

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA  
FACULTAD DE CIENCIAS**



**“AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE MICROORGANISMOS  
NATIVOS COMO BIORREMEDADORES DE SUELOS  
CONTAMINADOS CON CHLORPYRIFOS EN LA UNIVERSIDAD  
NACIONAL AGRARIA LA MOLINA”**

Presentada por:

**María Pía Cedrón Tello  
María Luisa Lecaros García**

Trabajo Académico para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO**

Lima – Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE MICROORGANISMOS  
NATIVOS COMO BIORREMEDIADORES DE SUELOS  
CONTAMINADOS CON CHLORPYRIFOS EN LA UNIVERSIDAD  
NACIONAL AGRARIA LA MOLINA”**

Presentada por:

**María Pía Cedrón Tello**

**María Luisa Lecaros García**

Trabajo Académico para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

---

Mg. Sc. Víctor Miyashiro Kiyam  
PRESIDENTE

---

Ph.D. Lisveth Flores del Pino  
MIEMBRO

---

Biol. Roberto Ramos Chaupin  
MIEMBRO

---

Biol. Juan Juscamaita Morales  
ASESOR

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, queremos agradecer a nuestros padres, familiares y amigos más cercanos por su constante apoyo durante el desarrollo de este trabajo y a lo largo de nuestra formación profesional; ellos son parte importante del logro de nuestros objetivos académicos.

En segundo lugar, estamos muy agradecidas con el permanente soporte de nuestro profesor y asesor Juan Juscamaita Morales, quien nos ayudó a plasmar mejor nuestros objetivos y nos encaminó durante el proceso de investigación.

En tercer lugar, consideramos muy importante mencionar el gran apoyo del señor Eberth Adelmo Vicente Armas, responsable del laboratorio B2 de la universidad, en donde desarrollamos todos los estudios y quién estuvo a nuestra disposición con toda la logística que necesitamos para el presente trabajo.

Y finalmente, también queremos reconocer la colaboración de los alumnos del curso de biología experimental: Franz Deyvis Tucta Huillca, Evelyn Michelle Quispe Rivera, Christian Rodrigo Eguizabal Marticorena y Grecia Torres Ccasani, quienes nos ayudaron mucho con algunos procedimientos, así como con la supervisión del estudio.

# ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1	Plaguicidas .....	4
2.1.1	Definición.....	4
2.1.2	Clasificación .....	4
2.1.3	Efectos del uso intensivo de los plaguicidas .....	5
2.1.4	Dinámica de los plaguicidas .....	8
2.1.5	Características del plaguicida evaluado.....	9
2.2	Biorremediación.....	27
2.2.1	Definición y características .....	27
2.2.2	Tipos de biorremediación .....	28
2.2.3	Bioquímica de la biorremediación.....	30
2.2.4	Beneficios e importancia de la biorremediación .....	31
2.2.5	Criterios a tener en cuenta para la aplicación de la biorremediación .....	32
2.2.6	Respiración y crecimiento microbiano como medida de la degradación de clorpirifos.....	32
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.1	Muestreo del suelo para su caracterización fisicoquímica y microbiológica .....	35
3.2	Aplicación de clorpirifos en el suelo y obtención de la muestra a trabajar .....	36
3.3	Aislamiento de microorganismos con potencial de degradación de clorpirifos ...	36
3.4	Pruebas de biodegradación de clorpirifos .....	37
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
4.1	Características fisicoquímicas del suelo estudiado. ....	40
4.2	Caracterización microbiológica del suelo estudiado.....	41
4.3	Aislamiento y selección de microorganismos tolerantes a clorpirifos.....	42
4.4	Evaluación de la degradación de clorpirifos .....	49

4.4.1	Por crecimiento microbiano.....	49
4.4.2	Por respiración microbiana.....	56
V.	CONCLUSIONES.....	65
VI.	RECOMENDACIONES .....	67
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	68
VIII.	ANEXOS .....	77

## INDÍCE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de la solubilidad de los plaguicidas en agua.....	12
Tabla 2: Criterios de adsorción de los pesticidas de acuerdo a FAO.....	13
Tabla 3: Clasificación de la movilidad en suelo basada en valores Koc.....	14
Tabla 4: Criterios de valoración, umbrales y categorías usadas para evaluar el potencial de bioacumulación en químicos.....	18
Tabla 5: Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su peligrosidad.....	20
Tabla 6: Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su persistencia.....	22
Tabla 7: Resumen de los valores que indican el potencial contaminante de clorpirifos así como su potencial toxicológico.....	23
Tabla 8: Cantidad de repeticiones (frascos) para cada tipo de muestra y ensayo.....	39
Tabla 9: Caracterización del suelo del campo de experimentación CIRGEBB.....	40
Tabla 10: Análisis microbiológico del suelo del campo de experimentación CIRGEBB.....	42
Tabla 11: Morfotipos bacterianos aislados del suelo del campo de experimentación CIRGEBB.....	43
Tabla 12: Hongos aislados del suelo del campo de experimentación CIRGEBB.....	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Destino de un plaguicida aplicado por avión.....	8
Figura 2: Estructura química de clorpirifos.....	9
Figura 3: Resumen de la significancia de la constante de Henry.....	16
Figura 4: Clasificación de las técnicas de remediación biológica.....	30
Figura 5: Curvas del comportamiento del conteo en cámara Neubauer de los tratamientos correspondientes al consorcio bacteriano.....	48
Figura 6: Evolución del crecimiento en placa de muestras bacterianas.....	50
Figura 7: Curva del comportamiento del conteo en cámara Neubauer de los tratamientos correspondientes al consorcio fúngico.....	53
Figura 8: Evolución del crecimiento de muestras fúngicas en placas Petri.....	54
Figura 9: Curva de cuantificación de mg de C-CO <sub>2</sub> producido durante la respiración bacteriana mediante el método de titulación.....	56
Figura 10: Curva de cuantificación de mg de C-CO <sub>2</sub> producido durante la respiración fúngica mediante el método de titulación.....	58
Figura 11: Curva de cuantificación de O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> producido durante la respiración bacteriana medida con el analizador de gases <i>Oxybaby</i> ® 6.0 .....	60
Figura 12: Curva de cuantificación de O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> producido durante la respiración fúngica medida con el analizador de gases <i>Oxybaby</i> ® 6.0 .....	63

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Medios de cultivo.....	77
Anexo 2: Hoja de Seguridad de Materiales de Lorsban 4E.....	79
Anexo 3: Análisis de suelo – caracterización.....	98
Anexo 4: Análisis microbiológico del suelo.....	99
Anexo 5: Identificación de hongos.....	100
Anexo 6: Registro fotográfico.....	101

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar si los microorganismos presentes en los suelos del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina son capaces de utilizar clorpirifos como fuente de carbono, energía u otros nutrientes, se aislaron colonias bacterianas y fúngicas con potencial capacidad biodegradadora del ingrediente activo en estudio a concentraciones baja, media y alta.

Un total de doce bacterias y tres hongos aislados fueron incubados durante 14 días en medio mínimo de sales minerales con clorpirifos como única fuente de carbono, periodo en el cual se evaluó su respiración a través de la medición de CO<sub>2</sub> desprendido como producto de la mineralización de carbono, de acuerdo al método de titulación descrito por Anderson (1982) para determinar la actividad microbiana. Para la medición de la respiración microbiana también se utilizó el analizador de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> *Oxybaby*® 6.0 y se compararon ambos resultados.

Paralelamente, durante el mismo periodo de incubación, se analizó el crecimiento de los microorganismos aislados mediante recuento en cámara Neubauer y cultivo en placa con agar nutritivo y en agar Sabouraud, para bacterias y hongos respectivamente, como medida indirecta de la degradación de clorpirifos como única fuente de carbono.

Es así que a través de la respiración microbiana y del crecimiento microbiano se evaluó la potencial capacidad biorremediadora de los microorganismos aislados sobre clorpirifos, la cual constituye una alternativa viable para la recuperación de suelos agrícolas contaminados con este pesticida organofosforado.

Palabras claves: clorpirifos, degradación, respiración microbiana, suelo, biorremediación.

## ABSTRACT

In order to evaluate if the microorganisms present on the campus of the Universidad Nacional Agraria La Molina are able to use chlorpyrifos as a source of carbon, energy or other nutrients, bacterial and fungal colonies with potential biodegradation capacity of the active ingredient under study were isolated at low, medium and high concentrations.

A total of twelve bacteria and three fungal isolates were incubated on mineral salt medium spiked with chlorpyrifos as the sole carbon source during fourteen days, period in which their respiration was evaluated through the measurement of CO<sub>2</sub> evolved as a result of the carbon mineralization, according to the titration method described by Anderson (1982) to determine the microbial activity. For the measurement of bacterial respiration, the O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> analyzer *Oxybaby*® 6.0 was also used and at the end both results were compared.

During the same incubation period, the microbial growth was analyzed by cell counting with Neubauer chamber and culture in plates with nutritive and Sabouraud agar, for bacteria and fungi respectively, as an indirect measure of the degradation of chlorpyrifos as the only carbon source.

Thus, through microbial respiration and microbial growth, the potential bioremediation capacity of the isolated microorganisms over chlorpyrifos was evaluated, establishing a viable alternative for the recovery of agricultural soils contaminated with this organophosphorus pesticide.

Key words: chlorpyrifos, degradation, microbial respiration, soil, bioremediation.

## I. INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las principales actividades productivas que se desarrollan en el Perú y en el mundo desde hace miles de años. Esta, se ve afectada por la presencia de diversas plagas y enfermedades que atacan los cultivos, resultando en pérdidas de las cosechas y en toda la inversión que estas conllevan. Para hacer frente a estas plagas, se empezaron a sintetizar y a emplear plaguicidas o pesticidas que ayudan a controlarlas o eliminarlas.

Los pesticidas sintéticos cuya efectividad es demostrada, son producidos en cantidades masivas desde su introducción como control químico de plagas, entre finales de los años 30 e inicios de los años 40, y esta producción ha ido en aumento considerablemente a través de los años. “Desde el inicio de la revolución industrial se estiman en más de 120,000 las sustancias químicas de nueva síntesis y los subproductos derivados de estas, producidos por la actividad humana, censo que incrementa día a día y que parece no tener fin si se considera que se incorporan a la lista cerca de 2000 nuevos compuestos cada año” (Olea y Fernández, 2001).

Actualmente existen alrededor de 100 diferentes ingredientes activos destinados a la fabricación de pesticidas y aproximadamente más de 2 014 pesticidas formulados (productos registrados en SENASA hasta julio de 2017) en el Perú, entre los cuales se encuentran registrados 85 productos con el ingrediente activo clorpirifos. Según el SIGIA – SENASA, para la primera mitad del año 2011, la importación de productos formulados a base de únicamente clorpirifos fue de 35 173 kilogramos y 6 736 litros; de 2 340 litros en mezcla con otros ingredientes activos y de 96 700 kilogramos como material técnico (ingrediente activo puro). A pesar de que muchos de los plaguicidas

usados dentro del territorio nacional actualmente han sido prohibidos en otros países por su toxicidad; el número de plaguicidas registrados, importados, formulados y comercializados se incrementa cada año. Esto ha permitido que el número de productos que entran en contacto con la población y el ambiente, se incremente día a día.

Cada plaguicida contiene uno o más ingredientes activos registrados para su uso en la agricultura, eso sin contar aquellos que se importan para uso particular sin necesidad de un registro y aquellos que se expenden sin ningún control de parte de la autoridad nacional, el Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA.

“El uso intensivo de pesticidas ha generado a lo largo de los años problemas en los sistemas biológicos y el ambiente en su entorno” (Kanekar *et al.*, 2004). Algunos de sus ingredientes activos son muy persistentes, poco solubles en agua y muy tóxicos, e incluso han sido reportadas “sus propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas” (Hayes, 1991, citado por Kalwasinska, 2008); así como el daño que ocasionan al sistema inmune (Culliney *et al.*, 1992, citado por Kalwasinska, 2008), nervioso y/o al sistema endocrino (LeBlanc, 1995; Perreault *et al.*, 1992; Nakai *et al.*, 1993; Sarrif *et al.*, 1994; citado por Kalwasinska, 2008).

“Uno de los grupos de pesticidas más utilizados es el grupo de los organofosforados, el cual representa más del 36 por ciento del mercado mundial total” (Kanekar *et al.*, 2004). Estos se desarrollaron en Alemania durante la segunda guerra mundial en la forma de tetraetil pirofosfato (TEPP), un subproducto en el desarrollo del gas nervioso.

El ingrediente activo en estudio, clorpirifos (clorpirifos según registros del SIGIA – SENASA 2016, también conocido como clorpirifos), es un insecticida no sistémico que pertenece al grupo de los organofosforados. Según EXTTOXNET (1993), fue sintetizado a partir del año 1965 y actúa en los insectos como inhibidor de la colinesterasa con acción de contacto, estomacal y respiratoria. Se usa en la agricultura, horticultura, viticultura y silvicultura en un amplio rango de cultivos para el control de coleópteros, dípteros, homópteros y lepidópteros, aplicado tanto al follaje como al suelo.

Para EFSA (2005), clorpirifos tiene la característica de ser persistente en suelo con una vida media de 120 días y está categorizado como moderadamente tóxico (banda toxicológica amarilla) de acuerdo a su dosis letal oral media en ratas (LD50 oral = 66-195 mg/kg pc), no es irritante para la piel, para los ojos ni es sensibilizante.

Por otro lado, con respecto a la biorremediación se estima que es una tecnología que “ha crecido rápidamente hasta convertirse en una tecnología aceptada para el tratamiento y control de una gran variedad de casos de contaminación con sustancias químicas peligrosas. La base de su crecimiento radica en su menor costo, comparado con el de otras técnicas como incineración o confinamiento. Además del beneficio económico, presenta la ventaja de degradar la mayor parte de la materia orgánica, minimizando los efectos patógenos sobre la salud y las complicaciones legales que pueden generarse cuando un contaminante es removido, pero no eliminado” (Álvarez y Guevara, 2003).

Debido al aumento progresivo en el uso de pesticidas, a que el mercado de agroquímicos es de gran interés mundial ya que, en términos de valor, se proyecta que alcance \$ 250,5 billones para el año 2020 (Markets y Markets, 2015) y al hecho de que van a seguir usándose en todo el mundo ya que son necesarios pues la población mundial crece a tasas exponenciales y aún no se han planteado alternativas que iguallen su nivel de uso y que sean económicamente viables, la biorremediación se presenta como una buena opción para el tratamiento y la degradación de estas moléculas en el suelo ya que los microorganismos son capaces de utilizar, en su metabolismo, numerosos compuestos; mineralizándolos y detoxificando (Kanekar *et al.*, 2004).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 PLAGUICIDAS

#### 2.1.1 DEFINICIÓN

Según la FAO (2006), un pesticida o plaguicida es “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos e incluyendo reguladores de crecimiento y sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte”.

#### 2.1.2 CLASIFICACIÓN

Los plaguicidas pueden clasificarse siguiendo diferentes criterios:

*De acuerdo a su organismo objetivo:* insecticidas, fungicidas, acaricidas, bactericidas, nematocidas, herbicidas, rodenticidas o molusquicidas.

*De acuerdo al grupo químico del principio activo:* Compuestos organofosforados, compuestos carbamatos, compuestos organoclorados,

piretroides, derivados del bupiridilo, triazinas, tiocarbamatos, derivados del ácido fenoxiacético, derivados de la cumarina, derivados del cloronitrofenol, compuestos organomercuriales, entre otros.

*De acuerdo a su toxicidad aguda (OMS):* Esta se basa principalmente en la toxicidad por vía oral y dérmica en ratas y ratones. Usualmente la dosis se registra como el valor DL50 (Dosis Letal Media) que es la dosis requerida para matar al 50 por ciento de la población de animales de prueba y se expresa en términos de mg/kg de peso del cuerpo del animal.

### **2.1.3 EFECTOS DEL USO INTENSIVO DE LOS PLAGUICIDAS**

#### **a. Efectos en el suelo**

Contaminación del suelo: Los pesticidas entran en el suelo a través de la deriva de pulverización durante el tratamiento del follaje, el lavado del follaje tratado, la liberación de productos granulados o de semillas tratadas en el suelo. Algunos pesticidas tales como fumigantes del suelo y nematicidas se aplican directamente en el suelo para controlar las plagas y enfermedades de las plantas que se presentan en el suelo.

“El transporte, la persistencia o la degradación de los plaguicidas en el suelo dependen de sus propiedades químicas, así como características físicas, químicas y biológicas del suelo. Todos estos factores afectan la adsorción / desorción, volatilización, la degradación, la absorción por las plantas, la escorrentía y la lixiviación de pesticidas” (PAN Europe, 2010).

#### **b. Efectos en el agua**

Contaminación del agua: Los pesticidas pueden entrar en el agua a través de la deriva durante la fumigación con estos, por la escorrentía de la zona tratada o lixiviación a través del suelo. En algunos casos los plaguicidas se pueden aplicar directamente sobre la superficie del agua, por ejemplo, para el control de

mosquitos. “La contaminación del agua depende principalmente de la naturaleza de los pesticidas (solubilidad en agua, hidrofobia), las propiedades del suelo, condiciones climáticas, el paisaje y también en la distancia de un punto de aplicación a una fuente de agua. El transporte rápido a las aguas subterráneas puede ser causado por las fuertes lluvias en breve después de la aplicación del plaguicida a suelos húmedos” (PAN Europe, 2010).

c. Efectos en los microorganismos

Los microorganismos del suelo son “esenciales para el mantenimiento de la estructura del suelo, la transformación y la mineralización de la materia orgánica, haciendo que los nutrientes estén disponibles para las plantas. Los microorganismos del suelo también son capaces de metabolizar y degradar una gran cantidad de contaminantes y pesticidas y por lo tanto su uso en la biotecnología es causa de interés” (PAN Europe, 2010).

“Los microorganismos son vitales para la fertilidad del suelo y para la degradación de materia orgánica y contaminantes en el suelo” (Liebich *et al.*, 2003).

Los pesticidas causan efectos adversos en la microbiota del suelo. Entre algunos casos tenemos, por ejemplo, fungicidas como penconazole, que resultó ser tóxico para los hongos naturales y actinomicetos presentes en el suelo que incluso tuvieron una pequeña significancia ecológica (Liebich *et al.*, 2003), mientras que Kinney *et al.*, 2005; demostraron que los pesticidas clorotalonil y carbendazim también son tóxicos que intervienen en los procesos bacterianos de nitrificación y desnitrificación y en el año 2009, Lang & Cai demostraron que el uso de pesticidas puede “influir la producción y el flujo neto de trazas de gases radioactivos de importancia ambiental” y que los pesticidas mancozeb, clorotalonil y prosulfuron inhiben la producción de  $N_2O$  y  $NO$  producido por los procesos de nitrificación y desnitrificación.

En general, los pesticidas no solo interactúan con la enfermedad, plaga o maleza objetivo sino también con el ecosistema alrededor de su aplicación, perjudicando

organismos no blanco, como las abejas, invertebrados como los gusanos de tierra, arañas, micro-artrópodos, entre otros.

Por otro lado, los plaguicidas pueden llegar a fuentes de agua a través de la deriva o la escorrentía. La mayoría de plaguicidas son tóxicos para organismos acuáticos ya que estos ecosistemas son más susceptibles al daño y a los cambios en los estados de su biodiversidad (PAN Europe, 2010).

#### d. Efectos en los humanos

En el año 2009, la EPA sostuvo que se reportaron 126 incidentes de toxicidad aguda en los cuales estuvo involucrado clorpirifos entre 2002 y 2009, con más de 150 personas afectadas los cuales al menos 17 de eran niños.

La estadística es variada pero varios estudios recientes indican que clorpirifos es mutagénico o tiene toxicidad genética en seres humanos, ratas, ratones, hámster chino, renacuajos, peces, mosca de la fruta y células de la mosca. Con respecto a sus efectos carcinogénicos, no hay estudios específicos que indiquen que el ingrediente activo ha causado cáncer, sin embargo, hay una cantidad importante de estudios epidemiológicos que indican una asociación entre exposición a clorpirifos y cáncer, especialmente a pulmón y cáncer rectal (Watts, 2012).

Por otro lado, se sospecha que es un disruptor endocrino, está categorizado como un tóxico agudo moderado, está clasificado como un sensibilizante a la piel y un neurotóxico (PAN Pesticide Database, 2016; Pesticide Properties Database, 2016).

Finalmente, de acuerdo a información de la Extension Toxicology Network (EXTOXNET, 1993), un proyecto de las Universidades de Cornell, Michigan, Oregon y California, señala que “los pesticidas organofosforados (grupo en el que se encuentra el Clorpirifos) incluyen algunos de los pesticidas más tóxicos y pueden ingresar al cuerpo humano a través de absorción por la piel, inhalación e ingestión y que pueden afectar la actividad de la colinesterasa en glóbulos rojos y plasma”.

## 2.1.4 DINÁMICA DE LOS PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son aplicados a los cultivos de diferentes maneras, dependiendo del tipo de cultivo, tipo de formulación y de las hectáreas a tratar. Por lo general, las formulaciones líquidas o que se disuelven en agua se aplican a través de aspersión con una mochila manual en el caso de áreas pequeñas o con máquinas pulverizadoras hidráulicas o vía riego para áreas de mayor cobertura. En todos estos casos, el plaguicida aplicado no llega a la plaga a tratar en un 100 por ciento.

A continuación, en la figura 1 se puede observar la pérdida del plaguicida luego de ser aplicado al cultivo, los porcentajes que se desperdician y su destino en el ambiente, a lo cual llamaremos dinámica de un plaguicida.



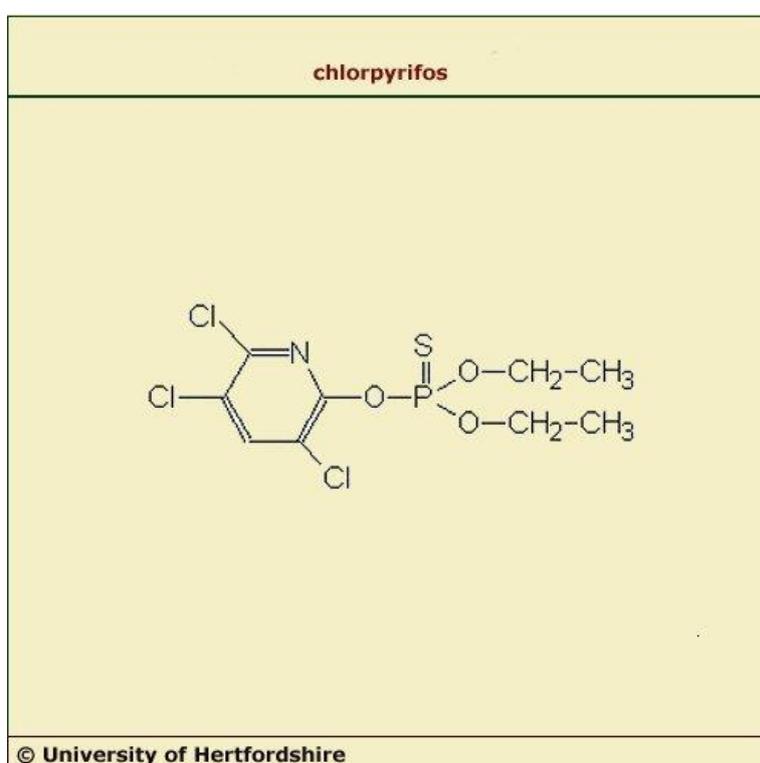
**Figura 1: Destino de un plaguicida aplicado por avión. Tomado del Curso Gestión de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (SENASA – CAFAE), 2013.**

Como podemos ver en la figura 1, la cantidad del plaguicida que llega de manera efectiva a la plaga objetivo es menor al 1 por ciento, mientras que el 99 por

ciento restante puede tener diversos destinos en el suelo, aire y agua. Este fue un criterio importante al elegir la dosis a evaluar en suelo.

### 2.1.5 CARACTERÍSTICAS DEL PLAGUICIDA EVALUADO

Clorpirifos es un ingrediente activo que pertenece a la familia química de los organofosforados y es utilizado en un amplio espectro de cultivos como insecticida, nematocida o acaricida. Físicamente es un sólido blanco cristalino con un ligero olor a mercaptan similar al olor de compuestos azufrados.



**Figura 2: Estructura química de clorpirifos. Tomado de PPDB, 2016.**

Clorpirifos es usado en cultivos alimenticios y forrajeros y para controlar plagas públicas como mosquitos y hormigas.

Su modo de acción es a través del contacto con los insectos objetivo, afectando el normal funcionamiento del sistema nervioso al inhibir la degradación de la acetilcolina (ACh), un importante neurotransmisor. Cuando el insecto es expuesto a Clorpirifos, éste se une al sitio activo de la enzima colinesterasa (AChE) previniendo la ruptura de ACh. La acumulación de ACh causa la

sobrestimulación de las neuronas lo cual conduce a neurotoxicidad y la eventual muerte del insecto.

De acuerdo a Dow AgroSciences (2013), esta reacción es también el mecanismo por el cual altos niveles de organofosforados pueden producir efectos tóxicos en mamíferos.

En humanos y otros mamíferos, la acumulación de acetilcolina resulta en respuestas colinérgicas en el sistema nervioso central y periférico. Estas respuestas observadas incluyen secreciones glandulares excesivas (salivación, lagrimeo, rinitis), miosis (contracción de la pupila), broncoconstricción, vasodilatación, hipotensión, diarrea, náusea, vómitos, incontinencia urinaria y bradicardia asociada a la estimulación del receptor muscarínico. Taquicardia, midriasis (dilatación de la pupila), calambres, debilidad muscular, parálisis muscular e hipertensión asociada con la estimulación del receptor nicotínico. La toxicidad asociada al sistema nervioso central incluye depresión respiratoria, ansiedad, insomnio, dolor de cabeza, somnolencia, pérdida de la concentración, confusión, temblores, convulsiones y coma. Estos efectos usualmente aparecen dentro de los pocos minutos hasta 24 horas después de la exposición, dependiendo de la ruta de exposición (ATSDR, 1997).

