



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES “ECAA”

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

“EVALUACIÓN DE LA FITOTOXICIDAD DEL BIOTRANSFORMADO DE IMIDACLOPRID
EN SUELOS DE LA COMUNIDAD EL MILAGRO, PARROQUIA LA CAROLINA,
PROVINCIA IMBABURA”

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA EN CIENCIAS AMBIENTALES Y ECODesarrollo

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

LÍNEA 4. GESTIÓN SOSTENIBLE Y APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS
NATURALES

AUTORA: MILY EMPERATRIZ QUINTEROS HIDALGO

ASESOR: MGS. DIEGO MANUEL LEÓN TAPIA

IBARRA, DICIEMBRE - 2018



Ibarra, 12 de diciembre de 2018

MSc. Diego Manuel León Tapia
ASESOR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

(f)

MSc. Diego Manuel León Tapia

C.C.: 1711668895



PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):

(f): 
MSc. Diego Manuel León Tapia
C.C.: 1711668895

(f): 
MSc. Edwin Fernando del Pozo Villacís
C.C.: 1001756566

(f): 
Mgs. Edmundo René Recalde Posso
C.C.: 1001774494



ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derechos de disponer de sus derechos o autorizar las utilidades de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 12 de Diciembre de 2018

D: 


Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo.

C.C.: 100404229-5



AUTORÍA

Yo, Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo, portadora de la cédula de ciudadanía N° 1004042295, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad de la autora, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.

D: .....

Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo.

C.C.: 100404229-5



DECLARACIÓN y AUTORIZACIÓN

Yo: Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo, con CC: 1004042295, autor del trabajo de grado titulado: “Evaluación de la Fitotoxicidad del Biotransformado de Imidacloprid en Suelos de la Comunidad el Milagro, Parroquia La Carolina, Provincia Imbabura”, previo a la obtención del título profesional de “Ingeniera en Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo”, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede- Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, 12 de diciembre de 2018

D): 

Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo.

C.C.: 100404229-5



DEDICATORIA

Al culminar una etapa importante en mi vida, me ha dado como enseñanza que solo quien persevera alcanza, este esfuerzo lo dedico principalmente a Dios por darme paciencia, fortaleza y sabiduría para hacer realidad este sueño.

A mi Madre quien me ha brindado su apoyo constante y ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

Deseo también de manera especial dedicarle a mi hija, motor de mi vida, quien siempre estuvo presente cuando más lo necesitaba, quien con cariño, comprensión y apoyo depositó su confianza en mí para ayudarme a cumplir con mis anhelos y metas.



AGRADECIMIENTO

A Dios quiero agradecerle infinitamente por permitirme cumplir una meta más en mi vida.

A mi Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA) por haberme formado en valores espirituales y académicos.

A mis profesores, por sus enseñanzas, vivencias y conocimientos impartidos a lo largo de toda la carrera estudiantil.

A mi asesor Msc. Diego León, gracias por revisar con paciencia este trabajo, por sus consejos y sugerencias. A mis compañeros de clase por haberme acompañado durante toda esta etapa de aprendizaje. A todas aquellas personas, que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo.

Muchas Gracias.



ÍNDICE

1. RESUMEN	2
3. INTRODUCCIÓN	4
3.1. Objetivo General	6
3.2. Objetivos Específicos	6
3.3. HIPÓTESIS	6
4. ESTADO DEL ARTE	7
4.1 Análisis situacional	7
4.1.1. Ubicación Geográfica.....	7
4.1.2. Límites.....	7
4.1.3. Suelos.	8
4.1.4. Biodiversidad.	8
4.1.5. Producción Agrícola La Carolina- Comunidad El Milagro.	9
4.2. Usos de los plaguicidas.....	9
4.2.1. Consecuencias del uso de plaguicidas en el ambiente.	10
4.3. Adsorción de plaguicidas por los coloides del suelo	10
4.3.1. Degradación del suelo.	11
4.4. PLAGUICIDAS NEONICOTINOIDES	12



4.4.1. Imidacloprid.	12
4.4.3. Principales características físico-químicas del ingrediente activo imidacloprid....	13
4.4.4. Imidacloprid y su problemática ambiental.	13
4.4.5. Metabolismo del imidacloprid.	14
4.4.6. Situación actual del imidacloprid.	15
4.4.7. Regulación del imidacloprid.	15
4.4.8. Modo de acción del insecticida imidacloprid.	16
4.5. Aplicación de los ensayos de toxicidad al diagnóstico ambiental de efectos biológicos.	16
4.5.1. Tipos de pruebas o bioensayos.	17
4.5.2. Bioensayo para determinar la toxicidad aguda con semillas.	17
4.5.3. Bioensayo de toxicidad aguda con semilla de <i>Lactuca sativa</i>	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS.	19
5.1. Ubicación.	19
5.2. Toma de muestras.	19
5.2.1 Muestreo de suelo.	21
5.2.2 Preparación de las muestras empacadas con suelo en tubos PVC.	23
5.3. Método de lixiviación del insecticida.	24
5.4. Evaluación de la biotransformación de imidacloprid en el lixiviado.	26
5.5. Análisis Cromatográfico.	27



5.6. Evaluación de la fitotoxicidad del biotransformado de imidacloprid	28
5.7. Diseño Experimental.....	31
5.7.1. Materiales y equipos.	32
5.7.2. Siembra de semillas.....	33
5.7.3. Almacenamiento de las cajas Petri.....	33
5.7.4. Medición de la raíz y el hipocotilo de la semilla de lechuga.	33
5.7.5. Control de calidad de prueba de las semillas (% de germinación).	34
5.8. Electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE).....	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6.1. Análisis físico-químico del suelo de la Comunidad El Milagro	37
6.2. Análisis cromatográfico para la determinar la presencia del ingrediente activo imidacloprid, en el lixiviado de las diferentes columnas de suelo.....	39
6.3. Bioensayo para determinar la fitotoxicidad del lixiviado analizado por HPLC en semillas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	45
6.3.1. Índice de germinación relativa GRS%	45
6.3.2 Crecimiento relativo de la radícula (CRR%) e Índice de Germinación (IG).....	48
6.3.4. Análisis estadístico del crecimiento de las plántulas (radícula e hipocotilo) de <i>Lactuca sativa</i>	50
6.3.4.1. Radícula.....	50



6.3.4.2 Hipocotilo.....	52
6.3.5. Índice de germinación normalizado (IGN).....	54
6.4. Caracterización de las comunidades microbianas del suelo.	56
7. SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS	61
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
9.REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA:.....	66
10. ANEXOS	74



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites de la Parroquia Rural La Carolina	7
Tabla 2. Historial de cultivos de los lotes de terreno.....	20
Tabla 3. Coordenadas geográficas del sitio donde se recolectaron las muestras.....	21
Tabla 4. Características generales del tubo PVC.....	23
Tabla 5. Abreviaturas de las diferentes columnas empacadas de suelo en los tubos PVC..	24
Tabla 6. Condiciones para la prueba de fitotoxicidad con lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L).....	29
Tabla 7. Preparación de los soluciones stock de DGGE.....	35
Tabla 8. Características de la textura y % de humedad del suelo a una profundidad de 30 cm de La Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina.....	37
Tabla 9. Características químicas del suelo a una profundidad de 30 cm de La Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina.	38
Tabla 10. Registro de semillas no germinadas y porcentaje de germinación relativa de las semillas GRS%.....	46
Tabla 11. Análisis de Varianza para el Porcentaje de Germinación Relativa de las semillas GRS%	47
Tabla 12. Prueba Tukey 5% para el número de semillas no germinadas en los tratamientos (lixiviado-suelos).....	47
Tabla 13. Crecimiento relativo de la radícula (CRR%) e Índice de Germinación (IG), aplicadas en el bioensayo de toxicidad.....	49



Tabla 14. Análisis de Varianza para el crecimiento de radícula de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	51
Tabla 15. Prueba de Tukey para el crecimiento de radícula de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	52
Tabla 16. . Análisis de Varianza para el crecimiento del hipocotilo de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	53
Tabla 17. Prueba de Tukey 5% para el crecimiento del hipocotilo de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	54
Tabla 18. Índices de Riqueza (S), índice de Shannon-Weaver (H'), índice de equidad de Pielou (J') e índice de dominancia de Simpson (1-Lambda'), obtenido del patrón de bandas mediante el análisis del gen ARNr 16S por DGGE.	58



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estructural del imidacloprid	12
Figura 2. Ruta de degradación del imidacloprid en el suelo.....	14
Figura 3. Morfología de la semilla y plántulas de la <i>Lactuca Sativa</i> (lechuga).	18
Figura 4. Cromatograma suelo no esterilizado de cultivo de pimiento HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v) .40	
Figura 5. Cromatograma suelo esterilizado del pimiento HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v).....	41
Figura 6. Cromatograma suelo no esterilizado del fréjol HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v).....	42
Figura 7. Cromatograma suelo esterilizado de fréjol HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)	42
Figura 8. Cromatograma suelo esterilizado virgen HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)	43
Figura 9. Cromatograma suelo testigo de arena HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)	44
Figura 10. Porcentaje de semillas germinadas GRS% de las plántulas de <i>Lactuca sativa</i> ..	45
Figura 11. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el número de semillas no germinadas.....	48
Figura 12. Evaluación de las respuestas biológicas de las plántulas de <i>Lactuca sativa</i>	50
Figura 13. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el crecimiento de la radícula de las semillas de lechuga.	51



Figura 14. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el crecimiento del hipocotilo de las semillas de lechuga.	53
Figura 15. Distribución de promedios del Índice de Germinación Normalizado IGN.	55
Figura 16. Perfil de bandas (DGGE) de todos los tratamientos (suelo con cultivo de fréjol, pimiento y virgen)) con imidacloprid (1, 2, 3, 4, 5 y 6 de derecha a izquierda).	56
Figura 17. Escalamiento multidimensional del patrón de bandeo obtenidos mediante DGGE.	57



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Análisis físico químico de los suelos con diferentes cultivos de la Comunidad El Milagro.	75
Anexo II. Toma de muestras de suelo en la Comunidad el Milagro Parroquia La Carolina Provincia de Imbabura.....	80
Anexo III. Preparación de los tubos PVC empacados con suelo para el proceso de biotransformación y lixiviación del ingrediente activo imidacloprid.....	82
Anexo IV. Elaboración del bioensayo de toxicidad con semillas de <u>Lactuca sativa</u>	84

1. RESUMEN

Los plaguicidas son reconocidos como sustancias químicas complejas que, al ser aplicadas al ambiente, están sujetas a una serie de transformaciones tanto físico-químicas como biológicas, es decir, procesos de absorción sobre suelos, plantas y degradación microbiana. Algunos plaguicidas de acuerdo con su estructura y características fisicoquímicas persisten en el medio ambiente, fomentando así la acumulación principalmente en el agua y el suelo. Por lo que en el presente trabajo de investigación se plantea evaluar la fitotoxicidad del biotransformado de imidacloprid en suelos de la Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina, Provincia de Imbabura. Para ello se tomaron muestras de suelo que provienen de tres fincas representativas de la comunidad. Posteriormente se utilizó el método de la guía OECD 106, en el cual se colocaron 7 columnas cilíndricas de material inerte (PVC), empacadas con suelo, las mismas que ayudaron a determinar la biotransformación y/o presencia del ingrediente activo imidacloprid, mediante el análisis cromatográfico de las muestras del lixiviado de cada columna. Por tal motivo se consideró importante realizar bioensayos de fitotoxicidad, para determinar los efectos del lixiviado de imidacloprid sobre especies vegetales, siendo la especie indicadora en esta investigación, la lechuga (*Lactuca sativa*). Finalmente y de acuerdo con la metodología descrita por Rodríguez, Robles, Ruíz, López, Sedeño y Rodríguez Dorantes, (2015), se obtuvieron los valores del Índice de Germinación Normalizada, que indican la presencia de un gradiente de toxicidad moderada con valores -0.36, -0.39 y -0,39 para las muestras de lixiviado del suelo esterilizado y no esterilizado de fréjol y pimiento, respectivamente. En la muestra de suelo con cultivo de pimiento no esterilizado se obtuvo un valor de -0.13, indicando una baja toxicidad, para la muestra suelo no esterilizado virgen se obtuvo un valor de -0.09, indicando de igual manera una baja toxicidad respectivamente. Y para la muestra suelo esterilizado virgen y suelo testigo con arena se obtuvo un valor de -0.41 y -0.48, indicando una toxicidad más alta, pero que se categoriza aún como moderada y que posee una lixiviación más lenta de acuerdo a las características físicas y químicas de suelo, como a la cantidad de arcillas presentes en el mismo, teniendo en cuenta que el suelo utilizado en esta investigación es de textura franco arcilloso.

Palabras claves: plaguicidas, biotransformación, acumulación, lixiviado, bioensayos.

2. ABSTRACT

Pesticides are recognized as complex chemical substances that, when applied to the environment, are subject to a series of physical-chemical and biological transformations, that is, absorption processes on soils, plants and microbial degradation. Some pesticides according to their structure and physicochemical characteristics persist in the environment, thus promoting the accumulation mainly in water and soil. Therefore, in the present research work, we propose to evaluate the phytotoxicity of biotransformed imidacloprid in soils of El Milagro Community, La Carolina Parish, Imbabura Province. For this, soil samples were taken from three representative farms of the community. Later, the method of the OECD Guide 106 was used, in which 7 cylindrical columns of inert material (PVC) were placed, packed with soil, which helped to determine the biotransformation and / or accumulation of the active ingredient imidacloprid, by means of the analysis chromatography of the leachate samples from each column. For this reason it was considered important to carry out phytotoxicity bioassays to determine the effects of leaching of imidacloprid on plant species, with the lettuce (*Lactuca sativa*) being the indicator species in this research. Finally, and according to the methodology described by Rodríguez, Robles, Ruíz, López, Sedeño and Rodríguez Dorantes, (2015), the values of the Normalized Germination Index were obtained, which indicate the presence of a moderate toxicity gradient with values -0.36 , -0.39 and -0.39 for the leaching samples of the sterilized and non-sterilized soil of beans and peppers, respectively. In the soil sample with non-sterilized pepper culture, a value of -0.13 was obtained, indicating a low toxicity, for the non-sterilized virgin soil sample a value of -0.09 was obtained, indicating in the same way a low toxicity respectively. And for the sample virgin sterilized soil and witness soil with sand, a value of -0.41 and -0.48 was obtained, indicating a higher toxicity, but which is still classified as moderate and which has a slower leaching according to the physical characteristics and soil chemistry, as to the amount of clays present in it, taking into account that the soil used in this investigation is clay loam texture.

Keywords: pesticides, biotransformation, accumulation, leachate, bioassays.

3. INTRODUCCIÓN

La comunidad El Milagro cuenta con suelos de orden mollisoles, que son básicamente oscuros debido a la presencia de minerales como MnO^2 y materia orgánica (Beltrán, Pozo, & Pavón, 2011).

Los suelos de orden Mollisol se caracterizan por tener una estructura granular moderada y fuerte, que facilita el movimiento de factores abióticos como son el agua y el aire; los suelos son utilizados por el hombre para la producción agrícola, especialmente para la producción masiva de legumbres y verduras (Chaca y Suárez, 2014).

La agricultura es una de las actividades económicas que ha tenido un alto impacto y crecimiento en los últimos años, esto se debe a factores como el aumento de la población mundial y la demanda de alimentos que satisfagan a cada ser humano o familia (Arguello, 2011).

Los restos de estos plaguicidas se esparcen por el ambiente y se convierten en contaminantes para los animales y plantas principalmente y abiótico que son el suelo, aire y agua, amenazando su estabilidad (del Puerto Rodríguez, Asela M, Suárez Tamayo, Susana, & Palacio Estrada, Daniel E, 2014).

Se sabe que muchos agricultores al hacer uso de los plaguicidas no tienen un claro conocimiento sobre el manejo. De esta manera, se hace un uso inadecuado e indiscriminado de esas sustancias, lo que trae consigo consecuencias graves para el ambiente, debido a que no se utilizan las dosis adecuadas y recomendadas en su aplicación; y en muchas ocasiones la disposición final de los residuos que resultan de ellos no es la más responsable, afectando así el equilibrio de los ecosistemas. Entre los productos químicos más utilizados se encuentra el imidacloprid, que se caracteriza por tener un modo de acción sistémico y de contacto. Además, posee un efecto residual de varias semanas (Sánchez, 2010).

La capacidad de lixiviación del imidacloprid depende del grado de afinidad de la materia orgánica del suelo y los tipos de arcillas presentes en el mismo (Sánchez, 2010).

Los plaguicidas en la actualidad son liberados al medio ambiente en grandes cantidades, sin conocer su verdadero y peligroso efecto tóxico. Estos productos químicos causan graves problemas y uno de ellos se puede decir que es la bioacumulación, es decir, la permanencia por mucho tiempo de los residuos que generan los plaguicidas dentro del medio, ya sea suelo, agua o los alimentos que consumimos (Rubio y Vallejo, 2014).

El uso sobrecargado e inadecuado en los cultivos, ponen en conocimiento el alto riesgo de la utilización de estos químicos en la actividad agrícola de nuestro país; por lo que se exige la necesidad de controlar y reducir su uso (Arguello, 2011).

Según Luis Quilumba (comunicación personal, 2015), en la Comunidad Milagro la principal plaga en los cultivos es la mosca blanca. De acuerdo a una investigación bibliográfica, se pudo definir que la especie que afecta a la provincia de Imbabura es la *Trialeurodes vaporariorum*, esta mosquita blanca afecta principalmente al fréjol (Valarezo, Cañarte, Navarrete y Arias, 2008). Para combatir dicha plaga, se utiliza el compuesto Imidacloprid, este insecticida se aplica extensivamente durante la producción de hortalizas, leguminosas y frutas, lo que ha conducido a su persistencia en vegetales y frutas en el momento de la cosecha.

A pesar de los buenos resultados obtenidos con el insecticida imidacloprid para controlar la mosca blanca, su carácter tóxico y un manejo inadecuado puede generar un efecto contrario al que se pretende con su utilización, produciendo impactos negativos sobre el medio ambiente, teniendo en cuenta que la movilidad del imidacloprid varía de acuerdo al tipo de suelo, en donde vaya a ser utilizado (Gutiérrez, H., et al, 2007).

