2016	5,98	5,35	5,40	5,33	5,46	5,75	5,36	5,24	5,41	5,63	5,33	5,69	5,45	5,39	5,25	5,49
02/12/2016	5,27	5,27	5,49	5,49	6,29	6,24	6,57	5,98	6,12	6,23	6,27	6,12	6,27	6,18	5,31	5,52
05/12/2016	6,20	4,39	5,70	5,35	6,12	6,27	6,78	6,23	6,27	6,29	6,27	6,25	6,23	6,27	6,12	6,23
09/12/2016	5,89	5,24	5,67	5,39	6,14	6,29	6,49	6,12	6,33	6,33	6,34	6,51	6,52	6,33	6,27	6,27
12/16/2016	5,22	5,22	5,85	5,33	6,12	6,48	6,12	6,27	6,39	6,27	6,27	6,23	6,02	6,12	6,33	6,39
19/12/2016	5,23	5,23	5,65	5,32	6,27	6,47	6,27	6,33	6,31	6,33	6,33	6,27	6,10	6,27	6,39	6,51
23/12/2016	4,99	4,99	5,34	5,90	6,33	6,34	6,51	6,12	6,18	6,12	6,39	6,39	5,98	6,78	6,23	6,12
26/12/2016	5,78	5,78	5,56	5,78	6,39	6,51	6,47	6,27	6,18	6,27	6,31	6,51	6,21	6,12	6,18	6,27
30/12/2016	5,32	5,32	5,39	5,67	6,31	6,47	6,21	6,39	6,27	6,23	6,27	6,12	6,47	6,47	5,58	6,33
02/01/2017	5,32	5,32	5,27	5,34	6,18	6,21	6,38	6,51	6,33	6,34	6,39	6,14	6,29	6,92	6,12	6,39
07/01/2017	5,39	5,39	4,39	5,69	6,18	6,38	6,33	6,47	6,39	6,14	6,29	6,12	6,48	6,12	6,18	6,21
09/01/2017	5,56	5,56	5,24	5,34	6,22	6,33	6,39	6,21	6,29	6,49	6,33	6,34	6,20	6,33	5,84	6,51
14/01/2017	5,80	5,34	5,22	5,27	6,31	6,22	6,33	6,39	6,33	6,51	6,47	6,27	6,18	6,27	5,79	6,49
16/01/2017	5,39	5,78	5,32	4,39	6,37	6,16	6,33	6,47	6,39	6,14	6,29	6,49	6,33	6,12	6,40	6,12
21/01/2017	5,81	5,34	5,39	5,40	6,29	6,17	6,39	6,21	6,33	6,12	6,39	6,51	6,47	6,27	6,29	6,87
23/01/2017	5,63	5,32	5,78	5,22	6,25	6,22	6,31	6,38	6,51	6,47	6,27	6,18	6,27	6,12	6,33	6,34
27/01/2017	5,39	5,32	5,34	5,69	6,34	6,35	6,22	6,33	6,39	6,78	6,23	6,23	6,27	6,88	6,41	6,79

Elaborado por: La autora, 2017.

13. D. Datos de conductividad eléctrica dS/m

Tratamientos	T0				T1				T2				T3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
28/11/2016	1,34	1,39	1,48	1,36	1,28	1,36	1,42	1,40	1,42	1,45	1,39	1,37	1,48	1,48	1,67	1,39
02/12/2016	1,29	1,67	1,40	1,39	1,48	1,4	1,33	1,48	1,48	1,67	1,39	1,55	1,39	1,39	1,39	1,67
05/12/2016	1,37	1,48	1,41	1,67	1,48	1,48	1,55	1,34	1,67	1,39	1,39	1,48	1,40	1,38	1,39	1,39
09/12/2016	1,29	1,41	1,39	1,33	1,46	1,39	1,37	1,39	1,33	1,67	1,39	1,40	1,48	1,41	1,67	1,40
12/16/2016	1,28	1,39	1,48	1,48	1,39	1,39	1,42	1,67	1,48	1,33	1,39	1,39	1,48	1,40	1,39	1,67
19/12/2016	1,48	1,39	1,48	1,48	1,48	1,48	1,39	1,33	1,48	1,48	1,67	1,55	1,34	1,39	1,34	1,67
23/12/2016	1,34	1,39	1,67	1,41	1,48	1,48	1,48	1,48	1,4	1,48	1,48	1,34	1,39	1,67	1,33	1,48
26/12/2016	1,28	1,39	1,34	1,39	1,41	1,43	1,48	1,48	1,39	1,40	1,40	1,39	1,34	1,67	1,48	1,39
30/12/2016	1,39	1,42	1,67	1,67	1,39	1,34	1,67	1,41	1,48	1,39	1,39	1,48	1,48	1,42	1,34	1,55
02/01/2017	1,29	1,41	1,48	1,34	1,28	1,55	1,39	1,37	1,39	1,39	1,67	1,67	1,4	1,39	1,28	1,48
07/01/2017	1,42	1,42	1,36	1,67	1,48	1,40	1,39	1,39	1,89	1,39	1,43	1,4	1,41	1,34	1,55	1,41
09/01/2017	1,39	1,34	1,45	1,39	1,34	1,48	1,34	1,39	1,43	1,42	1,39	1,48	1,48	1,67	1,39	1,39
14/01/2017	1,39	1,55	1,39	1,34	1,39	1,42	1,34	1,42	1,39	1,67	1,33	1,48	1,48	1,41	1,39	1,39
16/01/2017	1,39	1,39	1,67	1,48	1,4	1,39	1,21	1,39	1,39	1,42	1,41	1,39	1,48	1,48	1,34	1,39
21/01/2017	1,39	1,39	1,42	1,40	1,39	1,48	1,48	1,67	1,34	1,67	1,39	1,39	1,48	1,48	1,67	1,39
23/01/2017	1,41	1,44	1,39	1,67	1,33	1,48	1,48	1,41	1,39	1,65	1,67	1,39	1,40	1,39	1,34	1,67
27/01/2017	1,39	1,67	1,48	1,45	1,40	1,39	1,48	1,48	1,4	1,39	1,39	1,67	1,37	1,39	1,42	1,33