Clorpirifos tiene la característica de ser persistente en suelo con una vida media de 74 días, tiene una baja solubilidad en agua (1,05 mg/L) pero se disuelve rápidamente en la mayoría de solventes orgánicos como el metanol o el xileno. Tiene un alto coeficiente de adsorción ( $K_{oc} = 8\ 151$  ppm), es estable bajo condiciones normales y está categorizado como moderadamente tóxico de acuerdo a su dosis letal media en ratas ( $LD_{50}$  oral = 66 - 195 mg/kg bw) (EFSA, 2005).

a. Características fisicoquímicas de clorpirifos

i. Solubilidad en agua

La solubilidad en agua de un plaguicida se refiere a la “máxima concentración del químico que se disuelve en una determinada cantidad de

agua pura y que usualmente se encuentra en un rango de 1 a 100 000 mg/L, en otras palabras, es la cantidad de plaguicida que puede disolverse en el agua. La solubilidad es muy importante al momento de entender la habilidad del contaminante para migrar en el ambiente” (ATSDR, 1993). “Las unidades de concentración son: mg por litro (mg/L), que es aproximadamente igual a una parte por millón (ppm) o un microgramo por litro ( $\mu\text{g/L}$ ), que es aproximadamente igual a una parte por billón (ppb)” (Linde, 1994).

Los plaguicidas con una solubilidad en agua mayor a 500 mg/L son muy móviles en suelo y otros elementos de los ecosistemas. Los plaguicidas con una solubilidad en agua mayor a 25 mg/L (generalmente los organofosforados) no son persistentes en organismos vivos. Los plaguicidas con una solubilidad en agua menor a 25 mg/L (organoclorados) suelen ser inmóviles en suelo y tienden a concentrarse en organismos vivos (Rivas Chávez, 2006).

Este parámetro determina la posibilidad de entrada de un plaguicida a través de las hojas de una planta. Mientras mayor sea la solubilidad de un agroquímico, más fácil será la penetración por la cutícula de la hoja, tendrá mayor movilización por la planta y baja capacidad de acumulación en el tejido graso. Si por el contrario es más soluble en aceites o grasas, el agroquímico será de difícil penetración por la cutícula de la hoja, se movilizará menos en la planta y tendrá una mayor capacidad de acumularse en el tejido graso de la planta.

Por otro lado, “si se conoce la solubilidad de un químico en agua, entonces se conoce la distribución de dicho químico en el ambiente y se pueden determinar sus posibles rutas de degradación en el ambiente. Los químicos con altas solubilidades permanecerán en el agua y tendrán tendencia a no ser adsorbidos por el suelo ni por organismos vivos” (Linde, 1994).

A continuación, se muestra la tabla 1, la cual contiene los criterios de solubilidad en agua de los pesticidas:

**Tabla 1: Clasificación de la solubilidad de los plaguicidas en agua.**

<b>CLASE</b>	<b>SOLUBILIDAD (mg/L)</b>
Baja solubilidad	$\leq 50$
Moderada solubilidad	50 – 100
Alta solubilidad	$>500$

**FUENTE: PPDB, 2016.**

También es importante señalar que la solubilidad en agua se encuentra en función a la temperatura. A medida que la temperatura incrementa, los químicos se convierten en más solubles (Linde, 1994).

El ingrediente activo clorpirifos tiene una solubilidad en agua a 20°C de 1,05 mg/L (EFSA, 2005); de acuerdo a este valor esta molécula se clasifica como **poco soluble en agua**, por lo que se puede deducir que tenderá a tener afinidad por el suelo, a acumularse en éste y también existe la probabilidad de que se sedimente.

ii. Peso molecular

“El peso molecular podría afectar solubilidad del agua pues moléculas de la misma polaridad, pero de diferente tamaño no tendrán la misma solubilidad. A medida que el tamaño incrementa, la solubilidad en agua disminuye” (Linde, 1994).

El ingrediente activo clorpirifos posee un peso molecular de 350,6 lo cual hace que este ingrediente activo sea difícil disolverse en agua por su gran tamaño.

### iii. Adsorción ( $K_{oc}$ )

El  $K_{oc}$  es una medida de la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido (retenido) por los suelos o sedimentos (PPDB, 2016).

El  $K_{oc}$  es específico para cada plaguicida y es independiente de las propiedades del suelo.

“Existen dos principales maneras a partir de las cuales los pesticidas pueden alcanzar las aguas superficiales y subterráneas: la escorrentía y la lixiviación. La escorrentía ocurrirá si el químico no se adsorbe al suelo. La lixiviación ocurrirá si el químico se absorbe débilmente al suelo y se puede mover fácilmente a través de este” (Linde, 1994).

De acuerdo a lo planteado anteriormente, mientras menor sea el valor  $K_{oc}$ , mayor es la concentración de pesticida en la solución. Es más probable que los pesticidas con un  $K_{oc}$  pequeño lixivien que aquellos pesticidas con un valor  $K_{oc}$  alto (Tabla 2).

Un  $K_{oc}$  alto indica que el compuesto orgánico se fija con firmeza a la materia orgánica en el suelo, por lo que se va poca cantidad del compuesto a las aguas superficiales o acuíferos. Un bajo  $K_{oc}$  sugiere la posibilidad de que el compuesto pueda ir a las aguas superficiales o acuíferos.

**Tabla 2: Criterios de adsorción de los pesticidas**

<b>K<sub>oc</sub> (ppm)</b>	<b>CLASE DE ADSORCIÓN</b>
Menor a 10	Muy débil
10 – 100	Débil
100 – 1 000	Moderada
1 000 – 10 000	Fuerte
10 000 – 100 000	Muy fuerte

**FUENTE: FAO, 2000.**

Por otro lado, el valor Log  $K_{oc}$  nos indica la movilidad del plaguicida en suelo (Tabla 3).

**Tabla 3: Clasificación de la movilidad en suelo basada en valores  $K_{oc}$ .**

<b><math>K_{oc}</math> (mL/g o L/Kg)</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>
<15	Muy móvil
15 – 75	Móvil
75 – 500	Moderadamente móvil
500 – 4000	Ligeramente móvil
>4000	Inmóvil

**FUENTE: PPDB, 2016.**

El ingrediente activo Clorpirifos tiene un coeficiente de adsorción ( $K_{oc}$ ) de 8151 ppm (EFSA, 2005). De acuerdo a este valor esta molécula se puede fijar en el suelo, sedimento, biota y materia orgánica, por lo que no existe riesgo de escorrentía o lixiviación y se puede clasificar como **inmóvil en suelo**.

#### iv. Volatilización

Para entender mejor este proceso de transporte se deben tener en cuenta otros dos factores interrelacionados a la volatilización:

##### Presión de vapor (Volatilidad)

“La presión de vapor se define como la presión que un químico en fase gaseosa ejerce sobre la superficie” o la presión en la que la fase líquida/vapor están en equilibrio dinámico. Esta superficie puede ser agua o suelo seco” (Linde, 1994). Es una medida de volatilidad de una sustancia química en estado puro y es un determinante importante de la velocidad de volatilización al aire. Esta medida representa la tendencia del plaguicida de pasar a la fase gaseosa y se describe en unidades de Pascales, mm Hg (milímetros de mercurio) o atm (atmósferas).

Los pesticidas que tienen altos valores de presión de vapor son más volátiles. Los vapores de dichos pesticidas pueden moverse lejos del lugar inicial de aplicación del pesticida y causar daños a las plantas susceptibles. “Los plaguicidas con una presión de vapor mayor a  $10^{-3}$  mm Hg a  $25^{\circ}\text{C}$  son volátiles, tienen alta movilidad y se dispersan en la atmósfera. Aquellos con una presión de vapor entre  $10^{-4}$  y  $10^{-6}$  mm Hg a  $25^{\circ}\text{C}$  son menos móviles. Los compuestos con presiones de vapor menor a  $10^{-7}$  son más persistentes en suelo y agua” (Rivas Chavez, 2006).

El ingrediente activo clorpirifos tiene una presión de vapor de  $3.35 \times 10^{-3}$  Pa a  $25^{\circ}\text{C}$ , por lo que se clasifica a este compuesto como **volátil** (EFSA, 2005), esto quiere decir que el clorpirifos puede dispersarse en un área considerable.

#### Constante de Henry

“La constante de Henry se define como la medida de la concentración de un químico en el aire con respecto a su concentración en agua, en otras palabras, viene a cuantificar la tendencia relativa de un compuesto a existir en forma de moléculas de vapor en contraposición a estar disuelto en agua. Un plaguicida con una constante de Henry alta se volatilizará a partir del agua hacia el aire y se distribuirá en un área grande. Los químicos con una baja constante de Henry tienden a persistir en el agua y pueden ser adsorbidos al suelo. La constante de Henry constituye una parte integral en el cálculo de la volatilidad de un químico” (Linde, 1994).

La constante de Henry se calcula con la siguiente fórmula:

$H' = \text{concentración en fase gaseosa} / \text{concentración en fase líquida}$   
(adimensional)

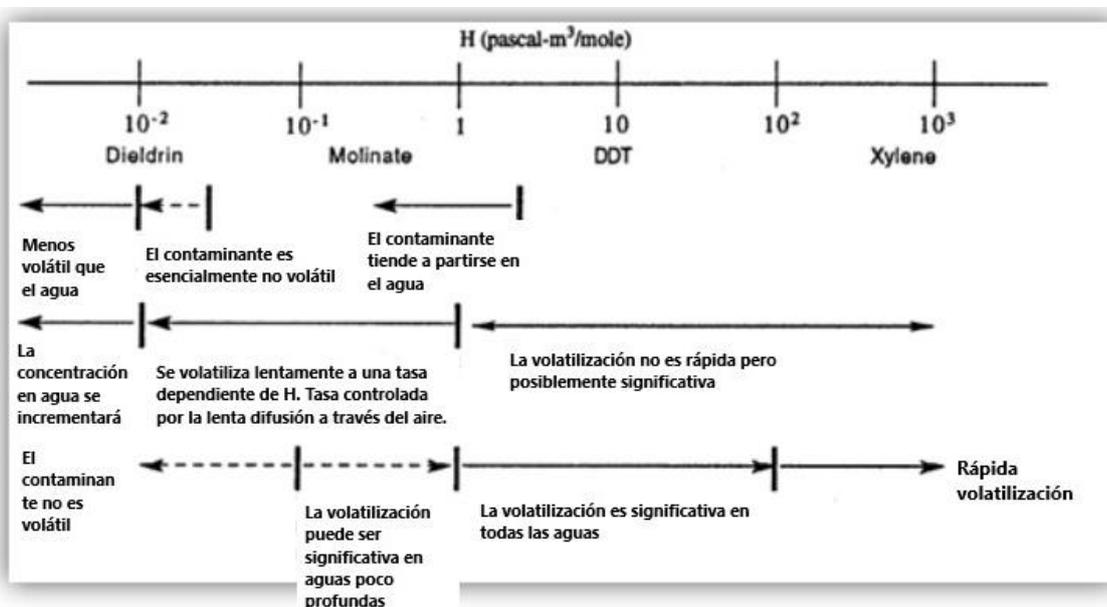
$H = \text{presión de vapor líquida} / \text{solubilidad química (Pa.m}^3/\text{mol)}$

Los químicos con un valor alto de constante de Henry tienden a volatilizarse a partir del agua y distribuirse en la atmósfera; es decir, mientras mayor la constante de Henry, mayor será la volatilidad. Un químico con una

constante de Henry baja tenderá a bioacumularse en agua y suelo, en lugar de volatilizarse.

Los químicos en aire pueden partirse (moverse) hacia gotas de agua en las nubes y la niebla. Si la constante de Henry es baja, cantidades considerables del químico volatilizado se disolverán en las gotas de agua y se transportarán a la superficie de la tierra a través de la lluvia (deposición húmeda) (Linde, 1994).

A continuación, se muestra una figura resumiendo la importancia del análisis de la constante de Henry en el estudio de los pesticidas:



**Figura 3: Resumen de la significancia de la constante de Henry. Tomado de Lyman, 1990, citado por Linde, 1994.**

El criterio para determinar la volatilidad de un ingrediente activo, de acuerdo a la PPDB es el siguiente:

Si  $< 2.5 \times 10^{-7}$  : NO VOLATIL

Si  $2.5 \times 10^{-7} - 2.5 \times 10^{-5}$  : MODERADAMENTE VOLÁTIL

Si  $> 2.5 \times 10^{-5}$  : VOLATIL

La constante de Henry de clorpirifos es  $0.478 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$  (EFSA, 2005), por lo que se concluye que este ingrediente activo es **volátil**.

Con el entendimiento previo de los conceptos de Presión de Vapor y Constante de Henry, se puede definir a la volatilización como la vía principal de transporte de los pesticidas a partir de la superficie del agua y la superficie del suelo (húmedo o seco) hacia la atmósfera. Un químico que es extremadamente volátil es motivo de preocupación ya que un pesticida transportado a través del aire puede propagarse rápidamente en un área amplia a través del viento. Un químico que no es volátil puede acumularse en la superficie del suelo o del agua y transportarse hacia aguas subterráneas.

En conclusión, clorpirifos es **volátil**, tiende a propagarse rápidamente en aire y **no se acumula** en la superficie del suelo o el agua.

v. Coeficiente de partición octanol/agua ( $K_{ow}$ )

Este coeficiente determina el nivel de sistemicidad del compuesto.

“El coeficiente de partición lípido/agua de una sustancia muestra cuánto de una sustancia se disuelve en agua y cuánto en lípido; este coeficiente de una manera indirecta proporciona información sobre la solubilización y distribución de una sustancia en un organismo vivo” (DNCA).

Es una ecuación matemática que relaciona en el numerador la afinidad del producto por las grasas o aceites y en el denominador la afinidad por el agua, en otras palabras, determina la constante de equilibrio en dos fases: agua (polar) y lipofílico (apolar). Cuando el valor de la fracción es 1, se puede señalar que el producto presenta una similar afinidad por las grasas o aceites y por el agua. Cuando el valor es mayor a 1, el producto incrementa su carácter liposoluble y cuando el valor está por debajo de 1, el producto presenta mayor carácter hidrosoluble.

“Este valor caracteriza la partición entre las fases hidrofílicas e hidrofóbicas en el ambiente y en el cuerpo humano” (Allen y Shonnard, 2002). Los compuestos con un valor de  $K_{ow}$  alto (es decir fácilmente solubles en octanol y menos solubles en agua) se acumulan en las porciones lipídicas de los organismos y tienden a concentrarse en suelos y sedimentos. Por el

contrario, los compuestos con bajos  $K_{ow}$  tienden a distribuirse en el agua o aire.

El ingrediente activo clorpirifos tiene un coeficiente de partición ( $\text{Log } K_{ow}$ ) de 4,7 a 20°C (EFSA, 2005); de acuerdo a este valor se deduce que la molécula presenta una similar afinidad por las grasas o aceites y por el agua y en consecuencia que es altamente sistémico. Por otro lado, se considera de importancia ambiental ya que al tener un valor mayor a 4 se puede deducir que **clorpirifos se puede adsorber en el suelo y en organismos vivos y tenderá a bioacumularse.**

**Tabla 4: Criterios de valoración, umbrales y categorías usadas para evaluar el potencial de bioacumulación en químicos.**

CRITERIO DE VALORACIÓN	UMBRAL	CATEGORÍA
Log $K_{ow}$	< 2	Bajo
	$\geq 5$	Muy alto
	< 4.5	Alto
	4-4.5	Moderado
BAF/BCF (Factor de Bioacumulación / Factor de Bioconcentración) (mg/L)	> 5000	Muy alto
	1000-5000	Alto
	$100 \leq 1000$	Moderado
	< 100	Bajo
	> 5000	Muy alto
	1000-5000	Alto

“...continuación”

BAF/BCF (Factor de Bioacumulación / Factor de Bioconcentración) (mg/L)	$500 \leq 1000$	Moderado
	$100 \leq 500$	Bajo
	$<100$	Muy bajo

**FUENTE: The National Academies Press: A Framework to Guide Selection of Chemical Alternatives, 2014.**

vi. Potencial de Hidrógeno (pH)

El pH es un parámetro que se refiere a la actividad de iones  $H^+$  en una solución a una temperatura determinada. Este parámetro se clasifica en ácido, básico o neutro y alcalino.

El pH del agua es un factor crítico en la efectividad de muchos plaguicidas. Muchos materiales trabajan mejor cuando son mezclados en agua ácida mientras que algunos otros trabajan mejor a pHs altos o neutros. Los plaguicidas como los organofosforados, piretroides sintéticos, carbamatos e hidrocarburos clorados, entre otros sufren hidrólisis que causa su degradación a pHs mayores a 7. Mientras más alcalina sea el agua, más rápida será la degradación del plaguicida.

Clorpirifos es estable en soluciones acuosas neutrales y ácidas; sin embargo, su estabilidad disminuye al aumentar el pH. Clorpirifos es menos persistente en suelos con pH alto.

El pH de una dispersión acuosa de clorpirifos al 1 por ciento debe estar entre 4,5 y 6,5 (FAO, 2015), el pH al cual es más estable es 5 (Deer y Beard, 2001) y el pH al cual se degrada mejor es 5,7 (Singh et al., 2004).

b. Propiedades toxicológicas de clorpirifos

La toxicidad de un plaguicida se define como “propiedad física o biológica que determina la capacidad de una sustancia química par causar perjuicio o producir daños a un organismo vivo por medios no mecánicos (FAO, 2006), en otras palabras, es la capacidad que tiene de afectar un organismo vivo.

Los organofosforados envenenan insectos y otros animales, incluyendo aves, anfibios y mamíferos, principalmente mediante la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en las terminaciones nerviosas. El resultado es la pérdida de AChE disponible, de manera que el órgano efector se sobre estimule por el exceso de acetilcolina (ACh, la sustancia transmisora de impulsos) en las terminaciones nerviosas. Esta enzima es crítica para el control normal de la transmisión desde las fibras nerviosas de las células del músculo esquelético y el músculo liso, las células secretoras y dentro del Sistema Nervioso Central (SNC).

De acuerdo a la información disponible de la Pesticide Action Network (PAN) el clorpirifos es un ingrediente activo clasificado como moderadamente tóxico, inhibidor de la colinesterasa, posible disruptor endocrino y se encuentra en la lista “PAN Bad Actor Chemical” por poseer estas características (PAN Pesticide Database, 2016).

Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda una clasificación de acuerdo a su peligrosidad, como se encuentra en la siguiente tabla:

**Tabla 5: Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su peligrosidad.**

CLASE	ORAL		DÉRMICA	
	SÓLIDOS*	LÍQUIDOS*	SÓLIDOS*	LÍQUIDOS*
Ia Extremadamente peligrosos	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib Altamente peligrosos	5 a 50	20-200	10-100	40-400

“...continuación”

CLASE	ORAL		DÉRMICA	
	SÓLIDOS*	LÍQUIDOS*	SÓLIDOS*	LÍQUIDOS*
II Moderadamente peligrosos	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III Ligeramente peligroso	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 1000
*Estado físico del ingrediente o formulación que se clasifica				

**FUENTE: OMS, 1980.**

De acuerdo a esta clasificación, con una toxicidad aguda oral LD50 entre 118 a 245 mg/kg en ratas (INCHEM, 1972) y una toxicidad dérmica aguda LD50 >2000 mg/kg también en ratas, clorpirifos pertenece a la clase de pesticidas II “**moderadamente peligroso**”.

c. Propiedades ecotoxicológicas de clorpirifos

Como un insecticida de amplio espectro, clorpirifos es altamente tóxico a un amplio rango de insectos, incluyendo especies benéficas como abejas, mariquitas y avispas. Su alta toxicidad también es evidente en artrópodos acuáticos, tanto en estudios de campo como de laboratorio. También es muy tóxico en peces, llegando a matarlos incluso a concentraciones tan bajas como unas cuantas partes por trillón, reduciendo su crecimiento o desarrollando un crecimiento anormal, y de menor toxicidad en invertebrados acuáticos. Clorpirifos tiende a bioconcentrarse en diversos tipos de organismos acuáticos. Es ligera a moderadamente tóxico en mamíferos bajo condiciones de exposición aguda y tiene una toxicidad relativamente baja en comparación con otros insecticidas organofosforados. Las aves son más sensibles con una toxicidad alta a muy alta. Algunos efectos observados debido a la exposición de clorpirifos, además de la muerte en aves, son la reducción en la ganancia de peso y deformidades en las crías (NRA, 2000; Cox, 1994).

“Si un ecosistema completo es expuesto a clorpirifos, el resultado puede ser un cambio significativo en la abundancia de especies, incluso en aquellas no matadas directamente por clorpirifos” (Cox, 1994).

d. Persistencia de clorpirifos

Se define como la capacidad de cualquier plaguicida para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio en el cual es transportado o distribuido, durante un período limitado después de su emisión, en otras palabras, se refiere al tiempo de actividad del plaguicida en determinado medio. Los plaguicidas que persisten más tiempo en el ambiente tienen mayor probabilidad de interactuar con los diversos elementos que conforman los ecosistemas (tabla 6).

Si su vida media y su persistencia son mayores a la frecuencia con la que se aplican, los plaguicidas tienden a acumularse tanto en los suelos como en la biota y con el tiempo, la mayoría de los plaguicidas sufren una degradación como resultado de reacciones químicas y microbiológicas en suelo o agua.

**Tabla 6: Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su persistencia.**

<b>PERSISTENCIA</b>	<b>TIEMPO</b>
Ligeramente persistente	Menor de 4 semanas
Poco persistente	De 4 a 26 semanas
Moderadamente persistente	De 27 a 52 semanas
Altamente persistente	De 27 a 52 semanas
Permanentes	Mayor de 20 años

**FUENTE: INECC, 2013.**

Para el caso de clorpirifos, el valor DT50 de degradación en suelo es de 120 días (EFSA, 2005), incluso existen reportes que señalan una vida de hasta 4 años, por lo que se considera que este ingrediente activo es **persistente** en suelo.

**Tabla 7: Resumen de valores que indican el potencial contaminante de clorpirifos, así como su potencial toxicológico.**

<b>PROPIEDAD FÍSICOQUÍMICA</b>	<b>VALOR</b>	<b>CONCLUSIÓN</b>
Solubilidad en agua	1,05 mg/L	Poco soluble.
Constante de Henry (a 25°C)	0,478 Pa x m <sup>3</sup> x mol <sup>-1</sup>	Volátil.
Presión de vapor	3,35 x 10 <sup>-3</sup> Pa a 20°C	Volátil.
Koc	8 151 ppm	Inmóvil en suelo. Alto Riesgo de adsorción.
Coefficiente de partición octanol agua (log Kow)	4,7 a 20°C	Se puede adsorber en el suelo y en organismos vivos.
DT50 promedio en suelo	120 días	Persistente.
DT50 en agua (sistema completo)	22 – 51 días	Persistente.
DT50 hidrólisis (suelo)	11 – 200 días (suelos alcalinos) 92 – 341 días (suelos neutros a ácidos)	Persistente.
DT50 fotólisis (agua)	15 días (verano) - 29,200 días (invierno)	Lenta.
DT50 fotólisis (aire)	1 – 2,6 días	Rápida.
DT50 fotólisis (suelo)	17,7 días	Rápida.
Categoría toxicológica (OMS)	II Moderadamente peligroso	II Moderadamente peligroso.

**FUENTE: Resumen propio, valores EFSA, 2005.**

e. Destino ambiental de clorpirifos

El clorpirifos unido al suelo puede degradarse a través de la luz UV, la hidrólisis química, dechlorinación o los microorganismos del suelo; sin embargo, su principal ruta de degradación parece ser el metabolismo aeróbico y anaeróbico. La hidrólisis abiótica, fotodegradación y volatilización no parecen jugar un rol importante en el proceso de disipación. La hidrólisis en medio estéril es un proceso que tarda en degradar la molécula con una vida media entre 1 a 2 meses (NRA, 2000). Basado en la información disponible, clorpirifos se degrada lentamente en suelo bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas. La información acerca de su lixiviación y adsorción/desorción indican que clorpirifos parental es poco móvil o inmóvil (EFSA, 2005).

Los datos en campo disponibles indican que clorpirifos tiene una vida media de hasta 120 días (EFSA, 2005; NPIC, 2010) con poca o ninguna lixiviación; sin embargo, otros autores señalan que tiene una vida media en campo de hasta 114 días (EXTOXNET, 1993); en todos estos casos se trata de un ingrediente activo persistente. Debido a su baja solubilidad en agua y a su alta capacidad de unirse al suelo, existe el potencial de clorpirifos de absorberse al suelo y de escurrir a la superficie de agua a través de la erosión.

Esta persistencia en suelo puede depender de la formulación, tasa de aplicación, tipo de suelo, clima y otras condiciones.

El clorpirifos que haya sido aplicado al suelo, por lo general permanece en el área donde ha sido aplicada ya que se une fuertemente a las partículas del suelo, es por ello que resulta difícil que este ingrediente activo se desprenda del suelo y entre en los sistemas de agua locales (ATSDR, 1997).

De acuerdo a los datos proporcionados se puede concluir que la volatilización es una vía importante de degradación de clorpirifos y que, debido a su baja solubilización en agua, no se mezcla correctamente con esta y por lo tanto permanecerá en la superficie hasta evaporarse.

Vías de degradación de clorpirifos:

- Hidrólisis

La hidrólisis es una reacción importante que se da en agua para la degradación de plaguicidas. Un plaguicida reacciona con agua para formar productos de degradación que pueden distribuirse en el ambiente.

La hidrólisis indica que un químico ha reaccionado con el agua para formar un nuevo producto. Las tasas de hidrólisis en plaguicidas se describen en vidas medias ( $DT_{50}$ ), que es la cantidad de tiempo que toma la mitad de la cantidad del químico en hidrolizarse.

La hidrólisis está influenciada por diversos factores, entre ellos la temperatura y el pH. A medida que la temperatura incrementa, las moléculas en solución tienen más energía, causando que estas se muevan y reaccionen más rápido; esto causa que las reacciones de hidrólisis ocurran a una tasa más rápida (Linde, 1994).

En el caso del pH, algunas reacciones de hidrólisis trabajan mejor en entornos ligeramente básicos o ácidos.

- Fotólisis

Una gran parte del plaguicida aplicado se pierde mediante volatilización y se va hacia la atmósfera. En la atmósfera, hay dos vías potenciales que puede seguir. La primera es a través de reacciones fotoquímicas causadas por la luz solar y la segunda es reacciones de radicales libres. En estos procesos los productos formados pueden ser más tóxicos que el químico parental. Las reacciones fotoquímicas pueden darse en agua o en aire cuando está presente la luz solar.