Por tal motivo, es importante complementar dichos análisis con bioensayos de fitotoxicidad, en donde se utilizará el biotransformado de imidacloprid para determinar los efectos sobre especies vegetales. Con la realización de esta investigación, se contará con una visión más completa de los efectos adversos que se ocasionan sobre los componentes bióticos de los ecosistemas y se podrán tomar medidas integrales para proteger el ambiente.

3.1. Objetivo General

Evaluar la fitotoxicidad del biotransformado de imidacloprid en suelos de la Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina, Provincia de Imbabura.

3.2. Objetivos Específicos

- 1) Evaluar la biotransformación del Imidacloprid por microorganismos del suelo de la Comunidad de Milagro.
- 2) Determinar la fitotoxicidad del biotransformado de Imidacloprid.
- 3) Establecer un índice ecológico microbiano del suelo de la Comunidad de Milagro.
- 4) Socializar los resultados con los agricultores de la Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina, Cantón Ibarra.

3.3. Hipótesis

El presente trabajo plantea la siguiente hipótesis:

Ho: El biotransformado a partir del principio activo Imidacloprid no es contaminante tóxico para células eucariotas (plantas).

H1: El biotransformado a partir del principio activo Imidacloprid es contaminante tóxico para células eucariotas (plantas).

4. ESTADO DEL ARTE

4.1 Análisis situacional

4.1.1. Ubicación Geográfica.

La Parroquia Carolina se encuentra ubicada a 91 km de la ciudad de Ibarra, posee una extensión de 273,31 km², por lo que se estima como la parroquia rural más extensa del cantón Ibarra; situada en alturas que van entre los 750 a 1.873 msnm. La Comunidad El Milagro se encuentra situada a una altura de 1.100 msnm y una temperatura de 18 a 20°C (Plan de Ordenamiento Territorial Parroquial, 2014).

4.1.2. Límites.

Tabla 1.

Límites de la Parroquia Rural La Carolina.

NORTE	Parroquia Lita y Río Mira.
SUR	Parroquia Cahuasquí, Parroquia Salinas, cordillera Hierba Buena, Río Amarillo.
ESTE	Río Mira.
OESTE	Parroquia La Merced de Buenos Aires y Parroquia Lita.
Latitud Norte	82°04'00"
Latitud Oeste	80°07'00"
Rango altitudinal	1800 m s. n. m.

Fuente: (Plan de Ordenamiento Territorial Parroquial, 2014).

4.1.3. Suelos.

La comunidad El Milagro cuenta con suelos de orden mollisoles, que son básicamente oscuros debido a la presencia de minerales como MnO_2 y materia orgánica (Beltrán, Pozo, & Pavón, 2011).

4.1.3.1. *Uso de Suelo.*

A continuación se describe los diferentes usos de suelo dentro de la Parroquia La Carolina.

- 11% representa bosques naturales;
- 11% comprenden los pastizales cultivados, con cultivos anuales, transitorios o permanentes, y vegetación natural;
- 10% son bosques intervenidos con cultivos y pastizales;
- 10% del territorio comprende vegetación arbustiva con cultivos y bosque intervenido;
- 8% comprende pastos naturales con cultivos y vegetación natural;
- El 43% del territorio está ocupado principalmente por cultivos de ciclo corto, trigo, maíz y caña en mosaico con vegetación natural y pastizales;
- El 7% del territorio representa asentamientos humanos dispersos que corresponde a los centros poblados, considerando que no todas las comunidades lo tienen y que más bien las viviendas e infraestructura se encuentra separadas una de la otra a excepción de Guallupe, El Limonal y San Pedro que tiene asentamientos concentrados, el resto de comunidades tienen asentamientos dispersos.

4.1.4. Biodiversidad.

- a) **Flora:** La Carolina presenta una formación vegetal, la altura de varios árboles puede alcanzar 27 o más metros, los fustes de éstos están cubiertos por orquídeas, helechos

y aráceas. Tienen espacios tropicales donde hay una gran variedad de plantas. (Chaca y Suárez, 2014).

b) Fauna: Se puede encontrar ciertos mamíferos por ejemplo: guanta, ardilla, guatín, armadillo, tigre, otros; en Ornitofauna encontramos: gallo de la peña; loros, tangare, colibrí, gallinazo, carpintero, quilico, tórtola, entre otros. (Chaca y Suárez, 2014)

4.1.5. Producción Agrícola La Carolina- Comunidad El Milagro.

Las áreas con mayor extensión corresponden al 50% de áreas productivas entre pastos seguidos por cultivos de: fréjol (*Phaseolus vulgaris*), maíz blanco (*Zea mays*), tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annuum*), maíz (*Zea mays*), pepinillo (*Cucumis sativus*) entre otros; los terrenos de la parte baja que representan un 47% exigen grandes cantidades de insumos y de mano de obra, además son cultivos riesgosos, por lo que en algunos casos, los costos de producción son altos y los precios de comercialización bajos, demostrando así una tendencia hacia los cultivos de ciclo corto; y la diferencia de 3% está conformada por áreas protegidas (Plan de Ordenamiento Territorial Parroquial, 2014, p.88).

La producción en la Comunidad El Milagro es diversificada, los productos principalmente cultivados son: el fréjol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), naranja (*Citrus sinensis*), café (*Coffea*) y plátano (*Musa paradisiaca*).

4.2. Usos de los plaguicidas

Se utilizan plaguicidas para el control de plagas que afectan la producción agrícola. En 2006 el consumo de plaguicidas fue de 95 025 toneladas. Aquellas sustancias ponen en riesgo al ambiente, debido la contaminación de suelos, agua, sedimentos y aire. (Hernández, A y Hansen, A., 2011).

Se estima que el 85% de los plaguicidas empleados actualmente en el mundo se aplican directamente en el sector agropecuario y agrícola (Cervantes, 2010).

La aplicación día a día de los productos químicos ha contribuido a una crisis dentro de la agricultura, la cual está dificultando la preservación de los ecosistemas, los recursos naturales, y por ende la salud de las personas que habitan las comunidades rurales en donde la producción agrícola es su principal actividad económica (del Puerto Rodríguez, Asela M, Suárez Tamayo, Susana, & Palacio Estrada, Daniel E., 2014).

4.2.1. Consecuencias del uso de plaguicidas en el ambiente.

Los plaguicidas son reconocidos como sustancias químicas complejas que, al ser aplicadas al ambiente, están sujetas a una serie de transformaciones tanto físico-químicas como biológicas y la degradación microbiana. (Gutiérrez, C., y Rodríguez, G., 2012).

Según del Puerto Rodríguez., et al. (2014) el nivel de lixiviación depende de la solubilidad del compuesto químico en agua, de su naturaleza química y del valor del pH del suelo, que se favorece por la capacidad de adsorción de este, esto varía por el porcentaje de arcillas, arenas y limos presentes en el mismo.

Desafortunadamente, los sistemas terrestres y marinos son los más amenazados por el aporte de sustancias contaminantes como plaguicidas, fertilizantes, metales pesados, organismos patógenos, basura orgánica, a través del incremento de actividades antropogénicas en las áreas adyacentes que alteran las condiciones naturales de los ecosistemas, incluyendo al ser humano (Gutiérrez, y Rodríguez, 2012, p.7).

4.3. Adsorción de plaguicidas por los coloides del suelo

Según Sánchez y Sánchez, (1984) la adsorción de plaguicidas por los coloides del suelo, puede modificar su:

- a) Actividad: Da lugar a una inactivación de los plaguicidas, ya que estas moléculas al quedar bloqueadas no pueden ejercer su efecto tóxico. Así, si el suelo tiene textura arcillosa y la adsorción tiene lugar en gran cantidad, las dosis de

aplicación deberán ser superiores a las normales si se quieren conseguir los efectos deseados.

- b) Persistencia: Origina un aumento de la persistencia de estos compuestos en el suelo con el consiguiente riesgo de contaminación. Si la adsorción produce una separación irreversible de la molécula de la forma activa, entonces la pérdida de actividad será permanente, pero si se producen cambios en las condiciones ambientales de temperatura o humedad, o en la estructura del suelo se pueden originar desprendimientos lentos del compuesto al estado disponible, de modo que vuelve a entrar en el sistema biológico, pero ahora a concentraciones demasiado bajas para ser significantes en el control de las plagas, aunque posiblemente a niveles suficientemente altos para entrar de alguna forma en la cadena de alimentos y ser nocivo a determinados organismos, diferentes de aquellos para los que había sido destinado.
- c) Degradación: Influye en su degradación, en unos casos, impidiéndola o retrasándola, ya que mientras que estos compuestos están adsorbidos los mecanismos de descomposición de los mismos o no pueden actuar o actúan más lentamente. En otros casos, la adsorción puede aumentar la degradación del plaguicida, ya que los minerales de la arcilla pueden catalizar su descomposición por medio de la formación de fuertes arcilla-molécula orgánica que debilitarán ciertos enlaces dentro de la molécula. La posibilidad de las arcillas de catalizar estas reacciones está relacionada con su naturaleza, en algunos casos, fuertemente ácida y con la naturaleza de los cationes de cambio.

4.3.1. Degradación del suelo.

Ahora bien, la contaminación del suelo generalmente es causada por el transporte de sustancias contaminantes, a lo largo de amplias zonas con frecuencia alejadas de la fuente de origen. Este tipo de contaminación está más relacionado con la deposición atmosférica, prácticas agrícolas y el tratamiento mal realizado de los lodos de depuración y aguas residuales (Arroyave y Correa, 2009).

4.4. Plaguicidas Neonicotinoides

A la familia de plaguicidas neonicotinoides se los denomina actualmente cloronicotinilos. De igual manera ocurrió que los piretroides sintéticos son similares y modelados a partir de las piretrinas naturales, los neonicotinoides son parecidos y formados a partir de la nicotina natural (Cruces, 2016).

Los neonicotinoides son pesticidas sintéticos, los cuales se dividen en dos grupos, los pesticidas de primera generación (imidacloprid, tiacloprid, acetamiprid y dinotefurano) y los pesticidas de segunda generación, que se producen al cambiar la fracción cloropiridina por un grupo clorotiazol (clotianidina y tiametoxam) (Krieger, 2001).

El término “neonicotinoide” sirve para reconocer este producto de los nicotinoides, ya que los neonicotinoides son de carácter más eficaz contra los insectos y menos tóxicos para las especies vertebradas (Quinteros, 2015).

El primer neonicotinoide comercial distribuido fue el imidacloprid, creado por Bayer, una de las empresas más grandes a nivel mundial de agroquímicos (Cruces, 2016, p. 5).

4.4.1. Imidacloprid.

Pertenece al grupo químico de los cloronicotilínicos. Ingrediente activo: Imidacloprid: 1-(6-cloro-3-piridin-3-ilmetil)-Nnitroimidazolin-2-ilidenamina. Es sólido cristalino incoloro amarillento, en presentación de polvo humectable (Morales, 2014).

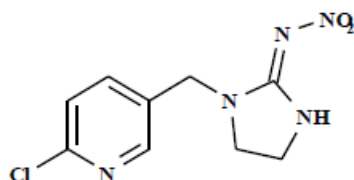


Figura 1. Fórmula estructural del imidacloprid

Fuente: Quinteros, M. *Plaguicidas en el cultivo de frijol (Phaseolus vulgaris): caso del Imidacloprid.* International Journal of Innovation and Scientific Research, 2015.

El imidacloprid es un pesticida de uso general, que se encuentra en una clasificación dentro de la EPA como un agente de toxicidad clase II/III. (Quinteros, 2015).

4.4.3. Principales características físico-químicas del ingrediente activo imidacloprid.

El principio activo es un cristal incoloro, con un olor característico y una muy baja presión de vapor, $4 \cdot 10^{-7}$ mPa a 20 °C, por lo que no sublima en condiciones normales. La suspensión acuosa de este producto es estable a pH de 5 a 11. La actividad microbiana, la luz y la humedad son factores importantes en la degradación del imidacloprid. Por otra parte, su degradación es por oxidación del anillo imidazolidínico, hidrólisis al ácido 6-cloronicotínico, los que luego se mineralizan. En el suelo es adsorbido por los coloides edáficos. (Turaglio, s/f, p. 17, 18).

4.4.4. Imidacloprid y su problemática ambiental.

Según Greenpeace (2017) los plaguicidas neonicotinoides pueden durar algunos años en el suelo agrícola, esto lleva a una contaminación masiva y peligrosa que en algunos casos llega a una acumulación a lo largo del tiempo (Wood y Goulson, 2017).

Una investigación de la FAO, encontró que el imidacloprid posee una persistencia media a la biodegradación con una vida media de 180 días, en condiciones agrícolas normales. Cabe recalcar que tiene una mineralización completa sin degradación del producto a concentraciones superiores al 10%, por lo que su movilidad, fue baja en el suelo con poco potencial de lixiviación. (Arrázola, 2016).

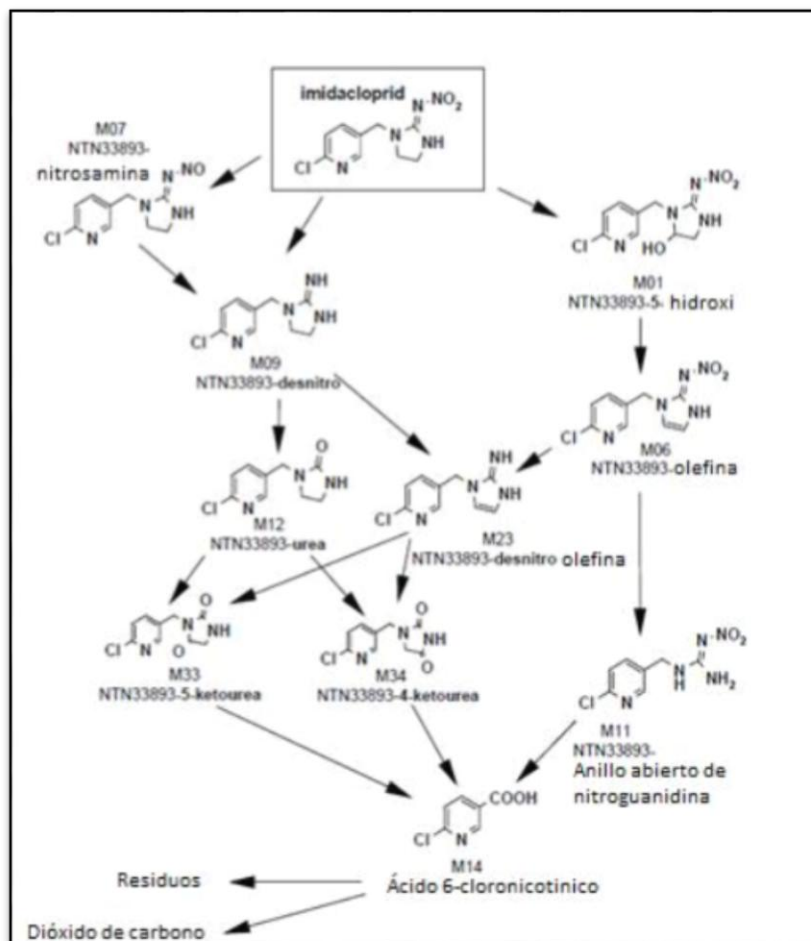


Figura 2. Ruta de degradación del imidacloprid en el suelo.

Fuente: Arrázola, E. Evaluación del riesgo ambiental de la mezcla de Alfa-Cipermetrina e Imidacloprid sobre la lombriz de tierra (*Eisenia fetida*) Universidad Científica del Sur, 2006.

4.4.5. Metabolismo del Imidacloprid.

En una evaluación realizada por la FAO (2002) en plantas con tres métodos de aplicación diferentes (tratamiento de semillas, aplicación al suelo y aplicación en aerosol), estableció que la absorción de imidacloprid en el suelo después de la aplicación o por tratamiento de semillas fue bajo. En el trigo sí hubo un aumento en su absorción de forma continua.

En los granos de arroz, después de la aplicación, los residuos recuperados fueron muy bajos por lo que hubo poca presencia de sus metabolitos. Además, al realizar un análisis de los residuos no extraídos en el arroz y maíz, se comprobó que el imidacloprid se degradó a CO₂ (Arrázola, 2016, p. 34,35).

4.4.6. Situación actual del imidacloprid.

De acuerdo a lo investigado por Wood y Goulson (2017) los neonicotinoides una vez que entran al interior de la planta se vuelven sistémicos y se quedan dentro del tejido vascular y en las hojas, proporcionando protección contra los insectos herbívoros.

En años recientes muchas investigaciones realizadas por diferentes autores, han mostrado su preocupación sobre el impacto que los neonicotinoides sobre los organismos vivos (Wood y Goulson, 2017, p.9).

En la actividad agrícola el imidacloprid está siendo combinado con otros bioplaguicidas para el tratamiento de plagas debido a que presenta una gran efectividad para tratar problemas de enfermedades (Silva, Murguido, Labrada, Montero y Mirabal, 2013).

4.4.7. Regulación del imidacloprid.

El imidacloprid 350g/l es tóxico para algunas especies acuáticas a bajas concentraciones, siendo más susceptibles los peces jóvenes que los adultos, son altamente tóxicos para algunos cuerpos acuáticos, como bacterias, crustáceos y peces cebra. Estos estudios han puesto en alerta a algunos países como EE. UU, Canadá y Suecia, creando y estableciendo un reglamento aplicable que regule la concentración máxima de imidacloprid y de otros pesticidas neonicotinoides (0,13-1,05µg/l) con el fin más importante que es el de proteger el ambiente en donde nos desarrollamos (Cid, 2014, p.9).

4.4.8. Modo de acción del insecticida imidacloprid.

Los neonicotinoides son antagonistas, actúan sobre los receptores post-sinápticos nicotinérgicos de la acetilcolina en el sistema nervioso central de los insectos; simulando la acetilcolina e inhibiendo la acetilcolinesterasa, generando parálisis inmediata del insecto plaga (Montilla, Londoño, Monsalve, Correa, 2014).

4.5. Aplicación de los ensayos de toxicidad al diagnóstico ambiental de efectos biológicos.

La evaluación de riesgo ecológico es un proceso en el que se aplica la asignación de magnitudes y probabilidades a los efectos adversos de actividades antrópicas y catástrofes naturales; recurre tanto a métodos predictivos para la evaluación de la exposición, como de los efectos de sustancias tóxicas a distintos niveles de organización y escala trófica (Castillo, 2004).

