

**EVALUACIÓN EX SITU DEL POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE RYEGRASS
(*Lolium perenne*), AVENA FORRAJERA (*Avena sativa*) Y TRÉBOL ROJO
(*Trifolium pratense*), EN SUELOS DEDICADOS A LA PRODUCCIÓN DE PAPA EN
CUNDINAMARCA.**

PAULA ANDREA RUEDA PEÑA

Tesis para optar al título de Magister en Ciencias Ambientales

Directora: MSc. Elsa B. Fonseca S.

**UNIVERSIDAD DE BOGOTA JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
BOGOTA D.C.**

2012

**EVALUACIÓN EX SITU DEL POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE RYEGRASS
(*Lolium perenne*), AVENA FORRAJERA (*Avena sativa*) Y TRÉBOL ROJO
(*Trifolium pratense*), EN SUELOS DEDICADOS A LA PRODUCCIÓN DE PAPA EN
CUNDINAMARCA.**

PAULA ANDREA RUEDA PEÑA

**UNIVERSIDAD DE BOGOTA JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
BOGOTA D.C.
2012**

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Bogotá D.C. 03 de diciembre de 2012.

DEDICADO A

Mi mamá, mi papá y mi hermano, quienes me impulsan a alcanzar metas cada vez más altas.

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos a:

Doña Isabelita, mi madre, mi amiga, mi apoyo, y hasta mi asistente de campo. Muchas gracias por ayudarme en todo momento y darme un empujoncito, cada vez que lo he necesitado, para culminar esta etapa.

Mi hermano, Eduardo, por su ayuda incondicional y por ser mi mano derecha en todo lo que hago.

Profesora Elsa Fonseca, quien desde antes de iniciar este camino me ofreció su apoyo y confianza. Gracias por compartir su gran conocimiento con sencillez y siempre con una sonrisa.

Doctor Edilberto León por su decidido apoyo y confianza en mí y mi trabajo; sin su colaboración y orientación no hubiera podido realizar esta investigación.

La Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, sus docentes, laboratorios y equipos de apoyo, por facilitarme los espacios y la colaboración para la realización de los análisis y pruebas para el desarrollo de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

1. RESUMEN	13
2. ABSTRACT	14
3. INTRODUCCION	15
4. OBJETIVO	18
4.1. Objetivo General	18
4.2. Objetivos específicos	18
5. MARCO TEÓRICO	19
5.1. Producción de papa en Colombia	19
5.1.1. Importancia del cultivo	19
5.1.2. Municipio de estudio	20
5.1.3. Problemas ambientales y sociales	20
5.2. Agroquímicos y riesgo ambiental	22
5.2.1. Agroquímicos seleccionados	22
5.2.2. Ingredientes activos y modo de acción	24
5.2.3. Riesgos al medio ambiente	25
5.2.4. Agroquímicos en el suelo	26
5.3. Descontaminación de suelos	27
5.3.1. Alternativas de remediación de suelos	27
5.3.2. Fitorremediación	30
5.3.3. Mecanismos de fitorremediación	32
5.4. Especies vegetales utilizadas en el estudio	36
5.4.1. RYEGRASS, <i>Lolium perenne</i>	36
5.4.2. AVENA FORRAJERA, <i>Avena sativa</i>	38
5.4.3. TRÉBOL ROJO, <i>Trifolium pratense</i>	39
5.5. Equipos para medición y monitoreo	40
5.5.1. Espectrofotometría infrarroja	40
5.5.2. Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa	41

6.	MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	42
6.1.	Bioensayo	42
6.1.1.	Muestreo de suelos	42
6.1.2.	Selección de las especies vegetales.....	45
6.1.3.	Selección de agroquímicos.....	47
6.1.4.	Diseño experimental.	48
6.1.5.	Descripción de los tratamientos.	48
6.1.6.	Establecimiento de las unidades experimentales.	49
6.1.7.	Monitoreo del desarrollo de las especies vegetales.	51
6.2.	Espectrofotometría infrarroja.	53
6.3.	Ensayos de Química cualitativa.	54
6.3.1.	Ensayo con Bromo en Tetracloruro de carbono CCl_4	55
6.3.2.	Ensayo con permanganato de potasio $KMnO_4$	55
6.3.3.	Determinación de azufre con nitroprusiato de sodio.....	56
6.3.4.	Determinación de halógenos en general. Diferenciación entre cloro, bromo y yodo.	57
6.3.5.	Determinación de aminas.....	57
6.3.6.	Determinación de Amidas. Ensayo del hidroxamato.	58
6.4.	Cromatografía líquida acopada a espectrometría de masas.....	59
6.5.	Mecanismo de remediación	61
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
7.1.	Caracterización de los elementos ambientales del área de estudio.	62
7.2.	Bioensayos.	67
7.2.1.	Germinación	67
7.2.2.	Crecimiento de las especies vegetales.....	70
7.2.3.	Producción de biomasa de las especies vegetales.	73
7.3.	Química cualitativa.	76
7.3.1.	Prueba de Bromo en CCl_4	77
7.3.2.	Ensayo con permanganato de potasio.....	78
7.3.3.	Determinación de azufre con nitroprusiato de sodio.....	78
7.3.4.	Determinación de halógenos en general. Diferenciación entre cloro, bromo y yodo.	78

7.3.5.	Determinación de aminas.....	79
7.3.6.	Ensayo de Amidas.....	81
7.4.	Espectrofotometría infrarroja.	82
7.5.	Cromatografía líquida.	90
8.	Análisis de resultados.....	95
9.	CONCLUSIONES.....	101
10.	REFERENCIAS.....	105
11.	ANEXOS	110

LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Relación de las fincas seleccionadas para el muestreo de suelos, municipio de Villapinzón.	44
Tabla 2. Relación de los niveles, control y blanco del diseño experimental.	48
Tabla 3. Descripción de ingredientes activos y dosis utilizadas para la contaminación de las unidades experimentales.	49
Tabla 4. Densidad de siembra por especie utilizada en el bioensayo.	50
Tabla 5. Características de la unidad taxonómica de suelos del área de estudio.	63
Tabla 6. Identificación de la cuenca del municipio de Villapinzón y el estado actual.	66
Tabla 7. Efecto de la contaminación del suelo con Cimoxanil y carbofuran sobre el porcentaje de germinación de semillas de tres especies forrajeras.	69
Tabla 8. Efecto de la contaminación del suelo con cimoxanil y carbofuran desarrollo de tres especies forrajeras y papa.	72
Tabla 9. Efecto de la contaminación del suelo con cimoxanil y carbofuran en la producción de biomasa de tres especies forrajeras y papa.	75
Tabla 10. Resultados de la prueba cualitativa para determinar presencia de compuestos con metil activo.	77
Tabla 11. Resultados de la prueba cualitativa para determinar presencia de dobles o triples enlaces.	78
Tabla 12. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de azufre.	78
Tabla 13. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de halógenos diferenciando cloro, bromo y yodo.	79
Tabla 14. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas. Ensayo cloranil en dioxano.	79
Tabla 15. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas de bajo peso molecular. Ensayo ión cúprico.	80
Tabla 16. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas primarias y secundarias.	80
Tabla 17. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de amidas.	81
Tabla 18. Resumen de resultados de los ensayos de química cualitativa.	81
Tabla 19. Relación de los valores de las bandas resaltadas para espectrofotometría y el grupo químico que representan.	84
Tabla 20. Resultados del espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado el 27 de febrero, 2012.	85
Tabla 21. Resultados del espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado el 27 de febrero, 2012.	87
Tabla 22. Resumen de resultados de los análisis de cromatografía líquida en suelo para cimoxanil y carbofuran.	91

Tabla 23. Resumen de resultados de los análisis de cromatografía líquida en tejidos vegetales para cimoxanil y carbofuran.....	93
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación espacial de los predios muestreados.....	44
Figura 2. Mapa de la clasificación taxonómica del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.	62
Figura 3. Mapa de uso actual del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.	64
Figura 4. Mapa de conflicto de uso del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.	65
Figura 5. Porcentaje de germinación alcanzado por las especies evaluadas en suelo contaminado y sin contaminar, 15 días después de la siembra.	68
Figura 6. Efecto de la contaminación el suelo con cimoxanil y furadan sobre el crecimiento de <i>L. perenne</i> (1); <i>A. sativa</i> (2); <i>T. pratense</i> . (3); y <i>S. tuberosum</i> (4) en suelo sin contaminar (C) y suelo contaminado (T).	71
Figura 7. Efecto de la contaminación el suelo con Cimoxanil y carbofuran sobre la producción de biomasa foliar y radicular de <i>L. perenne</i> (1); <i>A. sativa</i> (2); <i>T. pratense</i> . (3); y <i>S. tuberosum</i> (4) en suelo sin contaminar (C) y suelo contaminado (T).	74
Figura 8. Molécula química del carbofurán.	76
Figura 9. Estructura química del cimoxanil.....	77
Figura 10. Espectro infrarrojo de la muestra compuesta de suelo, tomado 7 de febrero, 2012. .	83
Figura 11. Espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado 27 de febrero, 2012.....	85
Figura 12. Espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado 27 de febrero, 2012.....	86
Figura 13. Espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado 27 de marzo, 2012.	88
Figura 14. Espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado 27 de marzo, 2012.	88
Figura 15. Espectro infrarrojo del Curzate tomada el 27 de marzo, 2012.....	89
Figura 16. Espectro infrarrojo del Furadan tomada el 27 de marzo, 2012.....	89

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Foto 1. Panorámica del área rural del municipio de Villapinzón, Cundinamarca.	42
Foto 2. Toma de muestras de suelos en cultivos de papa en Villapinzón, Cundinamarca.	43
Foto 3. Semillas de las tres especies forrajeras utilizadas en el trabajo.	46
Foto 4. Agroquímicos utilizados para contaminar el suelo de la prueba.	47
Foto 5. Establecimiento y contaminación de las unidades experimentales.	51
Foto 6. Espectrofotómetro infrarrojo IRPrestige-21.	53
Foto 7. Cromatógrafo líquido ultrarrápido Shimadzy Prominence.	59
Foto 8. Detalle de la germinación de las semillas en las unidades experimentales.	67
Foto 9. Detalle del desarrollo de las especies evaluadas, doce semanas después de la siembra.	70

1. RESUMEN

Ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*), fueron evaluadas, bajo condiciones de invernadero, para determinar su potencial efecto fitorremediador de agroquímicos presentes en suelos dedicados a la producción de papa (*Solanum tuberosum*), y lo(s) posibles mecanismos de fitorremediación que utilizarían. Se aplicaron productos agroquímicos ampliamente utilizados en el municipio de mayor producción del departamento de Cundinamarca, Colombia, con ingredientes activos cimoxanil y carbofuran, como contaminantes de la muestra compuesta de suelo. Se evaluó una propuesta metodológica estructurada con un bioensayo, análisis de química cualitativa y análisis de química analítica bajo los principios de pertinencia, calidad y replicabilidad. Los ingredientes activos cimoxanil y carbofuran no presentaron efectos fitotóxicos que afectaran la germinación, desarrollo vegetativo y la acumulación de biomasa de las tres especies evaluadas; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las especies establecidas en suelo contaminado y suelo sin contaminar. Los resultados obtenidos de las pruebas de química cualitativa corroboraron la presencia de grupos químicos pertenecientes a las moléculas de los ingredientes activos. Los análisis de espectrofotometría infrarroja no fueron concluyentes; el método de digestión de las muestras introdujo un margen de error en las lecturas unificando los espectros infrarrojos de los ingredientes activos impidiendo identificar y monitorear los compuestos a través de esta metodología. Los análisis de cromatografía UPLC-MS corroboraron la presencia de los contaminantes en el suelo al inicio de la evaluación y su ausencia 16 semanas después de haber establecido las especies vegetales. No hay efecto diferenciado del establecimiento de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) o trébol rojo (*Trifolium pratense*) para la fitorremediación de cimoxanil y carbofuran en una muestra compuesta de suelo dedicado a la producción de papa (*Solanum tuberosum*). Existe la posibilidad que los resultados estén relacionados con los mecanismos de rizodegradación, fitodegradación o fitovolatilización de las plantas.

PALABRAS CLAVES: fitorremediación, papa, ryegrass, avena forrajera, trébol rojo, cimoxanil, carbofuran.

2. ABSTRACT

Ryegrass (*Lolium perenne*), oat (*Avena sativa*) and red clover (*Trifolium pratense*) were evaluated to determine their potential phytoremediation effect of agrochemicals in soils dedicated to potato (*Solanum tuberosum*) production, and its possible mechanisms of phytoremediation. Widely used agrochemicals, most used in potato production in Cundinamarca, Colombia, with active ingredients carbofuran and cymoxanil were applied as contaminants to a mixed soil sample. The evaluated methodology was based on a: bioassay, qualitative chemical analysis and analytical analysis selected by principles of relevance, quality and capability of redo. Active ingredients cymoxanil and carbofuran showed no phytotoxic effects in seeds germination, vegetative growth nor biomass accumulation of the three species, no statistically significant differences between species established in contaminated soil and uncontaminated soil were found. The results of qualitative chemical tests corroborated the presence of chemical groups belonging to the molecules of the active ingredients. Infrared spectrophotometric analyses were inconclusive; the method of digestion of the samples introduced a margin of error due to unify the infrared spectra readings of the different compounds. Analyses of UPLC-MS chromatography confirmed the presence of contaminants in the soil at the beginning of the evaluation; the analyses 16 weeks after establishing the plants didn't report the pollutants. No differential effect of the establishment of ryegrass (*Lolium perenne*), oat (*Avena sativa*) and red clover (*Trifolium pratense*) were found to the phytoremediation of carbofuran and cymoxanil. There is a possibility that the results are related to the mechanisms of rizodegradación, fitovolatilización fitodegradación of the studied plants.

KEY WORDS: phytoremediation, potato, ryegrass, oat, red clover, cimoxanil, carbofuran.

3. INTRODUCCION

La aplicación de agroquímicos en la producción agropecuaria ha generado la inclusión de moléculas químicas sintéticas al medio, que en algunos casos y ligado a sus propiedades, han ocasionado efectos nocivos al ambiente y la salud humana, donde su utilización en exceso, pretendiendo hacer más rentables y eficientes los sistemas de producción, se ha convertido en una fuente de contaminación de los compartimentos ambientales y un factor de riesgo para la salud humana (Badii, 2005)

Solamente en Colombia se producen 48.017.302 litros de agroquímicos y se venden 858.057.446 litros entre acaricidas, bactericidas, coadyudantes, fungicidas, herbicidas, insecticidas, molusquicidas y reguladores fisiológicos (Espejo, 2008).

La producción de papa se constituye en una de las actividades agropecuarias de mayor importancia en la región andina, con importancia e implicaciones sociales por la demanda de mano de obra local y la dependencia de la generación de ingresos de muchas familias de productores; sin embargo, según Espinal, et al, (2005) la papa (*Solanum tuberosum*) es el producto de origen agrícola que posee la mayor demanda en el uso de fungicidas e insecticidas y la segunda de fertilizantes químicos, en Colombia.

Asociado a la alta producción de papa en diversas regiones del país está la aplicación de paquetes tecnológicos altamente demandantes de agroquímicos, que ligados a la incorrecta y excesiva fumigación del cultivo, hace que el tubérculo más consumido del país sea un causante potencial de enfermedades graves (Borraez, 2011) y aporte altas cargas de contaminantes a los elementos ambientales involucrados en su obtención.

La degradación de los plaguicidas aplicados al suelo, al igual que su destino final, determinan el efecto ambiental que su uso y acumulación puedan tener (Durán, 2007).

Parte de esos efectos están ligados a factores como: la adsorción de los compuestos por el suelo, su lixiviación hacia el agua, los efectos sobre los macro y microorganismos y la posible transformación en compuestos más tóxicos que los inicialmente aplicados al medio (Durán, 2007).

Las tres vías primarias de degradación de los agroquímicos en el suelo involucran interacciones químicas, reacciones fotoquímicas y a los organismos del suelo: tanto plantas como microorganismos, proceso conocido como biorremediación (Durán, 2007).

Aunque la descontaminación de los suelos depende de la estructura química del agroquímico y sus grupos funcionales, que determinan su solubilidad, volatilidad y absorción, entre otras propiedades, existen técnicas físicas y químicas para su tratamiento, entre ellas las alternativas biológicas de manejo que pueden significar una oportunidad para desintoxicar los suelos y mantener su capacidad productiva (Ambiente, 2000)

La utilización de plantas para descontaminar los compartimentos ambientales, tecnología conocida como fitorremediación, es aplicable a sitios contaminados con compuestos orgánicos, exceso de elementos o metales, al igual que compuestos radioactivos (Dietz y Schnoor, 2001, Garbisu y Alkorta, 2001; US EPA, 1999, Incorva y col 2003). Aunque el tiempo de descontaminación puede limitar la fitorremediación como técnica de descontaminación de suelos, ha probado ser una estrategia eficiente y limpia para su mejoramiento in situ.

Casos como la utilización de *Populus deltoids* * *nigra* para la remediación de suelos y aguas subterráneas contaminados con petróleo (El-Gendy, 2009); plantas hidrófitas para la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas eutrofizadas (Xiang, 2009); *Salix eriocephala* L. var. Michaux para la remediación de triazofos; insecticida perteneciente a los organofosforados (Cheng, 2007); o el uso de macrófitas para la remoción de

metales pesados en ecosistemas acuáticos (Rai, 2009); son ejemplos del potencial de aplicación de la fitorremediación como técnica de descontaminación de suelos y aguas.

La mayoría de los trabajos adelantados sobre esta tecnología están enfocados en la remediación de suelos contaminados con metales pesados, y es escasas la investigación enfocada a la fitorremediación de suelos contaminados con productos agroquímicos, de ahí la importancia de emprender esta investigación que pretende determinar el potencial efecto fitoremediador de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*), de agroquímicos presentes en suelos dedicados a la producción de papa.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo General

Determinar la capacidad y mecanismos de fitorremediación de Ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*), de agroquímicos presentes en suelos dedicados a la producción de papa.

4.2. Objetivos específicos

4.2.1. Seleccionar los métodos analíticos de cuantificación de agroquímicos en suelos dedicados a la producción de papa.

4.2.2. Evaluar el desarrollo fisiológico de las especies fitorremediadoras seleccionadas *ex situ* bajo la presencia de agroquímicos en suelos dedicados a la producción de papa.

4.2.3. Seleccionar la(s) especie(s) con mayor capacidad de fitorremediación entre ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*).

4.2.4. Plantear el(los) mecanismo de fitorremediación utilizado(s) por la(s) especie(s) seleccionada(s).

4.2.5. Proponer una alternativa de fitorremediación *in situ* con la(s) especie(s) seleccionada(s).

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Producción de papa en Colombia

5.1.1. Importancia del cultivo

La producción del cultivo de papa en Colombia ocupa una extensión de 165.294 Ha (Martínez, 2005) concentrándose en las regiones ubicadas entre los 2.000 y 3.000 msnm. El 90% de la producción se realiza en zonas de ladera y tan solo el 10% en suelos planos mecanizables (Bonilla, 2009).

El tubérculo está ubicado en el cuarto lugar de la balanza agropecuaria nacional aportando 2.9 millones de Tm al año de papas al consumo fresco y la agroindustria, siendo el Departamento de Cundinamarca el mayor productor con el 39% de estos rendimientos seguido de: Boyacá con el 27%, Nariño con el 15% y Antioquia con el 10% (Martínez, 2005).

En tres de los principales departamentos productores: Cundinamarca, Boyacá y Nariño, la producción de papa es la actividad agropecuaria que más empleo e ingresos genera, constituyéndose en eje fundamental de la economía regional (Martínez, 2005). Su importancia social tiene como base que el 95% de los cultivadores de papa en el país son pequeños productores, que desarrollan predios menores a 3 ha (Bonilla, 2009).

La papa tiene una participación del 3,6% en el valor real de la producción agropecuaria nacional el 4,3% del total del área cultivada en el país y el 10,4% de la superficie cultivada con productos transitorios, con un importante peso en los renglones productivos agropecuarios nacionales (Martínez, 2005)

Según el primer Censo Nacional del cultivo de papa, Cundinamarca es el departamento productor histórico de este cultivo con rendimientos estimados en 1.031.005 toneladas

del tubérculo. Está dividido en diez (10) provincias productoras agrupando sesenta un municipios. La provincia Almeida, compuesta por los municipios de Villapinzón, Chocontá, Machetá, Manta, Sesquile y Suesca, produce el 25% de la papa obtenida en el Departamento (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y DANE, 2002).

El municipio de Villapinzón es el primer productor de papa de la provincia Almeida, obteniendo el 44% de la papa que producida en esta región, con 6.267 ha establecidas en el año agrícola julio de 2001 – junio 2002 (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y DANE, 2002).

5.1.2. Municipio de estudio

El municipio de Villapinzón está localizado en el Altiplano Cundiboyacense, al norte del departamento de Cundinamarca. La región natural característica del territorio es: bosque andino y la subregión: cuenca alta del río Bogotá. Administrativamente el municipio pertenece a la provincia Los Almeydas, conformada por los municipios de Chocontá, Machetá, Manta, Sesquilé, Suesca, Tibirita y Villapinzón (Fuente IGAC 1992).