- Degradación aeróbica

El metabolismo microbiano de plaguicidas es un importante proceso de degradación en agua y suelo. El proceso puede tomar varios pasos y al final el

objetivo es mineralizar el químico. La mineralización es el proceso de cambiar el químico hasta sus componentes básicos de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y sales minerales. Los organismos mayores, como los peces, son capaces de metabolizar químicos, pero no son capaces de mineralizarlos.

Las distribuciones microbianas no son homogéneas en suelo. Existen diferentes poblaciones de microorganismos que se encuentran cerca de la superficie. Esto es debido al hecho que los microorganismos naturalmente viven del material excretado por las raíces de las plantas. Los pesticidas generalmente son degradados por los microbios junto con el material excretado por las raíces de la planta.

Las bacterias representan el 65 por ciento de la biomasa total en suelo, por lo que generalmente son las que llevan a cabo la mayoría de procesos de degradación. Las bacterias dominan el proceso de degradación en suelos alcalinos y agua (pH > 5.5). Los hongos dominan el proceso de degradación en suelos ácidos.

f. Mecanismo de degradación microbiana de clorpirifos

Los insecticidas organofosforados (grupo dentro del cual se encuentra clorpirifos) son metabolizados por microorganismos, debido a que estos son capaces de hidrolizar, reducir y oxidar estos compuestos (Lal, R. 1982).

Pesticidas organofosforados como el clorpirifos, a pesar de que son usados extensamente, son poco estudiados en cuanto a su degradación. Estos organofosforados que tienen un radical clorado son moderadamente solubles en agua y, por lo tanto, difíciles de degradar.

Se necesita buscar microorganismos que producen lípidos, por ejemplo, ramnolípidos que pueden solubilizar estos organofosforados y volverlos susceptibles a la degradación. Asimismo, organismos que tienen actividad deshalogenasa son requeridos para remover el radical clorado y hacer a la molécula fácil para su degradación. (Kanekar *et al*, 2004).

## **2.2 BIORREMEDIACIÓN**

### **2.2.1 DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS**

De acuerdo a la Environmental Protection Agency (EPA, 2001), la biorremediación es el “uso de microbios para limpiar suelo y aguas subterráneas contaminadas” y “una tecnología de tratamiento implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado”.

La biorremediación estimula el crecimiento de ciertos microorganismos que utilizan los contaminantes como fuente de alimento y energía. Dentro de los contaminantes que se pueden tratar usando la biorremediación están los pesticidas (EPA, 2006). Dentro de la microbiota que se puede utilizar para degradar o transformar contaminantes peligrosos hasta materiales como dióxido de carbono, agua, sales inorgánicas, biomasa microbiana y otros productos intermediarios que pueden ser menos peligrosos que el material parental, están las bacterias heterotróficas y los hongos (EPA, 2006).

Estudios realizados en las últimas décadas han permitido obtener un conocimiento significativo del metabolismo microbiano y por lo tanto su capacidad para degradar compuestos xenobióticos que antes se creían recalcitrantes. Sin embargo, las condiciones ambientales de los cuerpos contaminados no son adecuadas para la presencia de microorganismos en proporciones suficientes o para la expresión de sus capacidades de biodegradación. Por ejemplo, un ambiente con alta humedad y materia orgánica ocasiona agotamiento de oxígeno, lo que obliga a los microorganismos a utilizar otros compuestos diferentes al oxígeno como aceptor de electrones. Esto puede producir una acumulación de productos provenientes del metabolismo anaerobio y de la fermentación que pueden inhibir la actividad microbiana, reduciendo significativamente la diversidad de microorganismos.

Por ello, se debe conocer tanto el metabolismo de los microorganismos para degradar sustancias peligrosas, así como las condiciones ambientales en las que se desarrollan adecuadamente y se activan estas rutas metabólicas. “Es necesario satisfacer las necesidades fisiológicas y nutritivas de los microorganismos y proveer las condiciones ambientales que conducen a la producción catalítica (de la enzima) y reacción deseada” (Álvarez y Guevara, 2003).

En los últimos años, la biorremediación ha ganado gran interés como tecnología para el control de numerosos casos de contaminación de suelos y aguas con sustancias químicas peligrosas, debido principalmente a su bajo costo en comparación a otras técnicas como la incineración o el confinamiento y a que degrada la mayor parte de la materia orgánica minimizando los efectos adversos que puedan generarse si el contaminante es solo removido y no eliminado.

La biorremediación presenta ventajas sobre otras técnicas alternativas para eliminar compuestos contaminantes como son los tratamientos físico-químicos, ya que es un proceso natural para destruir contaminantes orgánicos, los productos formados son generalmente inocuos, la relación costo/efectividad es menor comparada con otras tecnologías y puede ser ejecutada *in situ*. (Castillo *et al.*, 2005).

## **2.2.2 TIPOS DE BIORREMEDIACIÓN**

De acuerdo a la EPA la biorremediación puede dividirse en diversas categorías:

a. De acuerdo a los requerimientos de oxígeno.

i. Biorremediación Aeróbica

La cual involucra reacciones microbianas que requieren oxígeno para llevarse a cabo. En este caso el microorganismo usa un sustrato a base de carbono como donante de electrones y al oxígeno como aceptor de electrones (EPA, 2006).

ii. Biorremediación Anaeróbica

Involucra reacciones microbianas que ocurren en ausencia de oxígeno y abarca procesos como fermentación, metanogénesis, dechlorinación reductiva y condiciones reductoras de nitrato y sulfato. En el metabolismo anaeróbico, el nitrato, sulfato, dióxido de carbono, los materiales oxidados o los compuestos orgánicos pueden reemplazar el oxígeno como aceptor de electrones (EPA, 2006).

iii. Biorremediación Cometabólica

En este tipo de biorremediación los microorganismos no ganan energía a partir de la degradación de un contaminante, en este caso el contaminante se degrada a través de una reacción paralela (EPA, 2006).

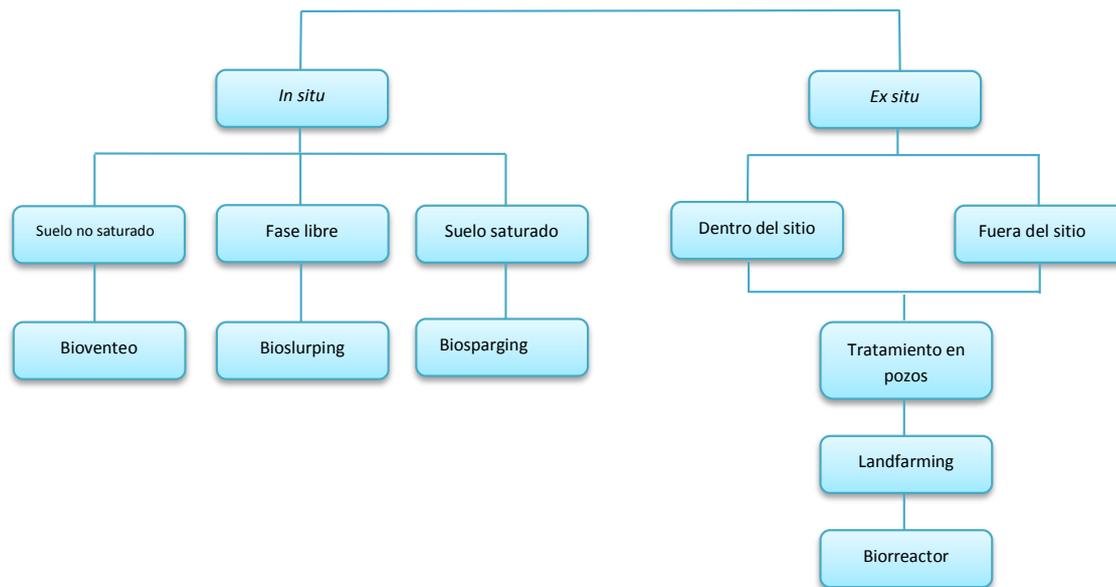
b. De acuerdo a su aplicación.

i. *In situ*

Los procesos *in situ* consisten en el tratamiento del agua o del suelo en el mismo lugar donde ha ocurrido la contaminación, sin remoción de la fuente. La ventaja de este método es que su costo es menor ya que no es necesario trasladar el material, mientras que su desventaja consiste en la limitada habilidad de controlar o manipular las condiciones físicas y químicas del ambiente. Un ejemplo de esta tecnología es el bioventeo aeróbico.

ii. *Ex situ*

Los procesos *ex situ* implican la excavación (en caso de ser material sólido) y el traslado del material contaminado hacia un área de tratamiento con condiciones ambientales controladas con una subsecuente purificación. Un ejemplo de tratamiento *ex situ* es el compostaje.



**Figura 4: Clasificación de las técnicas de remediación microbológica. Tomado de International Center for Soil and Contaminated Sites, 2006.**

### 2.2.3 BIOQUÍMICA DE LA BIORREMEDIACIÓN

“La biorremediación implica la producción de energía en una reacción redox dentro de las células microbianas. Estas reacciones incluyen la respiración y otras funciones biológicas necesarias para el mantenimiento y la reproducción celular. Generalmente se requiere un sistema de suministro que proporciona uno o más de los siguientes factores: una fuente de energía (donador de electrones), un aceptor de electrones y nutrientes. Diferentes tipos de clases aceptores de electrones microbianos pueden estar implicados en la biorremediación, como la reducción de oxígeno, nitrato, manganeso, hierro (III), sulfato o dióxido de carbono y sus potenciales redox correspondientes. Los potenciales redox proporcionan una indicación de la dominancia relativa de las clasesceptoras de electrones (Omokhagbor *et al.*, 2015).

## 2.2.4 BENEFICIOS E IMPORTANCIA DE LA BIORREMEDIACIÓN

Entre algunos beneficios de la biorremediación tenemos que:

- Es un proceso natural, por lo cual es percibido por el público como un proceso de tratamiento de residuos aceptable.
- Los residuos del tratamiento son, por lo general, productos inofensivos que incluyen dióxido de carbono, agua y biomasa.
- Puede realizarse en el sitio afectado sin necesidad de transportar el material lo cual acarrea riesgos.
- Produce una alteración mínima del lugar.
- El contaminante es eliminado de forma permanente.
- Emplea sistemas biológicos naturales.
- Es de bajo costo.
- Se puede utilizar junto con otras técnicas de tratamiento.
- En lugar de transferir los contaminantes de un medio a otro, es posible la completa destrucción del contaminante.

Sobre su importancia destacamos la opinión de Irvine y Sikdar (1998), quienes afirman que “La biorremediación es universalmente importante como medio para reducir el impacto negativo de la contaminación de sólidos, líquidos y gases indeseables en el ambiente. A nivel mundial, las tecnologías de biorremediación como la bioaugmentación y la bioestimulación son métodos económicos para el efectivo tratamiento de efluentes y la recuperación de sitios contaminados.”

“La biorremediación es una opción que ofrece la posibilidad de destruir o convertir en inofensivos diversos contaminantes utilizando una actividad biológica natural. Como tal, utiliza técnicas de relativa baja tecnología y bajo costo que generalmente tienen una alta aceptación pública y que a menudo pueden llevarse a cabo *in situ*.

Independientemente del aspecto de la biorremediación que se utilice, esta tecnología ofrece una manera eficiente y rentable de tratar las aguas

subterráneas contaminadas y el suelo. Por lo general, sus ventajas superan a sus desventajas, lo cual es evidente por el número de sitios que optan por utilizar esta tecnología y su creciente popularidad” (Kumar, A. *et al.*, 2011).

#### **2.2.5 CRITERIOS A TENER EN CUENTA PARA LA APLICACIÓN DE LA BIORREMEDIACIÓN**

Para la optimización de un proceso de biorremediación se deben tener en cuenta diversos factores como “la existencia de población microbiana capaz de degradar contaminantes, la disponibilidad de los contaminantes para que puedan ser degradados por la población microbiana, los factores ambientales como el tipo de suelo, temperatura, pH, la presencia de oxígeno u otros aceptores de electrones, y nutrientes” (Vidali, 2001).

#### **2.2.6 RESPIRACIÓN Y CRECIMIENTO MICROBIANO COMO MEDIDA DE LA DEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS**

“La respiración es un proceso aeróbico o anaeróbico que produce energía, por el cual compuestos orgánicos o inorgánicos en las células sirven como donadores de electrones primarios y compuestos oxidados importados sirven como aceptores de electrones terminales” (M. Pell, 2011); todos microorganismos vivos respiran de manera continua, es por ello que la tasa de respiración constituye una medida del crecimiento de dichos microorganismos.

Es por ello que la respiración del suelo es un proceso importante debido a que refleja la capacidad del suelo de soportar vida incluyendo microorganismos, animales y cultivos y constituye uno de los parámetros más antiguos y “más usados para la cuantificación de actividad microbiana en suelo” (Anderson citado por Araújo, 2008) y “dado que la descomposición de un sustrato orgánico por medio del proceso de respiración aeróbica tiene como productos principales CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, la evolución de CO<sub>2</sub> puede utilizarse como un indicador bastante preciso de la actividad respiratoria de comunidades en agua y suelo” (Ochoa y Urroz, 2011). “En otras palabras, la actividad metabólica de

los microorganismos del suelo puede ser cuantificada por la medición de la producción de CO<sub>2</sub> o consumo de O<sub>2</sub>” (Nannipieri et al., 1990), “constituyendo así uno de los parámetros más y utilizados con mayor frecuencia para cuantificar la actividad microbiana en los suelos” (Kieft y Rosacker, 1991).

“La estrategia general que usan los microorganismos para alimentarse de los contaminantes orgánicos consiste en transformarlos en sustratos potenciales que podrían ser dirigidos hacia las vías metabólicas centrales, como beta-oxidación, glicólisis y ciclo de Krebs” (Alvarez y Guevara, 2003).

Es así que la respiración microbiana constituye un buen indicador de estimación de la actividad microbiana, el crecimiento de los microorganismos en estudio y de manera indirecta la degradación de pesticidas como el clorpirifos.

Existen diversos métodos para la cuantificación de la respiración microbiana, entre los que se encuentran:

a. Método de medición de CO<sub>2</sub> por titulación (Anderson, 1982)

El principio de este método se basa en la adsorción del CO<sub>2</sub> liberado, producto de la respiración microbiana, en una solución alcalina. De esta manera, la cantidad de CO<sub>2</sub> adsorbido es equivalente a la cantidad de NaOH consumido y medido como índice de tasa de respiración.

Para este propósito, el álcali reacciona con el CO<sub>2</sub> y luego se agrega BaCl<sub>2</sub> a la solución de NaOH para que precipiten los carbonatos como BaCO<sub>3</sub> insoluble. Se agrega 1 gota de fenolftaleína como indicador y se titula con HCl.

Finalmente se emplea la siguiente ecuación para determinar la cantidad de mg CO<sub>2</sub>:

$$\boxed{\text{Miligramos de C o CO}_1 = (B - V) NE}, \text{ donde}$$

B = volumen (mililitros) de ácido necesarios para titular NaOH en los recipientes del control.

V = volumen (en mililitros) de ácido que se necesitan para titular el NaOH en los recipientes del tratamiento.

N = normalidad del ácido

E = peso equivalente. Para expresar los datos en término de carbono, E = 6; para expresar como CO<sub>2</sub>, E = 22

b. Método de medición de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> con el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0

*Oxybaby*® 6.0 es un analizador de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> de la empresa WITT-GASETECHNIK GmbH & Co KG que mide la presión de gas dentro de determinado envase. Este instrumento es utilizado en la industria alimentaria o en la industria de bebidas para cuantificar la cantidad de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> en muestras de verduras, frutas, carnes o pescados y de esta manera asegurar la frescura de estos productos.

Para el presente estudio, se utilizó este instrumento para cuantificar la cantidad de O<sub>2</sub> consumido y CO<sub>2</sub> liberado durante el proceso de respiración microbiana como consecuencia del consumo de carbono presente en clorpirifos; de esta manera la respiración microbiana representa una medida indirecta de la degradación de clorpirifos.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 MUESTREO DEL SUELO PARA SU CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA**

Se tomaron muestras del suelo del campo de experimentación del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina, para lo cual se siguieron las recomendaciones presentadas por Rodríguez y Rodríguez (2011) y las del Laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas y Fertilizantes de la UNALM.

- Muestreo para caracterización fisicoquímica: se tomaron 15 submuestras de todo el campo de experimentación, cada una a 30 cm de profundidad, utilizando una pala recta. Las 15 submuestras fueron mezcladas entre sí para finalmente tomar 1 kg que fue guardado en bolsas de polietileno.
- Muestreo para caracterización microbiológica: se tomaron 15 submuestras de todo el campo de experimentación, en las zonas de mayor vegetación, cada una a 20 cm de profundidad, utilizando una pala recta. Las 15 submuestras fueron mezcladas entre sí para finalmente tomar 1 kg que fue guardado en bolsas de polietileno.

Ambas muestras fueron enviadas inmediatamente al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina para sus respectivas caracterizaciones.

### **3.2 APLICACIÓN DE CLORPIRIFOS EN EL SUELO Y OBTENCIÓN DE LA MUESTRA A TRABAJAR**

Se aplicaron 3 dosis del producto Lorsban 4 E, insecticida agrícola de Dow AgroScience que contiene 48 por ciento p/v de clorpirifos, cada una disuelta en 100 mL de agua, sobre 1 m<sup>2</sup> de suelo respectivamente, de acuerdo a las dosis recomendadas del producto.

- Dosis baja = 0,05 mL de clorpirifos.
- Dosis media = 0,125 mL de clorpirifos.
- Dosis más alta = 0,2 mL de clorpirifos.

Para la obtención de la muestra, se tomaron 40 g de cada metro cuadrado de suelo con una dosis de clorpirifos luego de tres días de aplicado, entre los 0-15 cm de profundidad. Las muestras fueron llevadas en bolsas de polietileno al laboratorio para su trabajo inmediato.

### **3.3 AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS CON POTENCIAL DE DEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS**

Cada una de las muestras de suelo recolectadas fue colocada en 200 mL de agua destilada suplementada con 0,2 g de glucosa y llevada a agitación en un equipo floculador – prueba de jarras a 120 rpm por dos días, con el fin de incrementar el metabolismo microbiano y por ende la población.

Se dejaron asentar las muestras por dos horas para luego proceder a tomar 1 mL de cada una y realizar diluciones sucesivas por un factor de 1/10 hasta 10<sup>-6</sup>.

A fin de obtener poblaciones bacterianas y fúngicas por separado, se prepararon placas con agar nutritivo + nistatina (fungicida) para las primeras y placas con agar sabouraud + gentamicina (bactericida) para las segundas. Para asegurar la obtención de cepas con capacidad de resistencia a diversas concentraciones del pesticida en estudio, en todas las placas se adicionó Lorsban 4E en tres cantidades

equivalentes a las siguientes concentraciones de clorpirifos en miligramos por medio de cultivo:

- 50 mg/L
- 100 mg/L
- 300 mg/L

Por vertido en placa, se inocularon las mismas con las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  y se dejaron en incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  para bacterias y  $27^{\circ}\text{C}$  para hongos, por cinco y siete días respectivamente, para luego observar el crecimiento de colonias.

Cada colonia distinta se aisló en tubos de ensayo con agar nutritivo para bacterias y agar sabouraud para hongos y se mantuvieron en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Se realizó una caracterización morfológica de las cepas aisladas, siendo tinción gram para bacterias y observación de estructuras al microscopio con tinción de lactofenol para hongos (Horobin y Kiernan, 2002).

### **3.4 PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS**

Se preparó medio mínimo de sales minerales (MMS) (Anexo 1) de acuerdo a la formulación descrita en la directriz de la OCDE “Biodegradabilidad Inmediata -  $\text{CO}_2$  en Recipientes Sellados” (2014) (Anexo 3). Asimismo, se preparó en agua destilada estéril un inóculo bacteriano a una concentración de  $1,93 \times 10^5$  UFC/mL y otro fúngico a una concentración de  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL, realizando la mezcla de cepas seleccionadas en el aislamiento de cada tipo de organismo, obteniendo de esta manera un consorcio bacteriano y otro fúngico.

Se utilizaron frascos de vidrio estériles de 370 mL de capacidad con tapa rosca metálica y un pequeño orificio en el centro para preparar los siguientes tratamientos, teniendo en consideración criterios de las Directrices de la OCDE para la Prueba de Productos Químicos, Sección 3: Degradación y Acumulación, Anexo 1, Parte 1 y los Tests N° 301, 307 y 310:

- Tratamiento clorpirifos: 200 mL de MMS + 1 mL de inóculo de consorcio bacteriano o fúngico + 125  $\mu$ L de Lorsban (equivalente a 300 mg/L de clorpirifos).
- Tratamiento con aditivos de Lorsban 4E (Anexo 2): 200 mL de MMS + 1 mL de inóculo de consorcio bacteriano o fúngico + 125  $\mu$ L de Lorsban 4E expuesto al ambiente por 48 hrs, con el fin de eliminar el clorpirifos por fotólisis en aire y probar el comportamiento de la biodegradación en los aditivos del pesticida.
- Control: 200 mL de MMS + 1 mL de inóculo de consorcio bacteriano o fúngico.
- Blanco: 200 mL de MMS + 125  $\mu$ L de Lorsban 4E.

Cada una de las cuatro muestras se realizó tanto para consorcio bacteriano como para consorcio fúngico, con tres repeticiones para cada tipo de ensayo descrito más adelante, tal como se indica en la tabla 8.

Una vez preparados, los frascos con las diferentes muestras fueron cerrados herméticamente colocando varias capas de cinta adhesiva en los espacios de las tapas y en el orificio central de ésta, con el fin de evitar el flujo de aire entre el exterior y el interior del frasco (Anexo 3). Se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad durante 14 días.

Se realizaron los siguientes ensayos para analizar el potencial biodegradador de clorpirifos de los microorganismos:

Crecimiento microbiano:

- Siembra en placa con agar nutritivo para las muestras con consorcio bacteriano y agar sabouraud para las muestras con consorcio fúngico.
- Recuento en cámara de Neubauer.

Respiración microbiana:

- Medición de la concentración en porcentaje de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> con un equipo analizador de gases modelo *Oxybaby*® 6.0 de la marca *Witt*.
- Cuantificación de mg de C-CO<sub>2</sub> mediante captación en álcali y titulación.

La toma de muestras para evaluar el crecimiento se realizó los días tres, siete y once para las muestras con consorcio bacteriano y los días seis, diez y trece para las de consorcio fúngico. Para ambos ensayos se extrajeron alícuotas de los frascos con jeringa estéril a través del orificio central de la tapa, el cual fue sellado nuevamente con varias capas de cinta adhesiva al finalizar la toma de alícuota.

La toma de muestras para evaluar la respiración microbiana se realizó cada 48 horas a partir del segundo día de ensayos. Para la medición con el equipo *Oxybaby* se introdujo la aguja para toma de muestra propia del equipo a través del orificio central de la tapa, el cual fue sellado nuevamente con varias capas de cinta adhesiva al finalizar la medición. Para la captación de CO<sub>2</sub> en álcali se introdujo en los frascos seleccionados para este ensayo un tubo de vidrio al cual se le colocaron 10 mL de NaOH 1N (Anexo 3), que fue extraído para titulación con HCl 1N los días de prueba y repuesto inmediatamente por NaOH fresco, repitiéndose el mismo procedimiento cada 48 horas. Esta extracción y adición de NaOH se realizó con jeringa estéril a través del orificio central de la tapa, el cual fue sellado nuevamente con varias capas de cinta adhesiva al finalizar. En la titulación se utilizó BaCl para precipitar los carbonatos producto de la reacción con el NaOH que contiene el CO<sub>2</sub> capturado del frasco; y fenolftaleína como indicador (Anderson, 1982).

**Tabla 8: Cantidad de repeticiones (frascos) para cada tipo de muestra y ensayo. Cantidades aplicadas tanto para la prueba de biodegradación de consorcio bacteriano (36 frascos) como para la de consorcio fúngico (36 frascos). Entre paréntesis, la nomenclatura de placas y frascos de los ensayos.**

Ensayo \ Muestra	Chlorpyrifos ( <i>Bact</i> para bacterias y <i>Hong</i> para hongos)	Aditivos de Lorsban ( <i>Bact evap</i> para bacterias y <i>Hong evap</i> para hongos)	Control ( <i>Bact cont</i> para bacterias y <i>Hong cont</i> para hongos)	Blanco ( <i>Blanco</i> )
Crecimiento	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )
Medición de gases	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )
Captación de CO <sub>2</sub> en álcali	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )	3 ( <i>R1, R2 y R3</i> )

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO ESTUDIADO.

De acuerdo a la Sociedad Americana de Ciencias del Suelo (2013), el suelo es el material orgánico o el mineral no consolidado en la superficie inmediata de la tierra que sirve como medio natural para el crecimiento de plantas de tierra, proporcionando servicios ecosistémicos importantes para la vida, contribuyendo a la biodiversidad y abasteciendo a la raza humana con recursos esenciales como alimentos, fibras y combustible. Al ser el principal soporte de los microorganismos a estudiar es importante primero conocer las características de este y cómo es que interactúan con las bacterias y hongos que se pretenden aislar.

En la tabla 9 se muestran los resultados de los análisis de la caracterización fisicoquímica realizada en Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Anexo 3).

**Tabla 9: Caracterización del suelo del campo de experimentación del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.**

PARÁMETRO	RESULTADO
pH (1:1)	7,93
C.E. (1:1) dS/m	1,29
CaCO <sub>3</sub> (por ciento)	1,20
M.O. (por ciento)	1,86
P (ppm)	17,0

“...continuación”

K (ppm)	394
Análisis mecánico:	
Arena (por ciento)	61
Limo (por ciento)	22
Arcilla (por ciento)	17
Clase textural	Franco arenoso
CIC (meq/100 g)	12,32
Ca <sup>+2</sup> (meq/100 g)	9,85
Mg <sup>+2</sup> (meq/100 g)	1,43
K <sup>+</sup> (meq/100 g)	0,81
Na <sup>+</sup> (meq/100 g)	0,23
Al <sup>+3</sup> + H (meq/100 g)	0,00
Suma de cationes	12,32
Suma de bases	12,32
Por ciento Sat. De bases	100

De acuerdo a los resultados obtenidos y tomando como referencia la guía de Interpretación de Análisis de Suelos de Garrido Valero (2010), se puede observar que se cuenta con un suelo de textura franco arenoso, lo cual indica que posee una buena aireación favoreciendo los procesos de volatilización y degradación del plaguicida (Quinchía, 2006), moderadamente alcalino, muy ligeramente salino, con un porcentaje de caliza que no representa un problema en términos de productividad, un bajo porcentaje de materia orgánica, un coeficiente de intercambio iónico (CIC) bajo, lo cual indica un suelo pobre, una relación Ca/Mg normal y una distribución de cationes normal.