A pesar de la poca información que existe sobre los ensayos de toxicidad para su extrapolación a escala ambiental, los estudios que implican organismos de prueba con condiciones controladas han venido siendo uno de los que dan información relevante y predominante para la evaluación ecológica de los efectos de las sustancias o compuestos tóxicos (Castillo, 2004).

Los bioensayos están aplicados a diferentes muestras como son: el agua natural de ríos, pozos y lagos; aguas residuales ya sean domésticas o industriales, como también a lodos y lixiviados de sustancias tóxicas; agua potable y sustancias químicas solubles e insolubles en agua.

4.5.1. Tipos de pruebas o bioensayos.

Las pruebas de toxicidad, según Castillo (2004) pueden clasificarse bajo los siguientes criterios:

- ✓ El propósito de uso: toxicidad relativa, control de calidad de vertidos, sustancias específicas, etc.
- ✓ Tiempo de duración, de acuerdo al ciclo de vida del organismo que será expuesto en prueba.

4.5.2. Bioensayo para determinar la toxicidad aguda con semillas.

Conocido como una prueba estática de toxicidad aguda, se realiza en un tiempo de 120 de horas de exposición, la cual permite evaluar los efectos tóxicos de una sustancia o compuesto puro o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Durante el periodo de germinación pueden ocurrir varios procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la vida y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran receptibilidad frente a factores externos desfavorables (Abad, 2014).

Al realizar una ponderación del efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos, se comprobó que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sin embargo pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo (Abad, 2014).

4.5.3. Bioensayo de toxicidad aguda con semilla de Lactuca sativa.

Los bioensayo con semillas de lechuga (Lactuca sativa), son ensayos estáticos de toxicidad aguda (120 horas de exposición) en los que se evalúan los efectos fitotóxicos de un compuesto puro o de una mezcla compleja en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días del crecimiento (Jiménez, 2015).

Como efecto fitotóxico, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la prolongación de la radícula y del hipocótilo (Figura 3).

Estos tipos de ensayos pueden ser aplicados para la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de aguas superficiales (lagos, ríos), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas (Jiménez, 2015).

Lo que hace que las semillas de lechuga en los bioensayos presenten varias ventajas:

- Son de fácil y rápida germinación por lo que es posible desarrollar la prueba en pocos días.
- Bajos costos asociados.
- No requiere equipamiento sofisticado.
- Las plantas son más sensibles a estrés ambiental que otros sistemas de ensayos disponibles.
- Fácil manipulación y almacenaje.

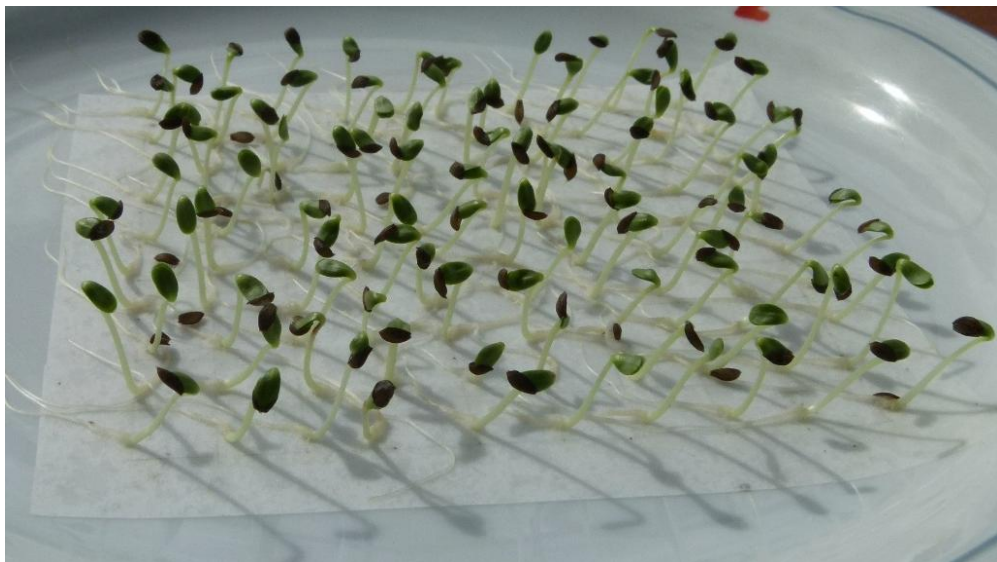


Figura 3. Morfología de la semilla y plántulas de la *Lactuca Sativa* (lechuga).

Fuente: La Autora.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Ubicación.

La presente investigación se realizó en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, en donde se utilizaron los Laboratorios de Química Analítica y Biotecnología de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), ubicados en la ciudad de Ibarra, sector La Victoria.

5.2. Toma de muestras.

Fue necesario delimitar las áreas de muestreo lo más homogéneas posibles, por lo que las muestras de suelo están tomadas de tres fincas representativas, ya que se tenía la disponibilidad de cultivos actuales (fréjol y pimiento) y suelo virgen, así como también el historial de cultivos anteriores y productos químicos utilizados en cada rotación de siembra, en la Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina. Cabe resaltar que los lotes no fueron superiores a una hectárea.

De acuerdo a la posición en el lote (zona alta, media y baja), las submuestras fueron tomadas de donde existan tres tipos diferentes de cultivos, los cuales fueron un suelo con cultivo de fréjol (zona alta), pimiento (zona media) y un suelo virgen (no cultivado/zona baja), aclarando que anteriormente estos suelos ya fueron tratados con el principio activo imidacloprid y otros productos químicos. A continuación se detalla un historial de los lotes con su respectivo cultivo actual.

Tabla 2.

Historial de cultivos de los lotes de terreno.

Lote/cultivo actual	Área	Cultivos (5 años atrás)	Producto químico aplicado
Lote 1/fréjol	5.000 m2	<ul style="list-style-type: none">• Maíz• Pimiento• Tomate riñón	<ul style="list-style-type: none">• Malatión• Clorpirifos etil• Propoxicarbazone de sodio
Lote 2/pimiento	5.000 m2	<ul style="list-style-type: none">• Fréjol• Pimiento• Maíz	<ul style="list-style-type: none">• Imidacloprid• Malatión• Clorpirifos etil
Lote 3/virgen	1 hectárea	<ul style="list-style-type: none">• Suelos no cultivados (no existe ninguna intervención agrícola)	<ul style="list-style-type: none">• No aplica

Elaborado por: *La Autora.*

Cabe resaltar que estos tres cultivos mencionados en la Tabla 2, se van rotando cada año, es decir que el primer año salen dos productos que son el fréjol y el pimiento, en el segundo año sale el maíz y el tomate riñón, en el tercer año se vuelve a repetir frejol y pimiento y así sucesivamente hasta llegar al quinto año.

El muestreo se lo realizó en una semana de forma aleatoria para luego continuar con su respectivo análisis. A continuación se indica las respectivas coordenadas geográficas de cada uno de los puntos de referencia de los lotes.

Tabla 3.

Coordenadas geográficas del sitio donde se recolectaron las muestras.

Coordenadas Geográficas			UTM		
No.	Longitud	Latitud	Coordenada x	Coordenada y	Zona
Muestra 1/cultivo fréjol	78°10'57.3" O	0°38'19.2" N	813617	70465	17N
Muestra 2/cultivo pimiento	78°10'48" O	0°38'19.2" N	813778	70677	17N
Muestra 3/virgen	78°10'51.6" O	0°38'19.6" N	813792	70688	17N

Elaborado por: *La Autora.*

5.2.1 Muestreo de suelo.

Definidas las áreas de muestreo en cada uno de los lotes se procedió al muestreo, que consistió en realizar un recorrido aleatorio tomando en cada punto una muestra simple (submuestra). Posteriormente se mezcló con las muestras de los puntos sucesivos a una profundidad de 20cm, formando una muestra compuesta la cual fue llevada para su análisis.

Para la obtención de cada submuestra, se comenzó por la eliminación de hojarasca y con una pala se realizó un corte en el suelo en forma de V, luego se sacó la porción y se introdujo la submuestra en una bolsa limpia desmenuzando los terrones. Una vez obtenida la última submuestra se colocó sobre un plástico limpio, se mezclaron todas las muestras simples en una bolsa plástica hermética y se dividió en tres partes iguales, hasta llegar a un peso final aproximado de 1kg. Cada submuestra se extrajo a una profundidad de 20cm, debido a que hay mayor influencia de materia orgánica y el pH. La profundidad de las raíces del fréjol común (*Phaseolus vulgaris L.*) fue de 55 cm y la del pimiento (*Capsicum annum*) fue de 40 cm.

Las tres muestras tomadas en campo, fueron enviadas en una bolsa plástica hermética limpia debidamente sellada e identificada al Laboratorio de Análisis de Suelos y Agua del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), para su respectivo análisis físico-químico.

De acuerdo a lo expuesto por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de México (INEGI), el análisis físico químico en suelos es una herramienta fundamental para evaluar la fertilidad del suelo, nivel de nutrientes y la estructura que posee en cuanto a factores físicos, ya que de los resultados obtenidos depende la correlación o corrección de la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación. Es por ello que los parámetros evaluados fueron: (Ver Anexo I).

- pH
- Conductividad eléctrica
- % humedad
- % materia orgánica
- Textura
- Capacidad de intercambio catiónico

Destacando así, que la evaluación de los parámetros anteriormente mencionados, están íntimamente relacionadas con los procesos químicos y biológicos que ocurren constantemente en el sistema edáfico. Estas propiedades influyen en la capacidad de los suelos para el almacenaje, infiltración y descomposición de compuestos químicos tóxicos, para plantas, animales y el hombre (Zapana, 2016).

5.2.2 Preparación de las muestras empacadas con suelo en tubos PVC.

En el ensayo de lixiviación del insecticida se utilizó siete columnas de 30,0 cm de altura y 5,0 cm de diámetro interno en PVC cargada con suelo y cada una con su respectivo recipiente plástico de recolección del lixiviado. Adicional a las columnas, fue necesario colocar una base para soportarlas y disminuir los efectos de irregularidad. Para ello se necesitó que el suelo este compactado y sin disturbar.

Tabla 4.

Características generales del tubo PVC.

Conservación y Durabilidad	Físicas y Mecánicas	Químicas
Resistente la acción de algas y bacterias.	Muy liviano	Químicamente inerte.
Larga vida de servicio.	Superficies internas lisas.	Resistente al ataque de la gran mayoría de sustancias químicas.
Resistente a la corrosión interna y externa.	No es tóxico.	Excelentes propiedades dieléctricas.
Resistente a los efectos de abrasión.	Dimensiones exactas y estables a través del tiempo.	

Elaborado por: *El Autor.*

5.3. Método de lixiviación del insecticida.

Se utilizó el método de la guía OECD 106, en el cual se colocaron 7 columnas cilíndricas de material inerte (PVC), las mismas que ayudaron a la biotransformación y/o acumulación más la recolección del lixiviado con el ingrediente activo imidacloprid (Gutiérrez, Barba y Materón, 2007).

A cada una de las columnas se colocó una abreviatura para su identificación correspondiente de la siguiente manera:

Tabla 5.

Abreviaturas de las diferentes columnas empacadas de suelo en los tubos PVC.

COLUMNA	ABREVIATURA
Columna de suelo no esterilizada (cultivo de fréjol).	SNEF
Columna de suelo esterilizada (cultivo de fréjol).	SEF
Columna de suelo no esterilizada (cultivo de pimiento).	SNEP
Columna de suelo esterilizada (cultivo de pimiento).	SEP
Columna de suelo no esterilizada (no cultivado),	SNEV
Columna de suelo virgen (no cultivado) esterilizada.	SEV
Columna de suelo (arena) que será como testigo.	STA

Elaborado por: *La Autora.*

La esterilización de las tres columnas anteriormente expuestas, se realizó mediante el autoclave a 120° C (249,8 F), lo que representa una presión de 2 atmósferas; y la estufa a 100°C, que están ubicados en el laboratorio de Biología de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Cada proceso duró 90 minutos y se realizaron tres repeticiones.

Luego se aplicó de manera uniforme agua destilada, en la cantidad de 173ml por día, dando un total de 346ml en 48 horas, que serviría para saturar cada columna de suelo, para ellos se simuló una lluvia mediante un aspersor de mano sobre la superficie de la columna (Gutiérrez, Barba y Materón, 2007).

Finalmente se virtió la solución del ingrediente activo imidacloprid con una concentración inicial de 350g/l, la cantidad aplicada fue de acuerdo al cálculo realizado, en donde se toma en cuenta el volumen de una hectárea que es de $3\,000\text{ m}^3$, la cantidad que se aplica por hectárea que es de 400 cm^3 y al volumen que tienen las columnas PVC empacadas de suelo que es de 0.59 m^3 . Dando un valor de de 0.078 cm^3 de imidacloprid en 3.9ml de agua destilada.

Este procedimiento se lo hizo en un rango de 15 días, aplicando la dosis del compuesto cada 3 días, hasta llegar a los 15 días.

Volumen columna de suelo

$$V = \pi \times R^2 h$$

$$V = 3.14 (2.5\text{ cm}^2 \times 30\text{ cm})$$

$$V = 589.05\text{ cm}^3 = 0.59\text{ m}^3$$

Volumen de una hectárea

$$V = P/d$$

$$V = 4200\text{ t}/1.40\text{ tm}^3$$

$$V = 3000\text{ m}^3$$

- Cantidad de imidacloprid y agua aplicadas a las columnas de suelo.

Imidacloprid

$$400\text{ cm}^3. \quad 3\,000\text{ m}^3.$$

$$X \quad 0.59\text{ m}^3. = \mathbf{0.078\text{ cm}^3}$$

Agua

400cm^3 . $20\ 000\text{cm}^3$.

0.078cm^3 . $x = 3.9\ \text{cm}^3$

El lixiviado se recolectó en frascos de plástico esterilizados, para después pasar al análisis de biotransformación con ayuda del equipo HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia).

5.4. Evaluación de la biotransformación de imidacloprid en el lixiviado.

La determinación del imidacloprid en cada una de las muestras se realizó de acuerdo a la metodología analítica para la detección de plaguicidas en aguas subterráneas descrita por Villemur, Rimini y Pin (s.f).

- La muestra patrón se hizo con la misma cantidad que se aplicó del ingrediente activo por día en cada una de las columnas de suelo: $0.078\ \text{cm}^3$. de imidacloprid diluida en 10ml de acetonitrilo. Posteriormente se realizó una muestra de $0.078\ \text{cm}^3$. glicerina pura en 10ml de acetonitrilo, para comprobar la presencia de la misma en el insecticida utilizado. De acuerdo con lo investigado en Cromlab S.L. Blog de Cromatografía se utiliza acetonitrilo como solvente, ya que posee una menor absorbancia, que es la cantidad de intensidad de luz que absorbe la muestra y permite una mayor precisión del ensayo.
- Luego se realizaron 6 diluciones del ingrediente activo, de acuerdo a la cantidad que se aplicó por día en las columnas ($0,078\ \text{cm}^3$) por motivo de evitar que no se detectara en el cromatógrafo la presencia del mismo debido a la baja concentración aplicada en cada columna PVC empacada con suelo: 0,088ml, 0,098ml, 0,108ml, 0,118ml, 0,128ml, 0,138ml; todas las muestras se diluyeron en 10 ml de agua. Además no se contaba con el patrón puro de imidacloprid en laboratorio
- Se tomó una muestra de 3ml del lixiviado de cada una de las columnas a los 30 días de haber iniciado el proceso de lixiviación.
- Posteriormente cada muestra fue filtrada por medio de un filtro de membrana de $0,45\ \mu\text{m}$ para jeringa; obteniendo la esterilidad.

- 0,20 µl de cada una de las muestras filtradas se tomaron con la jeringa y se inyectó en el equipo de cromatografía líquida, la longitud de onda fue de 270nm.

5.5. Análisis Cromatográfico.

El análisis del ingrediente activo imidacloprid, se realizó por medio de un cromatógrafo de líquidos HPLC, modelo PU-2089 de JASCO ubicado en el Laboratorio de Química Analítica de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Su diseño incluye 2 pistones y 2 válvulas para asegurar la exactitud y precisión del flujo con un mantenimiento mínimo y sencillo por parte del usuario.

Las condiciones cromatografías utilizadas en el análisis del ingrediente activo presente en el lixiviado fueron las siguientes (Villemur, Rimini y Pin, s/f).

- Columna: c18
- Volumen de inyección: 20 µl
- Temperatura: 40°
- Solventes: Agua (B) y Acetonitrilo (A)
- Flujo: 1ml/min
- Presión máxima: 25 MPa
- Gradiente: 100% acetoneitrilo 0% agua en 5min
- Detección UV: 270nm

En estas condiciones el tiempo de retención para el imidacloprid fue de 2.2 minutos y la detección UV máxima de 272nm (Villemur, Rimini y Pin, s/f).

ENSAYO DE FITOTOXICIDAD DEL LIXIVIADO EN PRESENCIA DEL INGREDIENTE ACTIVO IMIDACLOPRID

5.6. Evaluación de la fitotoxicidad del biotransformado de imidacloprid.

El bioensayo de toxicidad que se realiza con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es una prueba estática (120 horas de exposición) en el que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos químicos o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el crecimiento de la radícula e hipocotilo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento (Sobrero y Ronco, 2004).

De acuerdo a lo descrito por Sobrero y Ronco (2004) para determinar la fitotoxicidad del ingrediente activo, en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), se realizó con el método siguiente:

- Se determinó el % de germinación de semillas antes de comenzar con la prueba de fitotoxicidad, ya que es recomendable verificar que cada lote nuevo de semillas que se utilice tenga un porcentaje de germinación superior al 95%. El resultado fue del 99.9% de germinación.
- Se colocó en cada caja Petri un disco de papel de filtro, poniendo el nombre correspondiente de cada muestra de lixiviado, así como la fecha y hora de inicio y finalización del bioensayo.
- Se saturó el papel de filtro con 4 ml de la dilución evitando que se formen bolsas de aire y se colocaron las 20 semillas, dejando espacio suficiente entre las semillas para permitir la elongación de las raíces.
- Luego se tapó las cajas Petri y se colocarán en la cámara de crecimiento, ya que algunas variedades de semillas de lechuga necesitan oscuridad para poder germinar (semillas fotoblásticas negativas).
- Finalmente se incubó por 120 horas (5 días) a una temperatura de 22 ± 2 ° C y se realizó las repeticiones correspondientes para cada dilución ensayada.