La cabecera municipal de Villapinzón se encuentra localizada a los 05° 13' 09'' de latitud norte y 73° 36' 00'' de longitud oeste. El municipio tiene una extensión es de 249 Km², distribuidos 248,51 Km² en el área rural y 0,39 Km² en el área urbana (Fuente IGAC 1992).

5.1.3. Problemas ambientales y sociales

Según Espinal, et al, (2005) la papa es el producto de origen agrícola que posee la mayor demanda en el uso de fungicidas e insecticidas y la segunda de fertilizantes químicos, después del café. Adicionalmente, se constituye en la actividad que más

utiliza los servicios de transporte terrestre, con más de dos millones de Tm al año, cifra que se incrementa con la movilización de los insumos requeridos para su producción.

Sin embargo, asociado a la alta producción de papa en diversas regiones del país está la aplicación de paquetes tecnológicos altamente demandantes de agroquímicos, que ligados a la incorrecta y excesiva fumigación del cultivo, hace que el tubérculo más consumido del país sea un causante potencial de enfermedades graves (Borráez, 2011) y aporte altas cargas de contaminantes a los elementos ambientales involucrados en su obtención.

En Colombia, para el manejo fitosanitario del cultivo, se realizan en promedio unas 9 aplicaciones de agroquímicos por ciclo de 180-210 días, que aunque son inferiores a las de otros países donde se realizan de 15 a 25 aplicaciones de estos insumos en papas de ciclos cortos de tan solo 100 días (Gonzalez, 2012), aún representan un consumo considerable de compuestos sintéticos

La tecnología de producción del tubérculo se caracteriza por el uso intensivo de mano de obra, insumos, y maquinaria (Bonilla, 2009). El costo de establecimiento y mantenimiento de una hectárea de papa puede alcanzar los \$12.500.000, correspondientes en un 50% al uso de agroquímico, de los que el 25% son fertilizantes, el 18% insecticidas y 7% fungicidas (Borráez, 2011).

El 70% de los productos aplicados para manejo de plagas y enfermedades en el cultivo permanecen en el follaje, mientras que cerca de un 30% cae al suelo, receptor final de las descargas, evidenciando que el inadecuado y excesivo uso de los agroquímicos no solo pone en riesgo la salud de los consumidores, sino también el bolsillo de los productores (Borráez, 2011), siendo necesario mejorar su manejo fitosanitario, al igual que el manejo integrado y descontaminación del suelo para mantener su potencial productivo.

Investigaciones recientes adelantadas por del Instituto de Estudios Ambientales, IDEA, en la zona rural de Ciudad Bolívar, detectaron valores de contaminación entre 0,51 y 0,65 mg/Kg de organofosforados y 0,51 a 0,57 mg/Kg de carbamatos en muestras de tubérculos recién cosechados. Después de ser almacenados y freídos, los tubérculos presentaron concentraciones de 0,12 mg/Kg de organofosforados y 0,54 mg/Kg de carbamatos, siendo estos niveles altos de agroquímicos para el consumo humano (Borráez, 2011).

El exceso y acumulación de los agroquímicos utilizados para la obtención del tubérculo es una preocupación netamente ambiental, es un problema que se traslada al consumidor, teniendo en cuenta que los compuestos de los ingredientes activos se permanecen en la papa después de su cocción (Borráez, 2011).

5.2. Agroquímicos y riesgo ambiental

Los agroquímicos de uso agrícola son peligrosos porque poseen características inherentes o intrínsecas que les confieren la capacidad de ejercer efectos tóxicos, sin perjuicio de su clasificación toxicológica ni la dosificación aplicada. Según Porta 1994, los agroquímicos pertenecen al grupo de sustancias con mayores efectos tóxicos, incluyendo también a los metales pesados, compuestos aromáticos y organoclorados.

5.2.1. Agroquímicos seleccionados

FURADAN®3 SC:

Categoría toxicológica: I, altamente tóxico.

Grupo químico: Carbamato.

Formulación: suspensión concentrada, fácilmente dispersable en agua.

Ingrediente activo: carbofuran (Science, 2003)

Modo de Acción: es un insecticida y nematicida sistémico y de contacto, a base de carbofuran, especialmente indicado para el control de insectos y gusanos en tratamiento de suelo (Science, 2003). FURADAN también está indicado para nematodos de los géneros Ditylenchus, Aphelenchus y Meloidogyne (Science, 2003). El producto es absorbido a través de las raíces y traslocado a toda la planta, actuando contra las plagas para las que está recomendado, durante los primeros estadíos del cultivo, protegiéndolo desde la germinación y emergencia hasta su implantación definitiva. En el suelo es necesaria buena humedad para la acción del producto (Science, 2003)

CURZATE M8:

Categoría toxicológica: III, ligeramente tóxico.

Grupo químico: Cianoacetamida.

Formulación: Polvo humectable (WP).

Ingredientes activos: Cimoxanil: L-(2-ciano-2metoximiiminoacetil)-3-etilurea; y Mancozeb: Etilen-bisditiocarbamato de manganeso coordinado con zinc iónico (DUPONT, 2002)

Modo de acción: El fungicida marca CURZATE ® M-8 es un producto de actividad sistémica-acropétala y de contacto, con propiedades curativas y preventivas que evitan el establecimiento de patógenos en el orden de los peronosporales en los cultivos de papa, tabaco y tomate (DUPONT, 2002)

CURZATE ® M-8 combina en forma única varios modos de acción sobre el metabolismo de los hongos al estar constituido por una acetamida (Cimoxanil) y por un ditiocarbamato (mancozeb), lo cual lo hace efectivo contra cepas de hongos resistentes a las fenilamidas y le confiere una marcada acción antiesporulante (DUPONT, 2002)

El cimoxanil penetra rápidamente a través de los tejidos de la planta; por lo tanto, es resistente al lavado por lluvia o riego después de 2 a 3 horas de aplicado (DUPONT, 2002)

CURZATE® M-8 es más efectivo contra los estadios tempranos de infección (antes de que los síntomas de la enfermedad sean visibles); asimismo, es efectivo cuando los síntomas iniciales son aparentes (DUPONT, 2002)

5.2.2. Ingredientes activos y modo de acción

Carbofurán: Es una molécula insecticida y nemátocida con funcionamiento sistémico y de contacto. Este ingrediente activo actúa interfiriendo los impulsos nerviosos por inhibición de la acetilcolinesterasa (Zinkl et al., 1991) (6) e ingresa en los organismos principalmente por contacto e ingestión, y en menor medida por inhalación (Science, 2003).

Su efecto sistémico, al ser absorbido por las raíces de las plántulas, le confiere acción de ingestión sobre insectos chupadores e insectos de las partes aéreas (Science, 2003).

Cimoxanil: Es una molécula fungicida que actúa en forma sistémica, translaminar, acropetala con acción multisitio actuando sobre cuatro diferentes procesos metabólicos de los hongos oomicetos, los cuales son: respiración, biosíntesis de aminoácidos, metabolismo de la uridina y permeabilidad de las membranas (DUPONT, 2002).

La absorción de Cimoxanil por las plantas se lleva a cabo en menos de una hora después de aplicado. Dentro de la planta Cimoxanil inhibe el crecimiento del hongo, reduciendo en el caso de Hongos oomicetos como (*Phytophthora infestans*), la producción de esporangios y zoosporas. Posteriormente, Cimoxanil se metaboliza en aminoácidos y azúcares incorporándose a los tejidos vegetales sin dejar residuos.

Además, promueve la reacción de hipersensibilidad en los cultivos tratados lo que hace a las plantas resistir mejor el ataque de hongos oomicetos (DUPONT, 2002)

5.2.3. Riesgos al medio ambiente

Furadan: Este producto ha sido retirado para venta en Europa y es de uso restringido en Estados Unidos. En Colombia, de los insecticidas usados en papa, es el producto de mayor venta y aplicación (Fan, 2000).

Según la ficha hoja de seguridad del producto, Furadan es extremadamente tóxico para las aves, por lo que se recomienda no aplicar en zonas donde se encuentren aves nidificando. Es extremadamente tóxico para los peces, por lo que se recomienda evitar contaminar cursos de agua naturales, ríos, lagunas o lagos. Dejar una distancia mínima de 5 metros entre la zona tratada y el espejo de agua. Adicionalmente es moderadamente tóxico para abejas (Fan, 2000).

En el análisis de riesgo ecológico del carbofuran, elaborado por la EPA, 2006 año, se presenta evidencia para organismos no objetivo: i) evaluación determinística o nivel de proyección, ii) evaluación refinada de riesgo, y iii) datos de campo, soportan la conclusión que aves y mamíferos no objetivo que han sido expuestos a niveles de carbofuran resultan en mortalidad directa y que mortalidad de estos organismos ocurre frecuentemente con los usos registrados de este ingrediente activo. El número de individuos y especies afectados se incrementa con el aumento de la tasa de aplicación (Fan, 2000).

Adicionalmente, el estudio de campo de este mismo estudio, indica que el carbofuran que flota después de la aplicación tiene el potencial de causar mortalidad aviar secundaria en los casos cuando un animal cazado ingiere presas como pequeñas aves y mamíferos que previamente se hayan intoxicado con carbofuran (Fan, 2000).

Curzate: Curzate es un producto tóxico para peces y otros organismos acuáticos. Su manejo inadecuado: i) concentraciones superiores a las recomendadas, ii) frecuencias de aplicación superiores a las recomendadas, iii) lavado de equipos de aplicación y desecho de los sobrantes del producto, o iv) aplicaciones con viento que favorezcan la deriva o acarreo del producto a otras áreas, puede contaminar cuerpos o corrientes de agua, alimentos o forraje (DUPONT, 2002).

El riesgo de contaminación se incrementa cuando haya posibilidad de movimiento o escorrentía del producto por el suelo, o cuando las condiciones ambientales favorezcan el arrastre de la aspersión desde las áreas tratadas (DUPONT, 2002).

5.2.4. Agroquímicos en el suelo

Los insumos agroquímicos aplicados en la obtención de productos agropecuarios poseen unos mecanismos propios de evolución (Fontúbel, 2004), cuyo conocimiento es importante para determinar su persistencia, movilidad y manejo.

Entre los mecanismos relacionados con la evolución de los agroquímicos en el suelo están:

- descomposición química; resultado de la oxidación, reducción, hidroxilación, alquilación, hidrólisis e hidratación de las moléculas;
- descomposición fotoquímica: por efecto de la luz ultravioleta de la luz solar y depende de las fuentes de luz y su intensidad;
- descomposición microbiana: acción de la microbiota edáfica sobre la descomposición de las moléculas de los compuestos orgánicos como fuente de alimento y energía para su crecimiento;
- volatilización: pérdida del compuesto en forma de vapor dependiendo de su presión de vapor, estado físico en el que se encuentre y la temperatura del ambiente;

- movimiento en el perfil del suelo, lixiviación: por efectos de la disolución o arrastre mecánico del agua, influido por las características del suelo, solubilidad del compuesto, lluvias, y el movimiento del agua en el suelo (Fontúbel, 2004).

El comportamiento de estos contaminantes en el suelo puede determinarse a través del *Seguimiento a la Atenuación Natural*, monitoreando este proceso pasivo en el cual la reducción de la concentración del contaminante está relacionada únicamente con los mecanismos naturales (United State Environmental Protection Agency, 2006) de atenuación.

5.3. Descontaminación de suelos

5.3.1. Alternativas de remediación de suelos

La principal característica de las tecnologías de tratamiento *in situ* para descontaminar suelos es el transporte y recuperación de fluidos, y otros reactivos, hasta la superficie del suelo; es por eso que su efectividad se determina con base en su habilidad de controlar esos aspectos (United State Environmental Protection Agency, 2006)

En los años recientes se ha incrementado el uso de muchas tecnologías de tratamiento *in situ* para como opción para el direccionamiento de los contaminantes del suelo (United State Environmental Protection Agency, 2006), de ahí la importancia de examinarlas y determinar su potencial y efectividad.

Las tecnologías de descontaminación de suelos, *in situ*, se clasifican según el mecanismo primario a través del que se desarrolla el tratamiento: i) físico – químico, ii) termal o iii) biológico; y su efectividad depende de las características del contaminante y las condiciones en las que se encuentre en el suelo, al igual que las características del

suelo, (United State Environmental Protection Agency, 2006), y sus componentes, como la materia orgánica.

Tratamientos fisicoquímicos: Este tipo de tratamientos, utiliza las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Los tratamientos fisicoquímicos son viables económicamente, pueden realizarse en períodos corto de tiempo y los equipos requeridos no demandan grandes inversiones en energía e ingeniería; sin embargo, como resultado del tratamiento se generan subproductos que deben tratarse o disponerse incrementando los costos de manejo y los procesos asociados al tratamiento; adicionalmente algunos fluidos utilizados en la extracción de los contaminantes pueden incrementar la movilidad de los contaminantes y dificultar su recuperación (Volke y Velasco, 2002).

Los tratamientos fisicoquímicos están dirigidos a tratar compuestos orgánicos volátiles no halogenados, compuestos orgánicos volátiles halogenados, combustibles, compuestos inorgánicos y radionucleidos (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Tratamientos térmicos: Utilizan calor para incrementar la volatilización (separación), quemar, descomponer o fundir (inmovilización) los contaminantes en un suelo (Volke y Velasco, 2002). Estos tratamientos son los más costos por las implicaciones en movilización y manejo de grandes volúmenes de material contaminado y los costos de operación de los equipos requeridos para realizarlos.

Los tratamientos térmicos han sido usados para la descontaminación de suelos con compuestos orgánicos volátiles no halogenados, compuestos orgánicos volátiles halogenados, compuestos orgánicos no halogenados semivolátiles, combustibles y explosivos (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Tratamientos biológicos (biorremediación): Utilizan las actividades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos, bacterias) para degradar (destrucción), transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos (Volke y Velasco, 2002). Muchos microorganismos nativos del suelo pueden transformar químicos peligrosos a sustancias que pueden ser menos peligrosas que los compuestos originales; adicionalmente, pueden ser usados para alterar la valencia de metales peligrosos haciéndolos menos dañinos y menos móviles en el suelo (United State Environmental Protection Agency, 2006).

La biorremediación microbiana ha sido utilizada en condiciones aeróbicas y anaeróbicas tanto como condición intrínseca del suelo, que depende de la flora microbiana nativa del suelo para descontaminar sin la adición de ninguna enmienda; como biodegradación mejorada, donde se realiza la manipulación del ambiente microbiano a través de enmiendas como aire, substratos orgánicos, nutrientes, otros compuestos, o cultivos de microorganismos (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Estos tratamientos son viables en términos de costos, generan impactos benéficos adicionales al medio ambiente, y los requerimientos de manejo posteriores a la descontaminación son mínimos; sin embargo, los procesos biológicos son susceptibles a las condiciones del entorno, que no son controlables, carecen de estandarización y los métodos de monitoreo y verificación no están plenamente desarrollados (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Las tecnologías de tratamiento biológico han sido utilizadas para el tratamiento de compuestos orgánicos volátiles no halogenados, compuestos orgánicos volátiles halogenados, compuestos orgánicos no halogenados semivolátiles, compuestos orgánicos halogenados semivolátiles y combustibles (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Producción limpia: Si bien es cierto que la producción limpia no es un tratamiento para la descontaminación de suelos, es una alternativa de manejo preventiva para reducir su contaminación y evitar el uso de técnicas que eliminen los contaminantes aportados por las prácticas agropecuarias convencionales.

La producción limpia hace referencia a un adecuado uso de materias primas y energía, al igual que eliminación de materias primas tóxicas y reducción de emisiones contaminantes y desechos tanto en cantidad como en toxicidad (Ministerio del Medio Ambiente, 1997).

La producción limpia en el sector agropecuario está relacionada con la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas, BPA, que involucran principios de aseguramiento de calidad y no daño a la salud humana ni al medio ambiente, protección de la salud y seguridad de los trabajadores y el buen manejo y uso de los insumos agropecuarios (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, SF).

Con la aplicación de BPA en la producción agropecuaria se reduce el riesgo de contaminación de suelos y de otros compartimientos ambientales.

5.3.2. Fitorremediación

Las alternativas de biorremediación de contaminantes en los elementos ambientales contemplan el uso de plantas, hongos, bacteria y otros organismos vivos para la descontaminación de compuestos foráneos (ITRC¹, 2009).

La fitorremediación, abordada en la actualidad como fitotecnología, es la tecnología que emplea plantas para remediar los elementos ambientales impactados con diferentes

¹ Interstate Technology & Regulatory Council

tipos de contaminantes (ITRC, 2009). La fitorremediación trata el medio contaminado para remover, degradar o contener los contaminantes localizados sobre sus partículas, sedimentos, aguas subterráneas y superficiales (Cunningham et, al., 1995).

Dentro de las principales ventajas de la fitorremediación se encuentra el tratamiento in situ de la contaminación, disminuyendo hasta en un 95% la cantidad de residuos, que debieran ser confinados, después de realizado el tratamiento. Utilizando la fitorremediación se disminuyen la diseminación de contaminación a través del aire o el agua, no se requiere de equipos costosos ni de personal altamente capacitado, es fácil de implementar y de mantener, con bajos costos en comparación con los tratamientos convencionales (Henry, 200: McIntyre, 2003; Susarla y Col, 2002), adicionalmente, la fitorremediación puede utilizarse tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos presentes en sustratos sólidos, líquidos o en el aire.

Las principales limitaciones de los tratamientos de fitorremediación están relacionados con: la falta de estandarización de los métodos de remediación como resultado del efecto de los factores bióticos y abióticos del sitio a descontaminar; el área efectiva del tratamiento confinada al área de la rizósfera de la planta; el tiempo para remediar un sitio contaminado que puede variar considerablemente dependiendo de la fuente de contaminación, las condiciones climáticas, y la especie a usar; está limitado a sitios con baja concentración de contaminantes, ya que altas concentraciones de contaminantes pueden limitar el desarrollo de las especies vegetales; la biomasa de las plantas cosechadas en el tratamiento de fitoextracción puede ser considerado como residuos peligrosos, depende de las condiciones climáticas y la introducción de especies no nativas puede afectar la biodiversidad (Henry, 200: McIntyre,2003; Khan y Col, 2002), entre otros factores.

Un importante limitante en el tratamiento de suelos a través de la fitorremediación es la posible bioconcentración de los contaminantes a través de la cadena alimenticia. Muchos mecanismos de fitorremediación trabajan incorporando los contaminantes al

interior de la planta o reteniéndolas en el área radicular; pudiendo impactar a organismos consumidores de primer nivel, siendo una preocupación con contaminantes altamente tóxicos como metales y desechos radioactivos (United State Environmental Protection Agency, 2006).

Los trabajos que existen sobre fitorremediación están enfocados en la remediación de suelos contaminados con metales pesados, pero son escasas, las investigaciones enfocadas a fitorremediación de suelos contaminados con productos agroquímicos, de ahí la importancia de desarrollar esta investigación.

Un amplio rango de ambientes, plantas y contaminantes han sido estudiados bajo condiciones de laboratorio y pruebas de campo determinando la eficacia de las tecnologías de fitorremediación (United State Environmental Protection Agency, 2006)]; entre las especies vegetales evaluadas se destaca el uso los pastos y forrajes, comúnmente utilizados debido a su adaptabilidad a condiciones climáticas y edáficas, y por su hábitat de crecimiento (Singh, et al, 2003).

5.3.3. Mecanismos de fitorremediación

Los mecanismos de fitorremediación están relacionados con los procesos fisiológicos de las plantas (ITRC, 2009). Se presentan teniendo en cuenta la secuencia de como los contaminantes entran en contacto con ellas a través de la transpiración, la rizósfera, y la planta en general:

Fitoimmobilización: También citada como fitoestabilización, tiene el objetivo de contener la contaminación. Es el mecanismo por medio del que las plantas capturan ciertos contaminantes en i) la rizósfera a través de exudados fitoquímicos, y ii) las raíces a través del transporte de proteínas y procesos celulares. Esta ruta de

inmovilización de contaminantes puede limitar la migración de los compuestos, favorecer la formación de complejos metálicos, precipitar los compuestos en forma de iones metálicos, o cambiar los compuestos a estados reducidos menos tóxicos (ITRC, 2009).

La fitoestabilización también puede ser usada para prevenir la migración de suelo contaminado a través del viento, erosión hídrica, dispersión del suelo o lixiviación (USEPA 2006).

Las plantas, en el área de la rizósfera, modifican la matriz química y microbiana del suelo lo que impacta el destino y transporte de los contaminantes favoreciendo su estabilización (USEPA, 2006).

Aunque el transporte de proteínas al interior de las plantas puede facilitar la transferencia de contaminantes entre las células, las vacuolas almacenan estos compuestos como lo hacen con los residuos de la planta, así las vacuolas de las células de la raíz pueden secuestrar contaminantes, evitando su translocación al xilema (ITRC 2009).

Como los contaminantes son retenidos en el suelo, la fitoinmovilización no requiere la cosecha y disposición de las plantas; sin embargo, es necesario el análisis del sistema para verificar la que no haya ocurrido traslocación de contaminantes al interior de los tejidos vegetales (USEPA, 2006).

Rizodegradación: Esta estrategia de biorremediación se basa en la relación simbiótica que se establece entre las plantas y los microorganismos que habitan el área de la rizósfera, y tiene el objetivo de remediar a través de la destrucción de las moléculas del contaminante (ITRC, 2009).