#### **4.2 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL SUELO ESTUDIADO.**

En la tabla 10 se muestran los resultados del análisis microbiológico del suelo, realizado en Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Anexo 4). Estos evidencian un

porcentaje bajo de humedad gravimétrica, una alta concentración de los tres tipos de microorganismos analizados, una baja tasa de respiración microbiana y una baja cantidad de biomasa microbiana. Esto indica que a pesar de que hay una alta cantidad de población microbiana en el suelo, esta no está desarrollándose de manera eficiente debido al ambiente de estrés en el que se encuentra, compuesto por poca humedad y baja cantidad de biomasa y materia orgánica, lo cual no permite una adecuada respiración microbiana.

**Tabla 10: Análisis microbiológico del suelo del campo de experimentación del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.**

PARÁMETRO		RESULTADOS
Humedad gravim. (por ciento)		1,78
Organismos mesófilos totales (UFC/ g suelo seco)	Bacterias	$6,77 \times 10^6$
	Actinomicetos	$3,50 \times 10^6$
	Hongos	$1,40 \times 10^5$
Respiración microbiana (mg CO <sub>2</sub> /g suelo seco/día)		0,062
Biomasa microbiana (mg C/g suelo seco)		0,234

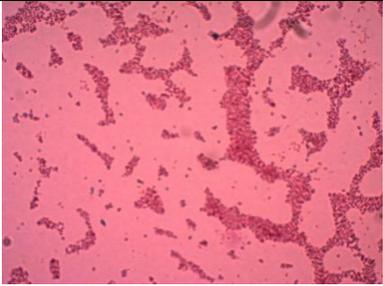
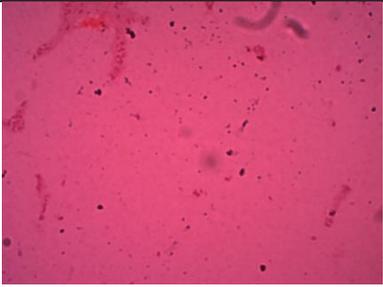
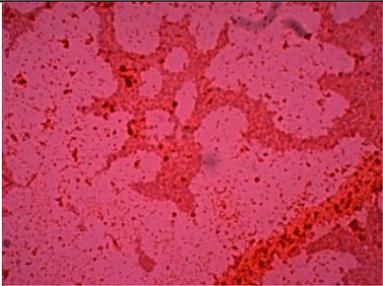
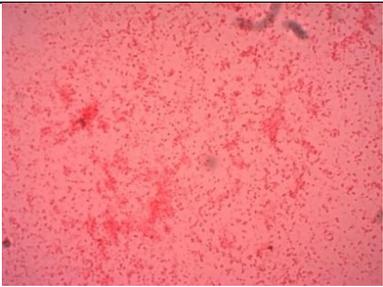
#### **4.3 AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS TOLERANTES A CLORPIRIFOS.**

A partir del cultivo en placa de las muestras de suelo sometido a tres diferentes concentraciones de clorpirifos, se obtuvieron numerosas colonias microbianas en todos los casos, evidenciando la existencia en este suelo de microorganismos tolerantes a las diversas dosis de aplicación comercial de Lorsban 4E, así como a un rango de concentración de clorpirifos entre los 50 y 300 mg/L.

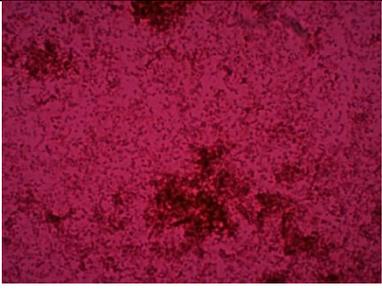
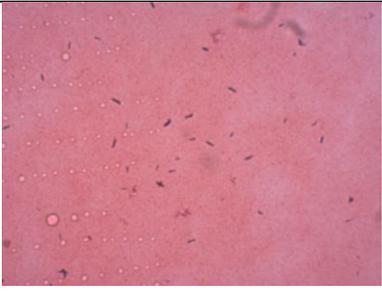
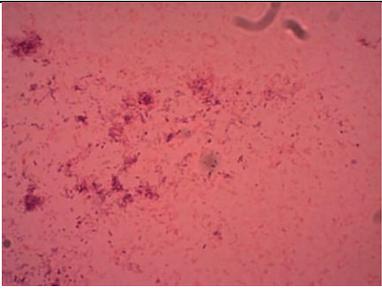
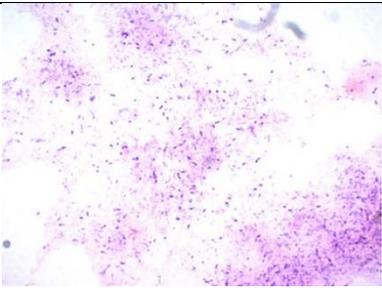
Se seleccionaron las colonias microbianas aisladas a partir del suelo tratado con la dosis alta de Lorsban 4E y cultivadas a la mayor concentración de clorpirifos (300 mg/L), con el fin de analizar el potencial biodegradador ante una aplicación intensiva de este compuesto.

De este aislamiento, se obtuvieron 12 morfotipos distintos de bacterias y tres géneros de hongos (Anexo 5), los cuales se muestran en las tablas 10 y 11, respectivamente.

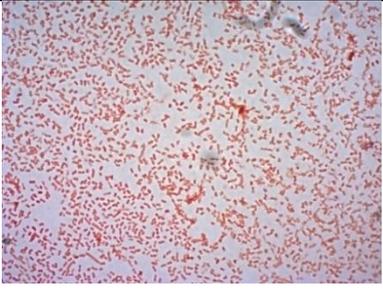
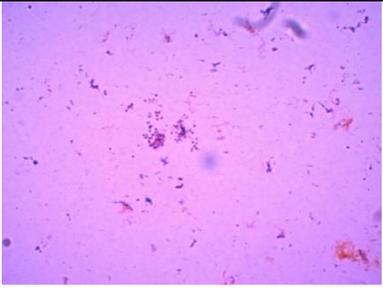
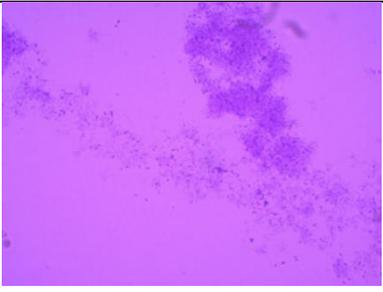
**Tabla 11: Morfotipos bacterianos aislados del suelo del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.**

CÓDIGO DE MUESTRA	TINCION GRAM	MORFOLOGÍA	IMAGEN
12T3 <sup>-3</sup>	+	Cocos	
13T3 <sup>-3</sup>	+	Cocos	
15'T3 <sup>-3</sup>	-	Cocos	
16T3 <sup>-3</sup>	-	Cocos	

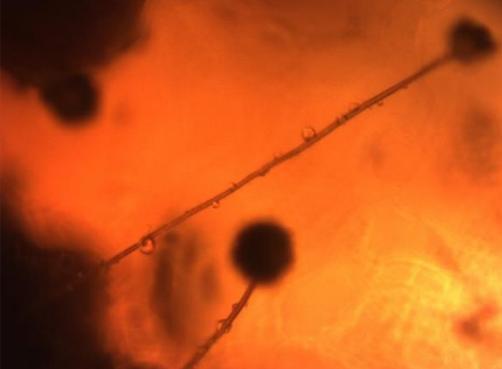
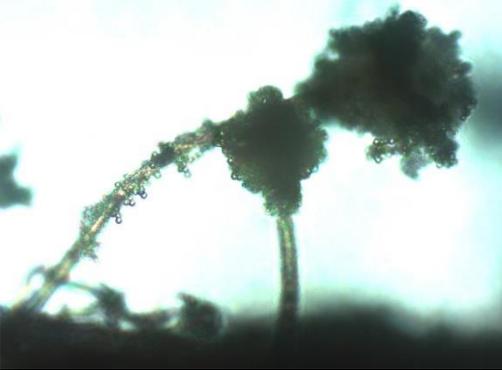
“...continuación”

17T3 <sup>-3</sup>	+	Cocos	
18T3 <sup>-3</sup>	+	Cocos	
18**T3 <sup>-3</sup>	+	Bacilos	
19T3 <sup>-4</sup>	+	Cocos	
20T3 <sup>-4</sup>	+	Cocos	

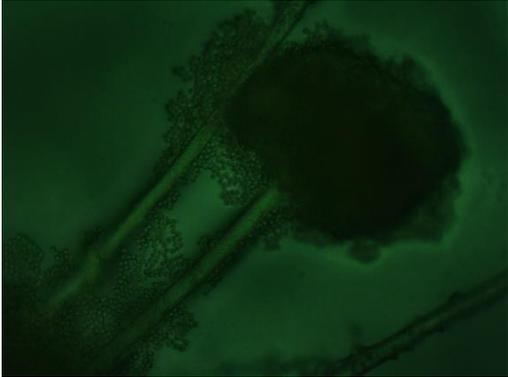
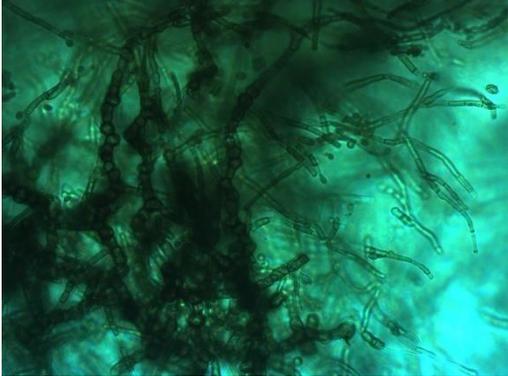
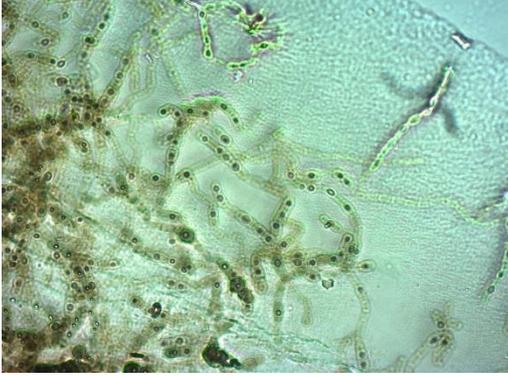
“...continuación”

21**T3 <sup>4</sup>	-	Diplococos	
24T3 <sup>4</sup>	+	Cocos	
25T3 <sup>4</sup>	+	Cocos	

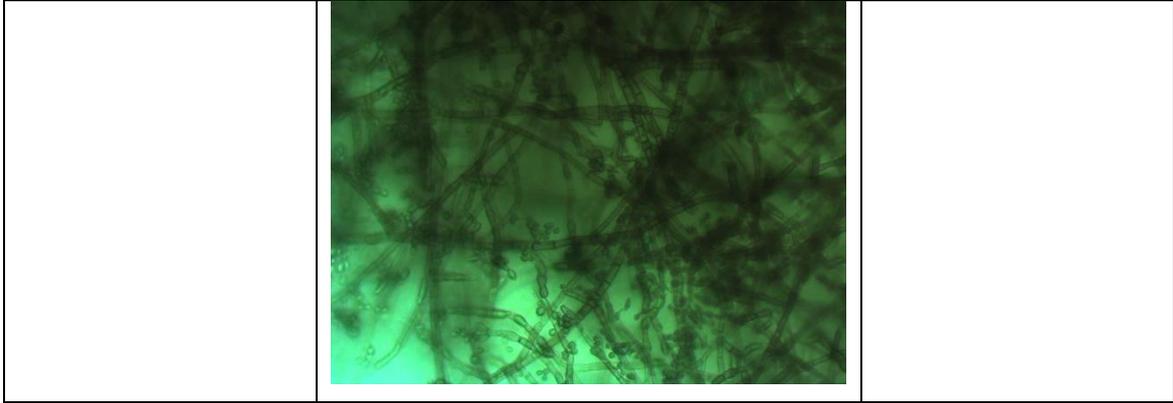
**Tabla 12: Hongos aislados del suelo del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.**

CÓDIGO DE MUESTRA	MORFOLOGIA	GÉNERO
32T3 <sup>4</sup>		<i>Aspergillus sp.</i>
		
		

“...continuación”

		
40T3 <sup>4</sup>		<i>Penicillium sp.</i>
		
44T3 <sup>6</sup>		<i>Cladosporium sp.</i>

“...continuación”



## 4.4 EVALUACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS

### 4.4.1 POR CRECIMIENTO MICROBIANO

#### a. Bacterias

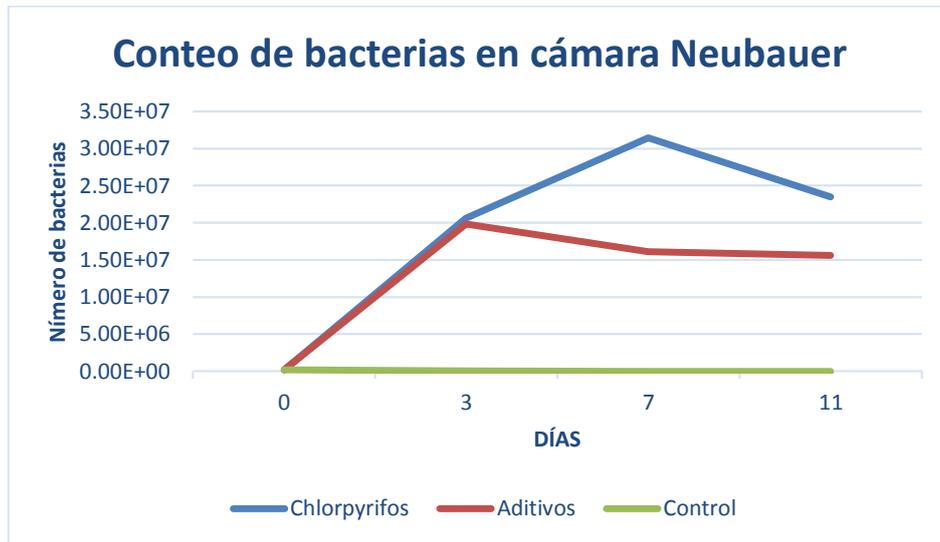
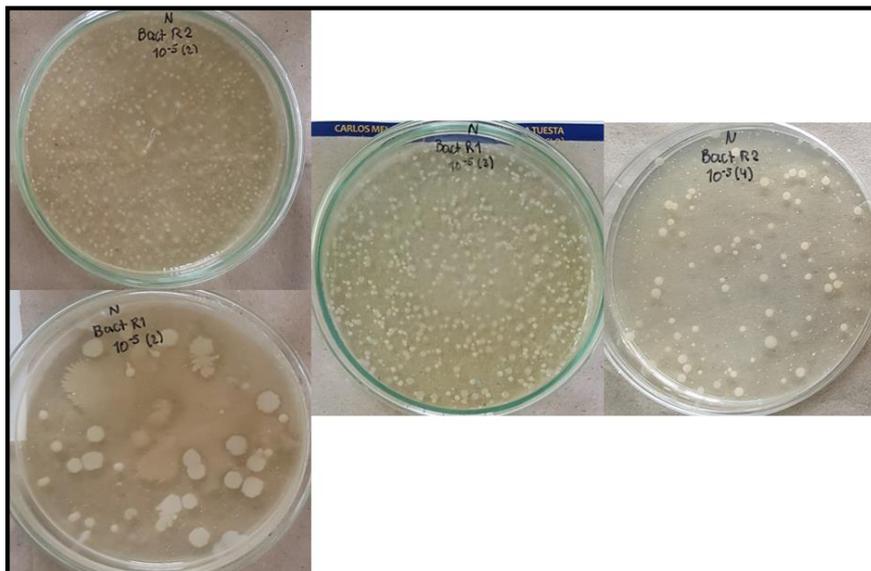
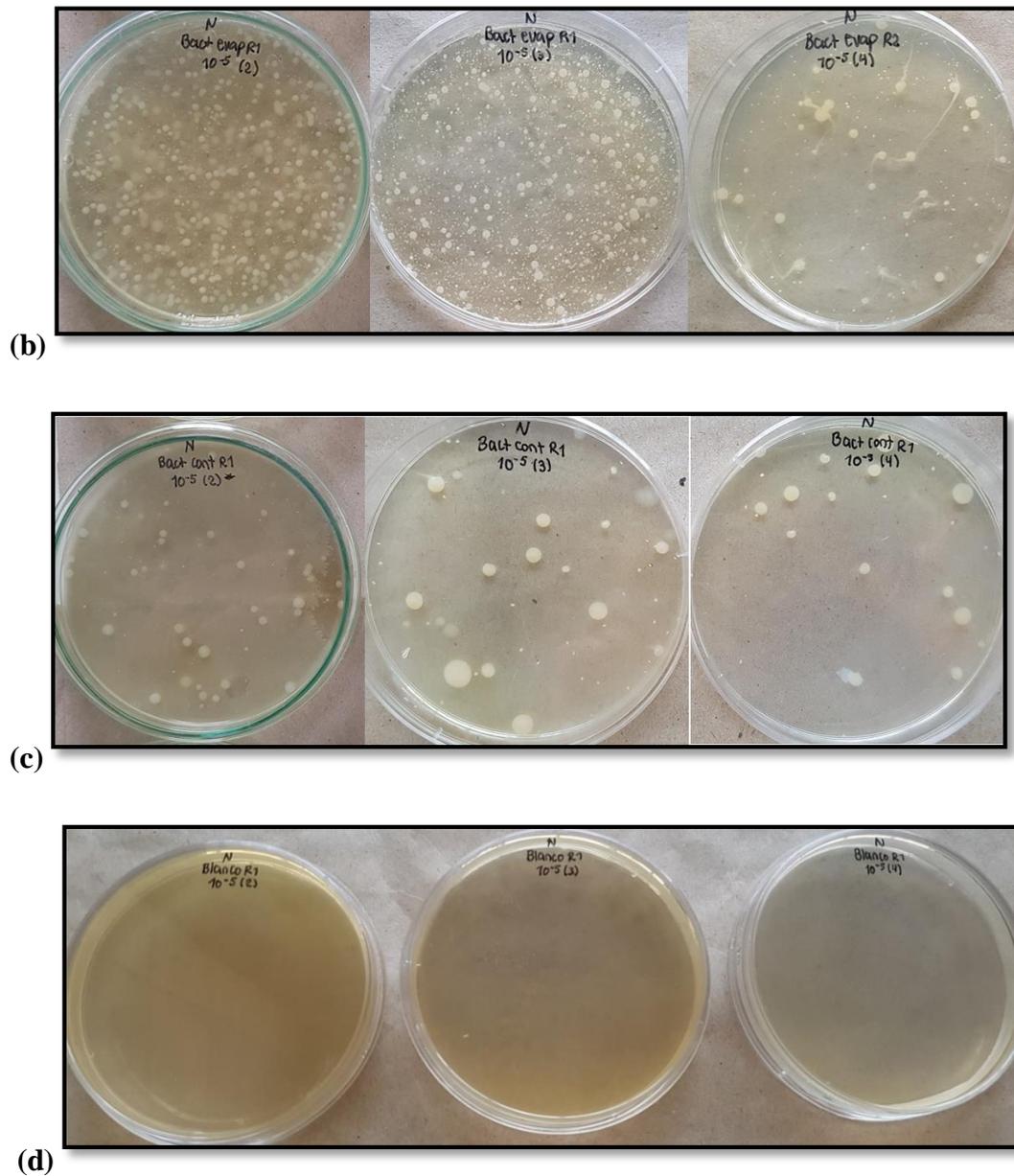


Figura 5: Curvas del comportamiento del conteo en cámara Neubauer de los tratamientos correspondientes al consorcio bacteriano.



(a)

“...continuación”



**Figura 6: Evolución del crecimiento en placa de muestras bacterianas a los días tres (izquierda), siete (centro) y once (derecha). (a) Tratamiento clorpirifos; (b) Tratamiento aditivos Lorsban 4E; (c) Control; (d) Blanco. Todas las imágenes corresponden a la dilución  $10^{-3}$ .**

Los ensayos de crecimiento en bacterias (figuras 5 y 6), muestran un aumento significativo de la población microbiana tanto en el tratamiento con clorpirifos como en el de aditivos de Lorsban, alcanzando concentraciones máximas de  $3,15 \times 10^7$  UFC/mL para el primer tratamiento mencionado en la evaluación realizada el séptimo día de

ensayo y de  $1,98 \times 10^7$  UFC/mL para el segundo tratamiento en la evaluación realizada al tercer día de ensayo (figura 5). Esto indica que los microorganismos de ambos tratamientos utilizan los componentes del medio para realizar sus funciones biológicas eficientemente, pero el tratamiento con clorpirifos presenta un mejor desempeño que el de aditivos de Lorsban 4E, puesto que tuvo una fase exponencial más larga y una mayor cantidad de UFC generada en el tiempo (figura 5). Debido a que el clorpirifos y los aditivos de Lorsban 4E son las únicas fuentes de carbono en el medio para ambos tratamientos respectivamente y éste es un elemento esencial para el crecimiento microbiano, se deduce que lo utilizan a partir de la descomposición de esos compuestos carbonados, siendo más eficiente la utilización en presencia de clorpirifos.

Entre las evaluaciones realizadas los días siete y once, los tratamientos de clorpirifos y de aditivos Lorsban 4E muestra un declive en su crecimiento, lo que significa que ya se encuentran dentro de la fase de muerte celular, la cual es más pronunciada en el tratamiento con clorpirifos, mientras que en el de aditivos de Lorsban 4E el declive se reduce hacia el final del tiempo de duración del ensayo (figura 5), lo cual podría deberse a un cambio en el metabolismo de la población microbiana.

En el tratamiento con clorpirifos se observan colonias más grandes y de una mayor variedad de microorganismos que las colonias formadas en la muestra de aditivos (figura 6), las cuales variaron entre las evaluaciones de los días tres y siete del ensayo, mostrando predominancia de colonias grandes inicialmente y luego de colonias pequeñas, así como la ausencia de colonias de bacilos en todas las evaluaciones, las que sí están presentes en el tratamiento con clorpirifos. Esto indica una afectación de los aditivos de Lorsban 4E sin la presencia de clorpirifos sobre el crecimiento microbiano, siendo este ingrediente activo mejor para el desarrollo de la población bacteriana. Asimismo, se observó que las colonias de bacilos, si bien crecieron mejor en presencia de clorpirifos, tuvieron un corto periodo de crecimiento pues estuvieron ausentes en los ensayos de los días siete y once (figura 6), indicando un periodo de crecimiento menor que el de las otras cepas del consorcio.

El crecimiento limitado en la muestra control (figuras 5 y 6) indica que los microorganismos, al no tener una fuente de carbono para su metabolismo, sobreviven poco utilizando las sales minerales del MMS; y que en comparación a las muestras de clorpirifos y aditivos de Lorsban 4E, señala una vez más la utilización del pesticida

como fuente de carbono para el metabolismo de los microorganismos. Adicionalmente, la ausencia de crecimiento microbiano en el blanco (figura 6) asegura que las pruebas han sido realizadas en medio estéril y los microorganismos presentes en las demás muestras son exclusivamente los aislados del suelo tratado con clorpirifos.