Tabla 6.

Condiciones para la prueba de fitotoxicidad con lechuga (Lactuca sativa L).

Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	20± 2° C
Calidad de luz	Oscuridad
Volumen de la solución prueba	4 ml
Agua de dilución	Agua destilada no esterilizada.
Numero de semillas por caja Petri	20
Numero de repeticiones	4
Duración del bioensayo	120 horas
Índices de Germinación	Porcentaje de germinación relativo (GRS), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e hipocotilo y finalmente el índice de germinación (IG). Adicionalmente, se calculó el índice de germinación residual normalizado (IGN)

Fuente: Sobrero, M y Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México.
Recuperado de: <http://www.publicaciones.inecc.gob.mx/libros/573/cap4.pdf>

Al término de los cinco días se calculó el porcentaje de germinación relativo (GRS), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e hipocotilo y finalmente el índice de germinación (IG). Adicionalmente, se calculó el índice de germinación residual normalizado (IGN). De acuerdo con Rodríguez, Robles, Ruíz, López, Sedeño y Rodríguez Dorantes, (2015), mediante las siguientes expresiones:

$$\text{GRS (\%)} = \frac{\text{Número de semillas germinadas en la muestra problema}}{\text{Número de semillas germinadas en el testigo}} \times 100$$

$$\text{CRR (\%)} = \frac{\text{Longitud promedio de la radícula con la muestra problema}}{\text{Longitud promedio de la radícula en el testigo}} \times 100$$

$$\text{IG (\%)} = \frac{\text{GRS} \times \text{CRR}}{100}$$

$$\text{IGN (\%)} = \frac{\text{Germx} - \text{Germ testigo}}{\text{Germ testigo}}$$

Donde Germx es el porcentaje promedio de semillas germinadas en cada muestra de estudio y GermTestigo es el porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

El IG representa el producto de la germinación relativa de las semillas por el crecimiento relativo de la radícula. Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula, por lo tanto este índice expresa como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo. El CRR representa el porcentaje de crecimiento de la radícula de las semillas expuestas al tóxico de referencia (lixiviado con presencia de imidacloprid) con respecto a las del testigo.

El índice IGN establece valores de toxicidad desde -1 a >0 bajo las siguientes categorías: índice de 0 a -0,25 baja toxicidad, de -0,25 a -0,5 toxicidad moderada, de -0,5 a -0,75 muy tóxico y de -0,75 a -1 toxicidad muy alta; valores de índice >0 indican perfecto crecimiento de la radícula (Rodríguez et al., 2015).

5.7. Diseño Experimental

Para efectuar la presente investigación se utilizó el diseño completamente al azar simple en donde se utilizó el lixiviado recolectado de las siete columnas empacadas con suelo de diferentes cultivos.

Se obtuvo siete tratamientos con cuatro repeticiones. Existió un total de 28 unidades experimentales. El análisis estadístico se realizó mediante la ayuda del Software R versión i386 3.5.0. y el Software estadístico InfoStat.

En el bioensayo de fitotoxicidad se plantearon las siguientes hipótesis (nula y alternativa, respectivamente) y se controlaron los siguientes parámetros:

H₀: El biotransformado a partir del principio activo Imidacloprid no es contaminante tóxico para células eucariotas (plantas).

H₁: El biotransformado a partir del principio activo Imidacloprid es contaminante tóxico para células eucariotas (plantas).

Variable independiente:

El factor en estudio fue la dilución del lixiviado con presencia de imidacloprid, obtenido de las columnas empacadas de suelo, aplicado a cada una de las unidades experimentales. Buscando establecer un efecto sobre una determinada población de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) en donde todas las unidades experimentales son homogéneas (Sobrero y Ronco, 2004).

Variable dependiente (Variables):

Dentro de esta variable podemos encontrar el porcentaje relativo de germinación (GRS), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e hipocotilo, el índice de germinación (IG) y el índice de germinación residual normalizado (IGN).

Unidad experimental:

Unidades homogéneas compuestas por el número de semillas utilizadas (20 por cada dilución) colocadas en cajas Petri de 10 cm de diámetro y 1 cm de profundidad, con su respectivo disco de papel filtro y almacenadas en un período de oscuridad (120 horas).

Obtención de la semilla de lechuga.

Las semillas de *Lactuca sativa* (lechuga) fueron obtenidas del fabricante Galassi Semillas SRL. Mediante las indicaciones que contenía cada sobre, se observó que las semillas son de alta calidad con un porcentaje de germinación mayor al 90% y un porcentaje de pureza del 99%.

Se determinó el % de germinación de semillas que fue previo a la implementación de la prueba, ya que es recomendable verificar que cada lote nuevo de semillas que se utilice tenga un porcentaje de germinación superior al 90%. El resultado fue del 99.9% de germinación, pudiendo certificar que la semilla es de muy buena calidad.

5.7.1. Materiales y equipos.

Materiales

Para la realización del bioensayo se utilizarán los siguientes materiales y reactivos:

- Material biológico: semillas de lechuga.
- Cajas Petri.
- Agua destilada.
- Balones aforados de 1000ml y 100ml.
- Pipeta.
- Probeta.
- Vasos de precipitado.
- Papel filtro.
- Tubos de ensayo.

- Pinza.
- Papel milimetrado.
- Agua destilada.
- Diluciones ZnSO₄ (Sulfato de Zinc).
- Diluciones muestra lixiviado (biotransformado).

Equipos

- Cámara de crecimiento.

5.7.2. Siembra de semillas.

Se colocaron 20 semillas de lechuga en cada caja Petri, siendo un total de 80 semillas por cada tratamiento, esto con el fin de obtener resultados representativos.

En cada una de las caja Petri se colocó papel filtro, luego se adicionó 4ml de dilución, homogeneizamos hasta que el papel filtro quede completamente humedecido y sin bolsas de aire.

5.7.3. Almacenamiento de las cajas Petri.

Una vez que se realiza la siembra de las semillas se colocan en la cámara de crecimiento, donde se les protege de la luz (semillas fotoblásticas negativas) y se evita la pérdida de la humedad de las cajas manteniendo a una temperatura constante de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, una humedad relativa de 65% HR.

5.7.4. Medición de la raíz y el hipocotilo de la semilla de lechuga.

Una vez expuesto el período de 120 horas se procede a colocar sobre una hoja de papel milimetrado, cuidadosamente con la ayuda de una regla, se procede a medir la radícula y el hipocotilo de la plántula, para lo cual se mide desde el nudo radicular hasta los cotiledones, este tipo de medición se hizo en milímetros.

Finalmente se procede a determinar cada una de las semillas que no germinaron, de tal manera se registran los datos.

5.7.5. Control de calidad de prueba de las semillas (% de germinación).

Para el análisis de los resultados de la prueba de los bioensayos deberá repetirse en caso que el control negativo (agua destilada) presente un porcentaje de germinación menor al 95% y una alta variabilidad en la longitud del crecimiento de la radícula e hipocótilo de la semilla

ÍNDICE MICROBIANO DEL SUELO

5.8. Caracterización de las comunidades microbianas presentes en el suelo (índice microbiano).

La caracterización molecular se realizó por medio de electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE). Para lo cual se realizó la extracción del ADN bacteriano por medio del PureLink Genomic DNA Mini Kit (ThermoFisher Scientific) siguiendo las instrucciones del fabricante.

5.8.1. Electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE)

Para la extracción de ADN se realizó un enriquecimiento de las muestras con el medio de cultivo LB (caldo de Luria), que contiene peptona de caseína y extracto de levadura que proporcionan al medio los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos. Después se efectuó una PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de la región hipervariable V3 de la secuencia del ADNr 16s. La DGGE se ejecutó en un gradiente de desnaturalización del 10, 20% y 60% para los respectivos análisis de los índices ecológicos, los mismos que nos ayudaran a determinar si existe una afectación del principio activo imidacloprid aplicado en las columnas de suelo.

Tabla 7.

Preparación de los soluciones stock de DGGE.

<i>Aforar a 100ml de agua destilada</i>	<i>10%</i>	<i>20%</i>	<i>60%</i>
<i>Acrilamida Bis 40%</i>	18.8ml	18.8ml	18.8ml
<i>TAE 50X</i>	2ml	2ml	2ml
<i>Formamida</i>	4ml	8ml	32ml
<i>Urea</i>	4,2 g	8,4 g	25,2 g

Elaborado por: El Autor.

Las imágenes del gel fueron reconstruidas con software Photoshop (Adobe). Las bandas se analizaron usando el software Gel-Pro Analyzer 4.0 (Applied Math) definiendo las bandas como aquellas que poseían al menos 5% de intensidad de la banda más intensa, anotándose como presencia o ausencia de las bandas en cada posición del gel. Para la comparación se construyó una matriz binaria basada en la presencia (1) o ausencia (0) de cada banda individual por cada línea, los cuales son usados para la construcción de una matriz de distancia. La matriz de distancia fue usada para la construcción de un diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) el cual es un mapa bidimensional con ejes artificiales X y el eje Y donde cada fingerprint de DGGE se coloca como un punto de forma que las muestras similares son representadas juntas (Mafla, 2013).

Los patrones únicos de DGGE o unidades operacionales taxonómicas (OTU's) se examinaron usando dos índices que indican los aspectos de la diversidad microbiana.

De acuerdo a Mafla (2013), el índice de Shannon-Weaver, índice de diversidad H y el índice de equidad E (Pielou,), se calcularon para cada muestra de acuerdo a la fórmula:

$$H = \sum \left(\frac{n_i}{N} \right) \log \left(\frac{n_i}{N} \right)$$

$$E = H / \log S$$

Donde:

Ni= la intensidad relativa de cada superficie de la banda del DGGE,

S= número de banda de DGGE (usado para indicar el número de especie) y N la sumatoria de todas las bandas en la superficie en una muestra dada (usada para estimar la abundancia de especies).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Análisis físico-químico del suelo de la Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina.

En el presente capítulo inicialmente se presentan los resultados del estudio de las propiedades físicas y químicas del suelo. Los resultados de la textura y % de humedad se presentan en la Tabla 8, los resultados de pH, materia orgánica y los nutrientes del suelo se presentan en la Tabla 9

Esta forma de agrupación se realizó con el fin de facilitar la observación de la información y su posterior análisis y discusión de resultados.

Tabla 8.

Características de la textura y % de humedad del suelo a una profundidad de 30 cm de La Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina.

Identificación del Lote	TEXTURA (%)			CLASE TEXTURAL	HUMEDAD (%)
	Arena	Limo	Arcilla		
Suelo cultivo/fréjol	39	34	27	Franco Arcilloso	25,10
Suelo cultivo/pimiento	33	32	35	Franco Arcilloso	29,70
Suelo virgen	41	32	27	Franco Arcilloso	16.70

Fuente: Estación Experimental “Santa Catalina”. Laboratorio de Manejo de Suelos y Aguas.

Quito-Ecuador.

En la clase textural de los tres diferentes lotes de suelo nos indica que es de clase textural Franco Arcilloso, esto quiere decir, que presenta bastante arcilla pero que cuenta también con limo y arena, dándole al suelo una mayor resistencia a la tensión.

Para el % de humedad tenemos diferentes valores que están dentro del rango de agua disponible para la planta (ADP), que es entre el 12% y el 30%, esto representa la cantidad total de agua disponible para absorción de la planta (Ramos y Zúñiga, 2008).

El suelo virgen presenta un 16,7% de humedad que al comparar con los otros, es menor, esto se debe a que los suelos por tener cultivos necesitan agua de riego temporal, provocando así una mayor presencia e infiltración de agua.

Tabla 9.

Características químicas del suelo a una profundidad de 30 cm de La Comunidad El Milagro, Parroquia La Carolina.

Identificación del Lote	pH	M.O. (meq/100 g)	$\frac{Ca}{Mg}$ (meq/100 g)	$\frac{Mg}{K}$ (meq/100 g)	$\frac{Ca + Mg}{K}$ (meq/100 g)	Σ Bases	CIC meq/100 g suelo
Suelo/fréjol	8,23	2,10 B	4,00	12,35	61,76	32,1	18,1
Suelo/pimiento	7,50	4,10 M	3,71	7,88	37,12	37	17,9
Suelo virgen	8,25	2,20 B	5,56	3,03	19,89	29,3	18,5

Fuente: Estación Experimental “Santa Catalina”. Laboratorio de Manejo de Suelos y Aguas.

Quito-Ecuador.

De acuerdo a los valores de pH, tenemos un suelo alcalino para el lote cultivo de fréjol y el lote virgen, en cambio, el lote con cultivo de pimiento es prácticamente neutro. De igual forma se tiene un porcentaje bajo de materia orgánica para el lote con cultivo de fréjol y el virgen, para el lote con cultivo de pimiento se tiene un suelo con un porcentaje de materia orgánica media, deduciendo así que es un suelo apto para la agricultura.

En la suma de bases tenemos valores más altos que 12 meq/100g, por lo tanto se deduce que las cantidades de Ca y Mg también son altas, verificando así que si existe alta fertilidad del suelo de los tres lotes, en relación con lo anteriormente mencionado (Ver Anexo I).

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL LIXIVIADO DE IMIDACLOPRID

6.2. Análisis cromatográfico para la determinar la presencia del ingrediente activo imidacloprid, en el lixiviado de las diferentes columnas de suelo.

Para determinar la presencia del imidacloprid en el lixiviado, la muestra patrón fue de una concentración de 350 g/l, que se preparó a razón de $0,78\text{cm}^3$ del producto (cantidad aplicada por día en las columnas de suelo) y se mezcló en 10ml de acetonitrilo que es el solvente. Se obtuvo el cromatograma con imidacloprid en un tiempo de retención de 2 minutos 10 segundos, de igual forma se realizó un patrón del coadyuvante glicerol puro, en el que se marcó el pico a los 9 segundos de inyectar la muestra pura.

Teniendo estos dos cromatogramas patrones de los compuestos del Confidor 350SC, se hizo la determinación de la presencia de imidacloprid por medio del cromatograma SNEP expuesto en la Figura 4, el cual no indica la presencia del ingrediente activo. Por lo tanto se deduce que el imidacloprid tuvo una biotransformación y/o acumulación dentro de la columna de suelo no esterilizado con cultivo de pimiento SNEP, ya que fue absorbido por el suelo, debido a la alta cantidad de arcillas presentes (35%) y a la materia orgánica (4,10%). Cabe recalcar que las arcillas debilitan los enlaces de la molécula del plaguicida favoreciendo su degradación (INTAGRI, 2017, p.4.).

El pico prominente de color rojo a un tiempo de retención de 0.8 segundos, es del glicerol que es uno de los componentes presentes en el insecticida imidacloprid, el segundo pico es presencia de algún compuesto químico que ya estuvo presente en el suelo por la

aplicación anterior en los cultivos descritos en la Tabla 2, que hace referencia al historial en los diferentes lotes de suelo, utilizados en esta investigación.

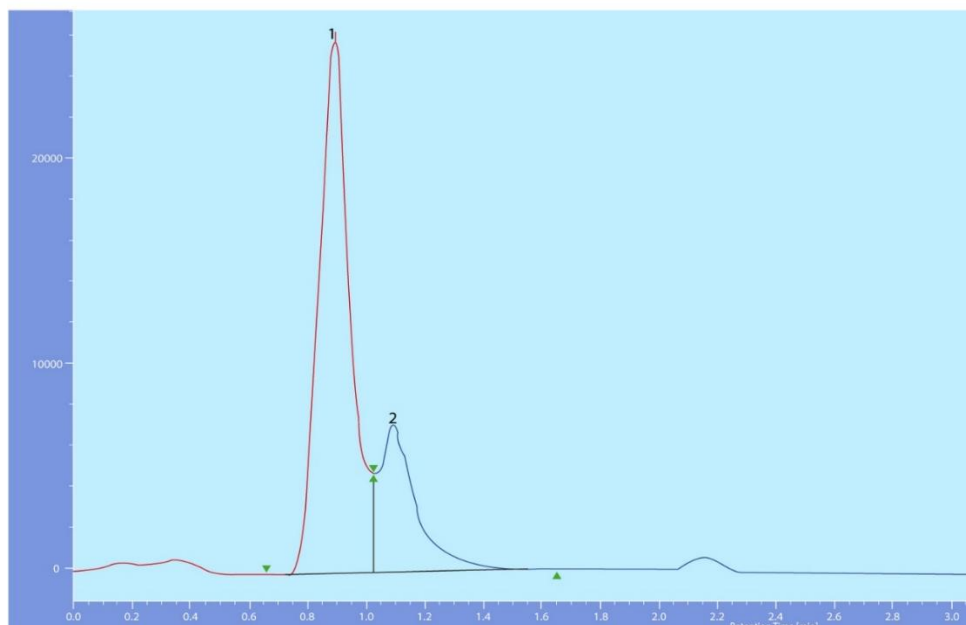


Figura 4. Cromatograma suelo no esterilizado de cultivo de pimiento HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H₂O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

En la figura 5 se presenta un cromatograma de imidacloprid obtenido de las condiciones óptimas de separación, como se indicó en la metodología de Villemur, Rimini y Pin (s.f.). La proporción de ACN/H₂O (100:0 v/v) permitió una selectividad adecuada, para lograr un pico simétrico de imidacloprid.

El primer pico de color rojo es el glicerol con un tiempo de retención de 8 segundos y el segundo pico de color negro y más importante es la presencia de imidacloprid en el lixiviado en un tiempo de retención de 2 minutos con 15 segundos, el cual indica que no hubo una biotransformación y/o acumulación completa en la columna de suelo esterilizada con cultivo de pimiento SEP. Esto se debe a que el ingrediente activo tuvo una mayor facilidad de lixiviación por medio de los poros del suelo en la columna.