También llamada fitoestimulación o biodegradación rizosférica es el incremento del metabolismo de los compuestos contaminantes a través del incremento de la bioactividad usado el par de la rizósfera para estimular las poblaciones microbianas capaces de utilizar las moléculas contaminantes (ITRC, 2009).

El incremento de la bioactividad significa el mecanismo primario a través del cual los contaminantes orgánicos pueden ser remediados, convertidos a productos menos dañinos que pueden ser transformados en una fuente de alimento y energía para las plantas y los organismos del suelo (ITRC, 2009).

La presencia de un contaminante en el suelo tiende naturalmente a seleccionar organismos que utilizan ese compuesto químico como fuente de alimento y energía. Es así como los organismos que pueden metabolizar el compuesto tienden a incrementar sus poblaciones sobre aquellos que no lo puede utilizar (ITRC, 2009).

Fitoextracción: Es la habilidad de las plantas para tomar contaminantes a través de sus raíces y traslocar los contaminantes a diferentes órganos superiores. Para que la fitoextracción pueda darse, los compuestos contaminantes deben estar disueltos en la solución del suelo y entrar en contacto con las raíces de las plantas a través del intercambio de sustancias por las membranas radiculares (ITRC 2009). Este mecanismo se basa en la remediación por remoción de las plantas.

Los factores que afectan la toma potencial de los contaminantes orgánicos por parte de las plantas están relacionados con: hidrofobicidad, polaridad, propiedades de sorción, y solubilidad de los compuestos; mientras que para contaminantes inorgánicos son: estado de reducción, especiación química en el suelo, sedimento o agua profunda (ITRC 2009).

Una vez los contaminantes son tomados del suelo, la planta puede almacenar el compuesto o sus productos en la biomasa vegetal, o secuestrarlos en las vacuolas

celulares de los tejidos aéreos. Adicionalmente, estando en la parte aérea de la planta, los compuestos pueden ser metabolizados por fitodegradación o ser fitovolatilizados a través de la transpiración celular saliendo de la planta a la atmósfera (ITRC 2009).

Las plantas utilizadas en fitoextracción (por ejemplo, la mostaza india, Alpine carraspique, girasoles, helechos, o pastos) por lo general son eficaces sólo en la parte superior del suelo, en el área de la rizósfera, debido a sus sistemas de raíces poco profundas y el crecimiento generalmente lento (ITRC, 2006).

Algunos agroquímicos orgánicos clasificados como contaminantes persistentes resisten la biodegradación en el ambiente y pueden permanecer en él durante décadas. Los científicos han identificado plantas que son capaces de extraer productos químicos, tales como el clordano y 2,2-bis (p-clorofenil) 1,1-dicloroetano (p, p'-DDE), mediante su almacenamiento en las raíces, hojas y frutos (USEPA 2006).

Fitodegradación: Llamada también fitotransformación hace referencia a la toma de los contaminantes seguida de su ruptura, mineralización o metabolización por parte de las plantas a través de procesos enzimáticos internos y procesos metabólicos (ITRC, 2006). Este mecanismo se basa en la remediación por destrucción.

La fitodegradación depende de los factores como la concentración y composición de los contaminantes, las especies de plantas utilizadas para remediar, las condiciones del suelo, que los compuestos a fitorremediar pasen a través de la rizósfera sin ser fitoinmovilizados o rizodegradados, entre otros (ITRC, 2006).

Las plantas catalizan reacciones internas mediante la producción de enzimas con diferentes efectos y funciones. Adicionalmente, los ciclos de oxidación y reducción inherentes a la fotosíntesis tienen un potencial adicional de ruptura de contaminantes (ITRC, 2006).

Fitovolatilización: Hace referencia al potencial descontaminador de las plantas a través de la volatilización de contaminantes desde las hojas y tallos a través de la actividad estomática uso de plantas para eliminar los contaminantes del medio mediante su volatilización, y para eliminar contaminantes del aire (ITRC, 2009). Este mecanismo se basa en la remediación por remoción a través de las plantas.

Las plantas toman los contaminantes y a través de la transpiración los libera a la atmósfera, o los transformados inicialmente por fitodegradación, para luego liberarlos a través de la transpiración de los productos degradados (USEPA, 2006).

La transformación de los contaminantes al interior de las plantas pueden genera productos menos tóxicos que luego serán traspirados a la atmosfera; sin embargo, la degradación de algunos contaminantes como tricloroetilo puede terminar en la generación de subproductos más tóxicos como vinil cloruro. Una vez en la atmosfera, los compuestos liberados por las plantas pueden ser más fácilmente degradados por fotodegradación (USEPA, 2006).

5.4. Especies vegetales utilizadas en el estudio

5.4.1. RYEGRASS, *Lolium perenne*.

Familia: Pertenece a la familia de las Gramineae o Poaceae.

Características de la familia. Plantas casi siempre herbáceas, anuales o perennes. Presentan una estructura floral muy característica, agrupándose las flores en espiguillas. Tallo tipo caña; cilíndrico, sencillo, hueco en los entrenudos y macizo en los nudos, donde se insertan las hojas. Hojas alternas, dísticas, de lineares a lanceoladas; en su parte inferior se encuentra la vaina, que envuelve el tallo, y en la superior el limbo

o lámina, plano o enrollado. Flores hermafroditas, en ocasiones unisexuales o estériles con dos glumelas o brácteas membranosas. Inflorescencia formada por espiguillas; éstas constan de un raquis sobre el que se insertan 1 o más flores cubiertas por 2 brácteas o glumas situadas en la base de la espiguilla y que cubren las flores más o menos. Fruto tipo cariósipide. La familia de las Gramineae es una de las más importantes tanto por su interés agrícola como por ser un componente esencial de la flora de pastizales con 650 géneros y 9.500 especies (Universidad Pública de Navarra, 2012).

Caracterización morfológica. Especie perenne, con sistema radical fibroso poco profundo, formando matas tiernas cespitosas muy macolladoras y foliosas, bajas, que cubren muy bien el suelo con hojas de envés muy brillante. Inflorescencia espiga de 10 a 20 cm (PICASSO semillas de Césped y semillas Forrajeras, 2011).

Establecimiento. Se siembra al voleo utilizando de 25 a 30 kg/ha de semilla cuando se emplean ryegrass naturales, o de 30 a 35 kg/ha de semilla cuando se siembran ryegrass híbridos (Dugarte, Ovalles, & FONAIAP, 1991). Cuando el ryegrass alcanza unos 15 cm de altura, aproximadamente tres meses después de la siembra, está listo para su primer corte. Los períodos de recuperación se deben prolongar entre 2 y 4 semanas (Villalobos & Jorge, 2010).

Uso. Se utiliza para el consumo animal debido a que es un pasto denso con mucho follaje, de excelente sabor y buena aceptación. (Dugarte, Ovalles, & FONAIAP, 1991)

Producción. Con un buen programa de fertilización se logran producciones de 18 a 20 toneladas de materia verde por hectárea año, equivalente a 9 o 10 toneladas de forraje seco al año. (Villalobos & Jorge, 2010).

5.4.2. AVENA FORRAJERA, *Avena sativa*.

Familia: Pertenece a la familia de las Gramineae o Poaceae.

Caracterización morfológica: Planta anual de 40-150 cm. Hojas de 3-20 mm de anchura, glabras, ásperas en los bordes, con lígula de hasta 5 mm. Inflorescencia en panícula. Espiguillas de 17-30 mm, con 2-3 flores, casi completamente cubiertas por las glumas. Lema emarginado o con dos pequeños dientes, rara vez aristado. Glumas con 7-9 nervios. Las flores no se desarticulan en la madurez (Universidad Pública de Navarra, 2012).

Establecimiento: La cantidad de semilla empleada suele ser muy variable, considerando una dosis corriente de 100 a 150 kg/ha. En la siembra a voleo conviene dar dos pases cruzados, para que la semilla quede mejor distribuida, ya que al tratarse de una semilla muy ligera, es difícil repartirla con regularidad. (Financiera Rural, 2010).

Esta lista entre los 71 a 93 días después de la siembra cuando comienza a aparecer la panoja. Se puede obtener un segundo corte si se realiza una adecuada fertilización y si la presencia de lluvias favorece el rebrote.

Uso: Se utiliza para consumo animal tanto el grano como el follaje. El grano de avena se cosecha para suministrar a los animales en confinamiento y el follaje puede suministrarse en heno, ensilaje o fresco (Bernal, 1994).

Producción: Puede llegar a producir 11 toneladas por hectárea/año de forraje verde. Las producciones de grano oscilan entre las 1-3 toneladas por hectárea/año (Universidad Pública de Navarra, 2012).

5.4.3. TRÉBOL ROJO, *Trifolium pratense*.

Familia: Pertenece a la familia Fabaceae o Leguminosae.

Características de la familia: Las fabáceas (Fabaceae) o leguminosas (Leguminosae) son una familia del orden de las fabales. Reúne árboles, arbustos y hierbas perennes o anuales, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre y sus hojas compuestas y estipuladas. Es una familia de distribución cosmopolita con aproximadamente 730 géneros y unas 19.400 especies. (Universidad Pública de Navarra, 2012)

Caracterización morfológica: planta perenne de 10-60 cm de pilosidad variable. Los tallos son erectos y decumbentes, característica que lo hace resistente al pastoreo. Hojas trifoliadas con folíolos ovales, con estípulas estrechadas en arista. Flores con corolas rosadas o purpúreas, membranosas en la fructificación. Cáliz peloso, con 10 nervios, dientes lineares y una callosidad en la garganta. Flores agrupadas en cabezuelas globosas, sésiles, cubiertas en su base por las estípulas de las hojas superiores. (Universidad Pública de Navarra, 2012)

Establecimiento: El trébol rojo es de rápido establecimiento, sembrado generalmente mezclado con gramíneas con una densidad entre 5 y 7 kg/ha. Los intervalos de corte son de 45 días con buena capacidad de rebrote. (Constante Pérez, 2012)

Uso: Es utilizado para el pastoreo combinado con gramíneas. Adicionalmente puede ser utilizado en henificación y ensilaje (Bernal, 1994).

Producción: Este forraje puede llegar a producir 60 a 65 toneladas por hectárea de forraje verde. (Bernal, 1994).

5.5. Equipos para medición y monitoreo

5.5.1. Espectrofotometría infrarroja

Esta técnica se caracteriza por utilizar una fuente cerámica de alto brillo para determinar cualitativamente la presencia de compuestos orgánicos y para deducir estructuras moleculares a partir de sus grupos funcionales tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos (Chacón, 2008).

En el desarrollo del análisis se utiliza una óptica de alta eficiencia, y un detector DLATGS² de alta sensibilidad. Por su optimización de los sistemas ópticos, electrónicos y de señal, la espectrofotometría infrarroja, minimiza el ruido y permite alcanzar una relación señal / ruido mejor que 40000:13, asegurando análisis de alta sensibilidad (Chacón, 2008).

En el análisis cualitativo la espectroscopia infrarroja puede usarse para identificar de sustancias puras o para la absorción, localización e identificación de impurezas; para localizar una impureza en una sustancia se hace una comparación en el espectro de la sustancia que se estudia y una muestra de la sustancia pura. Las impurezas causan bandas de absorción *adicionales que aparecen en el espectro* (Chacón, 2008).

En el IR también están encontrando uso cada vez mayor en el análisis cuantitativo, el principal campo de aplicación de este tipo de análisis se halla en la cuantificación de contaminantes atmosféricos que provienen de procesos industriales (Chacón, 2008).

² deuterated L-alanine doped triglycene sulphate

³ valor pico a pico, con resolución 4 cm⁻¹, acumulación 1 minuto, en la región de 2100 cm⁻¹

5.5.2. Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica de separación de analitos poco volátiles, siendo en la actualidad ampliamente utilizada en el análisis de fármacos, proteínas, etc. (SCAI, 2012).

A través de esta técnica se pueden analizar compuestos de peso molecular de hasta 100kDa⁴, con un rango de polaridades que va desde analitos no polares hasta los muy polares (SCAI, 2012).

La cromatografía líquida permite obtener espectros de masas más sencillos que otras técnicas como resultado de un menor nivel de fragmentación de las moléculas; sin embargo; los espectros dependen parcialmente de los parámetros de ionización, es decir, que no pueden ser considerados como “huella dactilar” del compuesto y, por tanto, la comparación con colecciones de espectros estándares no es posible. Por esta razón, la comparación del espectro de masas de analitos con patrones debe realizarse en las mismas condiciones de trabajo (SCAI, 2012).

⁴ Unidad de masa molecular equivalente a 1.000 daltons.

6. MATERIALES Y METODOLOGÍA

6.1. Bioensayo

6.1.1. Muestreo de suelos

En el municipio de Villa Pinzón en el departamento de Cundinamarca, con colaboración del equipo de FEDEPAPA de la región, se ubicaron tres (3) fincas de productores de papa para realizar el muestreo de suelos.

Las fincas fueron seleccionadas teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Fincas dedicadas a la producción del cultivo.
- Fincas que estuvieran localizadas entre 2900 y 3100 msnm
- Fincas que tuvieran segunda siembra consecutiva del cultivo.
- Fincas con cultivos con no más de 1,5 meses de haber sido establecidos.

Foto 1. Panorámica del área rural del municipio de Villapinzón, Cundinamarca.



Fuente: La autora, 2012.

En la Foto 1 se presenta una panorámica del área del municipio de Villapinzón, Cundinamarca, donde se localizan las fincas seleccionadas para la toma de muestras de suelos.

En cada una de las tres fincas se realizó un muestreo del lote realizando el transecto en zigzag, seleccionando 10 puntos de muestra, tomando una porción de suelo desde los 0 hasta los 30 cm profundidad, obteniendo una muestra compuesta.

Foto 2. Toma de muestras de suelos en cultivos de papa en Villapinzón, Cundinamarca.



Fuente: La autora, 2012.

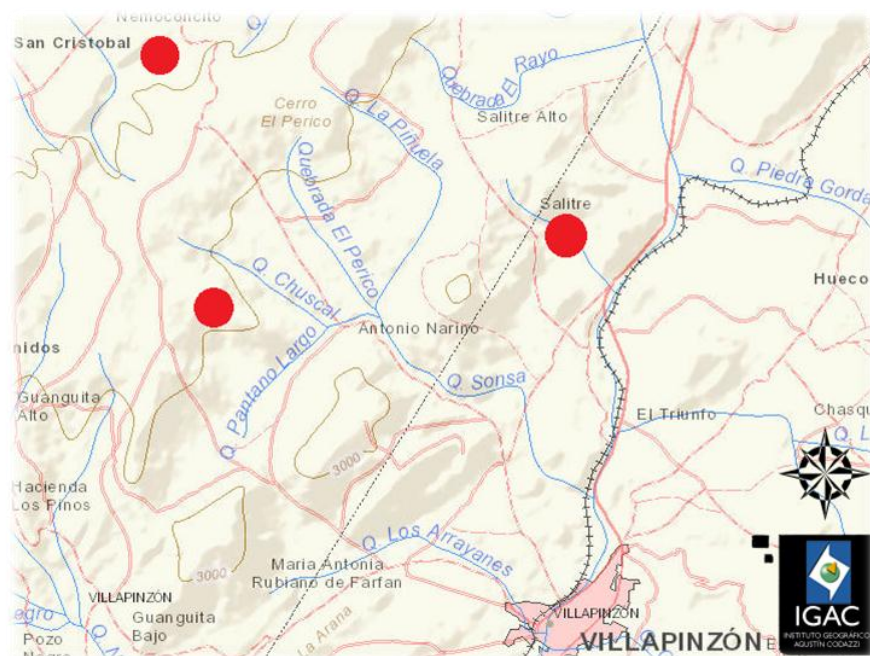
En la Foto 2 se resalta el método de muestreo de suelos en las tres fincas seleccionadas, en las que el suelo obtenido en cada punto fue mezclado en el mismo recipiente para obtener la muestra compuesta.

Tabla 1. Relación de las fincas seleccionadas para el muestreo de suelos, municipio de Villapinzón.

Propietario	Vereda	Georeferenciación	Altitud (msnm)
Primitivo Cárdenas	Antonio Nariño	N: 05°14,436" W: 073°37,353"	2.903
Juan Bautista Torres	Nemoconcito	N: 05°15,472" W: 073°37,605"	3.016
Marco Guevara	Salitre	N: 05°16,623" W: 073°36,385"	2.990

Fuente: La autora, 2012.

Figura 1. Ubicación espacial de los predios muestreados.



Fuente: Mapa del IGAC.

Con las muestras de suelos de las tres fincas, en el invernadero se mezcló el suelo de los tres lotes y por muestreo compuesto se obtuvo una muestra única.

Por medio de revisión de literatura de las casas comerciales locales, entrevistas personales con los propietarios de las Fincas y diálogo con expertos, los técnicos de FEDEPAPA⁵ de la región, se realizó una rápida identificación desde los agroquímicos más usados en las fincas seleccionadas para el muestreo de suelos, y en general para el municipio de Villapinzón.

Es importante aclarar que no se cuenta con una caracterización formal del sistema de producción de este cultivo para el municipio.

6.1.2. Selección de las especies vegetales.

Inicialmente, la escogencia de las especies a evaluar se basó en criterios de:

- Período de desarrollo de las especies. Debían ser plantas anuales, de clima frío y período vegetativo, en promedio, de cuatro meses.
- Adaptación a condiciones agroecológicas. Las especies debían tener potencial de cultivo en las condiciones agroecológicas de Villapinzón.
- Familia botánica. Las especies debían ser de familias botánicas diferentes.
- Innovación. Las especies seleccionadas no debían estar reportadas en trabajos similares.

Una vez realizada la visita a Villapinzón para caracterizar el sistema de producción y toma de muestras de suelos, se incluyó como criterio de selección:

- Rotación local especies. Las especies seleccionadas deberían ser usadas por los productores en los periodos de rotación de los lotes de papa.

⁵ Federación Colombiana de Productores de Papa

Aplicando estos criterios se seleccionaron las especies a evaluar:

- RYEGRASS, *Lolium perenne*.
- AVENA FORRAJERA, *Avena sativa*.
- TRÉBOL ROJO, *Trifolium pratense*.
- Papa, *Solanum tuberosum*.

Foto 3. Semillas de las tres especies forrajeras utilizadas en el trabajo.



Fuente: La autora, 2012.

En la Foto 3 se presentan las semillas comerciales de las tres especies evaluadas utilizadas para el montaje del trabajo de investigación. Se utilizaron semillas certificadas de la casa comercial Impulse semillas.

6.1.3. Selección de agroquímicos.

La selección de los compuestos a estudiar se basó en los resultados de la caracterización de la utilización de agroquímicos en las fincas seleccionadas para el muestreo de suelos.

Foto 4. Agroquímicos utilizados para contaminar el suelo de la prueba.



Fuente: La autora, 2012.

En la Foto 4 se presentan los agroquímicos comerciales utilizados con los ingredientes activos seleccionados: cimoxanil y carbofuran.

6.1.4. Diseño experimental.

El Bioensayo se desarrolló teniendo en cuenta un diseño experimental simple aleatorizado con: Un (1) factor; Cuatro (4) niveles; Control y blanco; y Siete (7) réplicas. La unidad de observación fue el suelo, y la unidad experimental la materia.⁶

6.1.5. Descripción de los tratamientos.

Desarrollando el diseño experimental, el factor a evaluar fue el contaminante en el suelo, una mezcla de los ingredientes activos: carbofuran y cimoxanil, con los niveles, control, blanco y replicas como se relaciona a continuación:

Tabla 2. Relación de los niveles, control y blanco del diseño experimental.

Factor	Niveles	Control	Blanco
Contaminación del suelo con agroquímicos	<i>L. perenne</i> + SC (T1)	<i>L. perenne</i> + SNC (C1)	SC sin especies vegetales (B)
	<i>A.sativa</i> + SC (T2)	<i>A.sativa</i> + SNC (C2)	
	<i>T. pratense</i> + SC (T3)	<i>T. pratense</i> + SNC (C3)	
	<i>S. tuberosum</i> + SC (T4)	<i>S. tuberosum</i> + SNC (C4)	

SC= Suelo Contaminado; SNC= Suelo No Contaminado

Fuente: La autora, 2012.

⁶ Diseño experimental y análisis estadístico asesorado por la MSC Estadística UNAL Tatiana Jimenez Valderrama.

6.1.6. Establecimiento de las unidades experimentales.

Los cuatro niveles, cuatro controles y un blanco tuvieron siete réplicas. Cada una de las réplicas representó una unidad experimental.

Para el establecimiento de las unidades experimentales se utilizaron materas plásticas con dimensiones de 15 centímetros de alto, 16, 5 de diámetro superior y diámetro inferior de 10,5 cm, para un volumen de 2.182,425 cm³.

Se utilizaron en total 63 materas que fueron llenadas con suelo de la muestra compuesta hasta el 90% de su capacidad.

Las unidades experimentales de los niveles fueron contaminadas con una mezcla de los agroquímicos seleccionados en agua, como se relaciona en la Tabla 4. A las unidades experimentales de los controles se les aplicó la misma cantidad de agua utilizada para la aplicación de los agroquímicos en las unidades experimentales con suelo contaminado.