Los resultados obtenidos del crecimiento bacteriano concuerdan con los resultados de otras investigaciones, como la de Farhan *et al.* (2012), en el que una cantidad de inóculo de 10 UFC/mL mostró ser más eficiente en la degradación de clorpirifos a una concentración de 400 mg/L, en comparación con cantidades menores, siendo la cantidad de inóculo utilizada en la presente investigación de  $10^5$  UFC/mL, la cual mostró buena actividad metabólica sobre una concentración de clorpirifos de 300 mg/L. Asimismo, Chishti y Arshad (2013) demostraron que la densidad celular de los cultivos incrementa con el incremento de la degradación de clorpirifos, lo que revela que la biodegradación de clorpirifos es un proceso ligado al crecimiento, comportamiento que se evidenció durante esta prueba. Marín y Jaramillo (2015) evidenciaron en su investigación que las bacterias presentan un crecimiento de tipo exponencial que confirma el uso de clorpirifos como fuente de carbono para sus procesos metabólicos, reafirmado con la poca disminución del pesticida en su muestra blanco, lo cual se observó también en la presente investigación; en dicho estudio también se observó una disminución de la concentración de clorpirifos por parte de algunas cepas en un tiempo de 24 horas, prolongándose en otros estudios hasta 20 días, lo que concuerda con el comportamiento bacteriano en la presente investigación a lo largo de 14 días.

b. Hongos

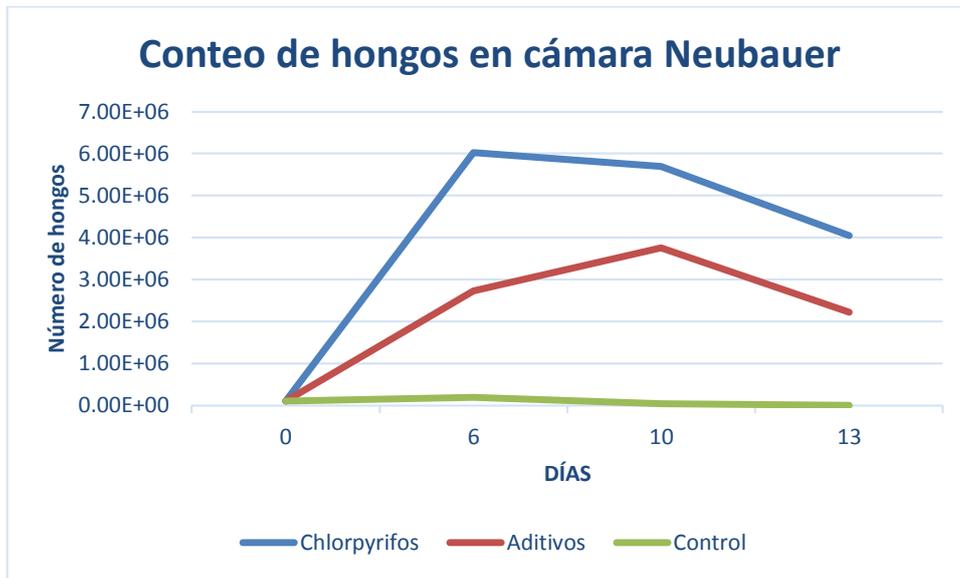
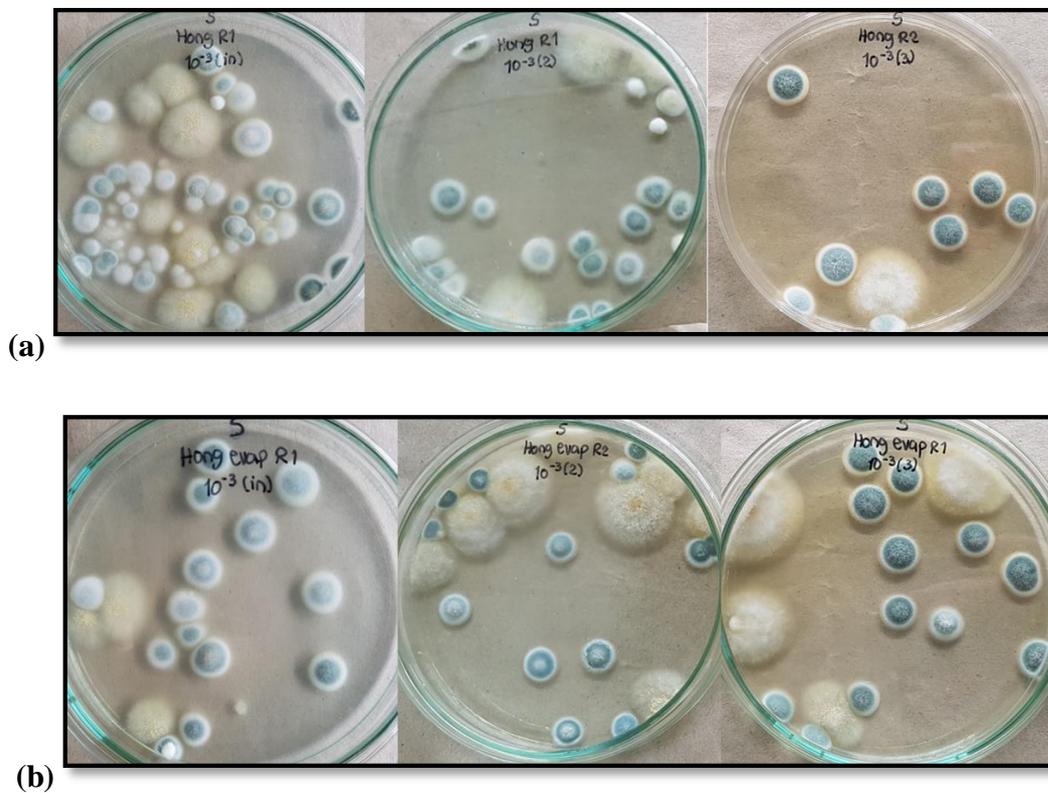
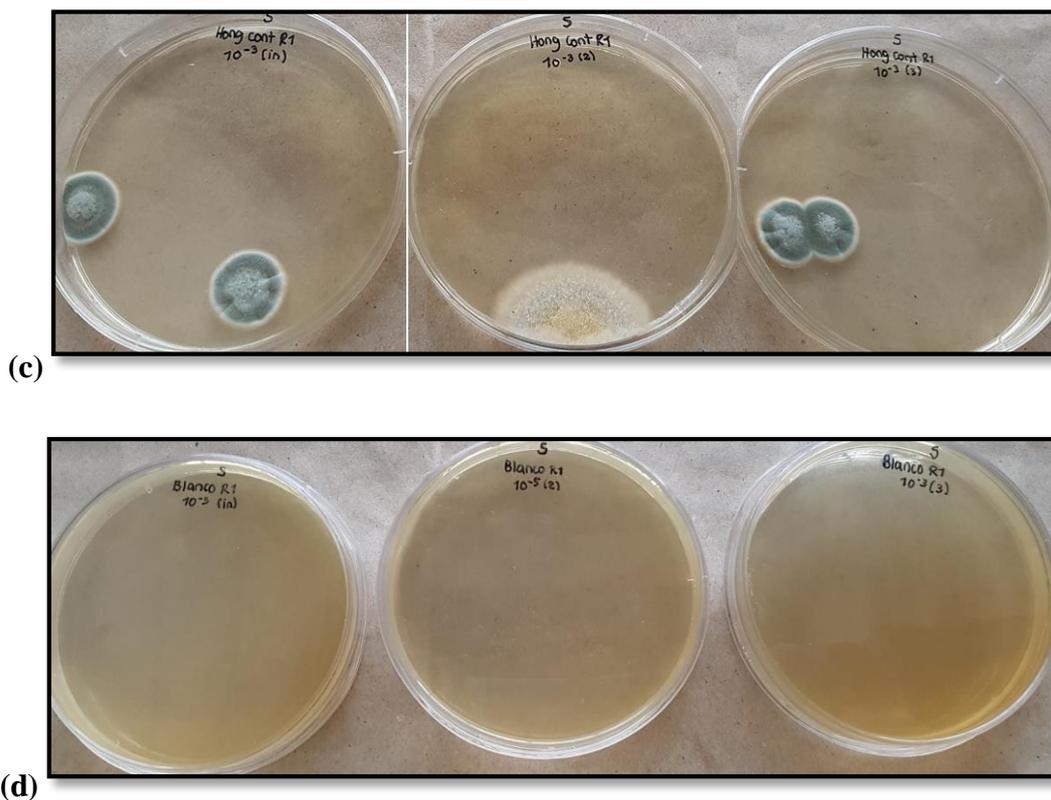


Figura 7: Curvas del comportamiento del conteo en cámara Neubauer de los tratamientos correspondientes al consorcio fúngico.



“...continuación”



**Figura 8: Evolución del crecimiento en placa de muestras fúngicas a los días seis (izquierda), diez (centro) y trece (derecha). (a) Tratamiento clorpirifos; (b) Tratamiento aditivos Lorsban 4E; (c) Control; (d) Blanco. Todas las imágenes corresponden a la dilución  $10^{-3}$ .**

Los ensayos de crecimiento en hongos mostraron un aumento de la población microbiana para los tratamientos de clorpirifos y aditivos de Lorsban 4E, las cuales alcanzaron una máxima concentración de microorganismos de  $6,03 \times 10^6$  UFC/mL en la evaluación del sexto día de ensayo en el caso de clorpirifos y una concentración de  $3,75 \times 10^6$  UFC/mL en la evaluación del décimo día para el caso de aditivos de Lorsban 4E (figura 7). Esto indica en ambos casos la utilización de los componentes del medio en el metabolismo de los microorganismos para su crecimiento y al ser el clorpirifos y los aditivos de Lorsban 4E las únicas fuentes de carbono respectivamente, se deduce que la obtención de este elemento esencial para el crecimiento es a partir de la degradación de esos compuestos carbonados. El tratamiento con clorpirifos alcanza un mayor crecimiento que el de aditivos de Lorsban 4E e inicia una disminución de su crecimiento

o fase de muerte antes que él (figura 7), lo que indica un mayor y más fácil consumo de nutrientes a partir del medio con clorpirifos.

Los géneros *Aspergillus* sp. y *Cladosporium* sp. mostraron crecimiento de colonias en los tratamientos con clorpirifos, aditivos de Lorsban 4E y control, mientras que el género *Penicillium* sp. no tuvo crecimiento (figura 8), indicando una pobre competencia de éste género por los nutrientes bajo condiciones limitantes como las de los ensayos, frente a los otros géneros de hongos.

El tratamiento con clorpirifos mostró una reducción significativa de la presencia de colonias de *Aspergillus* sp. en las evaluaciones de los días seis y trece del ensayo (figura 8), indicando la poca sobrevivencia de este microorganismo al irse agotando los nutrientes del medio con presencia de clorpirifos.

El tratamiento control presenta un crecimiento limitado de colonias a lo largo del ensayo, el cual aumenta ligeramente entre los días uno y seis y luego disminuye notablemente hasta el final del ensayo (figura 7). Asimismo, las colonias mostraron al inicio de su crecimiento en placa una morfología irregular y distinta a la presentada en los tratamientos de clorpirifos y aditivos (figura 8), indicando un estrés en el metabolismo de los microorganismos ante la ausencia de fuentes de carbono.

Al igual que para bacterias, el crecimiento limitado en la muestra control frente a los tratamientos con clorpirifos y con aditivos de Lorsban (figura 7) indica la utilización del pesticida como fuente de carbono para el desarrollo del metabolismo microbiano y consecuentemente el crecimiento de colonias. Asimismo, la ausencia de crecimiento en la muestra blanco (figura 8) asegura el desarrollo de los ensayos sobre los microorganismos obtenidos del aislamiento de suelo tratado con clorpirifos.

Los resultados obtenidos en el crecimiento de hongos concuerdan con los de otros estudios, como el de Lopera *et al.* (2005) en el que el hongo evaluado creció favorablemente en agar Sabouraud a concentraciones de clorpirifos de hasta 480 mg/L, siendo la concentración utilizada en el presente estudio de 300 mg/L. Asimismo, Rivero *et al.* (2012) observaron que los hongos son capaces de crecer en clorpirifos como única fuente de carbono, aumentando su biomasa, tal como se observó en la presente investigación. Además, Stamatiu-Sánchez *et al.* (2015) reportaron en su investigación un mayor crecimiento fúngico en clorpirifos que en comparación con sus testigos,

denotando tolerancia y estimulación del crecimiento por parte del pesticida, relacionadas con una capacidad biodegradadora, lo que concuerda con lo observado en el presente estudio.

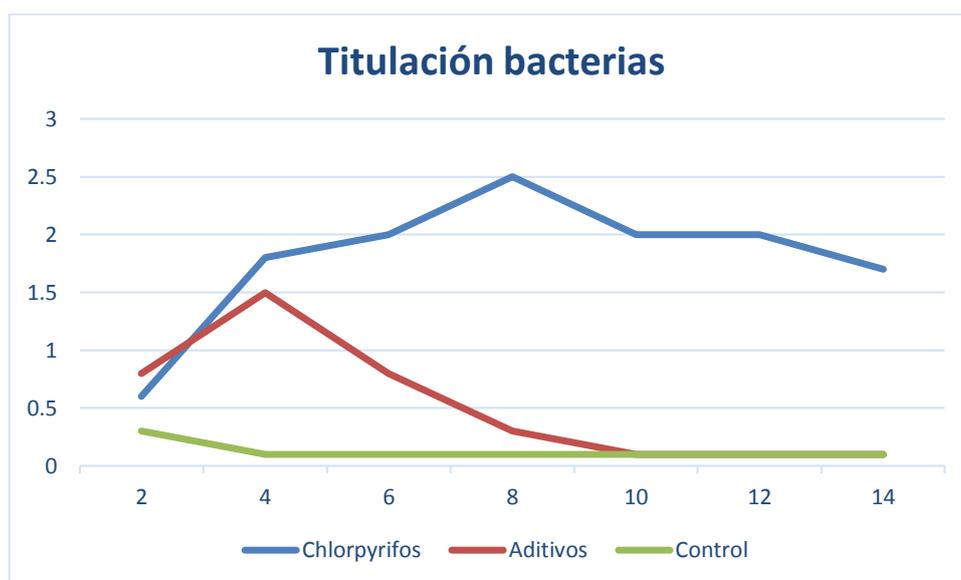
Los ensayos de crecimiento en bacterias y hongos muestran un comportamiento similar para ambos organismos en todos los tratamientos, siendo que para el tratamiento de clorpirifos el crecimiento muestra una fase exponencial seguida de una fase de decrecimiento o muerte; para el tratamiento de aditivos de Lorsban hay un crecimiento exponencial pero a una menor proporción que la del tratamiento de clorpirifos, para el control hay un crecimiento limitado y alterado y para el blanco hay ausencia de crecimiento. En general, tanto bacterias como hongos muestran un mayor crecimiento en el tratamiento con clorpirifos, indicando una mejor utilización de este compuesto para su actividad metabólica.

#### 4.4.2 POR RESPIRACIÓN MICROBIANA.

##### Medición de CO<sub>2</sub> por titulación

A continuación, se muestran los resultados de la titulación ácido-base:

##### a. Bacterias



**Figura 9: Curva de cuantificación de mg de C-CO<sub>2</sub> producido durante la respiración bacteriana mediante el método de titulación.**

La figura 9 muestra los resultados de mg de C-CO<sub>2</sub> producido durante un periodo de estudio 14 días.

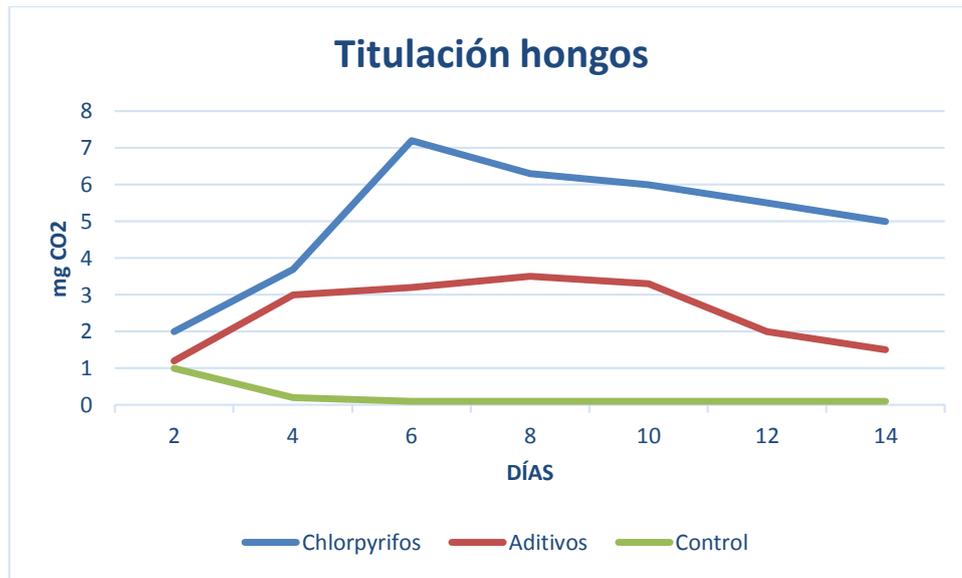
De acuerdo a este resultado, observamos que la emisión de C-CO<sub>2</sub> en un inicio fue aumentando hasta llegar a un punto máximo (2,5 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup>), la cual la definiremos como etapa uno (hasta el día ocho), para luego decaer hasta un valor de 1,7 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup>, la cual definiremos como etapa dos. Este incremento continuo inicial es un indicador de la degradación del carbono contenido en clorpirifos, sugiriendo un crecimiento exponencial de las bacterias inoculadas, llegando a un máximo crecimiento el día ocho (cuarta titulación), a partir de donde experimenta una fase estacionaria durante los días 10 y 12 para luego decaer hasta un valor de 1,7 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> el día 14. Este comportamiento se debería a que inicialmente las bacterias inoculadas tienen a su disposición una cantidad elevada de carbono (contenido en clorpirifos) y en consecuencia tienen una actividad máxima de degradación, pero que a medida que transcurre la incubación, el sistema llega a una etapa de estabilidad debido al agotamiento de carbono, con la consecuente disminución de desprendimiento de C-CO<sub>2</sub> y de cantidad de microorganismos.

Por otro lado, la muestra que contenía solo los aditivos muestra un comportamiento similar al tratamiento con clorpirifos hasta el día cuatro (etapa uno), teniendo una máxima producción de C-CO<sub>2</sub> (1,5 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup>) hasta la segunda medición, para luego disminuir hasta 0,1 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> (etapa dos).

En el caso del control, no hubo mucha variación. Las cantidades de mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> pasaron de 0,3 a 0,1 durante el periodo de incubación de 14 días, demostrando la poca actividad de las bacterias en estudio, lo cual se debería a la no disponibilidad de carbono.

Si comparamos ambos tratamientos, con clorpirifos y con aditivos de Lorsban 4E, en la figura cuatro, podemos notar que el tratamiento con clorpirifos tuvo cerca del doble de producción de mg de C-CO<sub>2</sub> en su mejor rendimiento y que, además, durante todo el periodo de incubación mostró una mayor estabilidad al tratamiento ya que los niveles de C-CO<sub>2</sub> no llegaron a ser cercanos a cero como en el caso del tratamiento con aditivos.

b. Hongos



**Figura 10: Curva de cuantificación de mg de C-CO<sub>2</sub> producido durante la respiración fúngica.**

En la figura 10 observamos los mg de C-CO<sub>2</sub> producidos a través de la respiración de las tres especies de hongos aisladas inicialmente con potencial de degradar clorpirifos.

En este caso, el tratamiento con clorpirifos llegó a una producción máxima de mg de C-CO<sub>2</sub> (7,2 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup>) al sexto día, la cual decayó hasta 5 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> para el día 14. En este caso, encontramos un comportamiento similar al observado en la muestra con bacterias: hasta el día seis hubo una elevada producción de CO<sub>2</sub> (fase logarítmica), para luego entrar en la fase de desaceleración, posteriormente la fase estacionaria y finalmente la etapa de muerte para el día 14.

También observamos una elevada producción de mg de C-CO<sub>2</sub>, la cual refleja una alta actividad fúngica hasta el día seis, a partir del cual la actividad va decayendo, pero sin llegar a desaparecer, por lo que podemos deducir que el consorcio fúngico ha seguido degradando clorpirifos incluso después del periodo de crecimiento exponencial.

El tratamiento con aditivos LORSBAN muestra un comportamiento análogo al tratamiento con clorpirifos hasta el día cuatro, cuantificando una máxima producción de C-CO<sub>2</sub> entre los días cuatro y ocho (3,0 – 3,5 mg C-CO<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup>), para luego

disminuir hasta  $1,5 \text{ mg C-CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ . En este caso podemos observar que la etapa de desaceleración fue más prolongada que en el caso de las bacterias.

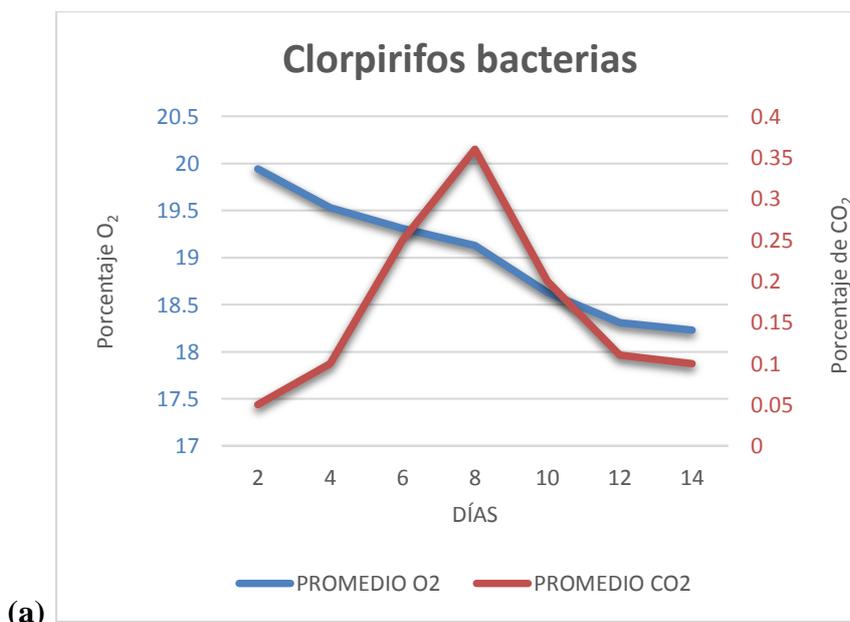
En el caso del control no se registraron variaciones significativas. Las cantidades de  $\text{mg C-CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$  se mantuvieron alrededor de 0,1 durante el completo periodo de incubación de 14 días, lo cual se debería a que no había clorpirifos (fuente de carbono) en el medio para degradar.

Si comparamos el comportamiento entre bacterias y hongos, observamos que los hongos encontraron su mayor producción de  $\text{mg}$  de  $\text{C-CO}_2$  dos días antes que las bacterias; esto se podría deber a que los hongos son microorganismos más grandes que las bacterias y, por lo tanto, agotarían el carbono disponible en clorpirifos en un tiempo menor ya que necesitarían mayor energía para sobrevivir, teniendo en cuenta que se utilizó la misma cantidad de dosis inicial tanto para bacterias como para hongos. Por otro lado, alcanzaron una producción de  $\text{C-CO}_2$  casi cuatro veces mayor al mejor valor alcanzado por bacterias, con lo cual concluimos que el consorcio fúngico es más eficiente que el consorcio bacteriano al degradar clorpirifos.

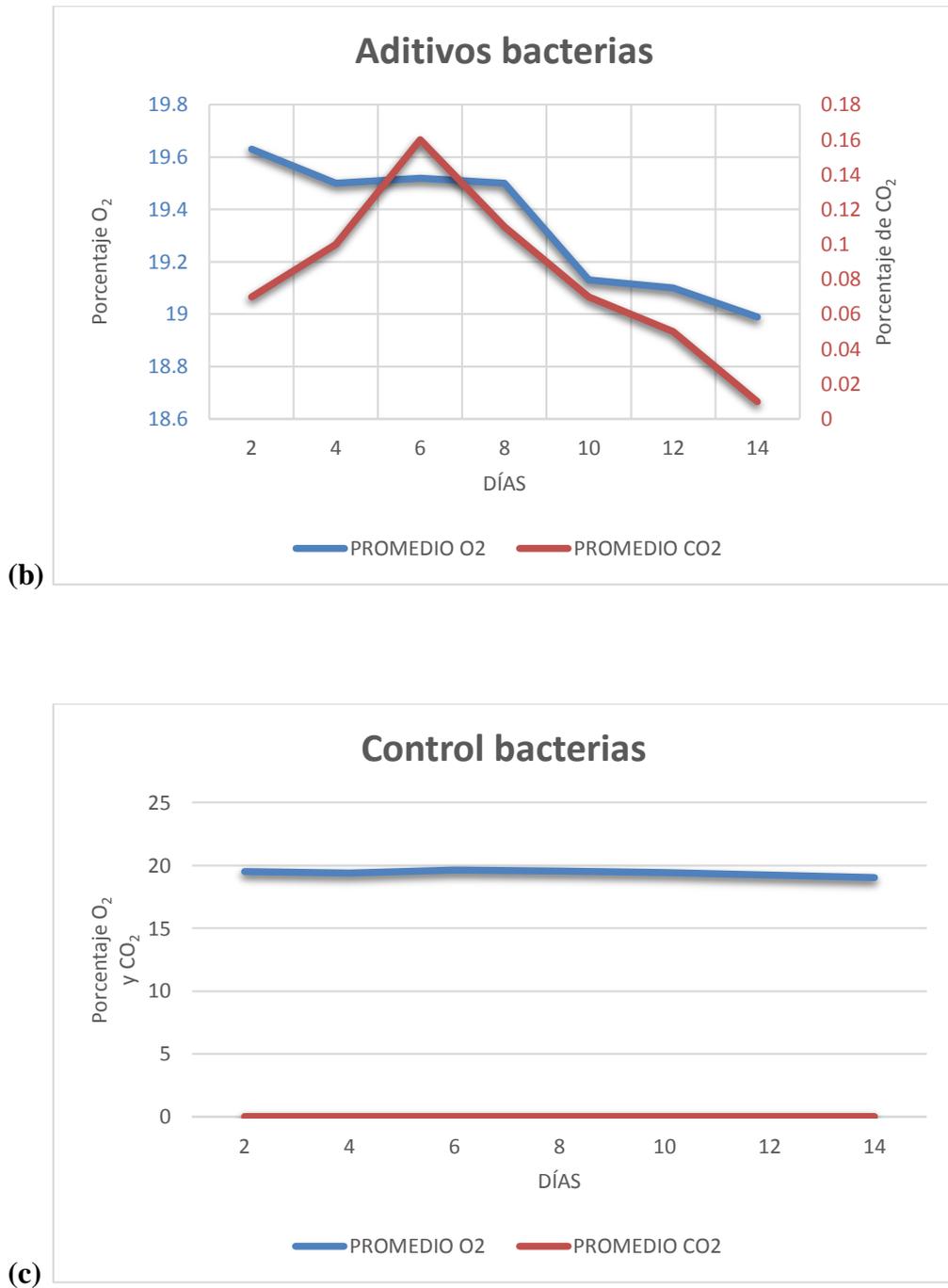
#### Medición de $\text{O}_2/\text{CO}_2$ por el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0

Resultados de las mediciones de  $\text{O}_2/\text{CO}_2$  con el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0:

a. Bacterias



“...continuación”



**Figura 11: Curva de cuantificación de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> producido durante la respiración de bacteriana medida con el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0. (a) Tratamiento con clorpirifos (b) tratamiento con aditivos de clorpirifos (c) control.**

La figura 11 muestra los resultados de la cuantificación de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> mediante el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0 producido durante un periodo de estudio 14 días.

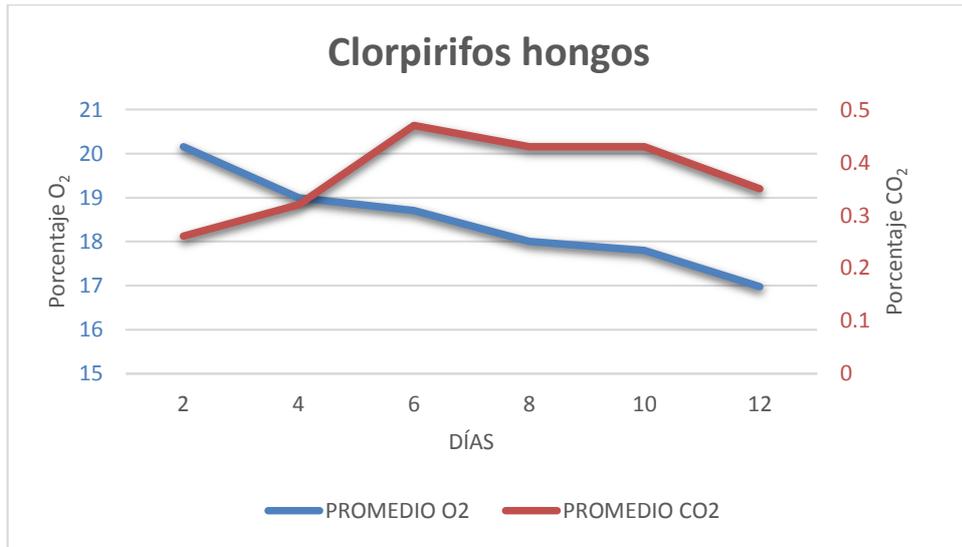
En la figura (a) observamos un comportamiento similar al encontrado en los resultados de titulación, en el cual para el caso del tratamiento con clorpirifos la cantidad de CO<sub>2</sub> llegó a un máximo de 0,36 por ciento de CO<sub>2</sub> el día ocho de evaluación, demostrando que en esta etapa hubo una mayor producción de CO<sub>2</sub> y en consecuencia una mayor actividad microbiana. En el caso del O<sub>2</sub>, este sufrió una disminución desde 19,94 por ciento al inicio hasta 18,23 por ciento para el día 14, siguiendo un comportamiento estándar de reducción como consecuencia de la respiración microbiana. Con estos resultados podemos deducir que efectivamente el carbono disponible en clorpirifos habría sido degradado por el consorcio bacteriano aislado.