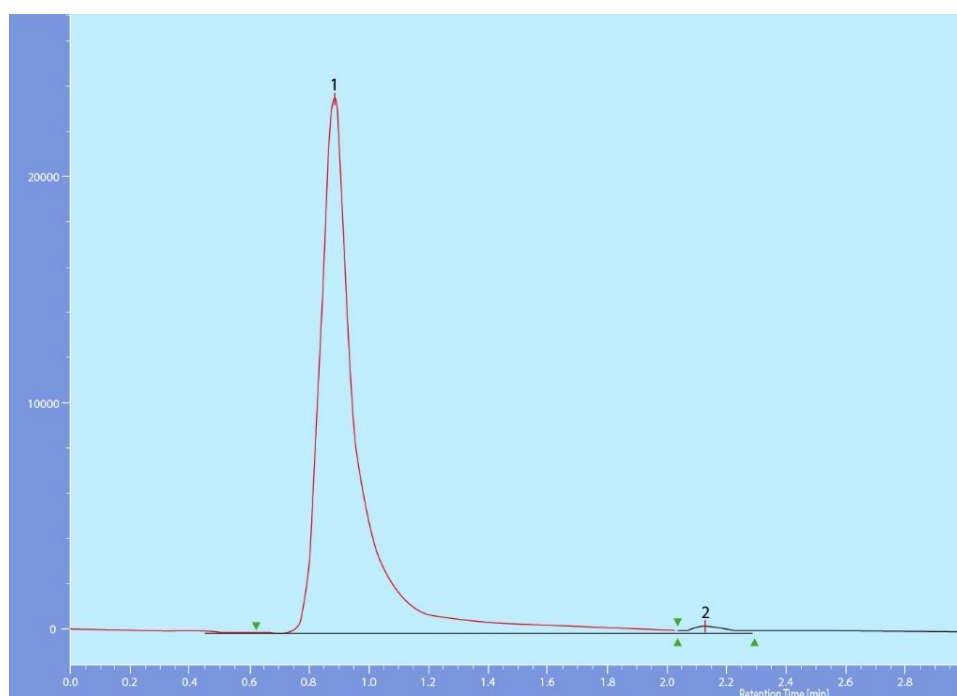


Figura 5. Cromatograma suelo esterilizado del pimiento HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H₂O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

En la figura 6 y la figura 7, se presenta un cromatograma de imidacloprid en el que se puede visualizar el pico de color rojo que es el glicerol anteriormente también mencionado como uno de los compuestos del insecticida Confidor 350SC, con un tiempo de retención de 0.9 minutos, el segundo pico (figura 6) es el imidacloprid con un tiempo de retención de 2 minutos 13 segundos; el quinto pico (figura 7) es imidacloprid con un tiempo de retención de 2 minutos 11 segundos, lo cual indica que no hubo una biotransformación y/o acumulación en las columna de suelo con cultivo de fréjol SNEF y SEF. Debido a la baja cantidad de arcillas presentes (27%) y a la materia orgánica (2,10%). Cabe recalcar que las arcillas debilitan los enlaces de la molécula del plaguicida favoreciendo su degradación (INTAGRI, 2017, p.4.).

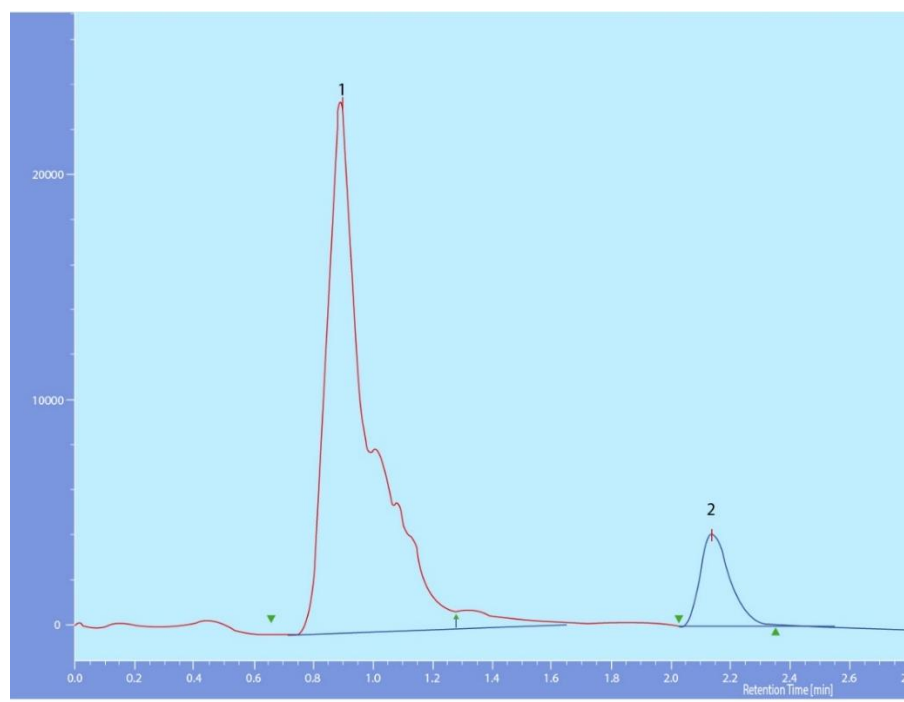


Figura 6. Cromatograma suelo no esterilizado del fréjol HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

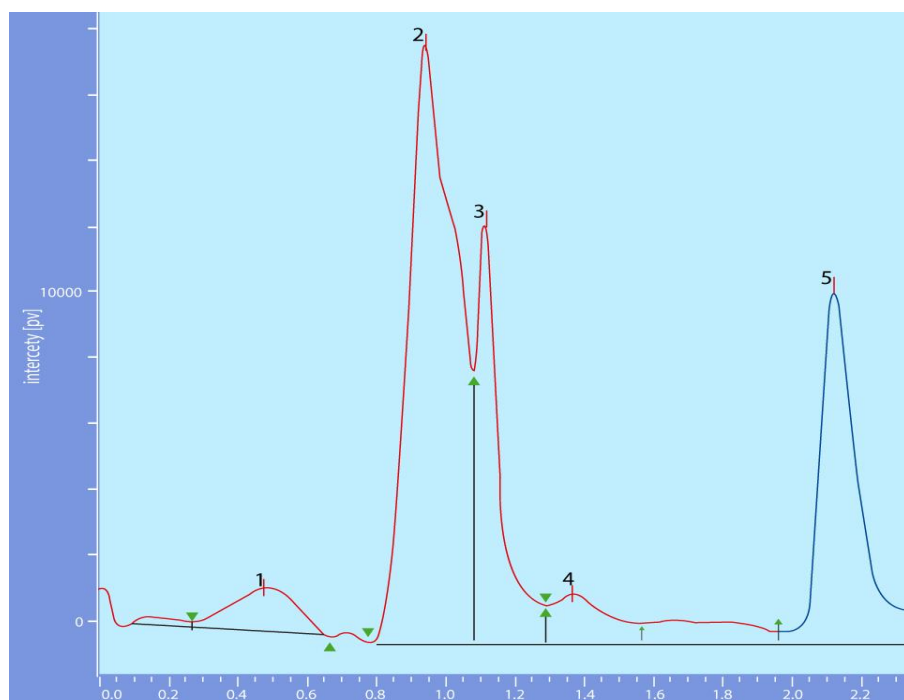


Figura 7. Cromatograma suelo esterilizado de fréjol HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

En las columnas de suelo virgen existió solamente una observación del ingrediente activo imidacloprid, como se observa en el cromatograma de la figura 8. El pico de color rojo que es el número 2, representa al glicerol mencionado como uno de los compuestos del insecticida utilizado con un tiempo de retención de 0.95 minutos, el quinto pico es el imidacloprid con un tiempo de retención de 2 minutos 13 segundos, indicando que no hubo una biotransformación y/o acumulación completa en la columna de suelo virgen no esterilizada SNEV. Debido a la baja cantidad de arcillas presentes (27%), a la materia orgánica (2,20%) y a la compactación del suelo en la columna que no permite que sea quebradizo. Las arcillas influyen en que debilitan los enlaces de la molécula del plaguicida favoreciendo su degradación (INTAGRI, 2017, p.4.).

Cabe resaltar que los demás picos provienen de la presencia de compuestos químicos presentes en los cultivos anteriores, antes de la aplicación del imidacloprid en el cultivo actual, como se mencionó anteriormente en la Tabla 2 del historial de cultivos de los lotes de suelo utilizados.

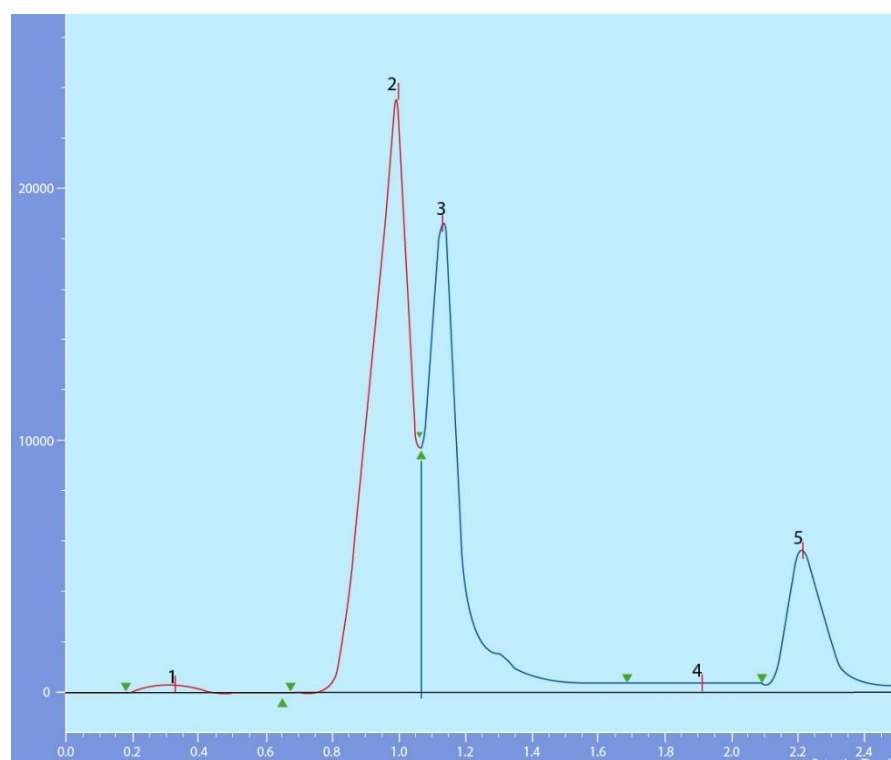


Figura 8. Cromatograma suelo esterilizado virgen HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug/ml), empleando como fase móvil: ACN/H₂O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

Finalmente en la columna de suelo testigo (arena) STA se pudo observar la presencia de imidacloprid, como se indica en la figura 9. El pico de color rojo que es el número 1, representa al glicerol mencionado como uno de los compuestos del insecticida utilizado en la columna, con un tiempo de retención de 0,9 minutos, el tercer pico y más importante es el imidacloprid con un tiempo de retención de 3 minutos 7 segundos, indicando que no hubo una biotransformación y/o acumulación en el testigo, ya que de acuerdo a las características físicas-químicas de ese suelo hacen posible una movilidad rápida del ingrediente activo y por ende existe la lixiviación del mismo.

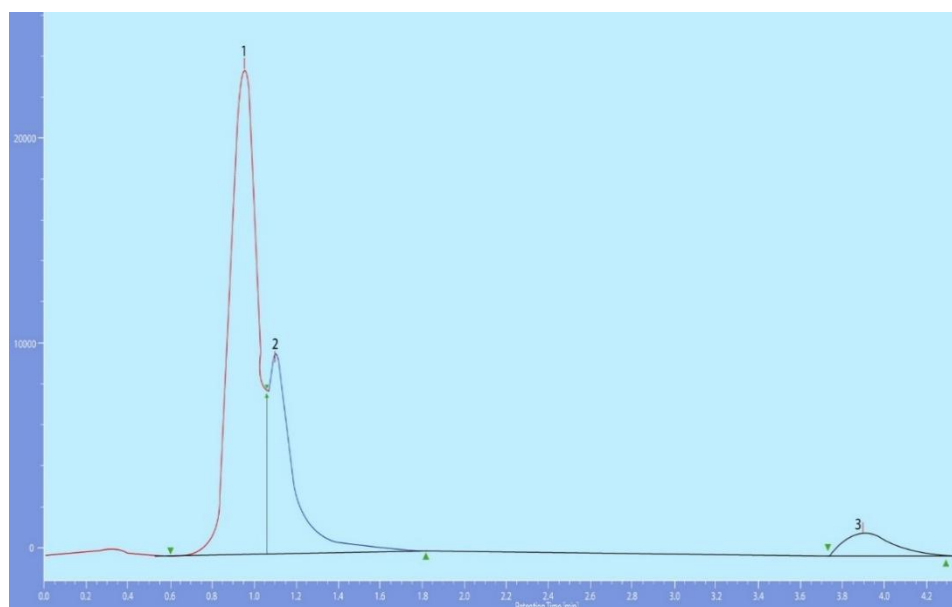


Figura 9. Cromatograma suelo testigo de arena HPLC-UV a 270 nm de imidacloprid (1,00ug.mL1), empleando como fase móvil: ACN/H2O (100:0% v/v)

Fuente: La Autora.

Al hacer una comparación entre los cromatogramas que indicaron la presencia de imidacloprid, los picos más grandes fueron para el cromatograma del SEF, SNEF Y SNEV. Esto se debe a que en las características físicas y químicas de estos suelos, que provienen con cultivo de fréjol y virgen, indicaron un menor porcentaje de arcillas (27%). Y un porcentaje alto de arena que va en un promedio del 41%. Facilitando así la movilidad del ingrediente activo imidacloprid y debilitando los enlaces de la molécula del mismo, impidiendo su degradación por la baja presencia de arcillas.

6.3. Bioensayo para determinar la fitotoxicidad del lixiviado analizado por HPLC en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*)

6.3.1. Índice de germinación relativa (GRS%).

El GRS representa el porcentaje de semillas germinadas de las diferentes muestras lixiviado-suelo en estudio, con respecto a aquellas germinadas en el testigo, cabe recalcar que el porcentaje de germinación fue del 99,9% para el testigo.

De acuerdo a los resultados obtenidos del bioensayo con semillas, se realizó el cálculo para el índice de germinación que se refiere al porcentaje de germinación relativa de semillas (GRS%).

Se obtuvo el valor más bajo que es de 51,25% para la muestra STA (suelo testigo); y el más alto para la muestra 4 y 5 (SEP y SNEV, respectivamente), con un valor de 86,25% y 90,0% respectivamente, como se indica en la Tabla 10 y Figura 11.

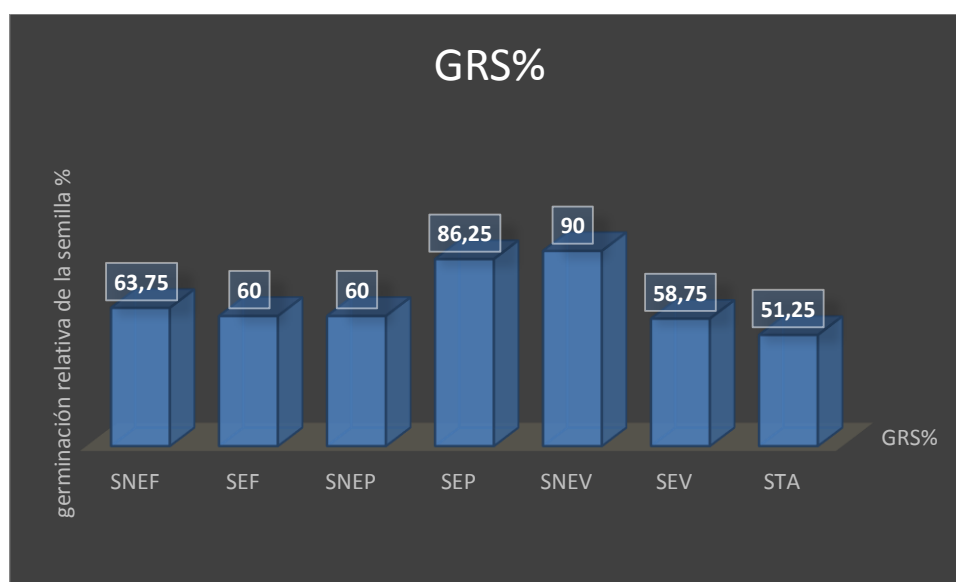


Figura 10. Porcentaje de semillas germinadas GRS% de las plántulas de *Lactuca sativa*

Elaborado por: La Autora.

Tabla 10.

Registro de semillas no germinadas y porcentaje de germinación relativa de las semillas (GRS%).

# de semillas no germinadas							
Tratamientos	R1	R2	R3	R4	TOTAL	PROMEDIO	GRS (%)
SNEF	6	8	9	6	29	7,25	63,75
SEF	8	7	10	7	32	8	60
SNEP	5	7	9	11	32	8	60
SEP	2	3	3	3	11	2,75	86,25
SNEV	2	1	3	2	8	2	90
SEV	7	5	10	11	33	8,25	58,75
STA	9	7	12	11	39	9,75	51,25
					TOTAL	6,57	67,14

Elaborado por: La Autora.

Estos valores nos indican, que existe mayor fitotoxicidad en el lixiviado obtenido de la columna de suelo testigo (STA), por lo que existe la presencia del ingrediente activo imidacloprid. En los valores altos de germinación, en cambio ocurre lo contrario, es decir, no existe presencia de imidacloprid en el lixiviado, por lo tanto, no hay una fitotoxicidad alta en cuanto al crecimiento de las semillas en los primeros días de desarrollo (muestras SEP, SNEV y SNEF).

Luego se realizó la prueba de normalidad de los datos en el que se obtuvo p-valor= 0,069, el cual nos indica que si existe normalidad dentro del grupo de datos evaluados.

En el análisis de varianza se encontró que estadísticamente hay diferencias altamente significativas en los tratamientos (suelos), dando un valor de $p < 0,0001$ por lo que se ACEPTA la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis NULA, concluyendo que si existe afectación del plaguicida en la germinación de las semillas de lechuga. El coeficiente de variación fue de 28,37 lo que indica que existe un control moderado en el experimento. (Ver Tabla 11).

Tabla 11.

Análisis de Varianza para el Porcentaje de Germinación Relativa de las semillas (GRS%).

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	211,86	6	35,31	10,16	<0,0001 ***
SUELOS	211,86	6	35,31	10,16	<0,0001 ***
Error	73,00	21	3,48		
Total	284,86	27			

Elaborado por: La Autora.