Tabla 3. Descripción de ingredientes activos y dosis utilizadas para la contaminación de las unidades experimentales.

Ingrediente Activo	Dosis del producto ⁷	Cantidad por unidad experimental
Carbofuran	3,3 L/Ha	0,2469 ml
Cimoxanil	2,0 Kg/Ha	0,14966 g

Fuente: La autora, 2012.

⁷ Se relaciona la dosis del producto para el cultivo de papa recomendada por la casa comercial.

Una vez llenas de suelo las unidades experimentales, mediante riego, se llevó a capacidad de campo, sembrando un número de semillas determinado por unidad experimental, de cada especie vegetal, según su densidad de siembra en condiciones de cultivo, como se indica en la Tabla 5.

Tabla 4. Densidad de siembra por especie utilizada en el bioensayo.

Especie	Densidad de siembra (Kg/Ha)	Cantidad de semillas / unidad experimental
<i>L. perenne</i>	20	3*
<i>A. sativa</i>	70 – 100	5*
<i>T. pratense</i>	3 – 4	4*
<i>S. tuberosum</i>	22.000 semillas / Ha	1

*Para estas especies se duplicó el número de semillas por unidad experimental para asegurar la germinación.

Fuente: La autora, 2012.

El tipo de contaminación inducida del suelo es calificada como contaminación de origen antropocéntrico; el contaminante de origen inorgánico y el tipo de toxicidad primaria.

Foto 5. Establecimiento y contaminación de las unidades experimentales.



Fuente: La autora, 2012.

En la Foto 5 se presenta el establecimiento de las unidades experimentales, teniendo en cuenta las densidades de siembra, el área de establecimiento de las pruebas, con condiciones de temperatura y humedad controladas, y el momento de su contaminación con los ingredientes activos seleccionados, teniendo en cuenta las cantidades y concentraciones de los productos utilizados.

6.1.7. Monitoreo del desarrollo de las especies vegetales.

- Germinación

Se determinó la capacidad germinativa de las semillas de las cuatro especies, comparando su germinación en suelo contaminado y suelo sin contaminar.

Para esto se realizaron conteos manuales del número máximo de semillas que germinaron de manera normal a los 5 y 15 días después de la siembra, expresando el resultado en porcentaje de germinación.

El porcentaje (%) de germinación, para los dos eventos de toma de datos, se calculó teniendo en cuenta la fórmula:

$$\%G = \frac{SG}{S} \times 100 \quad (1)$$

Dónde:

S=número total de semillas sembradas

SG=número de semillas que germinaron.

- Desarrollo vegetativo (quincenal)

El desarrollo vegetativo de las especies se monitoreó realizando mediciones del tamaño de las plantas de cada una de las unidades experimentales, desde la superficie del suelo en la matera hasta el meristemo apical de cada una de las plantas que germinaron. Las mediciones fueron realizadas usando cinta métrica.

Se monitoreó el crecimiento de las plantas a los 15, 27, 39 51, 65, 79 y 92 días después de la siembra.

Con los resultados obtenidos se determinó la curva de desarrollo.

- Producción de biomasa fresca

Pasados los 92 días de evaluación se realizó un muestreo destructivo de todas las unidades experimentales separando y pesando la parte aérea de las plantas y sus raíces.

Todos los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el software libre? SAS, realizando Análisis de Varianza ANOVA.

6.2. Espectrofotometría infrarroja.

En el Laboratorio Instrumental de Alta Complejidad, LIAC⁸, se realizaron los análisis de Espectrofotometría infrarroja.

Foto 6. Espectrofotómetro infrarrojo IRPrestige-21.



Fuente: La autora, 2012.

⁸ Universidad La Salle, Sede Chapinero, Bogotá, Colombia.

En la Foto 6 se presenta el equipo utilizado para adelantar los análisis de espectrofotometría, el espectrofotómetro infrarrojo IRPrestige-21.

Se realizaron dos set de análisis:

- El primer análisis se realizó una vez tomadas las muestras de suelos, determinando el espectro infrarrojo del suelo obtenido de la muestra compuesta de las tres fincas de producción de papa en Villapinzón, Cundinamarca, para determinar presencia de los agroquímicos de interés.
- El segundo análisis se realizó en la semana cero “0”, realizando la lectura del espectro infrarrojo del suelo contaminado con los agroquímicos de interés y el suelo sin contaminar. Adicionalmente, se analizaron los agroquímicos seleccionados en diferentes diluciones.

Procedimiento:

- Para muestras de suelos, se tamiza una porción de 10 gramos de la muestra y se seca.
- Con una micro espátula, se toma una porción de la muestra de suelo seca y se coloca en el porta muestra del ATR del equipo
- Se toma el espectro de la muestra
- Se Seleccionan y Rotulan los picos de interés y se genera la tabla de datos
- Se realiza la asignación de las bandas obtenidas.

6.3. Ensayos de Química cualitativa.

En los laboratorios de Química de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano se llevaron a cabo ensayos cualitativos para detectar la presencia de diferentes grupos

químicos contenidos en los agroquímicos, como alternativa rápida y de bajo costo para su monitoreo.

6.3.1. Ensayo con Bromo en Tetracloruro de carbono CCl

Para esta prueba, en un tubo de ensayo, se disuelven de 50 a 100 mg de suelo en 1 a 2 ml de Tetracloruro de carbono; posteriormente se adicionan 4 gotas de solución de bromo tetracloruro al 2%; una vez realizada la adición se posiciona una pieza de papel tornasol azul en la boca del tubo de ensayo (Shiriner, et al, 1969).

Observar: si hay decoloración del papel tornasol, hay liberación de ácido bromhídrico HBr, lo que indica la presencia de compuestos tales como: fenol, amina, enol, aldehído, cetona, o cualquier otro compuesto que tenga grupos carboxilo, hidroxilo ó amino activos (Shiriner, et al, 1969).

6.3.2. Ensayo con permanganato de potasio KMnO₄

En un tubo de ensayo se disuelven de 50 a 100 mg de suelo en 1 ml de agua; posteriormente se adicionan 4 gotas de KMnO₄ al 2%.

Se Observa si hay un cambio en la coloración de la mezcla 30 segundos después de la adición del permanganato, entonces hay posible presencia de compuestos con doble o triple enlace (Shiriner, et al, 1969).

6.3.3. Determinación de azufre con nitroprusiato de sodio.

Antes de realizar la prueba, se debe preparar la muestra de suelos mediante fusión sódica. Para esto, se cortó un pedazo pequeño de sodio metálico de unos 3 mm de diámetro, secándolo con papel filtro y colocándolo en un tubo de vidrio pequeño junto con una pequeña cantidad del suelo a procesar, alrededor de 1 mg. Se calienta la parte inferior del tubo hasta que el sodio se funda y el vapor suba por el tubo (Shiriner, et al, 1969).

Una vez fundido el sodio, se agregan 20 mg adicionales del suelo y se continúa calentando hasta que el tubo permanezca rojo por unos minutos y la sustancia se haya descompuesto totalmente. Introdúzca el tubo enrojecido en un vaso de precipitados que contenga 15 ml de agua destilada; al ingresar el tubo en el agua, ese se romperá. Se deja reposar el tubo y agregue de 4 a 8 gotas de etanol o metanol para destruir el exceso de sodio (Shiriner, et al, 1969).

Cuando el tubo se haya roto, caliente el agua a ebullición para que los iones entren en solución y filtre en caliente. Este filtrado será usado en las siguientes determinaciones.

Con la fusión sódica realizada, se describe el método de **determinación de azufre con nitroprusiato de sodio**: En un tubo de ensayo se mezcla un ml del filtrado de la fusión sódica con dos gotas de solución de nitroprusiato de sodio al 0,1% (Shiriner, et al, 1969).

Observación: si se obtiene un color rojo violeta hay azufre presente.

6.3.4. Determinación de halógenos en general. Diferenciación entre cloro, bromo y yodo.

En un tubo de ensayo se toma un ml del filtrado del suelo y se adicionan: 5 gotas de KMnO_4 0,1 M; 5 gotas de HNO_3 6N; y 10 gotas de disulfato de carbono. Se deja reposar para luego añadir de 15 a 20 mg de ácido oxálico (Shiriner, et al, 1969).

Observación: si la capa inferior, correspondiente al disulfuro, tiene una coloración carmelita rojiza, indica la presencia de bromo o bromo y yodo; si la coloración es violeta o púrpura brillante indica la presencia de yodo solamente; si la capa permanece incolora, no había bromo ni yodo (Shiriner, et al, 1969).

Si la coloración es carmelita rojiza, añada al tubo dos gotas de alcohol alílico y agite la mezcla; observe nuevamente. Si el color desaparece únicamente hay bromo; si el color cambia violeta o púrpura brillante hay bromo y yodo (Shiriner, et al, 1969).

6.3.5. Determinación de aminas.

a. Ensayo de cloranil en dioxano.

En una tapa de porcelana para crisol coloque 3 gotas de solución saturada de cloranil en dioxano; añada 30 mg de suelo. La formación rápida de color es prueba positiva.

Observación: la formación de coloraciones amarillas, amarillo-naranjas, o rojos-naranjas, indican la presencia de fenoles; si no hay formación de color, hay posible presencia de aminoácidos; coloraciones grises sugieren presencia de sales de aminas como clorhidratos; colores verde-amarillo o rojo-naranja sugieren algunas anilidas. En general las amidas no reaccionan. Coloraciones ámbar o naranjas sugieren compuestos de azufre divalente (Shiriner, et al, 1969).

b. Ensayo del ion cúprico para aminas de bajo peso molecular.

En un tubo de ensayo se adicionó 1 ml de sulfato de cobre al 10%; se añadió 1 ml de agua que contenga 30 a 50 mg de suelo.

Observación: si el color azul se intensifica, es una prueba positiva para aminas de bajo peso molecular (Shiriner, et al, 1969).

c. Ensayo de Ferricianuro.

En una tapa de porcelana se colocaron de 30 a 50 mg de suelo; se agregó 1 gota de ferricianuro de potasio al 2,5%. Se agitó y acidificó con HCl diluido; se añadió una gota de FeCl_3 al 2,5% (Shiriner, et al, 1996).

Observación: si se desarrolla una coloración azul antes de un minuto, la prueba es positiva para aminas primarias y/o secundarias, y/o fenoles (Shiriner, et al, 1969).

6.3.6. Determinación de Amidas. Ensayo del hidroxamato.

En un tubo de ensayo se colocan 30 mg de suelo; se adicionan 2 ml de clorhidrato de hidroxilamina 1N en propileno glicol y 1 ml de hidróxido de potasio 1N en propileno glicol; se calienta la muestra a ebullición durante 2 – 3 minutos; se enfria y se añade de 0,5 a 1 ml de FeCl_3 al 5% (Shiriner, et al, 1969).

Observación: si se desarrolla una coloración rojo violeta, entonces el ensayo es positivo para amidas (Shiriner, et al, 1969).

6.4. Cromatografía líquida acopada a espectrometría de masas.

En el Laboratorio de Inocuidad Química, del Centro de Bio-Sistemas de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano se realizan los análisis de determinación cuantitativa de presencia de los agroquímicos de estudio, tanto en muestras de suelos como en tejidos vegetales.

Para las muestras de suelos y de tejidos vegetales se emplea como método de análisis el análisis de residuos de plaguicidas en suelos por UFLC-MS usando un cromatógrafo líquido ultrarrápido Shimadzu Prominence (Maryland, CAL, EUA), acoplado a un detector selectivo de masas LCMS-2020 (Ahumada, et al, 2011).

Foto 7. Cromatógrafo líquido ultrarrápido Shimadzy Prominence.



Fuente: Shimadzu, 2012.

El monitoreo de la concentración de agroquímicos en el suelo se realiza en:

- Semana 0: suelo contaminado y suelo sin contaminar.
- Semana 10: T1, T2, T3, T4, C1, C2, C3, C4 y B.
- Semana 16: T1, T2, T3, T4, C1, C2, C3, C4 y B.

El monitoreo de la concentración de agroquímicos en los tejidos vegetales se realizó en la semana 16, analizando:

- Tejidos foliares: T1, T2, T3, T4, C1, C2, C3 y C4.
- Tejidos radiculares: T1, T2, T3, T4, C1, C2, C3 y C4.
- Tejidos de flores: T2 y C2.

El método empleado para la preparación de las muestras fue el desarrollado por Ahumada, et al, 2011, en el laboratorio de Inocuidad Química de Centro de Biosistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano.

Se trabajó con estándares de plaguicidas de pureza mayor al 95%, proveniente de las casas comerciales Dr Ehrenstorfer y Chemservice. Las soluciones madre fueron preparadas en concentraciones cercanas a 500 µg/mL en acetonitrilo o metanol y almacenadas en frascos ámbar a -20 °C.

La preparación de las muestras de tejidos vegetales para la extracción de los plaguicidas fue realizada empleando el método QuEChERS modificado (Ahumada, et al, 2011) teniendo en cuenta:

- en un tubo de centrifuga se pesaron 10 g de muestra homogeneizada,
- se adicionó TPP, se dejó en reposo por 10 min y, transcurrido ese tiempo, se adicionaron 10 mL de acetonitrilo acidificado con ácido acético al 1% (V/V), 4 g de MgSO₄ anhidro y 1 g de AcONa, agitado manualmente por 1 min.
- se llevó al baño de ultrasonido por 10 min.

- se centrifugó a 4500 rpm por 5 min y, con ayuda de una pipeta, se tomaron 10 mL del sobrenadante (Solución A),
- la muestra se transfirió a un tubo de centrifuga de 15 mL.
- Para el proceso de limpieza, por cada mililitro de extracto (solución A) se adicionaron 25 mg de PSA (amina primaria/secundaria) y 150 mg de MgSO₄ anhidro.
- se agitó manualmente por 30 s y se centrifugó por 2 min a 4500 rpm.
- el sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0,22 µ m de PTFE (Solución B),
- el filtrado se transfirió a un vial de cromatografía donde se adicionó el estándar interno (E.I.).

6.5. Mecanismo de remediación

De acuerdo a los resultados obtenidos I en los análisis anteriores, se plantean hipótesis de mecanismos de fitorremediación para las especies evaluadas.

7.1. Caracterización de los elementos ambientales del área de estudio.

Figura 2. Mapa de la clasificación taxonómica del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.



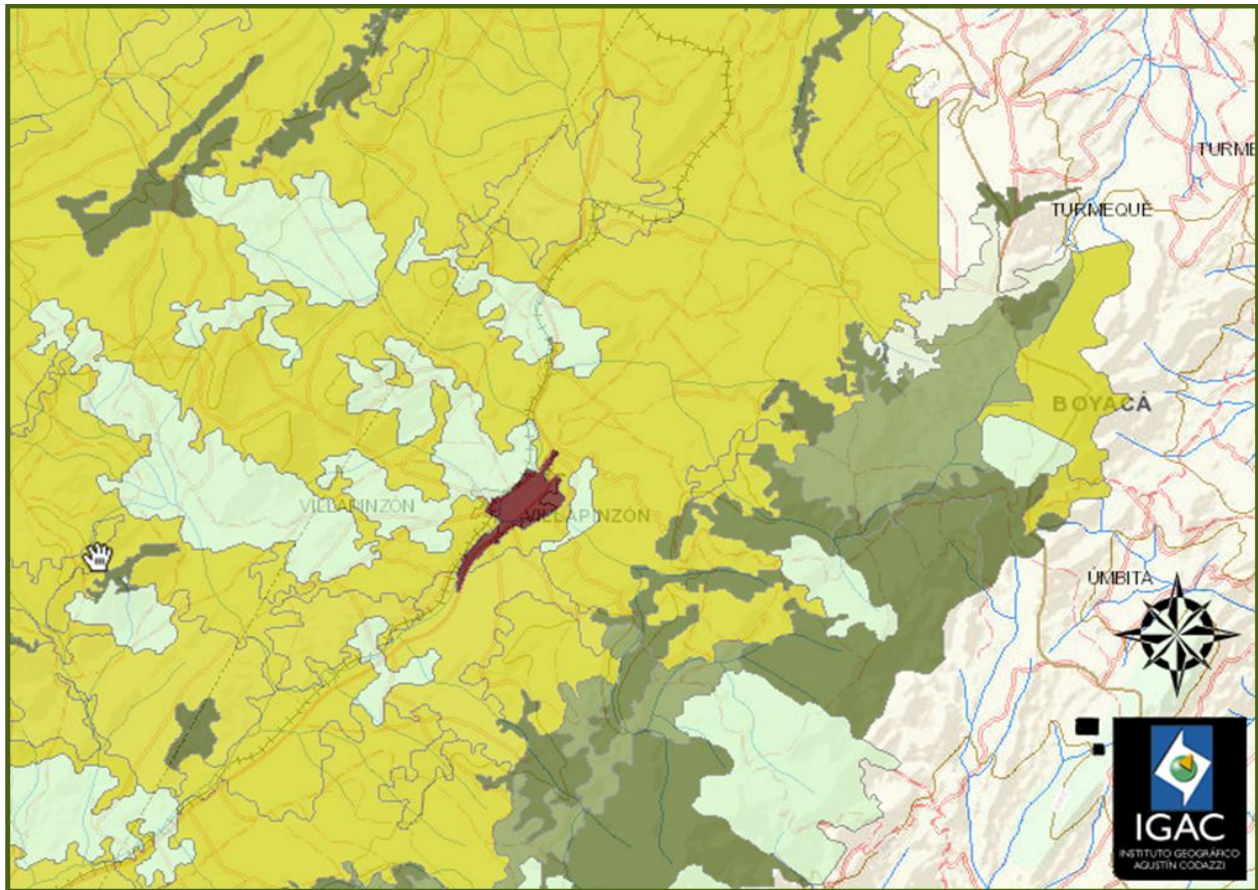
62

Tabla 5. Características de la unidad taxonómica de suelos del área de estudio.

Indicador	Característica
Orden	Inceptisol
Taxonomía	Humic Lithic Dystrudepts
Símbolo	MLFf
Material Parental	Roca clástica arenosa
Clima ambiental	Frío
Precipitación promedio anual	1000-2000 mm
Temperatura promedio anual	16°C
Clima edáfico	Isomésico, údico.
Fisiografía	Gran paisaje: relieve montañoso estructural penudativo. Paisaje: crestas en avenidas y lutitas con cenizas volcánicas. Sub paisaje: laderas estructurales escarpadas
Drenajes	Interno: rápido; externo: muy rápido; natural: bien drenado.
Profundidad efectiva	Superficial
Limitantes de uso	Profundidad efectiva superficial y pendientes fuertes

Fuente: IGAC, 2012.

Figura 3. Mapa de uso actual del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.

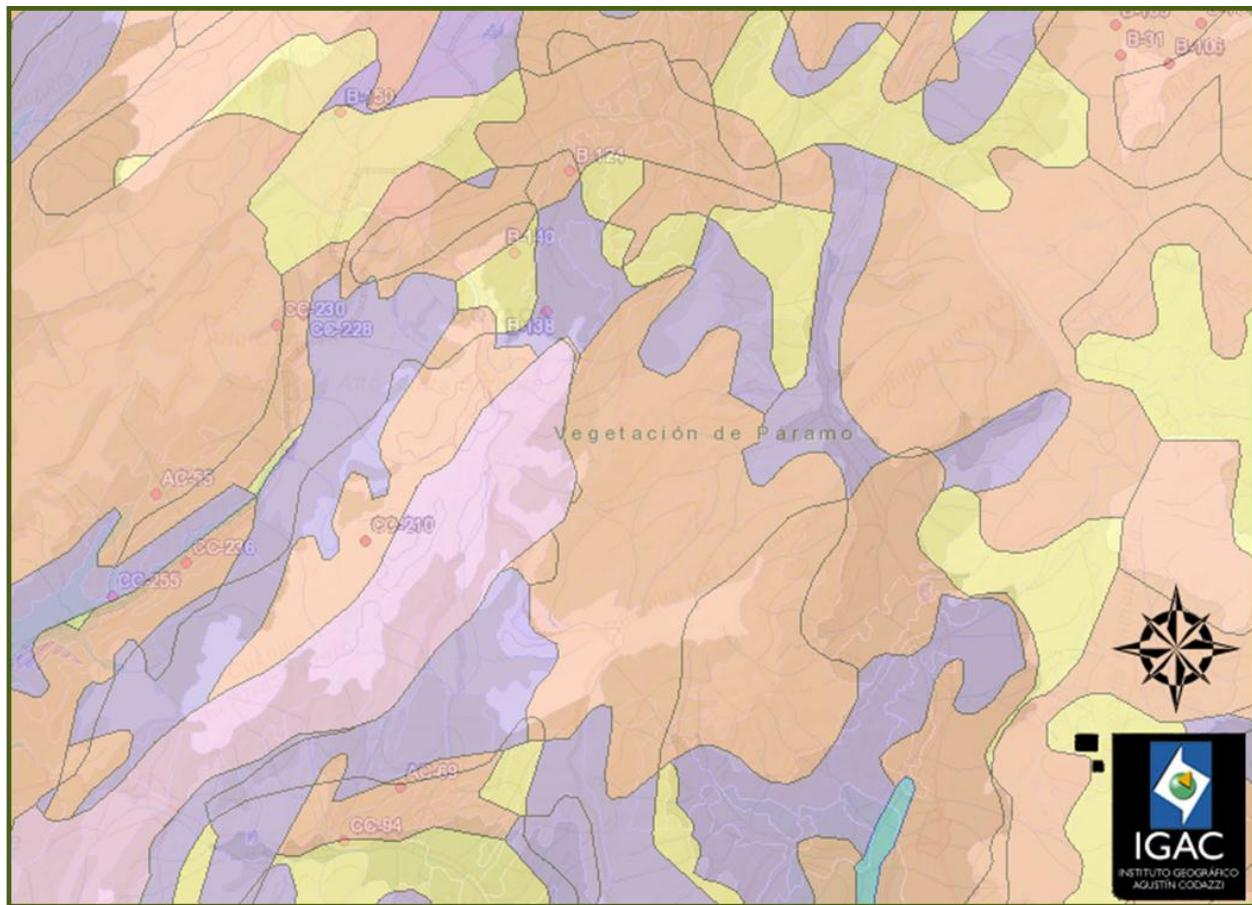


Fuente: IGAC, 2012.