Elaborado por: La autora, 2017.

Anexo 14. Análisis estadístico
Anexo 14.A. Medias de los datos

TRAT.	TEMPERATURA	pH	HUMEDAD	C.E	Piretroide []
0	14,77	5,54	53,94	1,36	87,57
0	14,80	5,30	55,63	1,44	89,27
0	14,88	5,41	52,69	1,47	89,27
0	14,78	5,41	54,53	1,47	88,14
1	14,89	6,21	54,57	1,40	89,84
1	14,78	6,29	54,57	1,43	90,40
1	14,79	6,32	55,08	1,44	89,09
1	15,02	6,23	54,65	1,44	88,14
2	14,78	6,26	55,80	1,42	88,72
2	14,79	6,27	56,78	1,48	89,03
2	14,78	6,26	56,65	1,44	89,84
2	14,90	6,26	56,25	1,46	91,52
3	14,78	6,22	56,73	1,43	92,67
3	14,91	6,29	56,47	1,45	93,22
3	14,85	6,06	57,02	1,43	93,22
3	14,88	6,29	57,22	1,47	92,67

Elaborado por: La autora, 2017.

Anexo 14.B. Análisis de la varianza en programa estadístico Infostat versión libre 2016.

Análisis de la varianza de Temperatura

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEMPERATURA	16	0,15	0,00	0,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	3	3,8E-03	0,72	0,5616
TRAT.	0,01	3	3,8E-03	0,72	0,5616
Error	0,06	12	0,01		
Total	0,08	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15385

Error: 0,0054 gl: 12

TRAT.	Medias	n	E.E.
1,00	14,87	4	0,04 A
3,00	14,86	4	0,04 A
2,00	14,81	4	0,04 A
0,00	14,81	4	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Fuente: Infostat, 2017.

Análisis de la varianza de pH

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
pH	16	0,97	0,96	1,28	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,08	3	0,69	115,37	<0,0001
TRAT.	2,08	3	0,69	115,37	<0,0001
Error	0,07	12	0,01		
Total	2,15	15			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16278					
Error: 0,0060 gl: 12					
TRAT.	Medias	n	E.E.		
2,00	6,26	4	0,04	A	
1,00	6,26	4	0,04	A	
3,00	6,22	4	0,04	A	
0,00	5,42	4	0,04	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Fuente: Infostat, 2017.

Análisis de la varianza de Humedad

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
HUMEDAD	16	0,78	0,72	1,23	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19,64	3	6,55	14,05	0,0003
TRAT.	19,64	3	6,55	14,05	0,0003
Error	5,59	12	0,47		
Total	25,23	15			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,43296					
Error: 0,4659 gl: 12					
TRAT.	Medias	n	E.E.		
3,00	56,86	4	0,34	A	
2,00	56,37	4	0,34	A	
1,00	54,72	4	0,34	B	
0,00	54,20	4	0,34	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Fuente: Infostat, 2017.

Análisis de varianza de Conductividad Eléctrica

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	16	0,09	0,00	2,22	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,2E-03	3	4,1E-04	0,40	0,7575
TRAT.	1,2E-03	3	4,1E-04	0,40	0,7575
Error	0,01	12	1,0E-03		
Total	0,01	15			
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,06714					
Error: 0,0010 gl: 12					
TRAT.	Medias	n	E.E.		
2,00	1,45	4	0,02	A	
3,00	1,45	4	0,02	A	
0,00	1,44	4	0,02	A	
1,00	1,43	4	0,02	A	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Fuente: Infostat, 2017.

Análisis de varianza de Concentración de Piretroide

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
CONCENTRACIÓN PIRETROIDE	16	0,82	0,77	1,02	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	44,33	3	14,78	17,63	0,0001
TRAT.	44,33	3	14,78	17,63	0,0001
Error	10,06	12	0,84		
Total	54,39	15			
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,92192					
Error: 0,8381 gl: 12					
TRAT.	Medias	n	E.E.		
3,00	92,95	4	0,46	A	
2,00	89,78	4	0,46	B	
1,00	89,37	4	0,46	B	
0,00	88,56	4	0,46	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Fuente: Infostat, 2017.