En el test de Tukey 5% se determinó que estadísticamente los lixiviados de las columnas SNEV, SEP son los mejores tratamientos, ya que presentan un mayor porcentaje de germinación relativo GRS% y no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). (Ver Tabla 12 y Figura 10)

Tabla 12.

Prueba Tukey 5% para el número de semillas no germinadas en los tratamientos (lixiviado-suelos).

Error: 3,4762 gl: 21				
SUELOS	Promedios	N	E.E	Grupos
SNEV	2,00	4	0,93	a
SEP	2,75	4	0,93	a
SNEF	7,25	4	0,93	b
SEF	8,00	4	0,93	b
SNEP	8,00	4	0,93	b
SEV	8,25	4	0,93	b
STA	9,75	4	0,93	b

Elaborado por: La Autora.

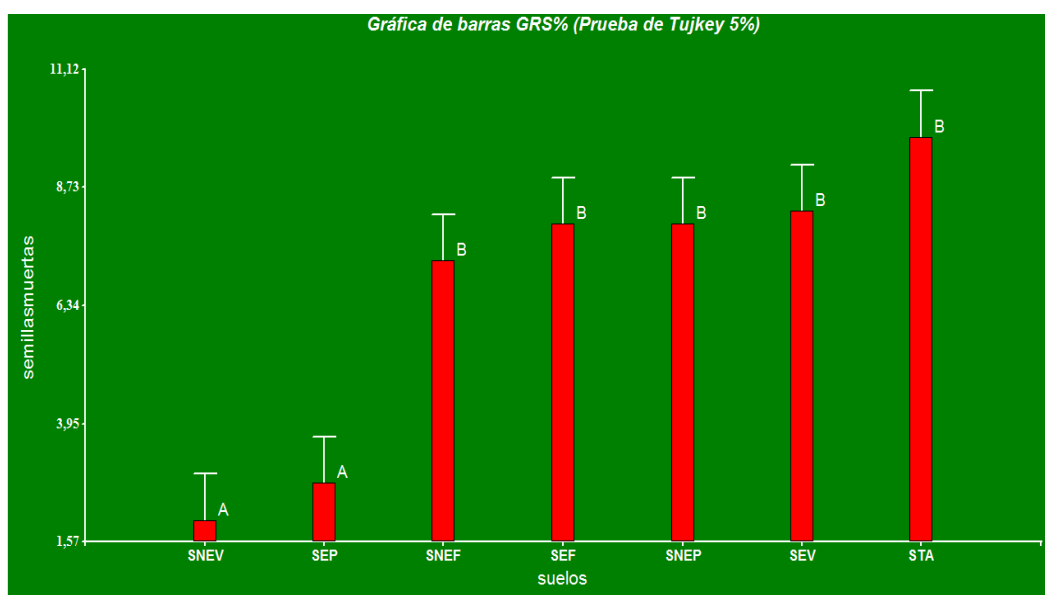


Figura 11. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el número de semillas no germinadas.

Fuente: La Autora.

6.3.2. Crecimiento relativo de la radícula (CRR%) e Índice de Germinación (IG)

Los resultados obtenidos para el crecimiento relativo de la radícula (CRR%), muestran que, SNEV y SEV poseen los valores más altos (61,33% y 60,30%); STA presenta el valor más bajo respectivamente (34,56%). Ver Tabla 13.

El índice de germinación IG, representa el producto de la germinación relativa de las semillas por el crecimiento relativo de la radícula. Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. Este índice expresa tanto el porcentaje de semillas germinadas como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo.

Los resultados obtenidos muestran que STA presenta el IG más bajo respectivamente (17,71%), mientras que las demás muestras obtuvieron valores superiores, el IG de la muestra SNEV y SEP representa un mayor valor (55,19% y 51,57%, respectivamente), por lo tanto son los mejores tratamientos en la prueba de bioensayo de fitotoxicidad en semillas de lechuga frente al principio activo imidacloprid. Ver Tabla 13.

Tabla 13.

Crecimiento relativo de la radícula (CRR%) e Índice de Germinación (IG), aplicadas en el bioensayo de toxicidad.

Tratamientos (suelos-lixiviado)	GRS (%)	CRR (%)	INDICE DE GERMINACIÓN (IG)
SNEF	63,75	45,83	29,22
SEF	60	46,15	27,69
SNEP	60	42,02	25,21
SEP	86,25	59,79	51,57
SNEV	90	61,33	55,19
SEV	58,75	60,3	35,27
STA	51,25	34,56	17,71

Elaborado por: La Autora.

En la Figura 12 se muestra el efecto de los diferentes lixiviados utilizados en el bioensayo con semillas de lechuga GRS%, algunas variables del crecimiento de la lechuga CRR% y el índice de germinación IG, durante la evaluación realizada a los 5 días de la germinación de las semillas.

En todas se obtuvieron diferencias de porcentajes, destacando que la menos fitotoxicidad tienen las muestras SEP y SNEV por la nula presencia de imidacloprid en el lixiviado y mayor biotransformación y/o degradación en la columna de suelo; en cambio la muestra STA indicó una mayor fitotoxicidad en la germinación y crecimiento de la radícula de las plántulas, ya que por la ausencia de arcillas la movilidad del imidacloprid es más rápida e impide la degradación del mismo, haciendo que no haya una acumulación del mismo en este tipo de suelo(arena).

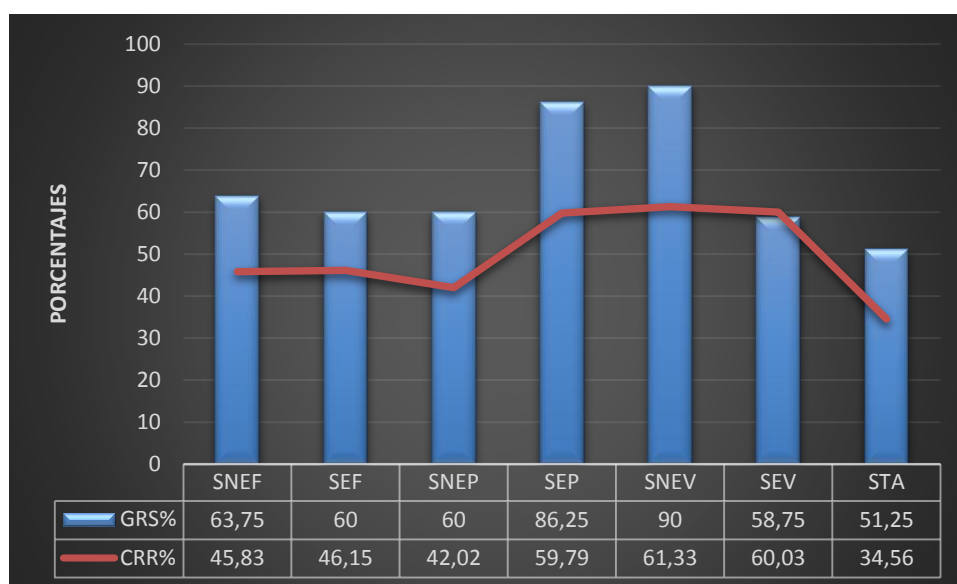


Figura 12. Evaluación de las respuestas biológicas de las plántulas de *Lactuca sativa*.

Elaborado por: La Autora.

6.3.3. Análisis estadístico del crecimiento de las plántulas (radícula e hipocotilo) de *Lactuca sativa*.

Se realizó la prueba de normalidad en la que el valor de $p\text{-value} = 0.0736$ por lo tanto se comprueba que, si existe normalidad en la distribución de los datos obtenidos en el bioensayo de toxicidad.

Radícula.

El análisis estadístico de crecimiento de la radícula de las semillas expuestas al lixiviado, tomado de muestras de suelo con cultivos diferentes, mostró diferencias altamente significativas (p valor 0,0001) en los tratamientos (suelos-lixiviado), por lo que se **ACEPTA** la hipótesis alternativa y se **RECHAZA** la hipótesis nula. Demostrando así que si existe una afectación por el principio activo imidacloprid en el crecimiento de la radícula. El coeficiente de variación es de 14,08. (Ver tabla 14).

Tabla 14.

Análisis de Varianza para el crecimiento de radícula de la lechuga (Lactuca sativa.)

F.V	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	493,72	6	82,29	15,88	0,0001***
SUELOS	493,72	6	82,29	15,88	0,0001***
Error	108,80	21	5,18		
Total	602,52	27			

Elaborado por: La Autora.

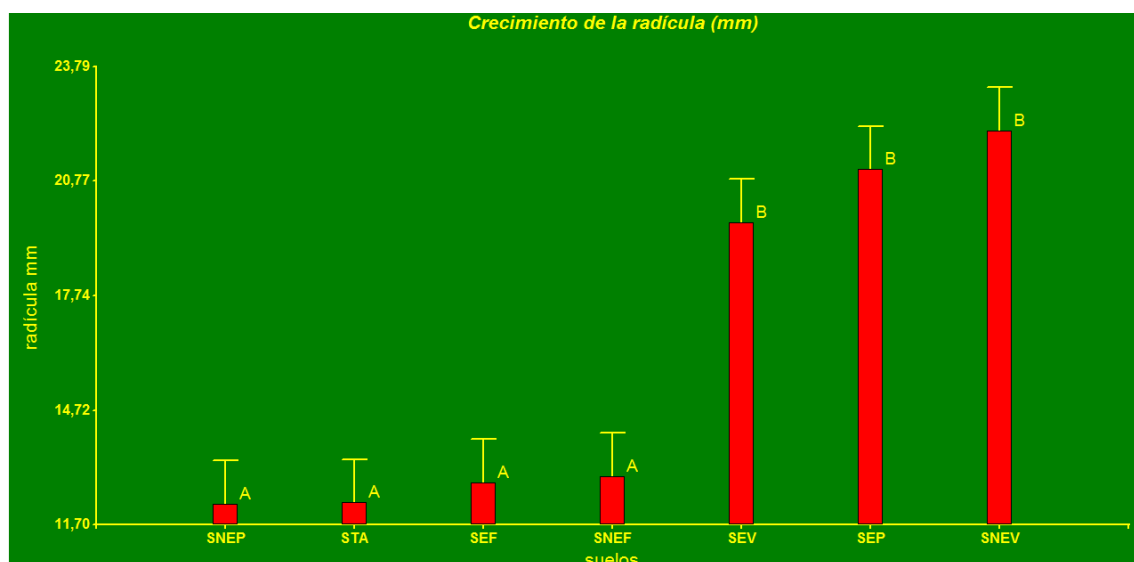


Figura 13. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el crecimiento de la radícula de las semillas de lechuga. .

Fuente: La Autora.

En el análisis realizado con la prueba de Tukey 5%, se obtuvo todas las comparaciones entre las muestras de lixiviado-suelos (tratamientos), por lo que se puede ver que SNEV, SEP Y SEV, tienen menor nivel tóxico en el crecimiento de la radícula de las semillas de lechuga, como se indica en la Tabla 15.

El error total de la muestra de longitud de la radícula fue de 5,18 por lo que indica una precisión aceptable en la muestra analizada.

Tabla 15.

Prueba de Tukey para el crecimiento de radícula de la lechuga (Lactuca sativa.)

Suelos	Radícula (mm)	n	E.E	Grupos
SNEV	22,10	4	1,14	A
SEP	21,08	4	1,14	A
SEV	19,68	4	1,14	A
SNEF	12,81	4	1,14	A
SEF	12,98	4	1,14	B
STA	12,29	4	1,14	B
SNEP	12,25	4	1,14	B

Elaborado por: La Autora.

Hipocotilo.

Se realizó la prueba de normalidad en la que el valor de p-value= 0,0854, por lo tanto, se comprueba que, si existe normalidad en la distribución de los datos obtenidos del bioensayo de fitotoxicidad.

El análisis estadístico de crecimiento del hipocotilo de las semillas expuestas al lixiviado, tomado de muestras de suelo con cultivos diferentes, mostró diferencias altamente significativas (p valor 0,0001) en los tratamientos (suelos-lixiviado), por lo que se **ACEPTA** la hipótesis alternativa y se **RECHAZA** la hipótesis nula. Demostrando así que si existe una afectación por el principio activo imidacloprid en el crecimiento de la radícula. El coeficiente de variación es de 10,35. (Ver tabla 16).

Tabla 16.

Análisis de Varianza para el crecimiento del hipocotilo de la lechuga (Lactuca sativa)

F.V	S.C	gl	CM	F	p-valor
Modelo	625,31	6	104,22	21,09	0,0001**
SUELOS	625,31	6	104,22	21,09	0,0001**
Error	103,77	21	4,94		
Total	729,08	27			

Elaborado por: La Autora.

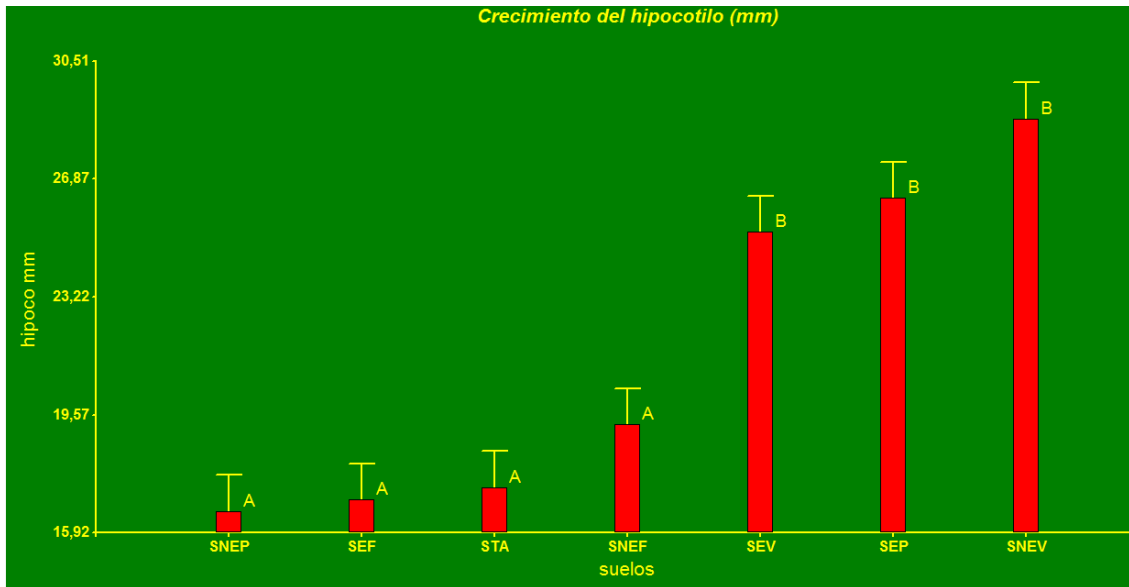


Figura 14. Comparación de los tratamientos (lixiviado-suelos) según el crecimiento del hipocotilo de las semillas de lechuga. .

Fuente: La Autora.

Para la prueba de Tukey 5%, se obtuvo todas las comparaciones entre las muestras de lixiviado-suelos (tratamientos), por lo que se puede ver que SNEV, SEP, SEV Y SNEF tienen menor nivel tóxico en el crecimiento del hipocotilo de las semillas de lechuga, que los demás tratamientos como se indica en la Tabla 17.

El error total de la muestra del crecimiento del hipocotilo fue de 4,94, esto indica una precisión aceptable en la muestra analizada.

Tabla 17.

Prueba de Tukey 5% para el crecimiento del hipocotilo de la lechuga (Lactuca sativa.)

Suelos	Hipocotilo (mm)	N	E.E	Grupos
SNEV	28,74	4	1,11	A
SEP	26,28	4	1,11	A
SEV	25,23	4	1,11	A
SNEF	19,26	4	1,11	A
STA	17,33	4	1,11	B
SEF	16,95	4	1,11	B
SNEP	16,59	4	1,11	B

Elaborado por: La Autora.

6.3.4. Índice de germinación normalizado (IGN).

De acuerdo a la metodología descrita anteriormente, se realizó el cálculo para este índice y se obtuvieron los valores del IGN indican la presencia de un gradiente de toxicidad moderada con valores -0,36, -0,39 y -0,39 para las muestras de lixiviado SNEF, SEF y SNEP respectivamente.

En la muestra SEP se obtuvo un valor de -0,13 indicando una baja toxicidad, para la muestra SNEV se obtuvo un valor de -0,09, indicando de igual manera una baja toxicidad respectivamente. Y para la muestra SEV y STA con un valor de -0,41 y -0,48, indicando una toxicidad más alta, pero que se categoriza aún como moderada. (Ver figura 15).

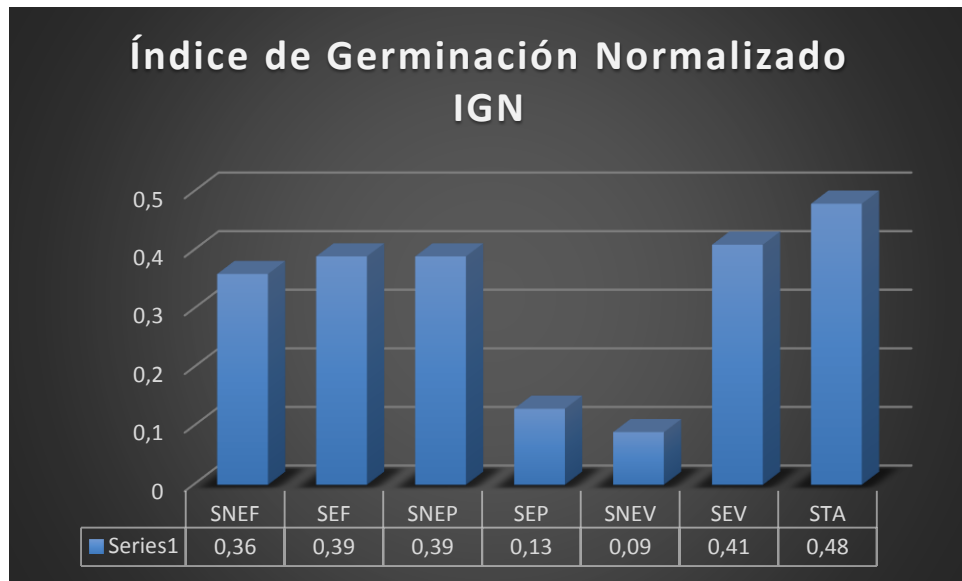


Figura 15. Distribución de promedios del Índice de Germinación Normalizado IGN.