En la Figura 3 se evidencia el uso actual del suelo en la zona de influencia del estudio, donde, según el IGAC, se caracteriza por ser un mosaico de pastos y cultivos. Las tierras presentan intervención antrópica parcial.

Las características propias del suelo y el uso actual en actividades agropecuarias generan condiciones propicias para incrementar su vulnerabilidad y deterioro.

Figura 4. Mapa de conflicto de uso del suelo en el municipio de Villapinzón, Cundinamarca.



Fuente: IGAC, 2012.

La figura 4 resalta el actual conflicto de uso del suelo en el área de influencia del estudio.

El suelo presenta un conflicto severo de uso del suelo por sobreutilización, ya que su ocupación productiva actual es muy superior a la clase de vocación de uso principal debido a su menor capacidad productiva y fragilidad natural.

La cuenca del municipio también presenta una alta afectación por las actividades antrópica, entre las que la producción agropecuaria ha sido identificada como un factor de contaminación.

Tabla 6. Identificación de la cuenca del municipio de Villapinzón y el estado actual.

CUENCA	MICROCUENCA	ESTADO
Río Bogotá	Q. El Mojón; Q. El Rayo; Q. De Sonsa; Q. De Quincha; Q. Chinguala; Q. Reatova; Q. Piedra Gorda; Q. El Valle; Q. Puente Piedra; Q. La Zorrera; Q. de San Pedro; Q. Casablanca; Q. Guanguita.	8 de las 14 microcuentas tiene un estado actual de alta intervención con contaminación con agroquímicos.
Río Tibita	Q. Agua Fría; Q. Nemoconcito; Q. El Bosque	4 de las 4 microcuentas tiene un estado actual de alta intervención con contaminación con agroquímicos.
Río Albarracín	Q. La Joya; Q. El Alisal; Q. Cruz Colorada	1 de las 3 microcuentas tiene un estado actual de alta intervención con contaminación con agroquímicos.
Río Guatanfur	Q. Tocola; Q. La Caña	1 de las 2 microcuentas tiene un estado actual de alta intervención con contaminación con agroquímicos.

Fuente: Municipio de Villagarzón.

En la Tabla 6 se presenta el estado actual de afectación de la cuenca y microcuenca del municipio, donde catorce de los veintitrés afluentes de los cuatro principales ríos que afectan el municipio presenta una alta intervención y contaminación por descargas de agroquímicos.

El uso actual del territorio, y las prácticas aplicadas para su manejo, generan en la actualidad un deterioro de los compartimentos ambientales del municipio de Villagarzón, Cundinamarca.

7.2. Bioensayos.

7.2.1. Germinación

Foto 8. Detalle de la germinación de las semillas en las unidades experimentales.



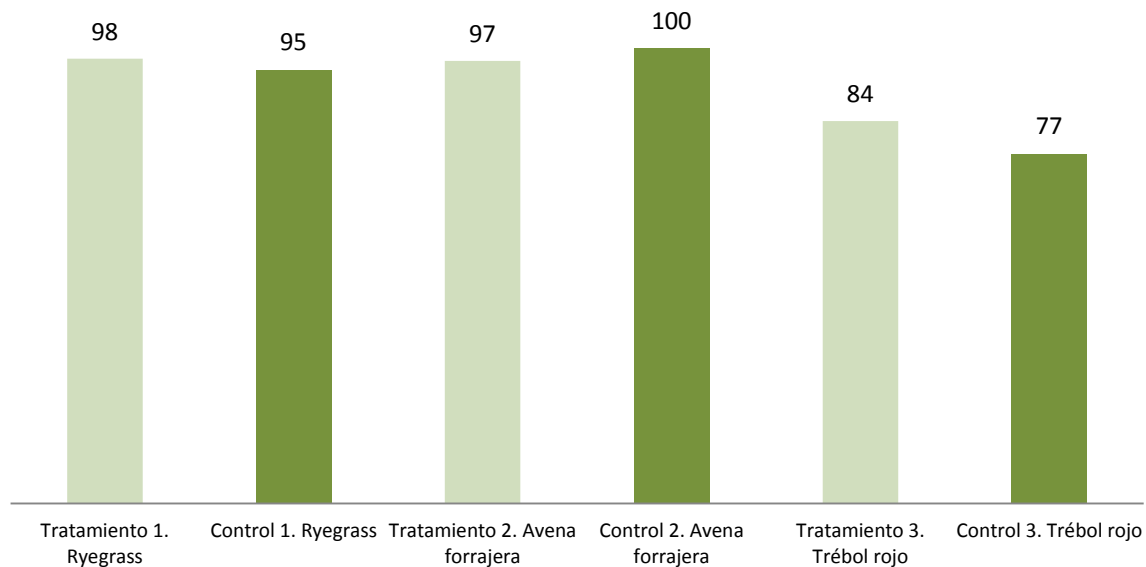
Fuente: La autora, 2012.

La Figura 5 presenta el resultado la capacidad germinativa de las semillas de las tres especies forrajeras evaluadas, comparando su germinación en suelo contaminado y suelo sin contaminar.

L. perenne en suelo contaminado y en suelo sin contaminar presentó un porcentaje de germinación superior al reportado por la casa de semillas, calculado en 84%; *A. sativa* presentó porcentajes de germinación superiores al 85% reportado por la casa comercial; mientras que *T. pratense* presentó para ambos casos, suelo contaminado y

suelo sin contaminar, porcentajes de germinación inferiores al 93% reportado para la especie por la casa comercial.

Figura 5. Porcentaje de germinación alcanzado por las especies evaluadas en suelo contaminado y sin contaminar, 15 días después de la siembra.



Fuente: La autora, 2012.

Los resultados relacionados en la Tabla 7, determinan que la adición de los agroquímicos con ingredientes activos: Cimoxanil y carbofuran, no tienen efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de germinación de las tres especies evaluadas, hasta 15 después de la siembra.

Tabla 7. Efecto de la contaminación del suelo con Cimoxanil y carbofuran sobre el porcentaje de germinación de semillas de tres especies forrajeras.

Especie		Germinación				ANOVA	
		Nº de semillas		% de germinación		Valor-P*	
DDS[1]		5	15	5	15	5	15
<i>L. perenne</i>	T1	4	6	64	98	0,8597	0,6627
	C1	4	6	62	95		
<i>A. Sativa</i>	T2	8	10	81	97	0,4224	0,48
	C2	7	10	70	100		
<i>T. pratense.</i>	T3	6	7	79	84	0,3556	0,3769
	C3	6	6	71	77		

*Cuando el valor de P es menor o igual a 0,05 hay diferencia estadísticamente significativa.

Fuente: La autora, 2012.

Entre los factores que limitan la germinación se pueden listar los inherentes a la semilla, longevidad, vigor y calidad, y los relacionados al sustrato de germinación, agua, temperatura, y radiación, entre otros.

Para las especies forrajeras, *L. perenne*, *A. sativa* y *T. pratense*, se utilizó semilla certificada con vida útil hasta el 2013, disminuyendo el riesgo de incidir en la germinación por uso de semilla de mala calidad.

Los factores externos que pudieran haber afectado el reinicio del crecimiento del embrión fueron manejadas a través del establecimiento de las pruebas ex situ, bajo en invernadero, donde todas las unidades experimentales estuvieron expuestas a las mismas condiciones controladas de humedad, riego, temperatura, suelo y aireación, reduciendo el efecto de estas variaciones sobre la germinación.

El factor de estudio, la aplicación de cimoxanil y carbofuran al suelo, no tuvo efecto determinante en la germinación; esto puede estar relacionado con el tipo de insumos utilizados y la dosis aplicada.

Según las casa comerciales: Cimoxanil tiene un efecto fungicida y Carbofuran un efecto insecticida; las semillas comerciales utilizadas en el bioensayo están recubiertas con fungicidas para protegerlas de organismos patógenos residentes en el suelo, así que la aplicación de los agroquímicos objeto de análisis no afectaron su germinación.

La contaminación de los suelos con cimoxanil y carbofuran se realizó teniendo en cuenta las dosis recomendadas por las casas comerciales para cada producto, de tal manera que las concentraciones de estos ingredientes activos no superaron los niveles de dosis seguras a los cuales los organismos no presentan efectos tóxicos y en el caso de las semillas no generaron fitotoxicidad que pudiera afectar su germinación.

7.2.2. Crecimiento de las especies vegetales.

Foto 9. Detalle del desarrollo de las especies evaluadas, doce semanas después de la siembra.

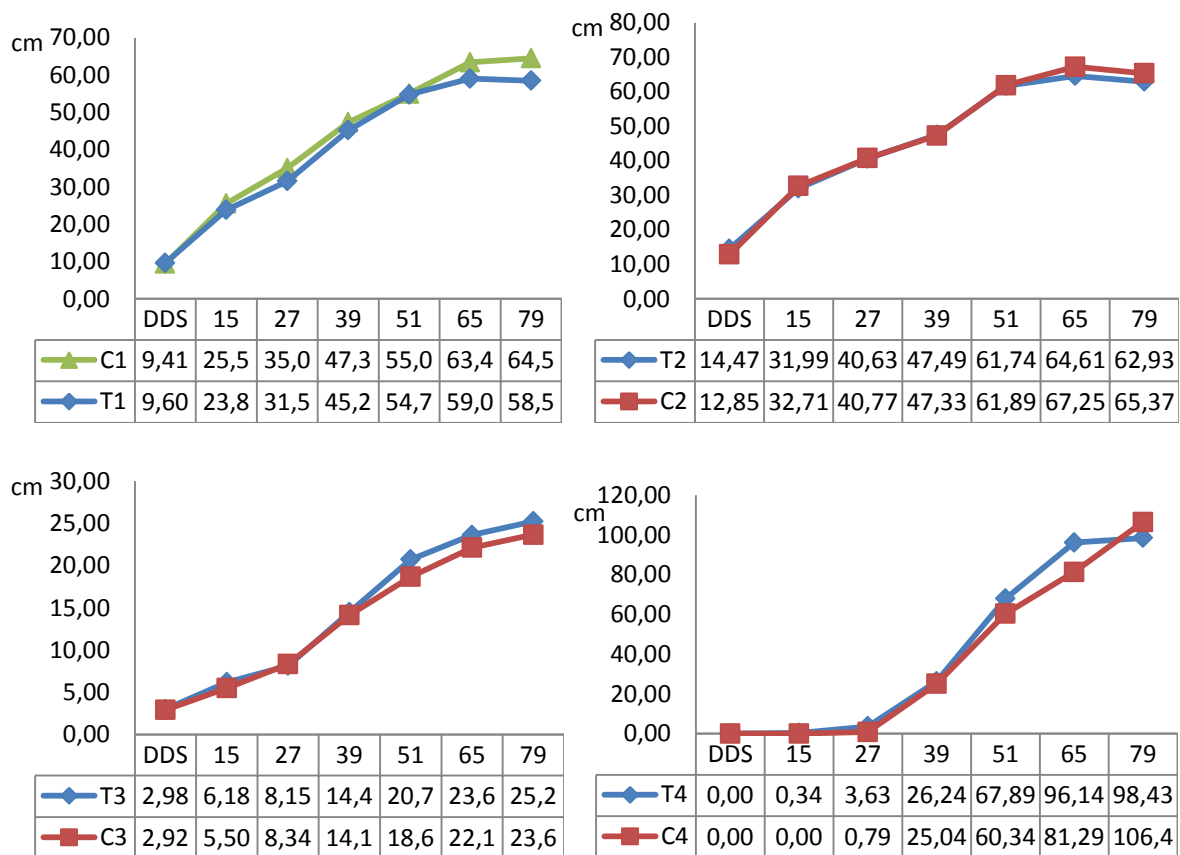


Fuente: La autora, 2012.

Las gráficas relacionadas en la Figura 6 presentan las curvas de crecimiento para las cuatro especies evaluadas, desarrolladas en suelo contaminado (T) y en suelo sin contaminar (C).

Para *L. perenne*, las plantas desarrolladas en el suelo sin contaminar (C1) presentaron un ligero mayor crecimiento que sus pares en suelos contaminados (T1) al igual que para *A. sativa* y *S. tuberosum*.

Figura 6. Efecto de la contaminación el suelo con cimoxanil y furadan sobre el crecimiento de *L. perenne* (1); *A. sativa* (2); *T. pratense*. (3); y *S. tuberosum* (4) en suelo sin contaminar (C) y suelo contaminado (T).



Fuente: La autora, 2012.

Las cuatro gráficas ilustran de manera clara el desarrollo vegetativo de las especies evaluada, entendido como el incremento irreversible en tamaño o volumen, donde se mantiene el comportamiento de alargamiento o expansión celular (tanto división como expansión) reflejado en el incremento de la altura de las plantas como en el engrosamiento de las macollas.

Aplicado el análisis estadístico a los resultados del monitoreo del crecimiento de las cuatro especies, Tabla 8, solo se reporta una diferencia significativa para *T. pratense* a los 27 días después de la siembra donde las plantas de las unidades experimentales de suelo contaminado (T3) tuvieron mejor desarrollo que las plantas establecidas en suelo sin contaminar.

Tabla 8. Efecto de la contaminación del suelo con cimoxanil y carbofuran desarrollo de tres especies forrajeras y papa.

Especie		Días Después de la Siembra						
		15	27	39	51	65	79	92
<i>L. perenne</i>	T1	9,60	23,82	31,55	45,21	54,79	59,06	58,53
	C1	9,41	25,55	35,03	47,36	55,03	63,43	64,52
	Valor-P	0,8238	0,2373	0,1516	0,3445	0,9327	0,1726	0,1372
<i>A. sativa</i>	T2	14,47	31,99	40,63	47,49	61,74	64,61	62,93
	C2	12,85	32,71	40,77	47,33	61,89	67,25	65,37
	Valor-P	0,1038	0,5980	0,9051	0,9442	0,9513	0,0927	0,2906
<i>T. pratense</i>	T3	2,98	6,18	8,15	14,48	20,73	23,62	25,24
	C3	2,92	5,50	8,34	14,14	18,67	22,12	23,66
	Valor-P	0,7741	0,0301*	0,7491	0,7480	0,0568	0,2421	0,0886
<i>S. tuberosum.</i>	T4	0,00	0,34	3,63	26,24	67,89	96,14	98,43
	C4	0,00	0,00	0,79	25,04	60,34	81,29	106,43
	Valor-P	0,00	0,2472	0,3279	0,9058	0,6367	0,4145	0,8202

*Cuando el valor de P es menor o igual a 0,05 hay diferencia estadísticamente significativa.

Fuente: La autora, 2012.

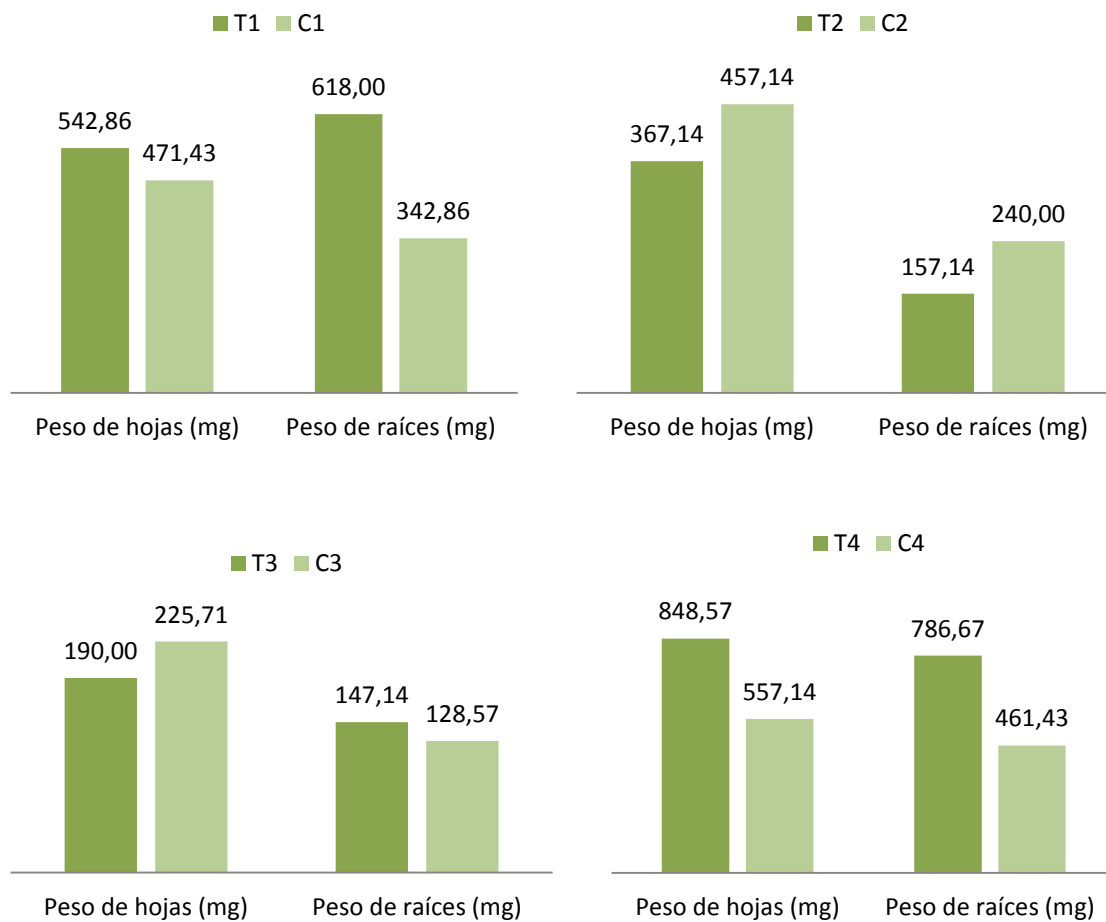
Con estos resultados se puede afirmar que la contaminación del suelo con cimoxanil y carbofuran no tiene un efecto estadísticamente representativo sobre el desarrollo vegetativo de las diferentes especies.

7.2.3. Producción de biomasa de las especies vegetales.

En la Figura 7 se relaciona la producción de biomasa foliar y radicular de las cuatro especies vegetales en suelos contaminados y sin contaminar.

L. perenne tuvo una mayor producción de biomasa tanto de hojas como de raíces en el suelo contaminado, mientras que *A. sativa* presenta una mayor producción en suelos sin contaminar. El desarrollo foliar de *T. pratense* fue mejor en el suelo sin contaminar, mientras que su desarrollo radicular tuvo mejor comportamiento en el suelo contaminado; por su parte *S. tuberosum* tuvo mejor comportamiento tanto foliar como radicular en el suelo contaminado.

Figura 7. Efecto de la contaminación el suelo con Cimoxanil y carbofuran sobre la producción de biomasa foliar y radicular de *L. perenne* (1); *A. sativa* (2); *T. pratense*. (3); y *S. tuberosum* (4) en suelo sin contaminar (C) y suelo contaminado (T).



Fuente: La autora, 2012.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en los muestreos destructivos de las unidades experimentales, Tabla 9, arroja como resultado diferencia estadísticamente significativa en las especies:

- *L. perenne* en la que el peso de las raíces de las plantas establecidas en suelo contaminado tuvieron mayor desarrollo radicular que las plantas establecidas en el suelo sin contaminar, y

- *S. tuberosum* en la que tanto la parte aérea, como las raíces tuvieron mayor desarrollo en las plantas establecidas en el suelo contaminado que las sembradas en suelo sin contaminar.

Tabla 9. Efecto de la contaminación del suelo con cimoxanil y carbofuran en la producción de biomasa de tres especies forrajeras y papa.

Especie		Peso (mg)	
		Hojas	Raíces
<i>L. perenne</i>	T1	542,86	618,00
	C1	471,43	342,86
	Valor-P	0,2215	0,0168*
<i>A. sativa</i>	T2	367,14	157,14
	C2	457,14	240,00
	Valor-P	0,0798	0,1213
<i>T. pratense</i>	T3	190,00	147,14
	C3	225,71	128,57
	Valor-P	0,52	0,6053
<i>S. tuberosum.</i>	T4	848,57	786,67
	C4	557,14	461,43
	Valor-P	0,0266*	0,0142*

*Cuando el valor de P es menor o igual a 0,05 hay diferencia estadísticamente significativa.

Fuente: La autora, 2012.