Por otro lado, el tratamiento de aditivos de Lorsban 4E mostró un comportamiento similar al encontrado mediante el método de titulación. El porcentaje mayor de producción de CO<sub>2</sub> se llevó a cabo el día 6, alcanzando un valor de 0,16 por ciento, a partir del cual disminuyó hasta un mínimo de 0,01 por ciento.

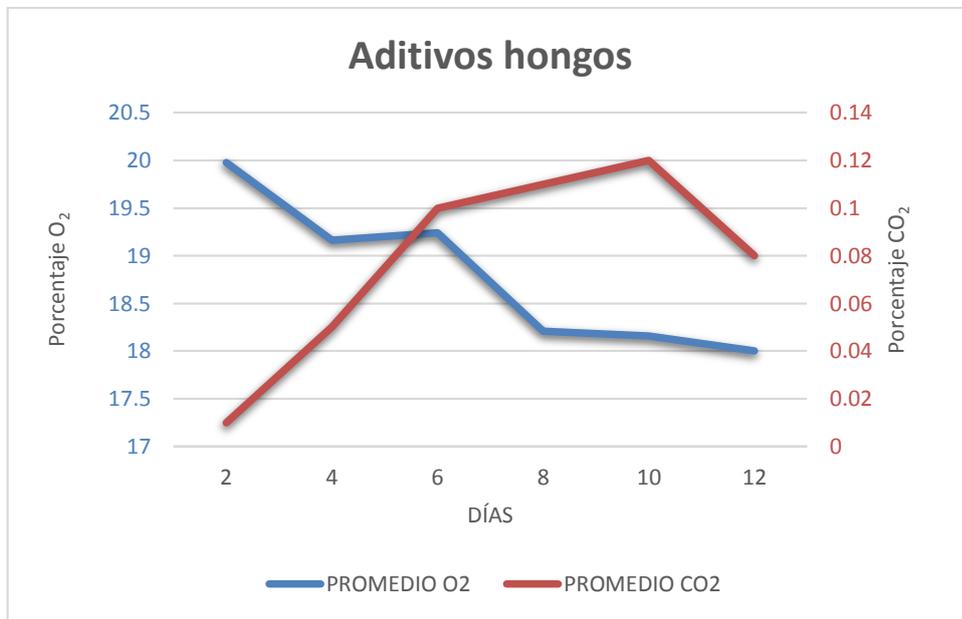
Finalmente, el grupo control mostró poca actividad microbiana como se puede ver en la figura 6 (c), donde los valores de CO<sub>2</sub> oscilaron entre cero y 0,02 por ciento y los valores de O<sub>2</sub> también se mantuvieron estables entre 19,63 por ciento y 19,03 por ciento.

Los resultados demostraron la respuesta esperada, indicando que las cepas bacterianas aisladas son capaces de degradar la molécula de clorpirifos y que tienen un potencial uso en la biorremediación de suelos agrícolas con uso extensivo e intensivo de clorpirifos.

b. Hongos



(a)



(b)

“...continuación”



**Figura 12: Curva de cuantificación de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> producido durante la respiración fúngica medida con el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0. (a) Tratamiento con clorpirifos (b) tratamiento con aditivos de clorpirifos (c) control.**

Los resultados de la curva de cuantificación de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> producido (figura 12) muestran un comportamiento similar al observado en los resultados obtenidos por titulación: hasta el día seis muestran una elevada respiración lo cual indica una efectiva actividad fúngica, con lo cual se puede deducir que están degradando clorpirifos y manteniendo un crecimiento exponencial hasta el sexto día, para luego seguir una etapa de desaceleración, en la cual aún se cuantifica una disminución de O<sub>2</sub> y un aumento de CO<sub>2</sub>, correspondiente a la presencia de actividad microbiana.

En el caso del tratamiento con aditivos, figura 12 (b), podemos observar que hay un aumento de la cantidad de CO<sub>2</sub> presente hasta el día diez, mostrando un comportamiento de crecimiento exponencial para luego a partir del día diez, disminuir considerablemente, lo cual se debería al agotamiento de carbono presente. Si bien este comportamiento se mantuvo más estable en el tiempo, los valores de CO<sub>2</sub> fueron menores (0,01 – 0,12 por ciento) que en el tratamiento con clorpirifos (cuyo porcentaje de CO<sub>2</sub> estuvo en un rango entre 0,26 – 0,47).

Por otro lado, el comportamiento de O<sub>2</sub> mostró una tendencia a la disminución, demostrando la respiración de los hongos presentes.

El grupo control, similar a los resultados con bacterias, mostró poca variación de porcentaje de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.

Para este caso los resultados también alcanzaron la respuesta esperada, indicando que las tres cepas fúngicas aisladas son capaces de degradar la molécula de clorpirifos y que tienen un potencial uso en la biorremediación de suelos agrícolas.

Barrios *et al.* realizaron una investigación similar en suelos contaminados con hidrocarburos en el año 2015. Estos investigadores evaluaron la eficiencia de remoción de hidrocarburos totales de petróleo asociados al aceite usado de motor en suelo para lo cual realizaron el seguimiento de la degradación de hidrocarburo a través de la estimación de la tasa de respiración del suelo (respirometría) considerando la totalidad de la diversidad microbiana existente (respiración de hongos y bacterias). En este estudio obtuvieron buenos resultados en lo que respecta a la cuantificación de CO<sub>2</sub> asociado a la biodegradación del aceite usado, concluyendo que los análisis respirométricos son buenos indicadores de la respiración celular y que mediante su uso se puede determinar la efectividad de la degradación de compuestos contaminantes que se encuentran presentes en el suelo como los derivados de hidrocarburos, el petróleo crudo e incluso los plaguicidas, como se ha demostrado en este estudio.

## V. CONCLUSIONES

1. Se encontraron 12 morfotipos bacterianos capaces de degradar clorpirifos en condiciones de laboratorio a una dosis máxima de hasta 300 mg/L: 9 gram positivos y 3 gram negativos.
2. Se encontraron 3 géneros de hongos capaces de degradar clorpirifos en condiciones de laboratorio a una dosis máxima de hasta 300 mg/L: *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* y *Cladosporium sp*.
3. A través del crecimiento microbiano en placas Petri se aseguró que las bacterias y hongos aislados se desarrollaran en un ambiente en donde la única fuente de carbono fue la provista por clorpirifos, indicando la degradación del mismo.
4. La cuantificación de la respiración constituye una técnica fácil de implementar para la medición de la actividad microbiana, la cual es, en el presente estudio, un indicador de la degradación de clorpirifos.
5. La cuantificación del porcentaje de CO<sub>2</sub> desprendido a través de la respiración microbiana, y medido a través del analizador de gases *Oxybaby*® 6.0. se puede considerar un indicador fácil de implementar para estimar la actividad de los microorganismos presentes en suelo.
6. La titulación es una técnica simple y fácil de llevar a cabo para la cuantificación de miligramos de C-CO<sub>2</sub>, asociados en este caso a la degradación de carbono presente en clorpirifos.

7. Los ensayos de respiración y de crecimiento microbiano permitieron evaluar de forma indirecta la capacidad biodegradadora de los microorganismos aislados sobre el clorpirifos.
8. Tanto el consorcio de bacterias como el consorcio de hongos fueron eficientes en la degradación de clorpirifos, indicando que un suelo contaminado con este compuesto puede ser tratado por procesos de biorremediación.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Realizar la cuantificación de la cantidad final de clorpirifos a través de cromatografía de gases, para conocer la cantidad de clorpirifos degradado por unidad de tiempo.
2. Realizar la identificación a nivel de especie de los microorganismos aislados.
3. Evaluar la biodegradación de clorpirifos controlando variables como pH, luz y temperatura, para determinar si hay factores que potencian o inhiben esta actividad.
4. Evaluar la capacidad biodegradadora de clorpirifos de un consorcio conformado por bacterias y hongos, con la finalidad de determinar si actuando en conjunto son más eficientes que de manera aislada.
5. Evaluar el cometabolismo de clorpirifos con algún sustrato que pueda potenciar su biodegradación.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Allen, D; Shonnard, D. 2002. Green engineering environmental conscious design of chemical processes. Prentice Hall PTR. 576 p.
2. Álvarez, P; Guevara, E. 2003. Biorremediación y atenuación natural de acuíferos contaminados por sustancias químicas peligrosas. Universidad de Carabobo. Carabobo. 388 p.
3. Anderson, J. P. E; Domsch, K. H. 1973. Quantification of bacterial and fungal contribution to a soil respiration. Arch. Microbial 93(2): 113-127.
4. Anderson, J. P. E. 1982. Soil respiration. In. A.L.Page (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Methods. Edition. Amer. Soc. Agron. pp. 837-871.
5. Araújo, A.S.F.; Santos, V.B.; Monteiro, R.T.R. 2008. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. European Journal of Soil Biology. 44(2): 225-230.
6. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US). 1993. ATSDR Public Health Assessment Guidance Manual. Lewis publishers. ISBN 0-87371-857-7
7. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US). 1997. Toxicological profile for Clorpirifos. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
8. Barrios-Ziolo, L. F; Robayo-Góez, J; Prieto-Cadavid, S; Cardona-Gallo, S. A; 2015. Biorremediación de suelos contaminados con aceites usados de motor. Revista CINTEX. 20(1): 69-96.

9. Castillo, F; Roldán, M; Blasco, R; Huertas, M; Caballero, F; Moreno, C; Matínez, M. 2005. *Biología Ambiental*. Madrid, Tébar. 614 p.
10. Castrejón M.L; Sánchez E; Ortiz M.L. Caracterización e identificación de consorcios bacterianos capaces de crecer sobre plaguicidas organofosforados (en línea). México. Consultado 18 ene. 2016. Disponible en: [http://web.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Resumen/CA/RC/CAC-04.pdf](http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Resumen/CA/RC/CAC-04.pdf)
11. Chapman, H. 1973. *Métodos de análisis para plantas, suelos y agua*. 1 ed. México, Trillas. 195 p.
12. Chishti, Z; Arshad, M. 2013. Growth linked biodegradation of Clorpirifos by *Agrobacterium* and *Enterobacter* spp. *International Journal of Agriculture & Biology*, 15(1): 19–26.
13. Chowdhury, A; Pradhan, S; Saha, M; Sanyal, N. 2008. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian Journal of Microbiology*. 48(1): 114-127.
14. Cookson, J. 1995. *Bioremediation Engineering: Design and Applications*. 1 ed. New York, McGraw-Hill Education. 524 p.
15. Cox, C. 1994. *Journal of Pesticide Reform, Insecticide Factsheet*. Clorpirifos, part 3: Ecological Effects. Oregon. 15(2).
16. Deer, H; Beard, R. 2001. Effect of water pH on the chemical stability of pesticides (en línea). Utah. Utah State University DigitalCommons@USU. Consultado 18 de enero 2016. Disponible en: [https://extension.usu.edu/files/publications/factsheet/AG\\_Pesticides\\_14.pdf](https://extension.usu.edu/files/publications/factsheet/AG_Pesticides_14.pdf)
17. D.N.C.A. (Dirección Nacional De Calidad Ambiental). Plaguicidas – BVSDE. Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental de la Organización Panamericana de la Salud (en línea). Consultado 25 de enero 2016. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/031563/031563-08.pdf>
18. Dow Agrosciences. 2013. Re Organophosphate and Carbamate Reassessment (APP201045) Submission 102675 Appendix A Clorpirifos (en línea). Wellington. Consultado 19 ene. 2016. Disponible en: <http://www.epa.govt.nz/search-databases/Pages/applicationsdetails.aspx?appID=APP201045#>

19. EFSA (European Food Safety Authority, IT). 2005. European Commission Health Y Consumer Protection Directorate-General. Review Report for the active substance Clorpirifos. Estados Unidos. SANCO/3059/99 – rev. 1.5.
20. EFSA (European Food Safety Authority, IT). 2014. Conclusion on the peer review of the pesticide human health risk assessment of the active substance Clorpirifos. EFSA Journal 2014; 12 (4): 3640.
21. EPA (Environmental Protection Agency, US). 2001. Treatment Technologies for Site Cleanup: Annual Status Report. 10<sup>o</sup> Edición. Office of Solid Waste and Emergency Response (en línea). Estados Unidos. Consultado 25 ene. 2016. Disponible en: <http://www.epa.gov/TIO>
22. EPA (Environmental Protection Agency, US). 2002. Interim Reregistration Eligibility Decision for Clorpirifos. EPA 738-R-01-007.
23. EPA (Environmental Protection Agency, US). Office of Research and Development National Risk Management Research Laboratory. 2006. *In Situ* and *Ex Situ* Biodegradation Technologies for Remediation of Contaminated Sites. EPA/625/R—06/015.
24. EPA (Environmental Protection Agency, US). 2009. Chlorpyrifos incident review update (en línea). Estados Unidos. Consultado 25 ene. 2016. Disponible en: <http://www.epa.govt.nz/search-databases/Pages/applicationsdetails.aspx?appID=APP201045#>
25. EXTTOXNET (Extension Toxicology Network, US). 1993. A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. Major support and funding was provided by the USDA/Extension Service/National Agricultural Pesticide Impact Assessment Program: Clorpirifos (en línea). Estados Unidos. Consultado el 23 de ene. 2016. Disponible en: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/exttoxnet/carbaryl-dicrotophos/Clorpirifos-ext.html#45>
26. EXTTOXNET (Extension Toxicology Network, US). A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. Major support and funding was provided by the USDA/Extension Service/National Cholinesterase Inhibition (en línea). Estados Unidos.

- Consultado el 23 de ene. 2016. Disponible en:  
<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/TIB/cholinesterase.html>
27. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, IT). 2000. Evaluación de la contaminación del suelo: Manual de Referencia. Roma. Documento de campo GCP/INT/650/NET.
  28. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, IT). 2006. Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas: Versión Revisada. Roma, Italia. P. 7. ISBN 92-5-305411-5.
  29. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, IT). 2015. FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides for Clorpirifos (en línea). Consultado 23 ene. 2016. Disponible en:  
[http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/Speccs/Clorpirifos\\_2015\\_08.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Speccs/Clorpirifos_2015_08.pdf)
  30. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, IT). Assessing soil contamination. A reference manual. The Pesticide Disposal Series 8 (en línea). Consultado 7 de febrero 2016. Disponible en:  
<http://www.fao.org/agriculture/crops/obsolete-pesticides/what-dealing/obs-pes/en/>
  31. Farham, M., Khan, A., Wahid, A., Ahmad, M. Y Ahmad, F. 2012. Biodegradation of Clorpirifos Using Indigenous *Pseudomonas* sp. Isolated from Industrial Drain. Pakistan Journal of Nutrition 11 (12): 1183-1189.
  32. Garrido Valero, M. 1994. Interpretación de análisis de suelos. Hojas divulgadoras Num. 5/93 HD. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario. Madrid, España. ISBN 84-341-0810-0.
  33. Guerrero-Ortiz, P., Quintero-Lizaola, R., Espinoza-Hernández, V., Benedicto-Valdés, G., Sánchez-Colín, M. Respiración de CO<sub>2</sub> Como Indicador de la Actividad Microbiana en Abonos Orgánicos De Lupinus. Terra Latinoamericana, vol. 30, núm. 4, 2012, pp. 355-362 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.Chapingo, México.
  34. Hayes, W.J. And Laws, E.R. 1990. Handbook of Pesticide Toxicology, Vol. 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc., NY.
  35. Horobin, R; Kiernan, J. 2002. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine. 10<sup>o</sup> Edición.

36. ICSC (International Centre for Soil and Contaminated Sites). 2006. Manual for biological remediation techniques (en línea). Alemania. Consultado 7 de febrero 2016. Disponible en:  
<http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/publikation/long/3065.pdf>
37. INCHEM (International Program on Chemical Safety, US). 1972. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. Clorpirifos (en línea). Consultado 06 febrero 2016. Disponible en:  
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v072pr10.htm>
38. INECC (Instituto Nacional De Ecología Y Cambio Climático, MX). 2013. Características físico químicas de los plaguicidas y su transporte en el ambiente (en línea). México. Consultado 02 feb. 2016. Disponible en:  
[www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/descargas/pytransporte](http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/descargas/pytransporte)
39. Irvine, R. Y Sikdar, S. 1998. Bioremediation: Principles and Practice. Volume III, Bioremediation technologies. Suiza. Technomic Publishing Company, Inc. ISBN N° 1-56676-561-7. 659 p.
40. Kalwasinska, A. Kesy, J. Dondersky, W. 2008. Biodegradation of Carbendazim by Epiphytic and Neustonic Bacteria of Eutrophic Chelmszynie Lake. Polish Journal of Microbiology. Vol. 57, N°3, 221 – 230.
41. Kanekar, P; Bhadbhade, B; Deshpande, N; Sarnaik, S. 2004. Biodegradation of organophosphorus pesticides. Proceedings of the Indian National Science Academy B70 No. 1 pp 57 – 70.
42. Kieft, T.L; Rosacker, L.L. 1991. Application of respiration and adenylate-based soil microbiology assays to deep subsurface terrestrial sediments. Soil Biol. Biochem., 23: 563-568.
43. Kinney, C.A., Mandernack, K.W., Mosier, A.R. 2005. Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37(5), pp 837-850.
44. Kumar, A., et al. 2011. Review on bioremediation of polluted environment: A management.
45. Int.J. Env. Sci., 1 (6): 1079-1093.

46. Lal, R. 1982. Accumulation, metabolism and effects of organophosphorus insecticides on microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.* 28:149-200. PMID 6765017.
47. Lang, M., Cai, Z. 2009. Effects of chlorothalonil and carbendazim on nitrification and denitrification in soils. *Journal of Environmental Sciences* 21(4), pp 458-467.
48. Liebich, J; Schaffer, A; Burauel, P. 2003. Structural and functional approach to studying pesticide side-effects on specific soil functions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(4): 784–790.
49. Linde, D. Clark. Environmental Protection Agency, EPA. 1994. Environmental Hazard Assessment Program. Physico-Chemical Properties and Environmental fate of Pesticides.
50. Lopera, M., Peñuela, G., Dominguez, M. Y Mejía, G. 2005. Evaluación de la degradación del plaguicida clorpirifos en muestras de suelo utilizando el hongo *Phanerochaete chrysosporium*. 2005. *Revista Facultad de Ingeniería – Universidad de Atioquia*. 33: 58 – 69.
51. Marín, L. Y Jaramillo, B. 2015. Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2).
52. Markets y Markets. 2015. Agrochemicals Market by Type (Fertilizers y Pesticides), Fertilizer Type (Nitrogenous, Potassic, y Phosphatic), Pesticide Type (Organophosphates, Pyrethroids, Neonicotinoids, and Bio-Pesticides), Sub-types y Crop Type - Global Trends y Forecast to 2020 (en línea). Consultado 02 feb. 2016. Disponible en:  
<http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/global-agro-chemicals-market-report-132.html>
53. M. Pell A. Wörman. 2011. Biological Wastewater Treatment Systems. *Comprehensive Biotechnology*. Edit Academic Press. Vol. 6, pp. 275 – 290
54. Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. In *Soil biochemistry*. Vol. 6 Bollag J. M., Stotzky G. (eds). Marcel Dekker, New York, pp. 293-355.
55. NPIC (National Pesticide Information Center, US). 2010. Chlorpyrifos General Fact Sheet (en línea). Consultado 23 ene. 2016. Disponible en:  
<http://npic.orst.edu/factsheets/chlorpgen.pdf>

56. NRA (National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemical, AU). 2000. Australia. NRA Review series 00.5. The NRA Review of Chlorpyrifos. ISBN 1443 2528
57. Ochoa, C; Urroz, F. 2011. Determinación de la actividad microbiana como indicador biológico en suelos agrícolas del occidente de Nicaragua (periodo abril 2009 a marzo 2011). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León. Tesis.
58. Olea, N; Fernández, M. F. 2001. Plaguicidas persistentes. Laboratorio de Investigaciones Médicas, Hospital Clínico Universidad de Granada, Madrid España pp. 1-18.
59. Omokhagbor, G. Tawari, P. Eruke, S. Ehinomen, I. 2015. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, Vol. 3, No. 1, 28-39 (en línea). Disponible en: <http://pubs.sciepub.com/ijebb/3/1/5/>
60. OMS (Organización Mundial de la Salud, CH). 1980. Principios y métodos para la evaluación de la toxicidad de sustancias químicas. Publicación científica N° 402. Ginebra Suiza.
61. OCDE (Organización Para La Cooperación Y El Desarrollo Económicos, FR). 1992. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Degradation and Accumulation, Test N° 301: Ready Biodegradability. ISSN 2074-577x.
62. OCDE (Organización Para La Cooperación Y El Desarrollo Económicos, FR). 2002. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Degradation and Accumulation, Test N° 307: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil. ISSN 2074-577x.
63. OCDE (Organización Para La Cooperación Y El Desarrollo Económicos, FR). 2005. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Degradation and Accumulation, Annex 1, Proposal for Revised Introduction to the OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 3 Part 1: Principles and Strategies Related to the Testing of Degradation of Organic Chemicals. ISSN 2074-577x.
64. OCDE (Organización Para La Cooperación Y El Desarrollo Económicos, FR). 2014.
65. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Degradation and Accumulation, Test N° 310: Ready Biodegradability – CO<sub>2</sub> in sealed vessels (Headspace Test). ISSN 2074-577x.

66. PAN (Pesticide Action Network) Europe. 2010. Environmental Effects of Pesticides: An Impression of recent scientific literature.
67. PAN (Pesticide Action Network, US) Database. 2016. Chlorpyrifos (en línea). Consultado 23 de enero 2016. Disponible en: <http://www.pesticideinfo.org/>
68. PPDB (Pesticide Properties Database, USA). University of Hertfordshire. Chlorpyrifos (en línea). (Ref: OMS 1196). Consultado 23 de enero 2016. Disponible en: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/154.htm>
69. Pradnya P. Kanekar et al. 2004. Biodegradation of organophosphorus pesticides. Microbial sciences division, Agharar Research Institute. Proc. Indian natn Sci Acad B70 N° 1 pp 57-70.
70. Quinchía A., Gómez F., Palencia K., Y Giraldo C. 2006. Evaluación de la resistencia de un aislado bacteriano nativo compatible con Pseudomonas sp al insecticida Lorsban 4 EC. Revista EIA, Escuela de Ingeniería de Antioquia. ISSN 1794-1237 Número 5 pp. 101-108.
71. Rivas Chávez, F. 2006. Pilot Plant Design for use in Solar Photocatalytic Degradation Applications. Tesis Lic. Ingeniería química con Área en Ingeniería Ambiental. México.
72. Rivero, A; Niell, S; Pareja, L; Cerdeiras, M; Heinzen, H; Cesio, V. 2012. Capacidad de los Basidiomicetes para Degradar Endosulfán y Clorpirifós en una Matriz Compleja.
73. Rodríguez, H. Rodríguez, J. 2011. Métodos de análisis de suelos y plantas. 239 pp. México.
74. SENASA (Servicio Nacional De Sanidad Agraria, PE). 2013. Curso: Gestión De Plaguicidas Químicos De Uso Agrícola CAFSAE.
75. SIGIA (Sistema Integrado De Gestión De Insumos Agropecuarios) del SENASA (Servicio Nacional De Sanidad Agraria, PE). Perú (en línea). Consultado 23 ene. 2016. Disponible en: [http://200.60.104.77/SIGIAWeb/sigia\\_Consultado\\_producto.html](http://200.60.104.77/SIGIAWeb/sigia_Consultado_producto.html)
76. Singh, B. Wlaker, A. Morgan, A. Wright, D. 2004. Effects of soil pH on the biodegradation of Clorpirifos and isolation of Clorpirifos-degrading bacterium. Applied and Environmental Microbiology Vol. 69, N° 9.
77. Sociedad Americana de Ciencias del Suelo (Soil Science Society of America). 2013. Why is Soil Important? (en línea). Estados Unidos. Consultado 23 dic.

2016. Disponible en: <https://soils.org/files/science-policy/sss-marketing-2013.pdf>
78. Stamatiu-Sanchez, K., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., Nava-Diaz, C., Sanchez-Escudero, J., Cruz.Sanchez, S Y Castillo, M. 2015. Tolerancia de hongos filamentosos a endosulfán, clorpirifós y clorotalonil en condiciones *in vitro*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 31(1):23-37.
79. The National Academies Press. 2014. Committee on the Design and Evaluation of Safer Chemical Substitutions: A Framework to Inform Government and Industry Decision; Board on Chemical Sciences and Technology; Board on Environmental Studies and Toxicology; Division on Earth and Life Studies; National Research Council (en línea). ISBN 978-0-309-31013-0. Consultado 28 ene. 2016. Disponible en: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK253965/pdf/Bookshelf\\_NBK253965.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK253965/pdf/Bookshelf_NBK253965.pdf)
80. Vidali, M. 2001 Bioremediation. An overview. Pure Appl. Chem., Vol. 73, N° 7, pp. 1163-1172.
81. Watts, M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. For Pesticide Action Network North America (en línea). Consultado 23 de enero del 2016. Disponible en: [https://extension.usu.edu/files/publications/factsheet/AG\\_Pesticides\\_14.pdf](https://extension.usu.edu/files/publications/factsheet/AG_Pesticides_14.pdf)

## VIII. ANEXOS

### 1. MEDIOS DE CULTIVO

- **MEDIO MÍNIMO DE SALES**

Preparación de las soluciones stock y el medio mínimo de sales minerales de acuerdo a las recomendaciones de la guía OECD TG 310 (2014).