Elaborado por: La Autora.

6.4. Caracterización de las comunidades microbianas del suelo.

Las bandas obtenidas por DGGE se analizaron usando el software Gel-Pro Analyzer definiendo las bandas como aquellas que poseían al menos 5% de intensidad de la banda más intensa, se realizó un matriz bandas anotándose como presencia (1) o ausencia (0) de las bandas en cada posición del gel.

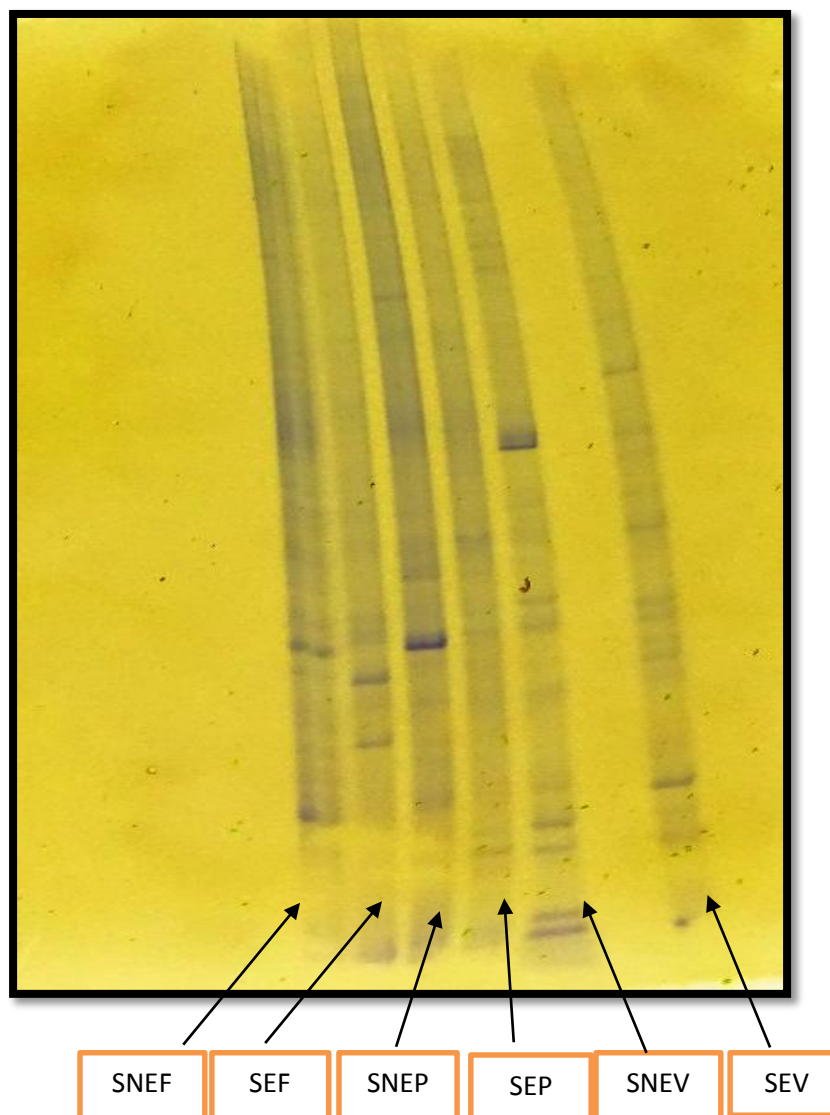


Figura 16. Perfil de bandas (DGGE) de todos los tratamientos (uso de suelo con cultivo de fréjol, pimiento y virgen)) con imidacloprid (1, 2, 3, 4, 5 y 6 de derecha a izquierda).

Fuente: La Autora.

Los análisis de similitud, entre las comunidades bacterianas presentes en las muestras analizadas se estudiaron mediante el método de escalamiento multidimensional (MDS) el cual utiliza una matriz Bray-Curtis. Este análisis mostro que al 60% pertenece cada una de las muestras analizadas SNEF, SEF, SNEP, SEP, SNEV, SEV; para el 40% de similitud en la estructura de las comunidades bacterianas existía un grupo bien definido, formado por las muestras SNEF, SEF Y SEV. Finalmente, para el 20% de similitud existe un grupo definido siendo las muestras SNEF, SEF, SNEP Y SEV. (Ver Figura 17).

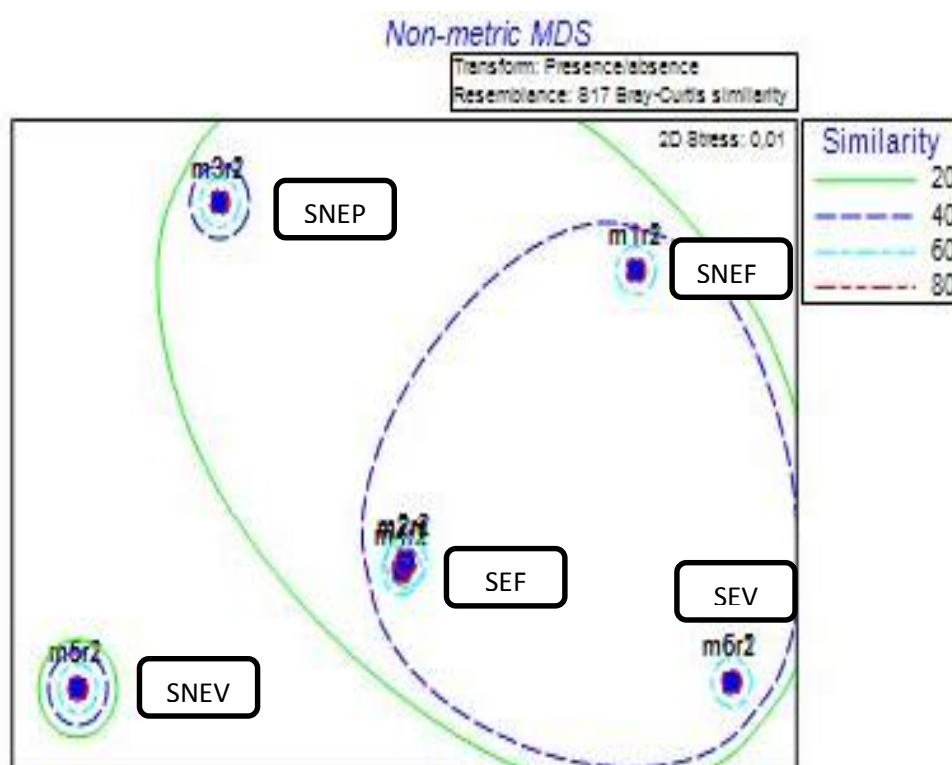


Figura 17. Escalamiento multidimensional del patrón de bandeo obtenidos mediante DGGE.

Fuente: La Autora.

Se observó que los índices de riqueza (S) como los de diversidad de Shannon (H') obtuvieron valores significativamente mayores en las muestras SEF y SEV ($S/H' = 21/3,045$, $S/H' = 17/2,833$, respectivamente). Valores intermedios de riqueza S Y H', fueron obtenidos para las muestras SNEF, SEP y m3 ($S/H' = 16/2,77$, $S/H' = 14/2,63$ y $S/H' = 13/2,57$ respectivamente). Y valores bajos de riqueza, fue para la muestra SNEV ($H/S' = 8/2,08$) (Ver Tabla 18).

Al analizar el índice de equidad de Pielou (J') se observó que no existió diferencias entre los valores de cada una de las muestras siendo el valor de $J'=1$ para todas las muestras, indicando así una igualdad de diversidad para todas las muestras (Tabla 18).

De igual manera el índice de dominancia de Simpson (1-Lambda') fue igual en todas las muestras teniendo como valor de 1, lo que indico que posee un alto grado de similitud con respecto a su diversidad entre las muestras analizadas (Tabla 18).

Tabla 18.

Índices de Riqueza (S), índice de Shannon-Weaver (H'), índice de equidad de Pielou (J') e índice de dominancia de Simpson (1-Lambda'), obtenido del patrón de bandas mediante el análisis del gen ARNr 16S por DGGE.

MUESTRAS	RIQUEZA (S)	INDICE DE SHANNON (H)	INDICE DE EQUIDAD (J)	ÍNDICE DE SIMPSON (1-Lambda)
SEF	21	3,045	1	1
SEV	17	2,833	1	1
SNEF	16	2,773	1	1
SEP	14	2,639	1	1
SNEP	13	4,678	1	1
SNEV	8	3,366	1	1

Elaborado por: La Autora.

DISCUSIÓN

La evaluación de la FAO, halló que el imidacloprid presenta una persistencia media a la biodegradación con una vida media de 180 días, en condiciones agrícolas normales. Además, tiene una mineralización completa sin degradación del producto a concentraciones superiores al 10%.

En el presente trabajo de investigación se comprobó que el ingrediente activo imidacloprid, posee una capacidad de lixiviación de acuerdo a la cantidad de arcillas y a la cantidad de materia orgánica presentes en el suelo. Por lo que en la muestra SEP Y SNEV (suelo esterilizado del cultivo-pimiento y suelo no esterilizado virgen, respectivamente) no se encontró presencia del compuesto, por lo tanto se presume una posible biotransformación y/o degradación en el suelo por la cantidad de arcillas en un promedio del 31% y materia orgánica en un 4,10% para el suelo de pimiento y 2,20% para el suelo virgen. Cabe resaltar que si se tiene un suelo con alta presencia de arcillas y materia orgánica, se acelera la degradación del imidacloprid.

El proceso de degradación ocurre en dos fases, primero se produce el ácido -6-cloronicotínico y posteriormente dicho metabolito es mineralizado hasta bióxido de carbono. Este compuesto muestra una afinidad moderada por la materia orgánica del suelo. Estos resultados muestran que se podría usar este insecticida, tanto en aplicaciones foliares como al suelo, con la seguridad de no afectar la actividad descomponedora de la materia orgánica del mismo (Fernández y Giménez, 2005).

Según Greenpeace (2017) los neonicotinoides pueden perdurar años en el suelo agrícola, esto conllevará a una contaminación crónica y en algunos casos a una acumulación a lo largo del tiempo (Wood y Goulson, 2017). Algunos estudios realizados sobre la movilidad del imidacloprid en suelos demostraron que sus residuos fueron lixiviados a una profundidad de 15-30 cm en condiciones de campo; sin embargo, otros estudios de campo demostraron que imidacloprid podría ser persistente en suelos, con tiempos de vida media que variaron en el intervalo de 27 a 229 días (Ettiene, Bauza, Sandoval, Medina, Raga, Quiros, Petit, Poleo y Dorado, 2016).

Según del Puerto Rodríguez., et al. (2014) el grado de lixiviación (el movimiento de las sustancias a través de las fases del suelo) depende de la solubilidad del compuesto en agua, de su naturaleza química y del valor del pH del suelo, que se favorece por la capacidad de adsorción de este, esto varía principalmente por el porcentaje de arcillas, arenas y limos presentes en el.

Una característica de fitotoxicidad moderada inhibe tanto los procesos de germinación como de crecimiento de la radícula de *Lactuca sativa*. La integración de todas las respuestas medidas en el bioensayo con *Lactuca sativa* permitió identificar que la muestra STA (suelo testigo) está sujeta a un conjunto de factores que inhiben de forma significativa tanto la germinación como el crecimiento radicular, como es la falta de arcillas y materia orgánica evitando así, la degradación del ingrediente activo imidacloprid. Los resultados de esta investigación podrían utilizarse para la evaluación de riesgos eco toxicológicos (Rodríguez, *et al.* 2015).

De acuerdo a los índices de diversidad microbiológica, demuestra que existe una mayor diversidad de especies en los microcosmos de la columna SEF y SEV lo que es concordante con los resultados, ya que estas comunidades de microorganismos de suelo, poseían imidacloprid, el microcosmo de la muestra 1 posee un índice H' alto demostrando así que el imidacloprid no es altamente tóxico para los microorganismos. El índice de equidad Pielou indica que las abundancias están más uniformemente distribuidas, es decir, las especies comparten abundancias similares en cada una de las muestras de estudio. Además, el índice de dominancia Simpson fue igual para todas las muestras teniendo como valor de 1, lo que indica un alto grado de similitud en su diversidad. Estos resultados son característicos de ambientes, donde las condiciones del medio no son las más adecuadas por lo que hay el desarrollo de pocas especies dominantes (Mafla, 2013).

7. SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS

El siguiente cuestionario nos permitió implementar mejoras constantes en los procesos de socialización de trabajos de investigación.

Detalle de Valoración:

5. MUY ALTO 4. ALTO 3. MEDIO 2. BAJO 1. NULO

Número de encuestados: 15 personas.

Preguntas del evento de socialización:

1. ¿Considera Usted que la sala donde se desarrolló este evento brindó las comodidades necesarias?	Muy alto (15)
2. ¿Considera Usted que el material audiovisual utilizado en la presentación fue adecuado?	Muy alto (15)
3. ¿Considera Usted que el expositor mostró dominio en el tema?	Muy alto (15)
4. ¿Estima Usted que el manejo del auditorio por parte del expositor fue adecuado?	Muy alto (15)
5. ¿Considera Usted que el expositor demostró facilidad de expresión?	Muy alto (15)
6. ¿Considera Usted que el tema investigado posee relevancia para algún actor y/o sector de la sociedad?	Muy alto (15)
7. ¿Considera Usted que esta investigación posee perspectivas para estudios complementarios posteriores?	Muy alto (15)

8. ¿Considera Usted que le tema investigado genera actualmente o a futuro un beneficio concreto para alguna organización, empresa pública o privada, comunidad o institución?	Muy alto (15)
9. ¿En función de los objetivos planteados expuestos en la investigación, considera Usted que éstos se cumplieron?	Muy alto (15)

Realice un comentario o sugerencia para los organizadores de este evento.

Se agradece primeramente la visita a la comunidad El Milagro y por haber sido tomada en cuenta para realizar este trabajo de investigación, en cuanto a lo que se refiere a la contaminación por plaguicidas, es un tema realmente importante a nivel local, nacional y mundial.

De manera comedida se le pide a la Universidad Católica Sede Ibarra que sigan promoviendo investigaciones dentro de la Parroquia La Carolina, ya que podrían salir temas interesantes y de vital importancia para el cuidado del medio ambiente.

Mencione usted otras problemáticas que a su parecer podrían ser investigadas y que posean importancia para algún actor y/o sector de nuestra colectividad.

- Manejo adecuado de los plaguicidas al ser aplicados.
- Efectos secundarios de los plaguicidas en personas y animales.
- Contaminación de agua por aplicación de los plaguicidas.

8. CONCLUSIONES

- En el análisis de identificación del principio activo imidacloprid, realizado por HPLC, se pudo observar la presencia del mismo en la mayoría de cromatogramas que pertenecen a cada una de las columnas de suelo utilizadas en la investigación, por lo tanto se demostró que de acuerdo a la cantidad de materia orgánica y el porcentaje de arcillas presentes en un suelo, se puede determinar la capacidad de lixiviación del imidacloprid.
- Durante la realización del análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las pruebas fitotóxicas, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_1), debido a que se obtuvo en todo un valor de $p = 0.0001$ con diferencias altamente significativas, estableciendo que se produce efectos distintos en las semillas de prueba, proporcionando de esta manera un grado de confiabilidad de los resultados obtenidos durante el desarrollo de las pruebas.
- La integración de las diferentes respuestas biológicas que se observaron en el bioensayo de *Lactuca sativa* permitió identificar las muestras de lixiviado que poseían una toxicidad moderada y baja, se obtuvieron los valores del IGN indican la presencia de un gradiente de toxicidad moderada con valores -0,36, -0,39 y -0,39 para las muestras de lixiviado SNEF, SEF y SNEP (suelo no esterilizado/fréjol, suelo esterilizado/fréjol y suelo no esterilizado/ pimiento, respectivamente). En la muestra SEP (suelo esterilizado/pimiento) se obtuvo un valor de -0,13 indicando una baja toxicidad, para la muestra SNEV se obtuvo un valor de -0,09, indicando de igual manera una baja toxicidad respectivamente. Y para la muestra SEV (suelo esterilizado virgen) y STA (suelo testigo/arena) con un valor de -0,41 y -0,48, indicando una toxicidad más alta, pero que se categoriza aún como moderada.
- De acuerdo al índice de riqueza, se demuestra que existe un mayor número de especies en la columna SEF (21) y un menor número de especies para la columna SNEV (8), por lo tanto, en el tiempo de prueba no hubo cambios o afectaciones a las comunidades de microorganismos de suelo, a pesar que poseían imidacloprid.
- El índice de equidad Pielou indica el grado de igualdad de la distribución de la abundancia de las de las muestras de estudio. Además, el índice de dominancia Simpson fue igual para todas las muestras teniendo como valor de 1, lo que indica un alto grado de similitud en su diversidad.

- El insecticida neonicotinoide estudiado es absorbido en suelos que tengan propiedades físicas y químicas, tales como los contenidos de materia orgánica y de partículas finas como arcillas y limo, determinando así una elevada importancia en los estudios de impacto ambiental en prácticas agrícolas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda la aplicación de los ensayos fitotóxicos por ser una de las herramientas importantes para el diagnóstico oportuno de posibles generaciones de impactos en el medio ambiente (flora y fauna), los cuales deben ser implementados en los diferentes sectores industriales y para nuevos contaminantes.
- Se recomienda el uso simultáneo de los índices de fitotoxicidad IGN Y IER, ya que pueden generar respuestas diferentes a factores que podrían confundirse si sólo se aplica uno de ellos.
- Es importante hacer la integración de todas las respuestas medidas en el bioensayo con *Lactuca sativa*, que permitió identificar que la muestra está sujeta a un conjunto de agentes estresantes que inhiben de forma significativa tanto la germinación como el crecimiento radicular.
- Se recomienda crear y ejecutar un plan de intervención para mejorar el manejo de los plaguicidas, lo que contribuirá a disminuir los riesgos para la salud del trabajador y el ambiente.
- Integrar en la comunidad, estudiantes de la universidad para futuras investigaciones.