Teniendo en cuenta que:

- La influencia de las lluvias o el riego en la humedad del suelo son aspectos que determinan la capacidad de producción de biomasa de los pastos, y principal factor que define el rendimiento de los sistemas pastoriles (Benítez, et al, 2007),
- Estas condiciones fueron homogéneas y controladas durante el desarrollo vegetativo de las cuatro especies

- El único factor diferente en las unidades experimentales fue la aplicación de agroquímicos como contaminantes del suelo

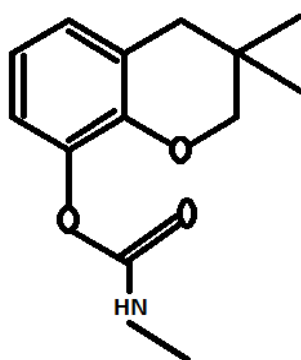
Se puede afirmar de acuerdo a los resultados que la contaminación del suelo con agroquímicos no tiene efecto en la producción de biomasa foliar y radicular en las especies *A. sativa* y *T. pratense*, mientras que si tiene efecto sobre *L. perenne* y *S. tuberosum* que se expresó en un mayor peso por unidad experimental.

7.3. Química cualitativa.

Teniendo en cuenta los espectros probables de los ingredientes activos de los agroquímicos usados como contaminantes del suelo:

Carbofuran: 2,2-dimethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-7-ylmethylcarbamato

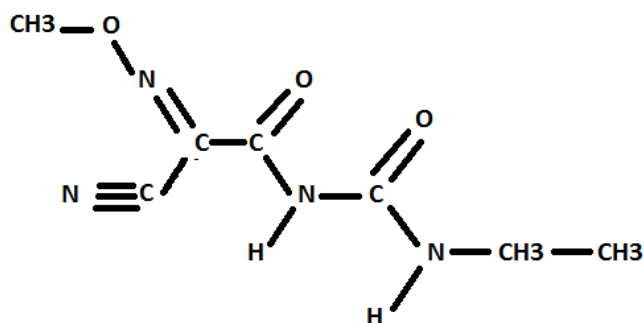
Figura 8. Molécula química del carbofurán.



Fuente: Ficha de seguridad del producto.

Cimoxanil: 1-(2-ciano-2-metroximinoacetil)-3-etilurea

Figura 9. Estructura química del cimoxanil.



Fuente: Ficha de seguridad del producto.

Se realizaron los ensayos de química cualitativa que se relacionan a continuación, con los resultados obtenidos.

7.3.1. Prueba de Bromo en CCl_4

Los resultados obtenidos en esta prueba para determinar la presencia de: fenol, amina, enol, aldehído, cetona, o cualquier otro compuesto que tenga grupos carboxilo, hidroxilo o amino activos, dieron como resultado:

Tabla 10. Resultados de la prueba cualitativa para determinar presencia de compuestos con metil activo.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ⁹
Resultado	POSITIVO (+)	POSITIVO (+)	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

⁹ El suelo testigo se obtuvo de una muestra interior de la Universidad Jorge Tadeo, asumiendo que no recibe aplicaciones de agroquímicos.

7.3.2. Ensayo con permanganato de potasio

Los resultados obtenidos en esta prueba para determinar la presencia de compuestos con dobles o triples enlaces, dieron como resultado:

Tabla 11. Resultados de la prueba cualitativa para determinar presencia de dobles o triples enlaces.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ¹
Resultado	POSITIVO (+)	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

7.3.3. Determinación de azufre con nitroprusiato de sodio.

La prueba para determinar la presencia de compuestos con azufre arroja como resultado:

Tabla 12. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de azufre.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ¹
Resultado	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

7.3.4. Determinación de halógenos en general. Diferenciación entre cloro, bromo y yodo.

La prueba para determinar la presencia de compuestos halógenos, diferenciando cloro, bromo y yodo, arroja como resultado:

Tabla 13. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de halógenos diferenciando cloro, bromo y yodo.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ¹
Resultado	Br; Br y I	Br y I	Br y I

Fuente: La autora, 2012.

7.3.5. Determinación de aminas.

a. Ensayo de cloranil en dioxano. La prueba para determinar la presencia de aminas a través del ensayo de cloranil en dioxano arrojó como resultado:

Tabla 14. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas. Ensayo cloranil en dioxano.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ¹
Color formado	Amarillo	Amarillo	Amarillo-Naranja
Resultado	FENOLES POSITIVO (+)	FENOLES POSITIVO (+)	FENOLES POSITIVO (+)

Fuente: La autora, 2012.

b. Ensayo del ion cúprico para aminas de bajo peso molecular. La prueba para determinar la presencia de aminas de bajo peso molecular, arroja como resultado:

Tabla 15. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas de bajo peso molecular. Ensayo ión cúprico.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo¹
Color formado	Amarillo verdoso oscuro	Amarillo verdoso oscuro	Amarillo claro
Resultado	NEGATIVO (-) Se sospecha presencia de aminas aromáticas	NEGATIVO (-) Se sospecha presencia de aminas aromáticas	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

c. Ensayo de Ferricianuro. La prueba para determinar la presencia de aminas primarias y secundarias, arroja como resultado:

Tabla 16. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de aminas primarias y secundarias.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo¹
Resultado	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

7.3.6. Ensayo de Amidas.

La prueba para determinar la presencia de amidas, arrojó como resultado:

Tabla 17. Resultados de la prueba cualitativa para determinación de presencia de amidas.

Muestra	Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo ¹
Resultado	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)	NEGATIVO (-)

Fuente: La autora, 2012.

En la Tabla 18 se relaciona el consolidado de los resultados obtenidos con los ensayos de química cualitativa.

Tabla 18. Resumen de resultados de los ensayos de química cualitativa.

Suelo Contaminado	Suelo Control	Suelo Testigo
Compuestos con grupos carboxilo, hidroxilo y/o aminos activos	Compuestos con grupo carboxilo	Compuestos con grupo carboxilo
Compuestos con doble o triple enlace	--	--
Br; Br y I	Br y I	Br y I
Fenoles	Fenoles	Fenoles
Se sospecha presencia de aminas aromáticas	Se sospecha presencia de aminas aromáticas	--

Fuente: La autora, 2012.

Comparando estos resultados con el espectro probable de los ingredientes activos, se corrobora la presencia de carbofuran y cimoxanil en el suelo contaminado teniendo en cuenta que:

- Carbofuran: presenta compuestos con grupo carboxilo, y en su estructura hacen presencia 4 dobles enlaces.
- Cimoxanil: tiene compuestos con grupo carboxilo, presenta enlaces dobles y triples, y aminas.

Dados estos resultados y la confirmación positiva de la presencia de los ingredientes activos de los agroquímicos utilizados como contaminantes del suelo, la aplicación de ensayos de química cualitativa es viable dentro de una metodología de evaluación de fitorremediación.

Este tipo de pruebas rápidas y de bajo costo, permitieron realizar determinaciones iniciales o pruebas de comprobación antes y durante el desarrollo de los bioensayos para corroborar la presencia o ausencia de los compuestos que se están monitoreando, a través de sus grupos químicos representativos.

7.4. Espectrofotometría infrarroja.

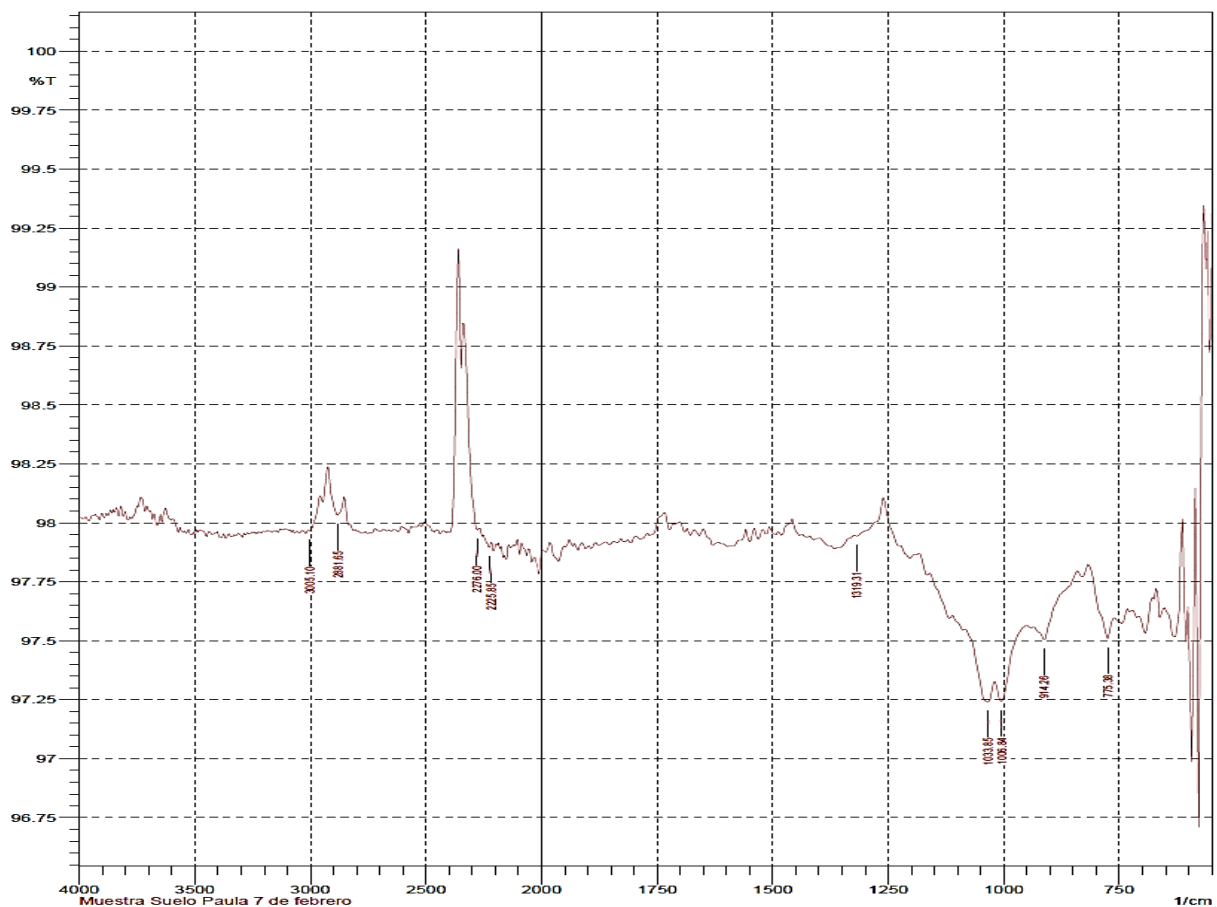
La espectrofotometría es una técnica de química cualitativa que se basa en la interacción microscópica de la luz infrarroja con una sustancia química que a través de procesos de absorción proporciona un patrón de bandas denominado espectro. La posición e intensidad de estas bandas permiten un análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes de la muestra (Castaños, 2010).

Los análisis de espectrofotometría infrarroja se realizaron antes del establecimiento de los bioensayos, después de realizada la toma de muestras de suelos, para determinar

su viabilidad como método de monitoreo de la presencia de los ingredientes activos de los agroquímicos usados como contaminantes del suelo a lo largo del tratamiento.

Según el espectro de suelo de la Figura 10., no hay presencia contundente de los contaminantes esperados.

Figura 10. Espectro infrarrojo de la muestra compuesta de suelo, tomado 7 de febrero, 2012.



Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Se identificó un pico importante a 2225 cm^{-1} , relacionado con contaminación de la muestra / equipo, deducido de la comparación del espectro del suelo con el espectro de la línea base y del back ground del equipo.

Según la literatura, dependiendo el valor del pico en el espectro se puede corroborar la presencia de diferentes grupos químicos:

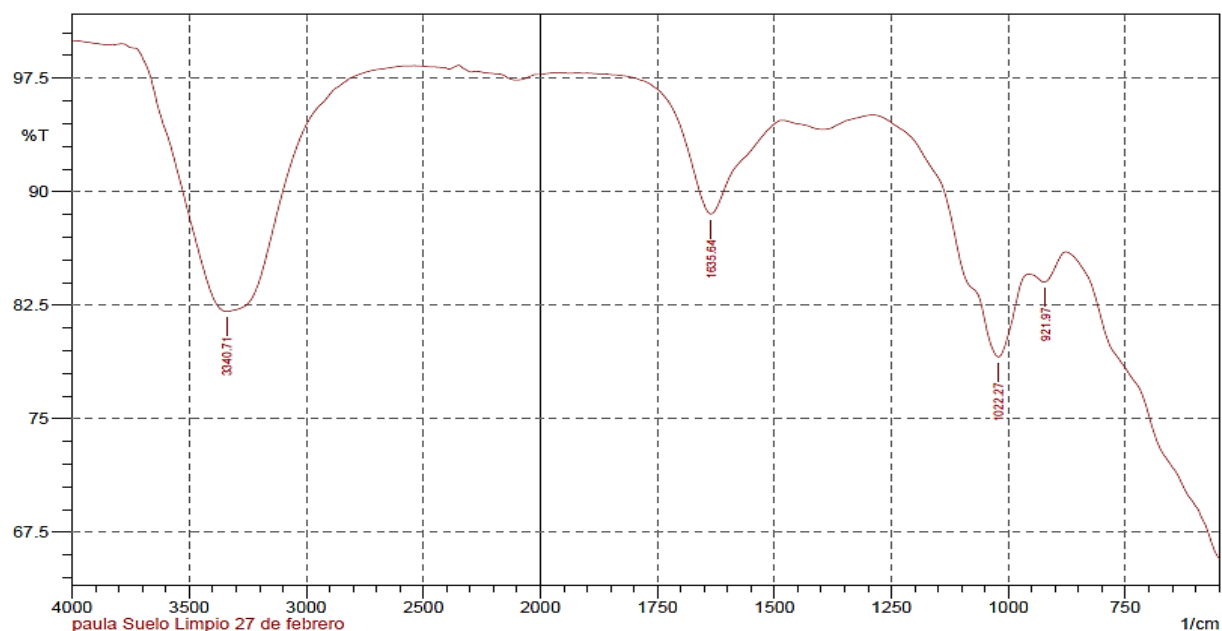
Tabla 19. Relación de los valores de las bandas resaltadas para espectrofotometría y el grupo químico que representan.

Bandas	Grupo químico
605 – 736	Flexiones del plano NH.
636 – 736	Banda media y amplia de amida primaria.
770 – 910	Comprobación de aminas.
800 – 1300	C-C; C-O; C-N
1033	Alargamiento CO-O-CO; CN no aromáticos.
1500 – 1900	C=C; C=O; C=N; N=O
2000 - 2300	C---C; C---N
2700 – 3800	C-H; O-H; N-H

Fuente: Silverstein, 1980.

La figura 11 presenta el espectro infrarrojo del suelo sin contaminar utilizado para el establecimiento de los cuatro controles, uno por especie vegetal.

Figura 11. Espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado 27 de febrero, 2012.



Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

La lectura arrojó como resultado la identificación de cuatro picos relacionados en la Tabla 20.

Tabla 20. Resultados del espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado el 27 de febrero, 2012.

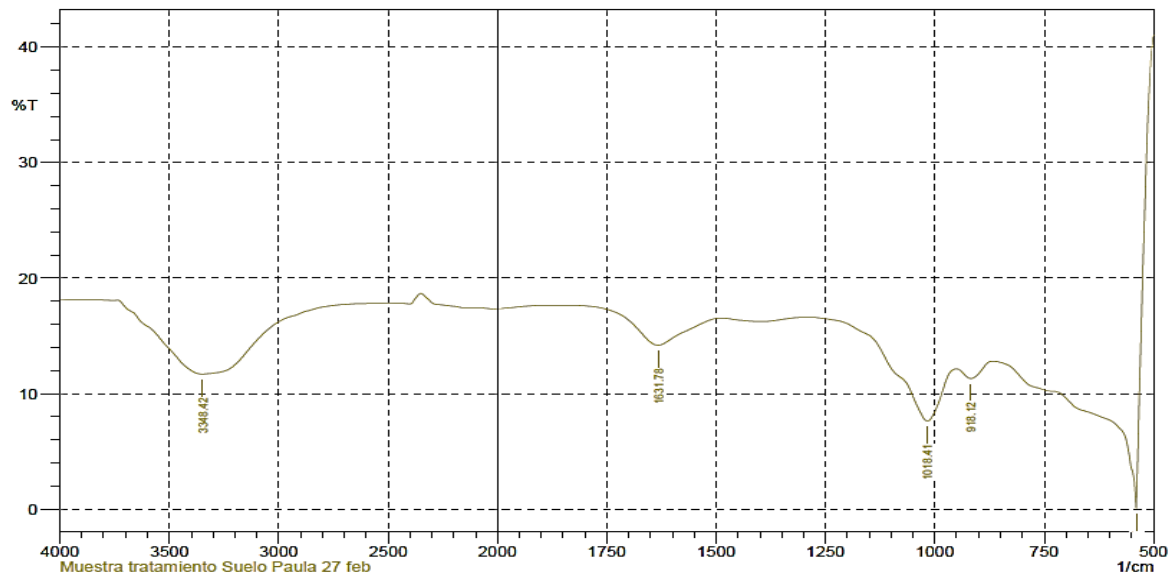
Pico	Intensidad	Correlación de la intensidad	Base (H)	Base (L)	Área	Correlación del Área
921,97	84,031	1,188	956,69	879,54	5,566	0,235
1022,27	79,076	7,559	1288,45	956369	18,998	3,274
1635,64	88,532	7,35	1897,95	1481,33	10,602	3,728
3340,71	82,097	17,142	3792,05	2576,9	43,724	38,67

Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Los picos obtenidos permiten presumir presencia de bandas: características de enlaces simples y doble enlaces no aromáticos.

La figura 12, presenta el espectro infrarrojo del suelo contaminado con carbofuran y cimoxanil, utilizado para el establecimiento de los cuatro tratamientos, uno por especie vegetal.

Figura 12. Espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado 27 de febrero, 2012.



Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Los picos, Tabla 21, obtenidos permiten presumir presencia de bandas: características de enlaces simples y doble enlaces no aromáticos, al igual que en el suelo sin contaminar.

Tabla 21. Resultados del espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado el 27 de febrero, 2012.

Pico	Intensidad	Correlación de la Intensidad	Base (H)	Base (L)	Área	Correlación del Área
540,07	0,1	37,81	867,97	497,63	377,47	140,9
918,12	11,32	1,09	948,98	867,97	74,8	1,59
1018,41	7,64	5,42	1292,31	948,98	306,96	16,09
1631,78	14,21	2,78	1855,52	1489,05	289,8	8,68
3348,42	11,71	6,3	3738,05	2553,75	969,98	86,89

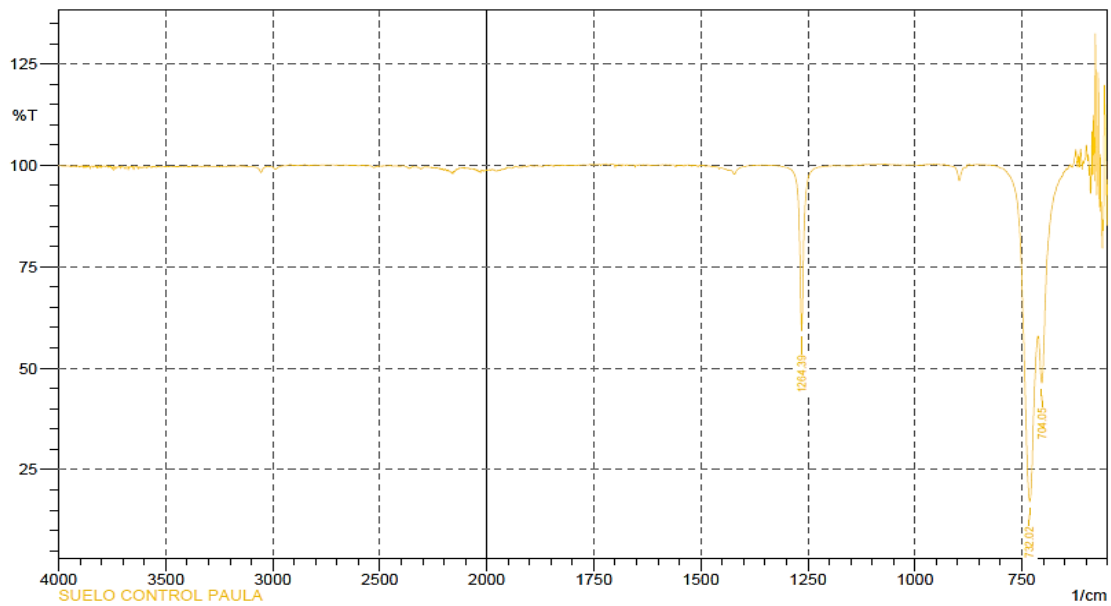
Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Estos resultados no permiten concluir en forma contundente la presencia de los agroquímicos aplicados para contaminar el suelo.

A partir de estos resultados, se realizó un nuevo análisis digiriendo las muestras de suelos según el Método oficial 947.04 del AOAC de métodos oficiales de análisis 2011, para el método de espectrofotometría infrarroja. Esta digestión buscaba fraccionar las moléculas de agroquímicos para identificar sus componentes de manera clara en los espectros infrarrojos.