Las soluciones stock deben conservarse bajo refrigeración y por hasta 6 meses o antes si existe evidencia de precipitación o crecimiento microbiano.

Preparar las siguientes soluciones stock:

(a) Dihidrógeno fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) .....	8.50 g
Hidrogenofosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) .....	21.75 g
Hidrogenofosfato disódico dihidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) .....	33.40 g
Cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) .....	0.50 g

Disolver en agua y enrasar hasta 1 litro. El pH de esta solución debe ser 7.4 ( $\pm 0.2$ ). Si no es el caso, preparar una nueva solución.

(b) Cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) .....	36.40 g
---	---------

Disolver en agua y enrasar hasta 1 litro.

(c) Sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) .....	22.50 g
--	---------

Disolver en agua y enrasar hasta 1 litro.

(d) Cloruro de hierro (III) hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) .....	0.25 g
---	--------

Disolver en agua y enrasar hasta 1 litro.

### Preparación del medio mineral

Mezclar 10 ml de la solución (a) con aproximadamente 800 ml de agua, luego agregar 1 ml de las soluciones (b), (c) y (d) y enrasar hasta 1 litro con agua.

- **AGAR NUTRITIVO**

Digestión péptica de tejido animal .....	5.0 g/L
Cloruro de sodio .....	5.0 g/L
Extracto de carne .....	1.5 g/L
Extracto de levadura .....	1.5 g/L
Agar .....	15 g/L
pH final (a 25°C) $7.4 \pm 0.2$	

- **AGAR SABOURAUD**

Peptona de caseína.....	10.0 g/L
Peptona de D (+)-Glucosa .....	40.0 g/L
Agar-agar .....	15 g/L
pH final (a 25°C) $5.6 \pm 0.2$	

## 2. HOJA DE SEGURIDAD DE MATERIALES DE LORSBAN 4E

### 2. HOJA DE SEGURIDAD DE MATERIALES DE LORSBAN 4E



## Hoja de Seguridad del Producto

DOW AGROSCIENCES DE COLOMBIA S.A.

Nombre del producto: LORSBAN™ 4E Insecticida / LORSBAN™ 4E Insecticide

Fecha: 19.09.2014

Fecha de impresión: 19.09.2014

DOW AGROSCIENCES DE COLOMBIA S.A. le ruega que lea atentamente esta Hoja de Datos de Seguridad (HDS) y espera que entienda todo su contenido ya que contiene información importante. Esperamos que siga las precauciones indicadas en este documento, a menos que las condiciones de uso necesiten otros métodos o acciones.

### 1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO Y DE LA COMPAÑÍA

Nombre del producto: LORSBAN™ 4E Insecticida

**IDENTIFICACIÓN DE LA COMPAÑÍA**  
DOW AGROSCIENCES DE COLOMBIA S.A.  
DIAGONAL 92 #17ª -42 P.7  
EDIFICIO BRICKELL CENTER  
BOGOTÁ, DC  
COLOMBIA

Numero para información al cliente: (57) 1-219-6000  
[SDSQuestion@dow.com](mailto:SDSQuestion@dow.com)  
Fax: (57) 1-219-6004

**TELÉFONO DE EMERGENCIA**  
Contacto de Emergencia 24 horas: (57) 5-668-8127  
Contacto Local para Emergencias: (57) 5-668-8127

### 2. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

Este producto es un "Producto Químico Peligroso" según el Estándar de Comunicación de Riesgos OSHA 29 CFR 1910.1200

Componente	Número de registro CAS	Concentración
clorpirifos (ISO)	2921-88-2	44,4%
Ácido bencenosulfónico, dodecil- sal de calcio	26264-06-2	2,9%
2-metilpropan-1-ol	78-83-1	1,2%
nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar	64742-95-6	44,1%
1,2,4-trimetilbenceno	95-63-6	13,2%

Mesitileno	108-67-8	3,5%
cumeno	98-82-8	1,7%
xileno	1330-20-7	0,4%

### 3. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

#### Resumen sobre emergencias

##### Aspecto

Estado físico	Líquido.
Color	amarillo

##### Olor

Agudo

##### Resumen de Peligros

##### **ATENCIÓN!**

Líquido combustible y vapor  
 Provoca irritación ocular.  
 El material es dañino si se ingiere.  
 Puede irritar la piel.  
 Puede ser nocivo si se inhala.  
 Puede afectar el sistema nervioso central; puede irritar el tracto respiratorio.  
 Peligro de aspiración. Puede entrar en los pulmones y causar daño.  
 Peligro de explosión del vapor.  
 Los vapores pueden desplazarse una gran distancia; existe la posibilidad de inflamación y/o retroceso de la llama.  
 Aislar el área.  
 Mantenerse a contraviento del derrame.  
 Manténgase fuera de las zonas bajas.  
 Avisar al público del peligro de explosión en la dirección a favor del viento.  
 Eliminar las fuentes de ignición.  
 Humos tóxicos pueden ser liberados en caso de incendio.  
 Evitar las temperaturas superiores a 50 °C (122 °F)  
 Muy tóxico para los peces y/o otros organismos acuáticos.  
 Posible riesgo de cáncer. Puede causar cáncer basándose en los datos sobre animales

#### Efectos potenciales para la Salud

**Ojos:** Puede causar una irritación ocular moderada que puede ser lenta de remitir.  
 Puede causar lesión de cornea.

**Piel:** Un contacto breve puede causar irritación en la piel con enrojecimiento local.  
 El contacto repetitivo puede causar quemaduras en la piel. Los síntomas pueden ser de dolor, rojez local severa, hinchazón, y lesiones en los tejidos.  
 Puede producir sequedad y escamas en la piel.  
 Puede causar una reacción más fuerte si la piel está cubierta (debajo de la ropa, guantes).

No es probable que un contacto prolongado con la piel provoque una absorción en cantidades perjudiciales.

**Inhalación:** Una exposición prolongada y excesiva puede causar efectos nocivos. Puede causar irritación respiratoria y depresión del sistema nervioso central. Los síntomas pueden ser de dolor de cabeza, vértigos y somnolencia, progresando hasta falta de coordinación y consciencia.

**Ingestión:** La toxicidad por ingestión es moderada. La ingesta accidental de pequeñas cantidades como consecuencia de las operaciones normales de manejo no es probable que cause lesión; sin embargo, la ingesta de grandes cantidades puede causar lesiones graves, incluso la muerte. Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.

**Exposición crónica:** Para el ingrediente(s) activo(s)  
Una exposición excesiva puede producir una inhibición de la colinesterasa del tipo organofosfato. Las señales y síntomas de una exposición excesiva al ingrediente activo pueden incluir: dolor de cabeza, vértigo, falta de coordinación, contracción muscular, temblores, náuseas, calambres abdominales, diarrea, transpiración, pupilas abiertas, visión borrosa, salivación, lacrimación, opresión en el pecho, urinación excesiva, convulsiones.  
Se ha informado de efectos en animales, sobre los siguientes órganos:  
Glándula suprarrenal.  
Los niveles de dosis que producen estos efectos fueron muchas veces mayores que cualquier nivel de dosis esperada en una exposición debida al uso.  
Es tóxico para el feto de animales de laboratorio a dosis tóxicas para la madre.  
En ensayos sobre reproducción con animales de laboratorio, Clorpirifos no ha interferido en su fertilidad. Se produjeron algunos casos de toxicidad en los descendientes, pero únicamente con una dosis suficientemente alta como para producir una toxicidad significativa en los genitores.  
Para el(los) disolvente(s)  
Se ha informado de efectos en animales, sobre los siguientes órganos:  
Sangre.  
Sistema Nervioso Central.  
Riñón.  
Hígado.  
Tracto respiratorio.  
Las observaciones sobre animales incluyen:  
Efectos anestésicos o narcóticos.  
Las cataratas fueron observadas en ratones expuestos a vapores de cumeno.  
Es tóxico para el feto de animales de laboratorio a dosis tóxicas para la madre.  
Ha causado defectos de nacimiento en animales de laboratorio solo a dosis que provocan una toxicidad grave en la madre.  
En estudios realizados sobre animales de laboratorio, sólo se han demostrado efectos en la reproducción a dosis que también produjeron toxicidad importante en los progenitores.  
Para el(los) componente(s) menor(es):  
Provoca cáncer en animales de laboratorio.  
Sin embargo, la relevancia de esto en seres humanos se desconoce.

---

#### **4. PRIMEROS AUXILIOS**

---

##### **Descripción de los primeros auxilios**

**Recomendaciones generales:** Los socorristas deberían prestar atención a su propia protección y usar las protecciones individuales recomendadas (guantes resistentes a productos químicos, protección contra las salpicaduras) Consulte la Sección 8 para equipamiento específico de protección personal en caso de que existiera una posibilidad de exposición.

**Inhalación:** Traslade la víctima al aire libre. Si la persona no respira, llame a un centro de emergencia o pida una ambulancia, entonces aplique la respiración artificial; use un protector (máscara de bolsillo, etc) al aplicar el boca-boca. Llame a un centro de control de envenenamientos o a un doctor para consejos de tratamiento. Si la respiración es dificultosa, se deberá administrar oxígeno por personal cualificado.

**Contacto con la piel:** Quitar la ropa contaminada. Lavar la piel inmediatamente con abundante agua durante 15-20 minutos. Llamar a un Instituto de Toxicología o al médico para conocer el tratamiento. Una ducha de seguridad y emergencia apropiada debería estar disponible en la zona de trabajo.

**Contacto con los ojos:** Mantener los ojos abiertos y lavar lenta y suavemente con agua durante 15-20 minutos. Si hay lentes de contacto, quitarlas después de los primeros 5 minutos y continuar lavando los ojos. Llamar a un instituto de Toxicología o al médico para conocer el tratamiento. Un lava-ojo de emergencia adecuado deberá estar disponible inmediatamente.

**Ingestión:** Llamar inmediatamente a un centro de control de venenos o un médico. No inducir al vómito a menos de recibir instrucciones del centro de control de veneno o del médico. No suministrar ningún tipo de líquido a la persona. No suministrar nada por la boca a la persona inconsciente.

**Principales síntomas y efectos, agudos y retardados:** Además de la información detallada en los apartados Descripción de los primeros auxilios (anteriormente) e Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente (a continuación); la Sección 11: Información toxicológica incluye la descripción de algunos síntomas y efectos adicionales.

**Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente**

**Notas para el médico:** Un contacto cutáneo puede agravar una dermatitis preexistente. Si hay quemaduras, trátelas como quemaduras térmicas, después de descontaminarlas. Si se efectúa un lavado de estómago, se recomienda un control endotraqueal y/o esofágico. El riesgo de aspiración pulmonar se valorará con relación a la toxicidad. La decisión de provocar el vómito o no, la tomará el médico. La inhibición de colinesterasa ha sido observada en la exposición de personas pero no constituye ninguna ayuda para determinar la exposición y no está correlacionada con los signos de la exposición. El tratamiento de la exposición se dirigirá al control de los síntomas y a las condiciones clínicas del paciente. Cuando se llame al médico o al centro de control de envenenamiento, o se traslade para tratamiento, tenga disponible la Ficha de Datos de Seguridad, y si se dispone, el contenedor del producto su etiqueta.

---

## **5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS**

---

**Medios de extinción apropiados:** Niebla o agua pulverizada/atomizada. Extintores de polvo químico. Extintores de anhídrido carbónico. Espuma. No utilizar agua a chorro directamente. El chorro de agua directo puede no ser efectivo para extinguir el fuego. El uso de las espumas resistentes al alcohol (tipo ATC) es preferible. Se pueden utilizar las espumas de usos generales sintéticas (incluyendo AFFF) o espumas proteicas comunes, pero serán mucho menos eficaces.

**Medios de extinción a evitar:** No Determinado

**Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla**

**Productos de combustión peligrosos:** Durante un incendio, el humo puede contener el material original junto a productos de la combustión de composición variada que pueden ser tóxicos y/o irritantes. Los productos de la combustión pueden incluir, pero no exclusivamente: Óxidos de azufre. Óxidos fosforosos (POx). Óxidos de nitrógeno. Cloruro de hidrógeno. Monóxido de carbono. Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

**Riesgos no usuales de Fuego y Explosión:** El contenedor se puede romper por la producción de gas en una situación de incendio. Cuando el producto se almacena en recipientes cerrados puede crearse una atmósfera inflamable. Poner a tierra y dar continuidad eléctrica a todos los equipos. Las mezclas inflamables de este producto son fácilmente inflamables, incluso por descarga estática. Los vapores son más pesados que el aire y pueden desplazarse a largas distancias y acumularse en zonas bajas. Pueden provocar un incendio y/o un retroceso de la llama. En el espacio de vapor de los contenedores pueden existir mezclas inflamables a temperatura ambiente. Concentraciones inflamables de vapores pueden acumularse a temperaturas superiores al punto de flash. Ver sección 9. Al ser incinerado, el producto desprenderá humo denso.

**Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios**

**Procedimientos de lucha contra incendios:** Mantener a las personas alejadas. Circunscribir el fuego e impedir el acceso innecesario. Permanecer a contraviento. Mantenerse lejos de áreas bajas donde los gases (humos) se puedan acumular. Puede que el agua no sea eficaz para apagar el incendio. Utilizar agua pulverizada/atomizada para enfriar los recipientes expuestos al fuego y la zona afectada por el incendio, hasta que el fuego esté apagado y el peligro de re-ignición haya desaparecido. Combata el fuego desde un lugar protegido o desde una distancia segura. Considere el uso de mangueras o monitores con control remoto. Evacuar inmediatamente del área a todo el personal si suena la válvula del dispositivo de seguridad o si nota un cambio de color en el contenedor. Los líquidos ardiendo pueden apagarse por dilución con agua. No usar un chorro de agua. El fuego puede extenderse. Eliminar las fuentes de ignición. Mueva el contenedor del área de incendio si estamaniobra no comporta peligro alguno. Los líquidos ardiendo se pueden retirar barriéndolos con agua para proteger a las personas y minimizar el daño a la propiedad. Contener la expansión del agua de la extinción si es posible. Puede causar un daño medioambiental si no se contiene. Consulte las secciones de la SDS: " Medidas en caso de fugas accidentales " y " Información Ecológica ".

**Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios:** Utilice un equipo de respiración autónomo de presión positiva y ropa protectora contra incendios (incluye un casco contra incendios, chaquetón, pantalones, botas y guantes). Evitar el contacto con el producto durante las operaciones de lucha contra incendios. Si es previsible que haya contacto, equiparse con traje de bombero totalmente resistente a los productos químicos y con equipo de respiración autónomo. Si no se dispone de equipo de bombero, equiparse con vestimenta totalmente resistente a los productos químicos y equipo de respiración autónomo y combatir el fuego desde un lugar remoto. Para la utilización de un equipo protector en la fase de limpieza posterior al incendio o sin incendio consulte las secciones correspondientes en esta Ficha de Datos de Seguridad (FDS).

---

## 6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

---

**Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia:** Aislar el área. Mantener fuera del área al personal no necesario y sin protección. Mantener al personal lejos de áreas bajas. Mantenerse a contraviento del derrame. Ventilar el área de pérdida o derrame. No fumar en el área. Con el objetivo de evitar un incendio o una explosión, deben eliminarse todas las fuentes de ignición en las proximidades de un derrame o emisiones de vapor. Dar continuidad y conectar a tierra todos los contenedores y equipos manejados. Peligro de explosión de vapores, mantener lejos de alcantarillas. En grandes derrames, avisar al público del peligro de explosión a favor del viento. Antes de volver a entrar en el área, comprobar la zona con un detector de gas

combustible. Poner a tierra y dar continuidad eléctrica a todos los contenedores y equipos usados para la manipulación. Ver Sección 7, Manipulación, para medidas de precaución adicionales. Usar el equipo de seguridad apropiado. Para información adicional, ver la Sección 8, Controles de exposición/protección individual.

**Precauciones relativas al medio ambiente:** Evitar la entrada en suelo, zanjas, alcantarillas, cursos de agua y/o aguas subterráneas. Ver sección 12, Información ecológica. Los derrames o descargas a los cursos naturales de agua pueden matar a los organismos acuáticos.

**Métodos y material de contención y de limpieza:** Confinar el material derramado si es posible. Derrame de pequeñas cantidades: Absorber con materiales tales como: Arcilla. Barro. Arena. Barrer. Se recogerá en recipientes apropiados y debidamente etiquetados. Derrame de grandes cantidades: Contactar con Dow Agrosciences para asistencia en la descontaminación. Bombear con equipo a prueba de explosión. En caso de disponibilidad, usar espuma para sofocar o extinguir. Ver Sección 13, Consideraciones relativas a la eliminación, para información adicional.

**Supresión de los focos de ignición:** sin datos disponibles

**Control del Polvo:** sin datos disponibles

## 7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

**Precauciones para una manipulación segura:** Mantener fuera del alcance de los niños. Manténgase alejado del calor, las chispas y llamas. Los vapores son más pesados que el aire y pueden desplazarse a largas distancias y acumularse en zonas bajas. Pueden provocar un incendio y/o un retroceso de la llama. Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. Evite respirar el vapor o el rocío del aerosol. No lo trague. Lavarse concienzudamente tras la manipulación. Manténgase el recipiente bien cerrado. Utilizar con una ventilación adecuada. No utilizar aire a presión para trasladar el producto. No fumar, ni tener llamas abiertas o fuentes de ignición en áreas de manejo y almacenaje. Los recipientes, incluso los que han sido vaciados, pueden contener vapores. No cortar, taladrar, moler, soldar ni realizar operaciones similares sobre o cerca de recipientes vacíos. Conecte y tome a tierra todos los contenedores y equipos antes de transferir o usar el material. Puede resultar necesario, dependiendo del tipo de operación, el uso de equipo anti-chispa o a prueba de explosión. Ver sección 8, Controles de exposición/protección individual.

**Condiciones para el almacenaje seguro:** Almacenar en un lugar seco. Almacenar en el envase original. Mantener los envases bien cerrados cuando no se usen. No almacenar cerca de alimentos, productos alimentarios, medicamentos o agua potable. Minimizar las fuentes de ignición, tales como la acumulación de carga estática, calor, chispas o llamas. En el espacio de vapor de los contenedores pueden existir mezclas inflamables a temperatura ambiente. Evitar las temperaturas superiores a 50 °C (122 °F)

## 8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

### Parámetros de control

Los límites de la exposición se enumeran abajo, si existen.

Componente	Regulación	Tipo de lista	Notación/Valor
clorpirifos (ISO)	ACGIH	TWA Fracción inhalable y vapor	0,1 mg/m <sup>3</sup>
	ACGIH	TWA	Se absorbe a través de la piel, índice de exposición biológica
2-metilpropan-1-ol	ACGIH	TWA	50 ppm

nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar	ACGIH	TWA	200 mg/m <sup>3</sup> , como vapor total de hidrocarburos
cumeno	ACGIH	TWA	50 ppm
xileno	ACGIH	TWA	BEI
	ACGIH	TWA	100 ppm
	ACGIH	STEL	BEI
	ACGIH	STEL	150 ppm

LAS RECOMENDACIONES EN ESTA SECCIÓN SON PARA LOS TRABAJADORES DE FABRICACIÓN, MEZCLADO Y EMBALAGE. LOS USUARIOS Y TRATADORES DEBERÍAN OBSERVAR LA ETIQUETA DEL PRODUCTO PARA LOS EQUIPOS DE PROTECCIÓN PERSONAL Y ROPAS ADECUADAS.

#### Controles de la exposición

**Controles de ingeniería:** Usar medidas de orden técnico para mantener las concentraciones atmosféricas por debajo de los límites de exposición. Si no existen valores límites de exposición aplicables o guías, usar solamente una ventilación adecuada. Puede ser necesaria la ventilación local en algunas operaciones.

#### Medidas de protección individual

**Protección de los ojos/ la cara:** Utilice gafas tipo motorista (goggles).

##### Protección de la piel

**Protección de las manos:** Usar guantes químicamente resistentes a este material. Ejemplos de materiales de barrera preferidos para guantes incluyen: Polietileno. Alcohol Etil Vinílico laminado (EVAL) Caucho de estireno/butadieno Vitón. Ejemplos de materiales barrera aceptables para guantes son Caucho de butilo Polietileno clorado. Caucho natural ("látex") Neopreno. Caucho de nitrilo/butadieno ("nitrilo" o "NBR") Cloruro de Polivinilo ("PVC" ó vinilo) NOTA: La selección de un guante específico para una aplicación determinada y su duración en el lugar de trabajo debería tener en consideración los factores relevantes del lugar de trabajo tales como, y no limitarse a: Otros productos químicos que pudieran manejarse, requisitos físicos (protección contra cortes/pinchazos, destreza, protección térmica), alergias potenciales al propio material de los guantes, así como las instrucciones/ especificaciones dadas por el suministrador de los guantes.

**Otra protección:** Usar ropa protectora químicamente resistente a este material. La selección de equipo específico como mascarilla, guantes, delantal, botas o traje completo dependerá de la operación.

**Protección respiratoria:** Usar protección respiratoria cuando existe una posibilidad de superar el límite de exposición requerida ó recomendada. Usar un aparato de respiración homologado, si no existen límites de exposición requerida o recomendada. La selección de un aparato purificador del aire ó un aparato suministrador de aire con presión positiva dependerá de la operación específica y de la concentración ambiental potencial del material. En caso de emergencia, utilice un equipo respiratorio autónomo homologado de presión positiva.

Los tipos de mascarillas respiratorias siguientes deberían ser eficaces: Cartucho para vapor orgánico con un prefiltro de partículas.

## 9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

#### Aspecto

Estado físico	Líquido.
Color	amarillo

<b>Olor</b>	Agudo
<b>Umbral olfativo</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>pH</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Punto/intervalo de fusión</b>	No aplicable
<b>Punto de congelación</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Punto de ebullición (760 mmHg)</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Punto de inflamación</b>	<b>copa cerrada</b> 41 °C <i>ASTM D 56</i> (disolvente)
<b>Velocidad de Evaporación ( Acetato de Butilo = 1)</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Inflamabilidad (sólido, gas)</b>	sin datos disponibles
<b>Límites inferior de explosividad</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Límites superior de explosividad</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Presión de vapor:</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Densidad de vapor relativa (aire=1)</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Densidad Relativa (agua = 1)</b>	1,082 a 20 °C / 4 °C <i>NAPM 2ª.00</i>
<b>Solubilidad en agua</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Coefficiente de reparto n-octanol/agua</b>	sin datos disponibles
<b>Temperatura de auto-inflamación</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Temperatura de descomposición</b>	No se disponen de datos de ensayo
<b>Viscosidad Cinemática</b>	sin datos disponibles
<b>Propiedades explosivas</b>	sin datos disponibles
<b>Propiedades comburentes</b>	sin datos disponibles
<b>Peso molecular</b>	sin datos disponibles

NOTA: Los datos físicos y químicos dados en la Sección 9 son valores típicos para el producto, no constituyendo especificación.

---

## 10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

---

**Reactividad:** sin datos disponibles

**Estabilidad química:** Estable en las condiciones de almacenamiento recomendadas. Ver Almacenaje, sección 7.

**Possibilidad de reacciones peligrosas:** No ocurrirá polimerización.

**Condiciones que deben evitarse:** Evitar las temperaturas superiores a 50 °C (122 °F). La exposición a temperaturas elevadas puede originar la descomposición del producto. La generación de gas durante la descomposición puede originar presión en sistemas cerrados. Evite la descarga estática.

**Materiales incompatibles:** Evitar el contacto con: Ácidos. Bases. Oxidantes.

**Productos de descomposición peligrosos:** Los productos de descomposición dependen de la temperatura, el suministro de aire y la presencia de otros materiales. Los productos de descomposición pueden incluir, sin limitarse a: Cloruro de hidrógeno. Óxidos de nitrógeno. Óxidos fosforosos (POx). Óxidos de azufre. Se liberan gases tóxicos durante la descomposición.

---

## 11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

---

*Siempre que se disponga de información toxicológica sobre este producto o sus componentes constará en la presente sección.*

### Toxicidad aguda

#### Toxicidad oral aguda

La toxicidad por ingestión es moderada. La ingesta accidental de pequeñas cantidades durante las operaciones normales de mantenimiento no debería causar lesiones; sin embargo, la ingesta de grandes cantidades puede causarlas.

Como producto. No se ha determinado el DL50 por ingestión de una única dosis oral. Basado en la información sobre el/los componente/s:  
DL50, 460 mg/kg Estimado

#### Toxicidad cutánea aguda

No es probable que un contacto prolongado con la piel provoque una absorción en cantidades perjudiciales.

Como producto. No se ha determinado el DL50 por vía cutánea. Basado en la información sobre el/los componente/s:  
DL50, > 5.000 mg/kg Estimado

#### Toxicidad aguda por inhalación

Una exposición prolongada y excesiva puede causar efectos nocivos. Puede causar irritación respiratoria y depresión del sistema nervioso central. Los síntomas pueden ser de dolor de cabeza, vértigos y somnolencia, progresando hasta falta de coordinación y consciencia.

Como producto. La CL50 no ha sido determinada.

Basado en la información sobre el/los componente/s:  
CL50, rata, Aerosol, > 5 mg/l Estimado

### Corrosión o irritación cutáneas

Un contacto breve puede causar irritación en la piel con enrojecimiento local. El contacto repetitivo puede causar quemaduras en la piel. Los síntomas pueden ser de dolor, rojez local severa, hinchazón, y lesiones en los tejidos. Puede producir sequedad y escamas en la piel. Puede causar una reacción más fuerte si la piel está cubierta (debajo de la ropa, guantes).

### Lesiones o irritación ocular graves

Puede causar una irritación ocular moderada que puede ser lenta de remitir. Puede causar lesión de cornea.

### Sensibilización

Para el ingrediente(s) activo(s)

No se produjeron reacciones alérgicas en la piel en pruebas realizadas con conejillos de indias.

Para sensibilización respiratoria:

No se encontraron datos relevantes.

**Toxicidad Sistémica de Organo Blanco Específico (Exposición Individual)**

Puede irritar las vías respiratorias.

Puede provocar somnolencia o vértigo.