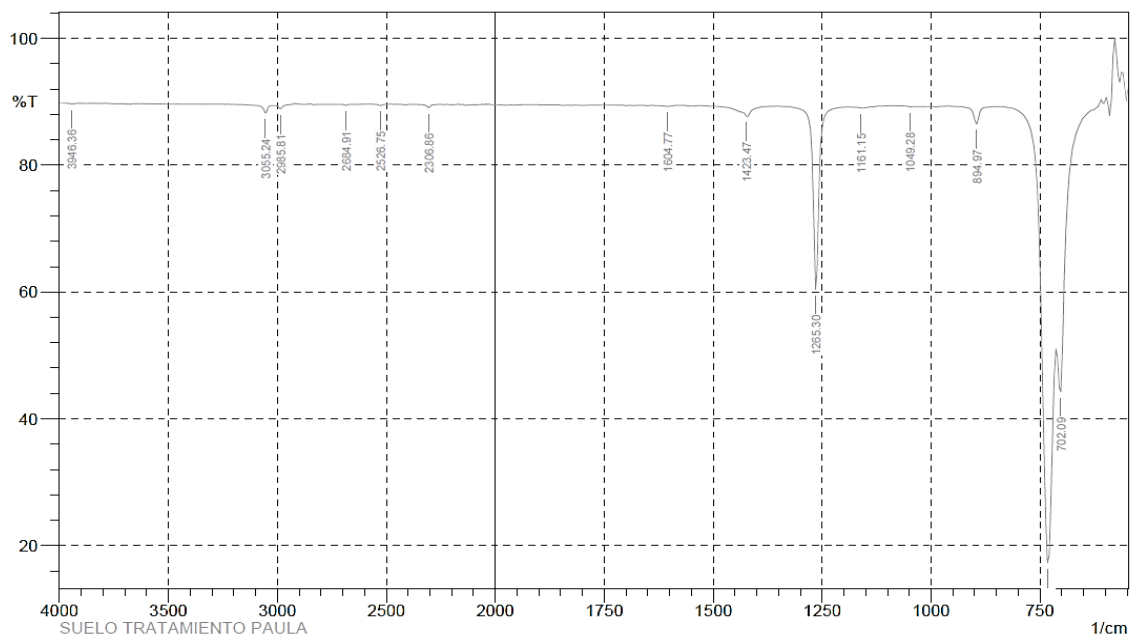
Es así como se realizaron nuevamente los análisis a los suelos: contaminados y sin contaminar, y a los agroquímicos aplicados.

Figura 13. Espectro infrarrojo del suelo sin contaminar, tomado 27 de marzo, 2012.



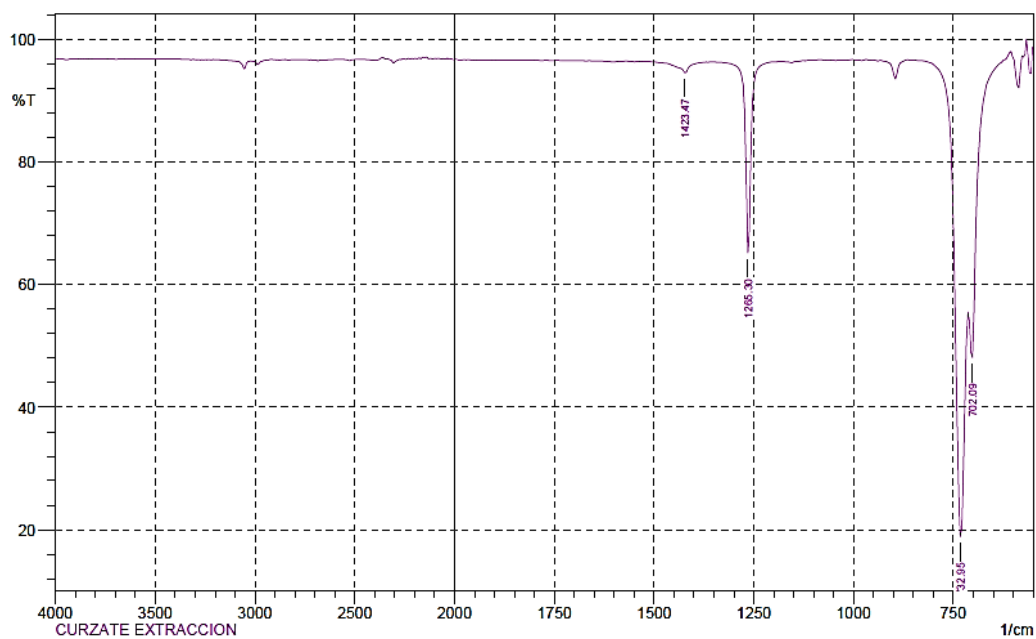
Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Figura 14. Espectro infrarrojo del suelo contaminado, tomado 27 de marzo, 2012.



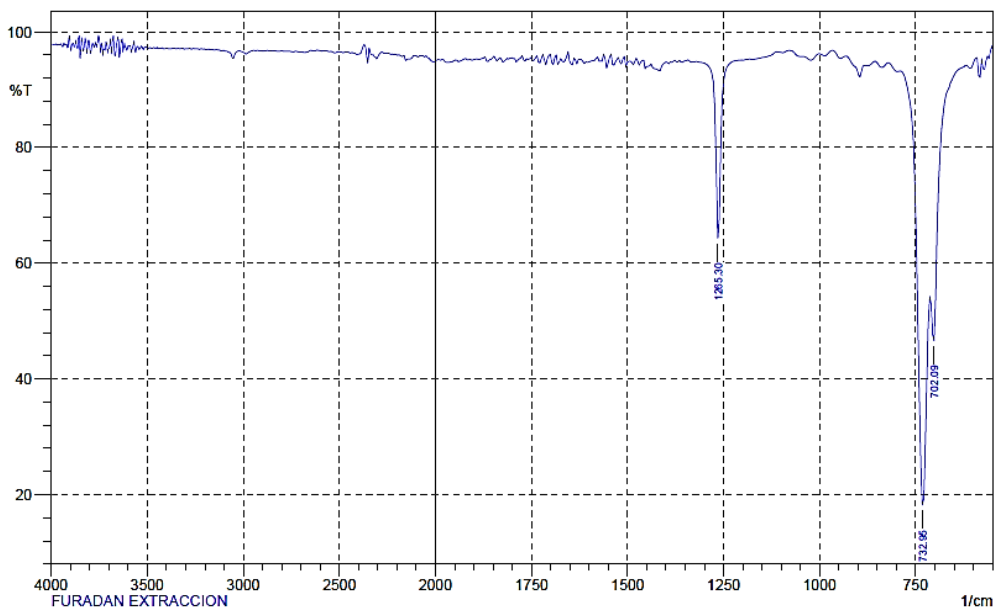
Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Figura 15. Espectro infrarrojo del Curzate tomada el 27 de marzo, 2012.



Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Figura 16. Espectro infrarrojo del Furadan tomada el 27 de marzo, 2012.



Fuente: LIAC. Universidad La Salle. 2012.

Realizadas las lecturas, se compararon las bandas de los espectros de las muestras de suelos, Figura 13 y Figura 14, con las bandas de los espectros de los agroquímicos, Figura 15 y Figura 16, se identificaron picos en las mismas regiones del espectro sin evidenciar presencia de grupos químicos diferentes.

Este comportamiento es el resultado de la presencia del solvente diclorometano, CH_2Cl_2 , utilizado para la digestión de las muestras, prevaleciendo en el espectro por encima de los grupos químicos que caracterizan la presencia de los compuestos a monitorear.

El diclorometano es utilizado en los procesos químicos por sus propiedades solventes de una amplia gama de sustancias orgánicas, además por su bajo punto de ebullición que lo convierte en un útil compuesto para pruebas que requieren aplicación de temperatura.

A lo largo de las pruebas realizadas, los análisis de espectrofotometría infrarroja, en esta investigación, no arrojaron resultados que permitieran corroborar en forma definitiva la presencia de los agroquímicos de interés.

Las lecturas obtenidas tanto en las muestras crudas y muestras digeridas no fueron concluyentes, razón por la que este método no pudo utilizarse para desarrollar el objeto de la investigación.

7.5. Cromatografía líquida.

Se realizó la cuantificación de los compuestos contaminantes con el objeto de identificar el potencial fitoremediador de las especies evaluadas, a través del análisis de residuos de plaguicidas en suelos y tejidos vegetales por UPLC-MS.

Tabla 22. Resumen de resultados de los análisis de cromatografía líquida en suelo para cimoxanil y carbofuran.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	Compuesto / Resultado	Unidad de concentración	LD (mg kg-1)	LC (mg kg-1)	LMR (mg kg-1)	% de Recuperación
MS01- Suelo sin Contaminación S0	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS02- Suelo Contaminado S0	Cimoxanil	mg kg-1	0.046	0.152	No aplica	92.5
	Carbofuran	mg kg-1	0.002	0.006	No aplica	95.3
MS03 - Semana 10 T1	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS12 - Semana 16 T1	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS04 - Semana 10 T2	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS13 - Semana 16 T2	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS05 - Semana 10 T3	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS14 - Semana 16 T3	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS06 - Semana 10 T4	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS15 - Semana 16 T4	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS08 - Semana 10 C1	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS17 - Semana 16 C1	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS09 - Semana 10 C2	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS18 - Semana 16 C2	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS10 - Semana 10 C3	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS19 - Semana 16 C3	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS11 - Semana 10 C4	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS20 - Semana 16 C4	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS07 - Semana 10 Blanco	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--
MS16 - Semana 16 Blanco	No detectado	mg kg-1	--	--	--	--

Fuente: Laboratorio de inocuidad química. Centro de Bio-Sistemas, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, 2012.

Los resultados del análisis de cromatografía por UPLC, Tabla 22, permiten corroborar la presencia de los contaminantes sobre el suelo, reportando para la semana 0, contenidos entre 0.046 y 0.152 mg /Kg para cimoxanil y 0.002 y 0.006 para carbofuran en el suelo contaminado, mientras que no reporta presencia de estos ingredientes activos en el suelo sin contaminar.

Los monitoreos del comportamiento de las concentraciones de cimoxanil y carbofuran se realizaron 10 y 16 semanas después de la siembra.

Pasadas 10 semanas, la determinación no reporta contenido de los de los ingredientes activos de los agroquímicos en las unidades experimentales de las cuatro especies vegetales. De igual manera, 16 después de la siembra no se encontraron los compuestos aplicados inicialmente en el suelo contaminado para ninguna de las especies evaluadas.

En la semana 16 se realizaron muestreos destructivos del total de las unidades experimentales de cada especie vegetal, en suelo contaminado y en suelo sin contaminar, para determinar la posible concentración de los compuestos en raíces, tallos-hojas, flores y semillas, en los casos que hubiera floración para los forrajes y tuberización para la papa. Los resultados se relacionan en la Tabla 23.

Tabla 23. Resumen de resultados de los análisis de cromatografía líquida en tejidos vegetales para cimoxanil y carbofuran.

TRATAMIENTO	COMPUESTO/ RESULTADO	CANTIDAD	Unidad de concentración	LD (mg kg-1)	LC (mg kg-1)	LMR (mg kg-1)
T1 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T2 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T3 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T4 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C1 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C2 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C3 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C4 HOJA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T1 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T2 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T3 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T4 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C2 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C3 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C4 RAIZ	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T2 FLOR	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
C2 FLOR	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-
T4 SEMILLA	No detectado	-	mg kg-1	-	-	-

Fuente: Laboratorio de inocuidad química. Centro de Bio-Sistemas, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, 2012.

No se detectaron concentraciones de los compuestos aplicados en las hojas, raíces, flores y semillas de las especies monitoreadas.

Pese a que el cimoxanil está clasificado como un fungicida sistémica local, y que el carbofuran es insecticida sistémico, en los resultados de la cromatografía líquida no se registran contenidos del ingrediente activo en los tejidos de raíces y tallos-hojas de las especies vegetales terminado el bioensayo; sin embargo si se reporta su presencia y concentración inicial en el suelo contaminado.

8. Análisis de resultados

Fitorremediación

La ausencia de los ingredientes activos, cimoxanil y carbofuran determinada por cromatografía para el suelo contaminado, puede estar relacionada con dos factores: a) los mecanismos de atenuación natural de los agroquímicos en el suelo, y b) los mecanismos de fitorremediación; esto sumado a la no afectación del desarrollo vegetativo de las plantas pueden interpretarse como una posible acción fitorremediadora de las especies utilizadas.

Es necesario tener en cuenta que las plantas pueden utilizar algunos mecanismos para incrementar su resistencia a los contaminantes orgánicos:

a) cuando los contaminantes están en el suelo: La transformación de los elementos tóxicos en el área de la rizósfera, para lo que la planta libera más del 20% de sus fotosintato, constituido por una mezcla de azúcares, alcoholes, fenoles, ácidos orgánicos y proteínas, dentro del suelo en forma de exudado radicular que rápidamente es utilizado por las comunidades microbianas existentes en la rizósfera, que se caracterizan por presentar enzimas específicas capaces de metabolizar los contaminantes orgánicos hacia formas menos tóxicas. Un ejemplo lo constituyen las biotransformaciones de pesticidas como: Atrazina, Propachlor o Paracuat, vía conjugación con Glutathión mediante los enzimas glutathión-S-transferasa (Volke, 2009).

Esta estrategia vegetal está ligada a los mecanismos de fitoinmovilización y rizodegradación de contaminantes en el suelo.

b) una vez los contaminantes han atravesado el sistema radicular: los elementos tóxicos pueden seguir dos vías de transformación, por un lado se trasladan hacia brotes y hojas para, posteriormente, volatilizarse, y por otro pueden sufrir procesos de metabolización hacia nuevas formas. Estos nuevos compuestos pueden mineralizarse o pueden acumularse como nutrientes o nuevos contaminantes. La inclusión en órganos

subcelulares y la formación de otros compuestos representan las principales vías para la desintoxicación de xenobióticos en plantas. Un ejemplo de este segundo proceso lo encontramos en la transformación del Pentaclorofenol (PCP), que inicialmente se hidroliza en las células vegetales y posteriormente se une a la lignina formando un residuo insoluble (Volke, 2009).

Estas rutas de los compuestos al interior de las plantas están relacionadas con los mecanismos de fitoextracción y fitodegradación.

Se descarta la fitoinmovilización de los compuestos aplicados, sin sufrir modificaciones, con base en los resultados de la cromatografía líquida de ausencia de las moléculas en las muestras de raíces y rizósfera de las cuatro especies evaluadas.

Se descarta la fitoextracción y bioacumulación en la biomasa vegetal de los compuestos aplicados, con base en los resultados de ausencia de cimoxanil y carbofuran en tallos, hojas y flores, obtenidos por cromatografía líquida.

Existe la posibilidad que los resultados de no reporte de agroquímicos estén relacionados con los mecanismos de rizodegradación, fitodegradación o fitovolatilización de las plantas, sin que hayan resultados que respalden estas hipótesis.

Este supuesto se basa en los mecanismos utilizados por las plantas para resistir a concentraciones de compuestos contaminantes. Los agroquímicos aplicados pudieron haber sido transformados en el área de la rizósfera por la acción microbiana a través de la rizodegradación, donde los microorganismos estimulados por los exudados vegetales modificaron los compuestos en subproductos que no fueron identificados a través de las pruebas aplicadas.

Por otra parte, los ingredientes activos pudieron haber sido tomados por las plantas y ser fitovolatilizados fuera de las plantas a través de la transpiración; o fitodegradados en su interior, a través de la metabolización de las moléculas, para después ser incorporados en la biomasa vegetal; este último supuesto pudiera verse reflejado en la

mayor producción de hojas y raíces¹⁰ (Figura 3) para tres de las especies que crecieron en el suelo contaminado.

Es importante resaltar que el suelo blanco¹¹ no reportó concentraciones de los ingredientes activos de los compuestos aplicados después de 10 y 16 semanas de evaluación; esto indicaría que no hubo efecto de las especies vegetales en el comportamiento de los contaminantes en el suelo, y que la no presencia del contaminante en los dos eventos de muestreo fue consecuencia de otros factores relacionados con el suelo y los mecanismos de atenuación natural de los agroquímicos en él.

Se ha supuesto que dada la volatilidad de los agroquímicos, estos no persisten en el suelo o no son causales de contaminación en el agua subterránea (Manahan, 2007).

Estudios realizados empleando técnicas de carbono 14 (¹⁴C) a diversos agroquímicos, evidencian la formación de residuos en el suelo vinculados a la inmovilización de los compuestos por parte de la materia orgánica, posiblemente por los ácidos fúlvicos, como resultado de la alquilación de moléculas (Manahan, 2007) inmovilizando los compuestos en la matriz orgánica del suelo.

Los ácidos fúlvicos pertenecen a la fracción insoluble de las sustancias húmicas del suelo, y que entre sus propiedades importantes se destaca su aporte al intercambio catiónico del suelo (Cepeda, 2007) que se traduce en la secuestación de moléculas a su superficie disminuyendo su lixiviación.

Es así como, el no reporte de la presencia de los ingredientes activos, no implica, necesariamente, que los compuestos hayan sido eliminados del suelo por alguna de las vías de evolución de los agroquímicos descritas en la revisión de literatura, e indicando

¹⁰ Sin que se reporte diferencia estadísticamente significativa de la producción de biomasa entre plantas desarrolladas en suelo contaminado y suelo sin contaminar.

¹¹ Suelo contaminado sin ninguna especie vegetal

que aún pueden estar presentes en el sustrato de los bioensayos inmovilizados por la fase coloide del suelo.

Metodología de evaluación

La determinación del potencial fitorremediador de tres especies vegetales en suelos dedicados a la producción de papa fue evaluada a través la combinación de i) métodos de laboratorio: cualitativos, química cualitativa y espectrofotometría infrarroja, y cuantitativos, HPLC; y ii) bioensayos en invernadero, con el objeto de establecer una propuesta metodológica replicable a este tipo de trabajo.

Según el trabajo adelantado por Slizovskiy, et al, 2010, la evaluación de los métodos de determinación de agroquímicos es importante y debe tomar en cuenta no solo la veracidad de los resultados obtenidos, sino también su disponibilidad, uso de recursos, tiempo de elaboración, espacio disponible y costos, por lo que en este trabajo se buscó aplicar estos principios usando las mejores metodologías disponibles.

La simpleza, precisión y eficiencia de los métodos utilizados es importante al momento de la selección de un método desde la preparación de las muestras, hasta el monitoreo de los pesticidas; métodos como extracción Asistida con horno (OAE) siendo el más simple y menos intensivo en uso de recursos, resultó ser más eficiente que otros seis métodos de preparación de extracción de determinación de residuos de agroquímicos (Slizovskiy, et al, 2010).

Dados los datos obtenidos y la pertinencia del uso de los métodos propuestos en la evaluación, la combinación de bioensayos con métodos de laboratorio es acertada para corroborar los resultados del efecto de las especies vegetales y generar información que permita plantear hipótesis frente a las posibles estrategias de remediación.

A través de esta investigación se valida la toma de muestras de suelos dedicados a la actividad productiva a evaluar, como método para identificación del sustrato para los

bioensayos. Trabajos como los de Nedunuri, et al, 2010, quienes tomaron muestras de suelo para sus ensayos de la excavación de áreas dedicadas a almacenaje y desecho de residuos de la industria de solventes, para determinar las prácticas de manejo y fitoremediación de pastos nativos; y Hao, et al, 2011, en el que se tomaron muestras de dos suelos con diferentes concentraciones de metales a una profundidad de 20 cm para establecer las unidades experimentales y determinar la acumulación de cobre, zinc, y plomo en las partes comestibles de cuatro cultivos comúnmente establecidos en China; corroboran la importancia de la selección adecuada del sustrato y el muestreo de áreas dedicadas a la actividad fuente de la contaminación.

El uso de bioensayos debe ser un elemento constitutivo de la metodología para la evaluación de los aspectos relacionados con la fitorremediación; el monitoreo de la germinación, crecimiento y producción de biomasa de las especies vegetales funciona como un indicador del efecto de los contaminantes sobre las plantas; sin embargo, no permite establecer el efecto de las plantas sobre los contaminantes en el suelo, para obtener esta información se deben emplear métodos analíticos de laboratorio.

El uso de pruebas químicas cualitativas puede ser usado como un indicador de la presencia o ausencia de los grupos químicos constitutivos de los ingredientes activos de los agroquímicos. Las principales ventajas de su uso están relacionadas con la rapidez de aplicación de las pruebas y la obtención de resultados, y el bajo volumen de insumos y muestras requeridas para su desarrollo. La principal desventaja de este tipo de pruebas es la limitada información que brinda y la falta de precisión en las cantidades de reactivos y muestra a usar en los ensayos, lo que hace necesario acompañarlas de métodos cuantitativos que ofrezcan detalles del comportamiento de los compuestos en el suelo y las plantas.

La espectrofotometría infrarroja, es un método de química analítica preciso altamente utilizado en monitoreo de compuestos en diferentes ciencias aplicadas para determinar el espectro de microorganismos, enfermedades, compuestos químicos, etc.;

Durante el desarrollo de esta investigación, los resultados arrojados por los análisis por espectrofotometría no arrojaron información concluyente que pudiera respaldar su uso en el monitoreo de los contaminantes a largo del estudio, siendo necesario ampliar la investigación en este aspecto (metodología de preparación y análisis de muestras) para utilizarlo como estrategia de seguimiento a la presencia de los contaminantes.

Las principales ventajas de la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas están relacionadas con su sensibilidad y selectividad así como con el amplio tipo de muestras que pueden ser analizadas (tejidos foliares, radicales, de flores y frutos, y suelos), el volumen de muestras que pueden trabajarse en una sesión de trabajo y la precisión de los resultados

La cromatografía UPLC-MS, como metodología de cuantificación de la concentración de los ingredientes activos utilizados, por ser un método con un alto grado de precisión y especificidad, puede llegar a ser un método valioso en la determinación del potencial efecto fitorremediador de las especies, sin embargo en los resultados obtenidos en esta investigación, se pudo observar que es necesario desarrollar procesos alternativos de preparación de muestras de suelos y tejidos vegetales que permitan desenmascarar los compuestos de interés que se pueden encontrar atrapados en fases que no son extraíbles empleando las metodologías empleadas normalmente para estos análisis.

Las desventajas del método cromatógrafico están relacionadas básicamente con: la necesidad de expertos capaces de estandarizar y validar métodos analíticos cromatográficos, establecer curvas de calibración específicas para cada compuesto y para cada matriz analítica, desarrollar métodos adecuados de preparación de cada tipo de muestra, así como los elevados costos del equipo, los patrones, solventes y análisis que limitan la frecuencia de medición y las repeticiones de estos.

9. CONCLUSIONES

Métodos analíticos de cuantificación de agroquímicos en suelos de uso agrícola.

Las pruebas de química cualitativa permiten realizar una identificación rápida y válida de la presencia/ausencia de los compuestos en una muestra de suelos, y puede ser utilizada dentro de un protocolo con todas las pruebas para monitorear los contaminantes durante el desarrollo de una investigación.

Las pruebas de espectrofotometría infrarroja no fueron concluyentes. La utilización de solventes como el diclorometano, para la digestión de las muestras enmascaran los compuestos presentes en las muestras impidiendo identificar las bandas propias de los grupos químicos objeto del estudio.

Es necesario avanzar en la investigación en la preparación de muestras para la utilización de esta técnica instrumental para el monitoreo de contaminantes ambientales como son los agroquímicos.

La evaluación de las muestras a través de la UPLC-MS, en un protocolo de evaluación y monitoreo de fitorremediación de agroquímicos, es pertinente, permite no solo corroborar la presencia de los compuestos a estudiar, sino además cuantificar su concentración.

Desarrollo de las especies evaluadas.

La germinación de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*), trébol rojo (*Trifolium pratense*) y papa (*S. tuberosum*) no se vio afectada por la residencia en el suelo de agroquímicos, como factor contaminante.

El porcentaje de germinación de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) fue superior al reportado por la casa comercial para las variedades utilizadas; mientras que trébol rojo (*Trifolium pratense*) presentó menor porcentaje de germinación.

El desarrollo vegetativo de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*), trébol rojo (*Trifolium pratense*) y papa (*S. tuberosum*) no se vio afectada por la residencia en el suelo de agroquímicos, al igual que la producción de biomasa.

Seleccionar la/las especie con mayor capacidad de fitorremediación

Según los resultados del bioensayo y de las pruebas de cromatografía líquida no hay efecto diferenciado del establecimiento de ryegrass (*Lolium perenne*), avena forrajera (*Avena sativa*) o trébol rojo (*Trifolium pratense*) para la fitorremediación de cimoxanil y carbofuran en una muestra compuesta de suelo dedicado a la producción de papa (*Solanum tuberosum*).

Posibles mecanismos fitorremediación utilizado por la/las especies

Se descarta la fitoinmovilización de los compuestos aplicados, con base en los resultados de la cromatografía líquida de ausencia de las moléculas en las muestras de raíces y rizósfera de las cuatro especies evaluadas.

Se descarta la fitoextracción y bioacumulación en la biomasa vegetal de los compuestos aplicados, con base en los resultados de ausencia de cimoxanil y carbofuran en tallos, hojas y flores, obtenidos por cromatografía líquida.

Existe la posibilidad que los resultados de no reporte de agroquímicos estén relacionados con los mecanismos de rizodegradación, fitodegradación o fitovolatilización de las plantas.

Los agroquímicos aplicados pudieron haber sido transformados en el área de la rizósfera por la acción microbiana a través de la rizodegradación, donde los microorganismos estimulados por los exudados vegetales modificaron los compuestos en subproductos que no fueron identificados a través de las pruebas aplicadas.

Los ingredientes activos pudieron haber sido tomados por las plantas y ser fitovolatilizados fuera de las plantas a través de la transpiración; o fitodegradados en su interior, a través de la metabolización de las moléculas, para después ser incorporados en la biomasa vegetal; este último supuesto pudiera verse reflejado en la mayor producción de hojas y raíces¹² (Figura 3) para tres de las especies que crecieron en el suelo contaminado.

Los pesticidas evaluados no son de fácil seguimiento en proyectos de fitoremediación por las razones antes dichas.

Sugerencias

Se hace necesario evaluar el potencial fitoremediador de las especies vegetales de pesticidas cuya persistencia haya verificada por algún método analítico estandarizado.

El seguimiento a los agroquímicos en los diferentes medios, y al potencial efecto fitoremediador de especies vegetales, debe incluir estudios previos de metabolismo de las moléculas contaminantes en los elementos ambientales, los posibles compuestos derivados de esos procesos y utilización de métodos para rastrear no solo las moléculas aplicadas, sino sus derivados.

Es necesario invertir recursos humanos y financieros en la estandarización de los métodos cromatográficos y otros especializados que permitan realizar un verdadero seguimiento a la fitoremediación.

¹² Sin que se reporte diferencia estadísticamente significativa de la producción de biomasa entre plantas desarrolladas en suelo contaminado y suelo sin contaminar.

Se requiere estandarizar los métodos de extracción de las sustancias de interés y la preparación de muestras para la utilización de técnicas instrumentales para el monitoreo de contaminantes ambientales como son los agroquímicos.

10.REFERENCIAS

- AHUMADA, D., y ZAMUDIO, M. 2011. Análisis de residuos de plaguicidas en tomate mediante el uso de QuEChERS y cromatografía líquida ultrararápida acoplada a espectrofotometría de masas. Revista Colombiana de Química. Volumen 40. Número 2. Página 227 – 245.
- AMBIENTE, A. E. (2000). Señales medioambientales 2000. Copenhagen. Dinamarca: Agencia Europea de Medio Ambiente.
- BADII, M. G. (2005). Los Indicadores Biológicos en la Evaluación de la Contaminación por Agroquímicos en Ecosistemas Acuáticos y Asociados. CULCyT.
- BONILLA, H. C. (2009). Agenda prospectiva de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la cadena de la papa en Colombia, con énfasis en papa criolla. Bogotá D.C., Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- BORRÁEZ, A. (09 de Octubre de 2011). Detectan exceso de químicos. UN Periódico, pág. 24.
- BENITEZ, D., FERNANDEZ, J.L., RAMIREZ, A., TORRES, V. RANDRON, I., DIAZ, M., y GUERRA, J. 2007. Factores determinantes en la producción de biomasa en tres especies de pastos en sistemas racionales de pastoreo en el Valle del Cauto, Cuba. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 41, Número 3. Páginas 231 a 235.
- BERNAL, MP. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. Asociación Española de Ecología Terrestre. AEET. Ecosistemas 16 (2): 67-76. Mayo 2007.EN: www.revistasecosistemas.net/articulos.asp?.id=490.
- BERNAL. J. 1994. Pastos y Forrajes Tropicales. Producción y manejo. 3ª Edición. Banco Ganadero. Banco Ganadero. Santafé de Bogotá, Colombia. 375 p.

- BONILLA, H. C. (2009). Agenda prospectiva de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la cadena de la papa en Colombia, con énfasis en papa criolla. Bogotá D.C., Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- BORRÁEZ, A. (09 de Octubre de 2011). Detectan exceso de químicos. UN Periódico, pág. 24.
- CARPENA, R.O.; BERNAL, P. 2007. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. Asociación Española de Ecología Terrestre. AEET Ecosistemas 16 (2): 1-3. Mayo 2007. EN: BERNAL, P. 2007. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. Asociación Española de Ecología Terrestre. AEET Ecosistemas 16 (2): 1-3. Mayo 2007. EN: www.revistasecosistemas.net/articulos.asp?.id=490.
- CASTAÑOS J., MURELAGA, X., CASTELLANOS, I., ALONSO-OLAZABAL, A., CRUZ, M., Y ORTEGA, L. 2010. Evaluación del grado de diagénesis en huesos fósiles mediante espectroscopía de infrarrojos. GEOGACETA, 49: 11-14. España.
- CEPEDA, J.M. 2007. Química de suelos. Editorial Trillas. México. 167 p.
- CHACÓN, L. 2008. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO. Consultado: 30 de noviembre de 2012. Disponible en: webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/.../Presentación%20infrarrojo2.ppt.
- CONSTANTE PÉREZ, C. R. (2012). Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de <http://biblioteca.uteq.edu.ec:8080/jspui/bitstream/123456789/517/1/Constante%20Perez%20Carlos.pdf>
- DUGARTE, M., OVALLES, L., & FONAIAP. (Junio de 1991). FONAIAP. Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd36/texto/produccionpastos.htm
- DUPONT. 2002. Hoja de datos de seguridad CURZATE ® M-8.

- FAN, A. 2000. Public health goal for CARBOFURAN in drinking water. California, United States.: California Environmental Protection Agency.
- FINANCIERA RURAL. (Octubre de 2010). Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20Avena%20\(oct%2010\)%20vf.pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20Avena%20(oct%2010)%20vf.pdf)
- GONZALEZ, M. (2012). Hablemos de papa. Revista Papa, Edición 21.
- FONTURBEL, F., IBAÑEZ, C., PALOMEQUE, S., SALINAS, T., y GALLEGUILLOS, F. 2004. Descontaminación y tratamiento de contaminantes del suelo. El recurso suelo: bases edafológicas, problemática, administración y contaminación. Publicaciones Integrales. La Paz, Bolivia. 110 p.
- HERNANDEZ, A, MARTINEZ Gándara, CASTILLOS F. 2005. Biotransformación de malatión por cepas de *Rhizobium* aisladas de *Desmodium tortuosum* (SW) D.C. FORESTA Veracruzana, año /vol 7, Número 002. Universidad Veracruzana Xalapa, México pp.53-58.
- ITRC (Interstate Technology & Regulatory Council). 2009. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised. PHYTO-3. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 113 p.
- LOPEZ, A. 2009. Biorremediación y fitoremediación en suelos contaminados. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía XXII. Contaminación y Salud. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/598/615>
- MANAGAN. S. 2007. Introducción a la química ambiental. UNAM. Editorial Reverte. México 709 p.

- MARTÍNEZ, H. E. (2005). La cadena de la papa en Colombia : una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Documento de trabajo N°54. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL y DANE. (2002). I Censo Nacional del Cultivo de Papa. Departamento de Cundinamarca. Resultados Consolidados: Área, Producción y Rendimiento. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- PICASSO semillas de Césped y semillas Forrajeras. (2011). PICASSO semillas de Césped y semillas Forrajeras. Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de http://www.picasso.com.ar/descripcion_ryegrassperenne.php
- RODRIGUEZ, C.A. 1999. Plaguicidas, necesidades y posibilidades de limitar su uso. Jornadas interdisciplinarias y tripartitas agro: “trabaja y salud” EN: <http://www.cepis.org.pe/eswww/ocupfile/plagucidas.doc>
- SCAI. Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación. Unidad de Espectrometría de Masas. Consultado: 30 de noviembre, 2012. Disponible en: <http://www.scai.uma.es/servicios/aqcm/ems/ems.html>
- SCIENCE, B. C. (2003). Tarjeta de Emergencia FURADAN®3 SC.
- SEGURA, J. (S.F.). Desarrollo vegetal. En Fundamentos de fisiología vegetal.
- SHIRINER R.L, FUSON R.C, CURTIN DY. 1964. “The Systematic Identification of Organic Compounds” laboratory manual, fifth ed, John Wiley NY. pag. 145.
- SILVERSTEIN R.M. 1980. “Identificación espectrofotométrica de compuestos orgánicos”, Ed. Diana, México Primera edición.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. (2006). In situ treatment technologies for contaminated soil. Washintong: EPA.

UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA. (2012). Universidad Pública de Navarra. Recuperado el 18 de Octubre de 2012, de http://www.unavarra.es/servicio/herbario/pratenses/htm/Trif_prat_p.htm

UNIVERSITY, C. (09 de 1993). E X T O X N E T. Recuperado el 02 de 10 de 2012, de <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/dienochlor-glyphosate/dimethoate-ext.html>

VILLALOBOS, L., & JORGE, S. (22 de Febrero de 2010). Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v34n01_031.pdf

VOLKE, T., y VELASCO, J. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT). México, D.F., México. 64 p.

11. ANEXOS

Anexo 1. Informe de resultados de análisis de agroquímicos en suelos por cromatografía líquida del Laboratorio de Inocuidad de Química del Centro de Bio-Sistemas de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.

Informe de Resultados
Laboratorio de Inocuidad Química
Centro de Bio-Sistemas
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano

Página 1 de 2



Datos Cliente:

Paula Rueda/ Universidad Jorge Tadeo Lozano
 Carrera 4 No. 22-61
 2427030
 e-mail: paularueda@gmail.com
 Bogotá D.C, Colombia.

REPORTE 2012-03

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

TIPO DE PRODUCTO:	Suelos	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	M01 a 20 (20 muestras)
LUGAR DE MUESTREO:	No reporta	MUESTREADO POR:	No reporta
MASA DE LA MUESTRA:	No reporta	NÚMERO DE UNIDADES:	
FECHA DE RECEPCIÓN:	2012-06-06		
OBSERVACIONES:	20 Muestras Tamizadas		
CÓDIGO DE LABORATORIO:	2012 MS001-2012MS0020		
FECHA DE ANÁLISIS:	2012-07-10	FECHA DE EMISIÓN:	2012-07-13

RESULTADOS ANÁLISIS DE RESIDUOS

INDETIFICACION DE LA MUESTRA	COMPUESTO/ RESULTADO	Unidad de concentración	LD (mg kg ⁻¹)	LC (mg kg ⁻¹)	LMR (mg kg ⁻¹)	% Recuperación
MS01 - Suelo sin Contaminación S0	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS02 - Suelo Contaminado S1	Cimoxanil	mg kg ⁻¹	0.046	0.152	No aplica	92.5
	Carbofuran	mg kg ⁻¹	0.002	0.006	No aplica	95.3
MS03 - Semana 10 T1	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS04 - Semana 10 T2	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS05 - Semana 10 T3	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS06 - Semana 10 T4	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS07 - Semana Blanco	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS08 - Semana 10 C1	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS09 - Semana 10 C2	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS10 - Semana 10 C3	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS11 - Semana 10 C4	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS12 - Semana 16 T1	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS13 - Semana 16 T2	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS14 - Semana 16 T3	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS15 - Semana 16 T4	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS16 - Semana 16 Blanco	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS17 - Semana 16 C1	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS18 - Semana 16 C2	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS19 - Semana 16 C3	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-
MS20 - Semana 16 C4	No detectado	mg kg ⁻¹	-	-	-	-

REPORTE 2012-03

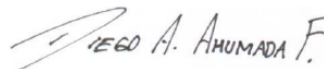
PLAGUICIDAS ANALIZADOS E INFORMACIÓN ANALÍTICA							
COMPUESTO	Límite de Detección (mg kg ⁻¹)	Límite de Cuantificación (mg kg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	COMPUESTO	Límite de Detección (mg kg ⁻¹)	Límite de Cuantificación (mg kg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación
Carbendazin	0.001	0.003	109.1	Cymoxanil	0.046	0.152	92.5
Carbofuran	0.002	0.005	95.3	Tebuconzol	0.026	0.120	95.4

OBSERVACIONES.

1. Los resultados reportados se limitan a las muestras recibidas en el laboratorio.
2. Este reporte no puede ser reproducido total ni parcialmente sin la autorización por escrito de la dirección.
3. Este es un documento confidencial para uso exclusivo del cliente.
4. Los plaguicidas detectados (reportados como <LC) presentan relación señal ruido superior a 3.
5. El laboratorio no presta servicio de muestreo. La información de muestreo es suministrada por el cliente.
6. La muestra analizada se mantendrá por un periodo de 30 días después de la fecha de emisión de este reporte. Posterior a este tiempo será desechada.
7. Método de análisis empleado: POE-A04: Análisis de residuos de plaguicidas en suelos por UFLC-MS.
8. LC y LD hacen referencia al límite de cuantificación de la metodología, respectivamente.



Química Adriana Mireya Zamudio S.
Jefe de Laboratorio



Químico MSc. Diego Alejandro Ahumada F.
Analista

Anexo 2. Informe de resultados de análisis de agroquímicos en tejidos vegetales por cromatografía líquida del Laboratorio de Inocuidad de Química del Centro de Bio-Sistemas de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.



Datos Cliente:
Paula Rueda
Universidad Jorge Tadeo Lozano
Carrera 4 No. 22-61
2427030
e-mail: paularueda@gmail.com
Bogotá D.C, Colombia.

REPORTE 2012-04

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA			
TIPO DE PRODUCTO:	Suelos	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	IQ-02 3 a 24
LUGAR DE MUESTREO:	No reporta	MUESTREO POR:	No reporta
MASA DE LA MUESTRA:	No aplica	NÚMERO DE UNIDADES:	22
FECHA DE RECEPCIÓN:	2012-06-29		
OBSERVACIONES:	21 viales para análisis cromatográfico Una (1) muestra de raíces con código C1 RAICES		
CÓDIGO DE LABORATORIO:	2012 IQ-02 003 - 2012 IQ-02 024		
FECHA DE ANÁLISIS:	2012-08-16	FECHA DE EMISIÓN:	2012-08-17

RESULTADOS ANÁLISIS DE RESIDUOS							
MUESTRA	COMPUESTO/ RESULTADO	CANTIDAD	Unidad de concentración	LD (mg kg ⁻¹)	LC (mg kg ⁻¹)	LMR (mg kg ⁻¹)	CÓDIGO DEL CLIENTE
IQ-02-03	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T1 HOJA
IQ-02-04	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T2 HOJA
IQ-02-05	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T3 HOJA
IQ-02-06	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T4 HOJA
IQ-02-07	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C1 HOJA
IQ-02-08	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C2 HOJA
IQ-02-09	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C3 HOJA
IQ-02-10	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C4 HOJA
IQ-02-11	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T1 RAIZ
IQ-02-12	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T2 RAIZ
IQ-02-13	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T3 RAIZ
IQ-02-14	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T4 RAIZ
IQ-02-15	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C2 RAIZ
IQ-02-16	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C3 RAIZ
IQ-02-16	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C4 RAIZ
IQ-02-18	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T2 FLOR
IQ-02-19	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C2 FLOR
IQ-02-20	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T4 SEMILLA

RESULTADOS ANÁLISIS DE RESIDUOS

MUESTRA	COMPUESTO/ RESULTADO	CANTIDAD	Unidad de concentración	LD (mg kg ⁻¹)	LC (mg kg ⁻¹)	LMR (mg kg ⁻¹)	CODIGO DEL CLIENTE
IQ-02-21	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C4 SEMILLA
IQ-02-22	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	T4 TUBERCULOS
IQ-02-23	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C4 TUBERCULOS
IQ-02-24	No detectado	-	mg kg ⁻¹	-	-	-	C1 RAJCES

REPORTE 2012-04

PLAGUICIDAS ANALIZADOS E INFORMACIÓN ANALÍTICA*

COMPUESTO	Límite de Detección (mg kg ⁻¹)	Límite de Cuantificación (mg kg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	COMPUESTO	Límite de Detección (mg kg ⁻¹)	Límite de Cuantificación (mg kg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación
Carbendazín	0.003	0.013	109.1	Cymoxanil	0.046	0.400	92.5
Carbofuran	0.008	0.014	95.3				

* Aplica únicamente para la muestra IQ-02-24

Límites de detección instrumentales**

COMPUESTO	Límite de Detección (ug mL ⁻¹)
Carbendazín	0.004
Carbofuran	0.005
cimoxanil	0.050

**Aplica a las muestras IQ-02-03 a IQ-02-23

OBSERVACIONES.

- Los resultados reportados se limitan a las muestras recibidas en el laboratorio.
- Este reporte no puede ser reproducido total ni parcialmente sin la autorización por escrito de la dirección.
- Este es un documento confidencial para uso exclusivo del cliente.
- Los plaguicidas detectados (reportados como <LC) presentan relación señal ruido superior a 3.
- El laboratorio no presta servicio de muestreo. La información de muestreo es suministrada por el cliente.
- La muestra analizada se mantendrá por un periodo de 30 días después de la fecha de emisión de este reporte. Posterior a este tiempo será desechada.
- Método de análisis empleado para la muestra IQ-024: P08-A01: Análisis de residuos de plaguicidas en material vegetal por UFLC-MS.
- LC y LD hacen referencia al límite de cuantificación de la metodología, respectivamente.

Química Adriana Mireya Zamudio S.
Jefe de Laboratorio

Químico MSc. Diego Alejandro Ahumada F.
Analista