Vía de exposición: Inhalación

**Toxicidad Sistémica de Organo Blanco Específico (Exposición Repetida)**

Para el ingrediente(s) activo(s)

Una exposición excesiva puede producir una inhibición de la colinesterasa del tipo organofosfato

Las señales y síntomas de una exposición excesiva al ingrediente activo pueden incluir: dolor de cabeza, vértigo, falta de coordinación, contracción muscular, temblores, náuseas, calambres abdominales, diarrea, transpiración, pupilas abiertas, visión borrosa, salivación, lacrimación, opresión en el pecho, urinación excesiva, convulsiones.

Se ha informado de efectos en animales, sobre los siguientes órganos:

Glándula suprarrenal.

Los niveles de dosis que producen estos efectos fueron muchas veces mayores que cualquier nivel de dosis esperada en una exposición debida al uso.

Basado en la información sobre el/los componente/s:

Se ha informado de efectos en animales, sobre los siguientes órganos:

Sangre.

Sistema Nervioso Central.

Riñón.

Hígado.

Tracto respiratorio.

Las observaciones sobre animales incluyen:

Efectos anestésicos o narcóticos.

Las cataratas fueron observadas en ratones expuestos a vapores de cumeno.

**Carcinogenicidad**

Para el(los) componente(s) menor(es): Provoca cáncer en animales de laboratorio. Sin embargo, la relevancia de esto en seres humanos se desconoce.

El ingrediente activo no causó el cáncer en los animales de laboratorio.

**Teratogenicidad**

Para el ingrediente(s) activo(s) Es tóxico para el feto de animales de laboratorio a dosis tóxicas para la madre. No causó efectos de nacimiento en los animales de laboratorio.

Para el(los) disolvente(s) Es tóxico para el feto de animales de laboratorio a dosis tóxicas para la madre. Ha causado defectos de nacimiento en animales de laboratorio solo a dosis que provocan una toxicidad grave en la madre.

**Toxicidad para la reproducción**

Para el ingrediente(s) activo(s) En ensayos sobre reproducción con animales de laboratorio, Clorpirifos no ha interferido en su fertilidad. Se produjeron algunos casos de toxicidad en los descendientes, pero únicamente con una dosis suficientemente alta como para producir una toxicidad significativa en los genitores.

Basado en la información sobre el/los componente/s: En estudios realizados sobre animales de laboratorio, sólo se han demostrado efectos en la reproducción a dosis que también produjeron toxicidad importante en los progenitores.

**Mutagenicidad**

En base a los datos mayoritariamente negativos y algunos resultados erróneos o marginalmente positivos, se considera que el ingrediente activo tiene una toxicidad genética potencial mínima.

Basado en la información sobre el/los componente/s: Los estudios de toxicidad genética "in Vitro" dieron resultados principalmente negativos. Los estudios de toxicidad genética con animales dieron resultados negativos.

**Peligro de Aspiración**

Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.

**Carcinogenicidad**

Componente nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar	Lista ACGIH	Clasificación A3: Agente carcinógeno confirmado para los animales, con relevancia desconocida para los seres humanos. Grupo 2B: Posiblemente cancerígeno para los humanos
cumeno	IARC	

---

**12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA**


---

*Siempre que se disponga de información ecotoxicológica sobre este producto o sus componentes constará en la presente sección.*

**Ecotoxicidad****clorpirifos (ISO)****Toxicidad aguda para peces**

Sobre una base aguda, el producto es altamente tóxico para los organismos acuáticos (CL50/CE50 < 0,1 mg/l) para la mayoría de las especies sensibles.  
CL50, *Oncorhynchus mykiss* (Trucha irisada), 96 h, 0,003 mg/l

**Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

CE50, *Daphnia magna* (Pulga de mar grande), 48 h, 0,00068 mg/l

**Toxicidad aguda para las algas/plantas acuáticas**

CE50, *Skeletonema costatum*, 96 h, Inhibición del crecimiento (reducción densidad celular), 0,255 - 0,328 mg/l

**Toxicidad para las bacterias**

CE50, lodos activados, > 100 mg/l

**Toxicidad crónica para peces**

NOEC, *Pimephales promelas* (Piscardo de cabeza gorda), 216 d, 0,000568 mg/l  
MATC (Maximum Acceptable Toxicant Level), *Pimephales promelas* (Piscardo de cabeza gorda), 216 d, 0,00226 - 0,00325 mg/l

**Toxicidad crónica para invertebrados acuáticos**

NOEC, Daphnia magna (Pulga de mar grande), número de descendientes, 0,000056 mg/l  
MATC (Maximum Acceptable Toxicant Level), Daphnia magna (Pulga de mar grande),  
número de descendientes, 0,000075 mg/l

**Toxicidad para los organismos terrestres**

Este material es altamente tóxico para las aves en base a su alimentación (LC50 entre 50 y 500 ppm).

DL50 por vía oral, Otros, 122mg/kg de peso corporal.

CL50 por vía dietaria, Colinus virginianus (Codorniz Bobwhite), 8 d, 423mg/kg de alimento.

DL50 por vía oral, Apis mellifera (abejas), 48 h, 0,36microgramos / abeja

DL50 por vía contacto, Apis mellifera (abejas), 48 h, 0,070microgramos / abeja

**Toxicidad para organismos que viven en el suelo**

CL50, Eisenia fetida (lombrices), 14 d, 129 mg/kg

**Ácido bencenosulfónico, dodecil- sal de calcio**

**Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, Cyprinus carpio (Carpa), 96 h, 2,8 - 4,2 mg/l, Método No Especificado.

CL50, Oryzias latipes (Ciprinodontidae de color rojo-naranja), 48 h, 3,0 - 5,3 mg/l, Método No Especificado.

**2-metilpropan-1-ol**

**Toxicidad aguda para peces**

El producto es prácticamente no tóxico para los organismos acuáticos en base aguda (CL50/CE50/EL50/LL50 > 100 mg/L para la mayoría de especies sensibles ensayadas).

CL50, Pimephales promelas (Piscardo de cabeza gorda), Ensayo dinámico, 96 h, 1.430 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 203 o Equivalente

**Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

CE50, Daphnia pulex, Ensayo estático, 48 h, 1.100 mg/l

**Toxicidad aguda para las algas/plantas acuáticas**

CE50r, Pseudokirchneriella subcapitata (alga verde), Ensayo estático, 72 h, Inhibición de la tasa de crecimiento., 1.799 mg/l

**Toxicidad para las bacterias**

CI50, lodos activados, Ensayo estático, 16 h, Inhibición del crecimiento, > 1.000 mg/l

**Toxicidad crónica para invertebrados acuáticos**

NOEC, Daphnia magna (Pulga de mar grande), 21 d, número de descendientes, 20 mg/l

MATC (Maximum Acceptable Toxicant Level), Daphnia magna (Pulga de mar grande), 21 d, número de descendientes, 28 mg/l

**nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar**

**Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, Oncorhynchus mykiss (Trucha irisada), Ensayo estático, 96 h, 9,22 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 203 o Equivalente

**Toxicidad para los organismos terrestres**

El material es prácticamente no tóxico para las aves en base aguda (LD50 >2000 mg/kg).  
El producto es prácticamente no tóxico para los pájaros sobre una base alimentaria (CL50>5000ppm)  
CL50 por vía dietaria, *Colinus virginianus* (Codorniz Bobwhite), 8 d, > 6500mg/kg de alimento.  
DL50 por vía oral, *Colinus virginianus* (Codorniz Bobwhite), 21 d, > 2150mg/kg de peso corporal.

#### **1,2,4-trimetilbenceno**

##### **Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, *Pimephales promelas* (Piscardo de cabeza gorda), Ensayo dinámico, 96 h, 7,7 mg/l

##### **Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

CE50, *Daphnia magna* (Pulga de mar grande), 48 h, 3,6 mg/l

#### **Mesitileno**

##### **Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, *Carassius auratus* (Pez dorado), Ensayo dinámico, 96 h, 12,5 mg/l, Método No Especificado.

##### **Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

CL50, *Daphnia magna* (Pulga de mar grande), Ensayo estático, 48 h, 6 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 202 o Equivalente

##### **Toxicidad aguda para las algas/plantas acuáticas**

CE50b, alga de la especie *Scenedesmus*, 48 h, Biomasa, 25 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 201 o Equivalente

##### **Toxicidad crónica para invertebrados acuáticos**

NOEC, *Daphnia magna* (Pulga de mar grande), Ensayo semiestático, 21 d, número de descendientes, 0,4 mg/l

#### **cumeno**

##### **Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, *Oncorhynchus mykiss* (Trucha irisada), Ensayo semiestático, 96 h, 2,7 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 203 o Equivalente

##### **Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

CE50, *Daphnia magna* (Pulga de mar grande), Ensayo estático, 48 h, 4,0 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 202 o Equivalente

##### **Toxicidad aguda para las algas/plantas acuáticas**

CE50b, *Pseudokirchneriella subcapitata* (alga verde), Ensayo estático, 72 h, Biomasa, 2,6 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 201 o Equivalente

##### **Toxicidad crónica para invertebrados acuáticos**

NOEC, Daphnia magna (Pulga de mar grande), Ensayo semiestático, 21 d, número de descendientes, 0,35 mg/l

**Toxicidad para los organismos terrestres**

DL50 por vía oral, tordo sargento (Agelaius phoeniceus), > 98 mg/kg

**xileno**

**Toxicidad aguda para peces**

El producto es moderadamente tóxico para los organismos acuáticos en dosis agudas (CL50/CE50 varía entre 1 y 10 mg/l para la mayoría de las especies más sensibles ensayadas).

CL50, Oncorhynchus mykiss (Trucha irisada), Ensayo semiestático, 96 h, 2,6 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 203 o Equivalente

**Toxicidad aguda para invertebrados acuáticos**

Cl50, Daphnia magna (Pulga de mar grande), 24 h, 1 - 4,7 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 202 o Equivalente

**Toxicidad aguda para las algas/plantas acuáticas**

CE50r, Pseudokirchneriella subcapitata (Selenastrum capricornutum) Microalga, Estático, 73 h, Tasa de crecimiento, 4,36 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 201 o Equivalente  
NOEC, Pseudokirchneriella subcapitata (alga verde), 73 h, Tasa de crecimiento, 0,44 mg/l, Guía de ensayos de la OCDE 201 o Equivalente

**Toxicidad crónica para peces**

NOEC, Oncorhynchus mykiss (Trucha irisada), flujo a través, 56 d, mortalidad, > 1,3 mg/l

**Persistencia y degradabilidad**

**clorpirifos (ISO)**

**Biodegradabilidad:** El producto no es fácilmente degradable según las Directrices de la OCDE/EC.

Durante el periodo de 10 día : No aprobado

**Biodegradación:** 22 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301D o Equivalente

**Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)**

Tiempo de incubación	DBO
5 d	0.000 %

**Estabilidad en Agua ( Vida- Media).**

Hidrólisis, vida media, 72 d

**Ácido bencenosulfónico, dodecil- sal de calcio**

**Biodegradabilidad:** Para materiales similares(s): El material es fácilmente biodegradable.

Pasa los ensayos OECD de fácil biodegradabilidad.

Durante el periodo de 10 día : Aprobado

**Biodegradación:** 95 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301E o Equivalente

**2-metilpropan-1-ol**

**Biodegradabilidad:** El material es fácilmente biodegradable. Pasa los ensayos OECD de fácil biodegradabilidad.

Durante el periodo de 10 día : Aprobado

**Biodegradación:** 70 - 80 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301D o Equivalente

Durante el periodo de 10 día : No aplica

**Biodegradación:** 90 %

**Tiempo de exposición:** 14 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301C o Equivalente

**Demanda Teórica de Oxígeno:** 2,59 mg/mg Estimado

**Demanda Química de Oxígeno (DQO):** 2,29 mg/mg Dicromato

**Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)**

Tiempo de incubación	DBO
5 d	64 - 69 %
10 d	73 - 79 %
20 d	72 - 81 %

**nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar**

**Biodegradabilidad:** Para el(los) componente(s) mayor(es): En las condiciones aeróbicas estáticas de laboratorio, la biodegradación es elevada ( DBO20 o DBO28/ Demanda Teórica de Oxígeno > 40%). Para algunos componentes: La biodegradación para las condiciones aeróbicas estáticas de laboratorio es baja ( DBO20 o DBO/DOT<sub>H</sub> varía entre 2.5 y 10%).

**1,2,4-trimetilbenceno**

**Biodegradabilidad:** Se espera que el material se biodegrade muy lentamente (en el medio ambiente). No ha superado las pruebas de biodegradabilidad de la OECD/ECC.

Durante el periodo de 10 día : No aplica

**Biodegradación:** 4 - 18 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301C o Equivalente

**Demanda Teórica de Oxígeno:** 3,19 mg/mg

**Mesitileno**

**Biodegradabilidad:** Basado en las directrices estrictas de ensayo de OECD, este material no se puede considerar como fácilmente biodegradable; sin embargo, estos resultados no significan necesariamente que el material no sea biodegradable en condiciones ambientales.

Durante el periodo de 10 día : No aplica

**Biodegradación:** 0 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301C o Equivalente

Durante el periodo de 10 día : No aplica

**Biodegradación:** 50 %

**Tiempo de exposición:** 4,4 d

**Método:** Calculado.

**Demanda Teórica de Oxígeno:** 3,19 mg/mg

**cumeno**

**Biodegradabilidad:** El material es fácilmente biodegradable. Pasa los ensayos OECD de fácil biodegradabilidad.

Durante el periodo de 10 día : Aprobado

**Biodegradación:** 86 %

**Tiempo de exposición:** 28 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301D o Equivalente

**Demanda Teórica de Oxígeno:** 3,20 mg/mg

**Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)**

Tiempo de incubación	DBO
5 d	40.000 %
10 d	62.000 %
20 d	70.000 %

**xileno**

**Biodegradabilidad:** Se prevé que el producto biodegrade rápidamente.

Durante el periodo de 10 día : Aprobado

**Biodegradación:** > 60 %

**Tiempo de exposición:** 10 d

**Método:** Guía de ensayos de la OCDE 301F o Equivalente

**Demanda Teórica de Oxígeno:** 3,17 mg/mg

**Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)**

Tiempo de incubación	DBO
5 d	37.000 %
10 d	58.000 %
20 d	72.000 %

**Potencial de bioacumulación**

**Bioacumulación:** Ningún dato disponible.

**Movilidad en el Suelo****clorpirifos (ISO)**

Se prevé que el material sea relativamente inmóvil en el suelo (Poc > 5000).

**Coefficiente de reparto(Koc):** 8151

**Ácido bencenosulfónico, dodecil- sal de calcio**

No se encontraron datos relevantes.

**2-metilpropan-1-ol**

El potencial de movilidad en el suelo es muy elevado (Poc entre 0 y 50).

**Coefficiente de reparto(Koc):** 2 Estimado

**nafta de bajo punto de ebullición, sin especificar**

Para el(los) componente(s) mayor(es):  
El potencial de movilidad en el suelo es bajo (Poc entre 500 y 2000).

**1,2,4-trimetilbenceno**

El potencial de movilidad en el suelo es bajo (Poc entre 500 y 2000).  
**Coefficiente de reparto(Koc):** 720 Estimado

**Mesitileno**

El potencial de movilidad en el suelo es bajo (Poc entre 500 y 2000).  
**Coefficiente de reparto(Koc):** 741,65 Estimado

**cumeno**

El potencial de movilidad en el suelo es bajo (Poc entre 500 y 2000).  
**Coefficiente de reparto(Koc):** 800 - 2800 Estimado

**xileno**

El potencial de movilidad en el suelo es moderado (Poc entre 150 y 500).  
**Coefficiente de reparto(Koc):** 443 Estimado

---

### 13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN

---

**Métodos de eliminación.:** En el caso de que los residuos y/o contenedores no puedan eliminarse siguiendo las indicaciones de la etiqueta del producto, la eliminación de este material debe realizarse de acuerdo con las Autoridades Legislativas Locales o Nacionales. La información que se indica abajo solamente es aplicable al producto suministrado. La identificación basada en la característica(s) o listado puede que no sea aplicable si el producto ha sido usado o contaminado. El productor del residuo tiene la responsabilidad de determinar las propiedades físicas y tóxicas del producto para determinar la identificación adecuada del residuo y los métodos de tratamiento de acuerdo con la Legislación vigente aplicable. Si el producto suministrado se transforma en residuo, cumplir con todas las Leyes regionales, nacionales y locales que sean aplicables.

---

### 14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

---

**Clasificación para transporte TERRESTRE**

<b>Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas</b>	LÍQUIDO INFLAMABLE, N.E.P.(Nafta aromática ligera)
<b>Número ONU</b>	UN 1993
<b>Clase</b>	3
<b>Grupo de embalaje</b>	III
<b>Peligros para el medio ambiente</b>	clorpirifos

**Clasificación para transporte MARÍTIMO (IMO/IMDG)**

<b>Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas</b>	FLAMMABLE LIQUID, N.O.S.(Nafta aromática ligera)
<b>Número ONU</b>	UN 1993
<b>Clase</b>	3

<b>Grupo de embalaje</b>	III
<b>Contaminante marino</b>	clorpirifos
<b>Transporte a granel de acuerdo con el Anexo I o II del Convenio MARPOL 73/78 y los códigos CIQ y CIG.</b>	Consult IMO regulations before transporting ocean bulk

**Clasificación para transporte AÉREO (IATA/ICAO)**

<b>Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas</b>	Flammable liquid, n.o.s.(Nafta aromática ligera)
<b>Número ONU</b>	UN 1993
<b>Clase</b>	3
<b>Grupo de embalaje</b>	III

Esta información no pretende abarcar toda la información/requisitos legislativos específicos u operacionales del producto. Las clasificaciones para el transporte pueden variar en función del volumen del contenedor y de las diferentes normativas regionales o nacionales. La información adicional sobre el sistema de transporte puede obtenerse a través de un representante autorizado de la organización de ventas o servicio de atención al cliente. Es responsabilidad de la organización del transporte el cumplimiento de todas las leyes, regulaciones y normas aplicables relativas al transporte del producto.

---

## 15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

---

**Estándar de Comunicación de Riesgos OSHA.**

Este producto es un "Producto Químico Peligroso" según el Estándar de Comunicación de Riesgos OSHA 29 CFR 1910.1200

Se recomienda que el cliente verifique en el lugar donde se usa este producto si el mismo se encuentra específicamente reglamentado para su aplicación en consumo humano o aplicaciones veterinarias, como aditivo en productos comestibles o farmacéuticos o de envasado, productos sanitarios y cosméticos, o aún como agente controlado reconocido como precursor en la fabricación de drogas, armas químicas y municiones.

La comunicación de los peligros de este producto es conforme a las legislaciones locales e internacionales, respetando se siempre el requisito más restrictivo.

---

## 16. OTRA INFORMACIÓN

---

**Sistema de Clasificación de Peligros****NFPA**

Salud	Fuego	Reactividad
2	2	0

**Revisión**

Número de Identificación: 101202249 / A120 / Fecha: 19.09.2014 / Versión: 1.7

Código DAS: LAF-77

Las revisiones más recientes están marcadas con doble barra y negrita en el margen izquierdo del documento.

**Leyenda**

ACGIH	Valores límite (TLV) de la ACGIH,
BEI	Índices de exposición biológica
STEL	Límite de exposición a corto plazo
TWA	Tiempo promedio ponderado

DOW AGROSCIENCIAS DE COLOMBIA S.A. recomienda a cada cliente o usuario que reciba esa HOJA DE INFORMACIÓN PARA MANEJO SEGURO DEL PRODUCTO que la estudie cuidadosamente, y de ser necesario o apropiado, consulte a un especialista con el objeto de conocer los riesgos asociados al producto y comprender los datos de esa hoja. Las informaciones aquí contenidas son verídicas y precisas en cuanto a los datos mencionados. No obstante no se otorga ninguna garantía expresa o implícita. Los requisitos legales y reglamentarios se encuentran sujetos a modificaciones y pueden diferir de una jurisdicción a otra. Es responsabilidad del usuario asegurar que sus actividades cumplan con la legislación en vigor. Las informaciones contenidas en estas HOJAS corresponden exclusivamente al producto tal cual fue despachado, en su envase original. Como las condiciones de uso del producto están fuera del control de nuestra Compañía, corresponde al comprador / usuario determinar las condiciones necesarias para su uso seguro. Debido a la proliferación de fuentes de informaciones, como las hojas de información de otros proveedores, nosotros no somos y no podemos ser responsables de las hojas de información obtenidas de otras fuentes. Si hubiera obtenido una hoja de información de otra fuente distinta o si no estuviera seguro que la misma fuera la vigente, póngase en contacto con nosotros y solicite la información actualizada.

### 3. ANALISIS DE SUELO - CARACTERIZACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS  
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



#### ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : MARÍA PÍA CEDRÓN  
 Departamento : LIMA  
 Distrito : LA MOLINA  
 Referencia : H.R. 51531-116C-15

Provincia : LIMA  
 Predio : UNALM  
 Fecha : 14/10/15

Lab	Número de Muestra		C.E. (1:1) dS/m	pH (1:1)	CaCO <sub>3</sub> %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables meq/100g				Suma de Cationes Bases	Suma de Bases	% Sat. De Bases	
	Claves								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>				Al <sup>+3</sup> + H <sup>+</sup>
13014			7.93	1.29	1.20	1.86	17.0	394	61	22	17	Fr.A.	12.32	9.85	1.43	0.81	0.23	0.00	12.32	12.32	100

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



#### 4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUELO



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



#### ANALISIS MICROBIOLÓGICO ACTIVIDAD MICROBIANA

SOLICITANTE : MARIA PIA CEDRON TELLO

MUESTRA DE : SUELO

PROCEDENCIA: LIMA / LIMA / LAMOLINA

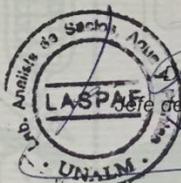
REFERENCIA : H.R. 51737

BOLETA : 12541

FECHA : 10/11/2015

Código de muestra	Código de campo	Humedad gravim (%)	Organismos mesófilos totales (UFC/ g suelo seco)			Respiración microbiana mg CO <sub>2</sub> / g suelo seco/ día	Biomasa microbiana mg C/ g suelo seco
			Bacterias	Actinomicetos	Hongos		
503	SIN CODIGO	1.78	$6.77 \times 10^6$	$3.50 \times 10^6$	$1.40 \times 10^5$	0.062	0.234

UFC : Unidad formadora de colonia



Sady García Bendezú  
Jefe de Laboratorio de Microbiología

Av. La Molina s/n Campus UNALM  
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Telefax: 349-5622  
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

## 5. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Clinica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología

Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 056 L-12

Telefax: 349-6631 rpm # 9470-14023

e-mail: clinica@lamolina.edu.pe



La Molina, 20 de julio de 2017  
FI-AF 267-2017 ARM 021  
JFT 250

Srta.  
**Maria Pía Cedrón**  
La Molina  
Presente -

De nuestra consideración:

El resultado del análisis fitopatológico de tres muestras de colonias de hongos en tubo de ensayo y placa petri, para la identificación a nivel de género, procedente de Campo Cirgebb, La Molina - UNALM, es el siguiente:

### 1. ANÁLISIS DEL TEJIDO VEGETAL.

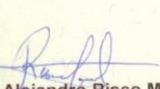
MUESTRA	METODO	RESULTADO Incidencia
"A" Colonia Azul Oscuro (Tubo S 32T3-4/C)	Examen Microscópico	<i>Penicillium</i> sp.
	Medio PDAA	<i>Penicillium</i> sp.
"B" Colonia Color Ocre (Tubo S 32T3-4/C)	Examen Microscópico	<i>Aspergillus</i> sp.
	Medio PDAA	<i>Aspergillus</i> sp.
"C" Colonia Color Verde Olivo (placa S 44T3-6)	Examen Microscópico	<i>Cladosporium</i> sp.
	Medio PDAA	<i>Cladosporium</i> sp.

### 2. DIAGNOSTICO.

De acuerdo a las observaciones en el microscopio y la siembra en medio de cultivo PDAA se identificó a los siguientes microorganismo: en la muestra "A" al hongo del género *Penicillium* sp.; en la muestra "B" al hongo del género *Aspergillus* sp. y en la muestra "C" al hongo del género *Cladosporium* sp.

Nos despedimos de ustedes recordándoles que la Clínica de Diagnóstico está a su disposición para cualquier consulta.

Atentamente,

  
Mg. Sc. Alejandro Risco Mendoza  
ESPECIALISTA  
CLINICA DE DIAGNOSIS

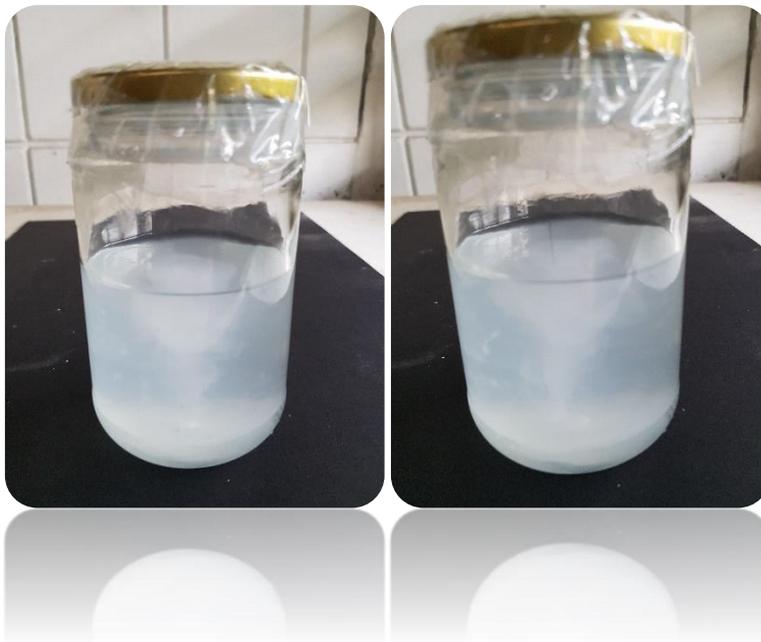
  
Mg. Sc. Walter Apaza Tapia  
COORDINADOR  
CLINICA DE DIAGNOSIS

ARM/hmg  
c.c. Archivo

## 6. REGISTRO FOTOGRÁFICO



**Fotos 1 y 2: Frascos utilizados para la incubación de bacterias u hongos durante el proceso de degradación de clorpirifos.**



**Fotos 2 y 3: Presencia de crecimiento fúngico luego de 14 días de incubación.**



**Foto 5: Analizador de gases *Oxybaby*® 6.0.**



**Foto 6: Medición de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> con el analizador de gases *Oxybaby*® 6.0.**