10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA:

- Abad, M. (2014). *Fitotoxicidad del Material Particulado Sedimentable (Mps) Generado en la Zona Urbana Del Cantón Cuenca* (Tesis de maestría). Universidad Estatal de Cuenca, Azuay, Cuenca. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/tesis.pdf.pdf>
- Arguello, A. (2011). *Introducción de la finalidad extra fiscal en el Impuesto al Valor Agregado que grava a la transferencia e importación de agroquímicos, como medida fiscal para la protección del medio ambiente, la salud y la seguridad alimentaria* (Tesis de pregrado). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/898/1/99874.pdf>
- Arrázola, E. (2016). *Evaluación del riesgo ambiental de la mezcla de Alfa-Cipermetrina e Imidacloprid sobre la lombriz de tierra (Eisenia fetida)* (Tesis de pregrado). Universidad Científica del Sur, Lima, Perú. Recuperado de: [http://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/UCS/247/TL_Arrazola_V%
%a1squez.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/UCS/247/TL_Arrazola_V%c3%a1squez.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Arroyave, S y Correa, F. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre Económico*, 12(23), 13-34. Retrieved May 19, 2018, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-63462009000100002&lng=en&tlng=es.
- Beltrán Narváez, C. R., Pozo Dorado Gricel Elizabeth, G. E., & Pavón, G. (2011). *Zonificación ecológica-económica y propuestas de gestión integral de los recursos naturales del cantón Ibarra. Tesis de Grado*. Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Imbabura. Recuperado de: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/840/5/03%20REC%20135%20DEFENSA%20TESIS.pdf>

- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México. IMTA. Recuperado de: http://www.idrc.ca/EN/Resources/Publications/openebooks/147-7/index.html#page_18
- Cervantes, R (2010, abril). Plaguicidas en Bolivia: sus implicaciones en la salud, agricultura y medio ambiente. *REDESMA*. (15) 1. Recuperado de: http://www.cebem.org/cmsfiles/articulos/REDESMA_09_art02.pdf
- Cid, C. (2014). *Desarrollo de Metodologías Analíticas para la Determinación de Imidacloprid en agua mediante Microextracción Líquido-Líquido Dispersiva (Dllme) y Fluorescencia inducida Fotoquímicamente asociado a calibración multivariada* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago, Chile. Recuperado de: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/129979/Desarrollo-de-metodologiasanaliticas-%20para-la-determinacion-de-imidacloprid.pdf?sequence=1>
- Cruces, M. (2016). *Los Neonicotinoides y su uso seguro en la Agricultura* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2631/H10-C7855-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chaca, T y Suárez, D. (2014). *Estudio de factibilidad para la creación de una microempresa de producción y comercialización de tomate riñón a través de la utilización de abono orgánico, ubicado en la Comunidad de El Guadual Parroquia La Carolina Cantón Ibarra, Provincia de Imbabura* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/3009/1/02%20ICO%20378%20TESIS.pdf>

- Del Puerto Rodríguez, Asela M, Suárez Tamayo, Susana, & Palacio Estrada, Daniel E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010&lng=es&tlng=es.
- Elizondo Silva, A., & Murguido Morales, C., & Milán Labrada, M., & Montero Reyes, J., & Mirabal Acosta, L. (2013). El insecticida imidacloprid y los hongos *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* para el control de Thrips palmi en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). *Fitosanidad*, 17 (1), 31-34. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=20912877600>
- Fernández, M y Giménez, R. (2005). Impacto de Imidacloprid en la Descomposición Orgánica Edáfica en Cultivo de Duraznero. *Agricultura Técnica*, 65(4), 370-377. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072005000400003>
- Gutiérrez, H., Barba, H., y Materón, H. (2007). Factibilidad de Biodegradación del Insecticida Imidacloprid y Evaluación de su Movilidad en el Suelo. *Agronomía Colombiana* 25 (1), 160-167. Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/viewFile/14504/15339>
- Gutiérrez, C., y Rodríguez, G. (2012). Problemática y Riesgo Ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 8 (3), 1-10. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/461/46125177005.pdf>
- Hernández, A., y Hansen, A. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(2), 115-127. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992011000200003&lng=es&tlng=es

- Instituto Nacional de Ecología (SEMARNAT). (2008). *Ensayos toxicológicos para la Evaluación de Sustancias Químicas en agua y suelo*. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=wdJWUOj81isC&pg=PA8&lpg=PA8&dq=Pruebas+Biol%C3%B3gicas+para+la+Evaluaci%C3%B3n+Eco+toxicol%C3%B3gica+de+Sustancias+Qu%C3%ADmicas&source=bl&ots=DyTgQuYekV&sig=l6-SyY_cOv4Cd-aLjODWK5he4a0&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjQ1IfNxeraAhWS0FMKHQU4AY0Q6AEIJAA#v=onepage&q=Pruebas%20Biol%C3%B3gicas%20para%20la%20Evaluaci%C3%B3n%20Eco%20toxicol%C3%B3gica%20de%20Sustancias%20Qu%C3%ADmicas&f=false
- INTAGRI, 2017. Evolución de Plaguicidas en el Suelo. Serie Suelos Núm. 35. *Artículos Técnicos de INTAGRI*. México. 4 p. Recuperado de : <https://www.intagri.com/articulos/suelos/evolucion-de-plaguicidas-en-el-suelo>
- Jiménez, J. (2015). *Evaluación de la toxicidad aguda del agua del estero El Macho de la ciudad de Machala mediante bioensayos con semillas de lechuga (Lactuca sativa)* (Tesis de pregrado). Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado de: [http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/6622/1/Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20toxicidad%20aguda%20del%20agua%20del%20estero%20El%20Macho%20de%20la%20ciudad%20de%20Machala%20mediante%20bioensayos%20con%20semillas%20de%20lechuga%20\(Lactuca%20sativa\).pdf](http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/6622/1/Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20toxicidad%20aguda%20del%20agua%20del%20estero%20El%20Macho%20de%20la%20ciudad%20de%20Machala%20mediante%20bioensayos%20con%20semillas%20de%20lechuga%20(Lactuca%20sativa).pdf)
- Krieger, R. (2001). Manual de Toxicología de plaguicidas, Principios. Second Ed. California, USA, p. 1123-1130. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=PzMWogFy_wgC&pg=PP1&dq=krieger+Handbook+of+Pesticide+Toxicology,+Principles&hl=es&sa=X&ei=jZ2IVYanOIXmAGKHoDoAQ&ved=0CCIQ6AEwAQ#v=onepage&q=krieger%20Handbook%20of%20Pesticide%20Toxicology%2C%20Principles&f=false
- Mafla, S. (2013). *Biotransformación de lixiviado de suelo impactado con roxarsona por comunidades bacterianas de aguas subterráneas en condiciones anaeróbicas*

(Tesis de maestría). Universidad de Concepción, Concepción, Chile. Recuperado de: http://repositorio.udec.cl/bitstream/handle/11594/1614/Tesis_Biotransformacion_d_e_lxivado_de_suelo.Image.Marked.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Montilla, J.; Londoño, M.E.; Monsalve, D.A.; Correa, G.A. (2014). Evaluación de Insecticidas para el Manejo de *Monalonion velezangeli*, Carvalho & Costa (Hemiptera: Miridae) en Aguacate. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 67(1): 7141-7150. Recuperado de : <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v67n1/v67n1a01.pdf>
- Morales, L. (2014). *Evaluación de tres ingredientes activos de diferente Grupo Toxicológico para el control de Mosquita Blanca *Trialeurodes vaporariorum* en el Cultivo de Tomate* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Recuperado de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/3898>
- Plan de Ordenamiento Territorial Parroquial. (2014). Recuperado de: http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/1060022310001_DOCUMENTO%20GAD%20PR%20LA%20CAROLINA%2030-10-2015%20FINAL%20PDF_30-10-2015_22-27-11.pdf
- Quilumba, Luis (2015). Entrevista personal, 25 de mayo de 2015. Milagro – Imbabura.
- Quinteros, M (2015). Plaguicidas en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*): caso del Imidacloprid. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 19 (2), pp. 235-243. Ibarra-Imbabura.
- Ramos Vásquez, Elena, & Zúñiga Dávila, Doris. (2008). Soil microbial activity in response to different conditions of moisture, temperature or pH. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 123-130. Recuperado de

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162008000100015&lng=es&tlng=en.

- Reinel, M. (2009). *Determinación de la característica de toxicidad por lixiviación (TCLP) del ingrediente activo Malation en un plaguicida organofosforado mediante el procedimiento de TCLP* (Tesis de pregrado). Universidad de la Salle- Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Bogotá, Colombia. ¿Recuperado de:[http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14997/T41.09%20R275d.pdf? sequence=1](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14997/T41.09%20R275d.pdf?sequence=1)
- Rodríguez Romero, A., Robles Salazar, C., Ruíz Picos, R., López López, E., Sedeño Díaz, J., & Rodríguez Dorantes, A. (2015). Índices De Germinación y Elongación Radical De *Lactuca Sativa* en el biomonitorio de la Calidad del Agua del Rio Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), 307-316. Recuperado de <http://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/45559>
- Rubio, M, y Vallejo, A. (2014). *Evaluación del Grado de Contaminación por Plaguicidas Organofosforados en cultivos de cebolla (Allium fistulosum) en Suelo y Agua de Escorrentía en el Corregimiento de la Florida de la Ciudad de Pereira* (Tesis de pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. Recuperado de: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/4537/1/63295042R896.pdf>
- Sánchez, J. (2010). *Efecto de 4 tipos de Suelos en la Residualidad de Imidacloprid para el Control de Trialeurodes vaporarium* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Recuperado de: [http://uaaan.dspace.escire.net/bitstream/handle/123456789/3774/T18484%20SANCHEZ%20VERGARA%2c%20JUAN%20CARLOS%20%20%20TESIS.pdf?sequ
ence=1](http://uaaan.dspace.escire.net/bitstream/handle/123456789/3774/T18484%20SANCHEZ%20VERGARA%2c%20JUAN%20CARLOS%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1)

- Sacristán, D. (2015). *Evaluación de la toxicidad y de la bioacumulación del Cu en un cultivo acumulador (Lactuca sativa L.) y otro no-acumulador (Solanum lycopersicum L.) en suelos agrícolas mediterráneos representativos, como base para la propuesta de estrategias de gestión* (Tesis Doctoral). Universidad de Valencia, España. Recuperado de: [http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/45763/TDDSacrist%
c3%a1nMoraga-DEF%20%28completa%293.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/45763/TDDSacrist%c3%a1nMoraga-DEF%20%28completa%293.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Sobrero, M y Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. *In: Castillo, G., M.C. Díaz, Y. Pica, A. Ronco, C. Sobrero, G. Bulus, G. Feota, G. Forget & A. Sánchez-Bain (Eds.). Ensayos toxicológicos y Métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones.* Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México. Recuperado de: <http://www.publicaciones.inecc.gob.mx/libros/573/cap4.pdf>
- Villemur, M., Rimini M., Pin G. (s/f). Metodologías analíticas para la detección de plaguicidas en aguas subterráneas. Instituto Nacional del Agua, Laboratorio Experimental de Calidad de Aguas (LECA). Buenos Aires- Argentina. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/argentina13/cong40.pdf>
- Turaglio, M (s/f). “Degradación de imidacloprid en cultivo de lechuga y reducción de residuos por medio de lavado.” Tesis de Grado. Recuperado de: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6648/pdf-tesis-2015-turaglio.pdf
- Wood, T., y Goulson, D. (2017, enero). El riesgo medioambiental de los plaguicidas neonicotinoides. *Greenpeace*. Recuperado de: <http://archivo-es.greenpeace.org/espana/Global/espana/2017/documentos/agricultura/Resumen%20ejecutivo%20en%20castellano.pdf>
- Zapana, S. 2016. Determinación de la Aptitud de Uso del Suelo en La Comunidad de Karhuiza, La Paz. Universidad Mayor De San Andrés Facultad De Agronomía.

Tesis De Grado. La Paz-Bolivia. Recuperado de :
<http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/10719/T-2373.pdf?sequence=1>

ANEXOS

Anexo I. Análisis físico químico de los suelos con diferentes cultivos de la Comunidad El Milagro.

 INIAP <small>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</small>	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf.: 690-691/92/93 Fax: 690-693	
--	---	---

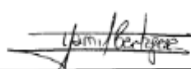
REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

<p style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</p> Nombre : Mily Emparatriz Quinteros Hidalgo Dirección : Imbabura Ciudad : Teléfono : Fax :	<p style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</p> Nombre : Provincia : Imbabura Cantón : Ibarra Parroquia : Ubicación :	<p style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</p> Cultivo Actual : Fecha de Muestreo : 18/01/2018 Fecha de Ingreso : 18/01/2018 Fecha de Salida : 29/01/2018
---	---	--

N° Muest. Laborat.	Identificación del Lote	pH	ppm			meq/100ml			ppm				
			NH4	P	S	K	Ca	Mg	Zn	Cu	Fe	Mn	B
108816	Lote frijol	8,23 AI	55,00 M	45,00 A	7,60 B	0,34 M	16,80 A	4,20 A	0,4 B	4,8 A	32,0 M	0,9 B	1,50 M
108817	Lote pimienta	7,50 PN	70,00 A	36,00 A	4,50 B	0,52 A	15,20 A	4,10 A	0,8 B	4,5 A	24,0 M	2,3 B	1,30 M
108818	Lote virgen	8,25 AI	54,00 M	10,00 M	8,20 B	0,89 A	15,00 A	2,70 A	0,6 B	4,0 M	25,0 M	1,0 B	1,50 M

INTERPRETACION			
pH		Elementos	
Ac	= Acido	N	= Neutro
LAc	= Liger. Acido	LAi	= Lige. Alcalino
PN	= Prac. Neutro	AI	= Alcalino
	RC	= Requieren Cal	T
			= Tóxico (Boro)

METODOLOGIA USADA			
pH	= Suelo: agua (1:2,5)	P K Ca Mg	= Olsen Modificado
S, B	= Fosfato de Calcio	Cu Fe Mn Zn	= Olsen Modificado
		B	= Curcumina


 RESPONSABLE LABORATORIO


 LABORATORISTA



ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA"

LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS

Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340

Quito- Ecuador Telf: 690-691/92/93 Fax: 690-693



REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		PARA USO DEL LABORATORIO	
Nombre :	Mily Emparatriz Quinteros Hidalgo	Nombre :		Cultivo Actual :	
Dirección :	Imbabura	Provincia :	Imbabura	Fecha de Muestreo :	18/01/2018
Ciudad :		Cantón :	Ibarra	Fecha de Ingreso :	18/01/2018
Teléfono :		Parroquia :		Fecha de Salida :	29/01/2018
Fax :		Ubicación :			

N° Muest.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	%	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na	C.E.	M.O.							Mg	K	K	
108816					2,10 B	4,00	12,35	61,76	21,34	25,10		39	34	27	Franco-Arcilloso
108817					4,10 M	3,71	7,88	37,12	19,82	29,70		33	32	35	Franco-Arcilloso
108818					2,20 B	5,56	3,03	19,89	18,59	16,70		41	32	27	Franco-Arcilloso

INTERPRETACION			
Al-H, Al y Na	C.E.		M.O. y Cl
B = Bajo	NS = No Salino	S = Salino	B = Bajo
M = Medio	LS = Lig. Salino	MS = Muy Salino	M = Medio
T = Tóxico			A = Alto

ABREVIATURAS	
C.E.	= Conductividad Eléctrica
M.O.	= Materia Orgánica
RAS	= Relación de Adsorción de Sodio

METODOLOGIA USADA	
C.E.	= Pasta Saturada
M.O.	= Dicromato de Potasio
Al+H	= Titulación NaOH

[Firma]

RESPONSABLE LABORATORIO

[Firma]
LABORATORISTA



ESTACIÓN EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA"
 DEPARTAMENTO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS
 LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS
 Panamericana sur Km. 1. Apartado 17-01-340
 Teléfono: 3007284. Email: laboratorio.dmsa@iniap.gob.ec
 Mejía -Ecuador



REPORTE DE ANÁLISIS DE CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIÓNICO

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		PARA USO DEL LABORATORIO	
Nombre :	Mily Emperatriz Quinteros Hidalgo	Nombre :		No. Muestra Lab. :	108816-108818
Dirección :	Imbabura	Provincia :	Imbabura	Fecha de Muestreo :	18/01/2018
Ciudad :		Cantón :	Ibarra	Fecha de Ingreso :	18/01/2018
Teléfono :		Parroquia :		Fecha de Salida :	29/01/2018
Fax :		Ubicación :			

No. Muestra Lab.	Identificación de la muestras	meq/100 g suelo					Suma de bases	%	meq/100 g suelo
		K	Ca	Mg	Na	Saturación de bases			
108816	Lote fréjol	0.35	25.4	6.1	0.21	32.1	Saturado	18.1	
108817	Lote pimiento	0.56	29.7	6.5	0.22	37.0	Saturado	17.9	
108818	Lote virgen	0.91	24.2	4.0	0.20	29.3	Saturado	18.5	

Unidades	Método
meq/100 g suelo : miliequivalentes/100 gramos de suelo. % : porcentaje	Cloruro de bario.

RESPONSABLE DEL LABORATORIO

LABORATORISTA

Tabla 1.

Formato de registro de la medición de la elongación de la raíz y el hipocotilo.

RECOLECCIÓN DE DATOS								
BIOENSAYOS DE SEMILLAS LACTUCA SATIVA								
Clase de prueba:				Fecha de siembra:				
Concentración:				Fecha de medición:				
N° de semillas	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		Réplica 4	
	Raíz (mm)	Hipocotilo (mm)	Raíz (mm)	Hipocotilo (mm)	Raíz (mm)	Hipocotilo (mm)	Raíz (mm)	Hipocotilo (mm)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
PROMEDIO								

Elaborado por: El Autor

Tabla 2.

Registro de semillas no germinadas.

Muestra (suelo cultivo de fréjol esterilizado)							
Registro de semillas no germinadas							
Dilución	# de semillas no germinadas						Promedio
	Blanco	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Total	
1:10							
1/100							
1/1000							
1/10000							
1/100000							
					Total		

Elaborado por: El Autor

Anexo II. Toma de muestras de suelo en la Comunidad el Milagro Parroquia La Carolina Provincia de Imbabura.



Fotografía 1. Toma de muestras de suelo.

Fuente: El Autor



Fotografía 2. Muestra 1 de suelo.

Fuente: El Autor



Fotografía 3. Muestra 2 de suelo.

Fuente: El Autor



Fotografía 4. Muestra 3 de suelo.

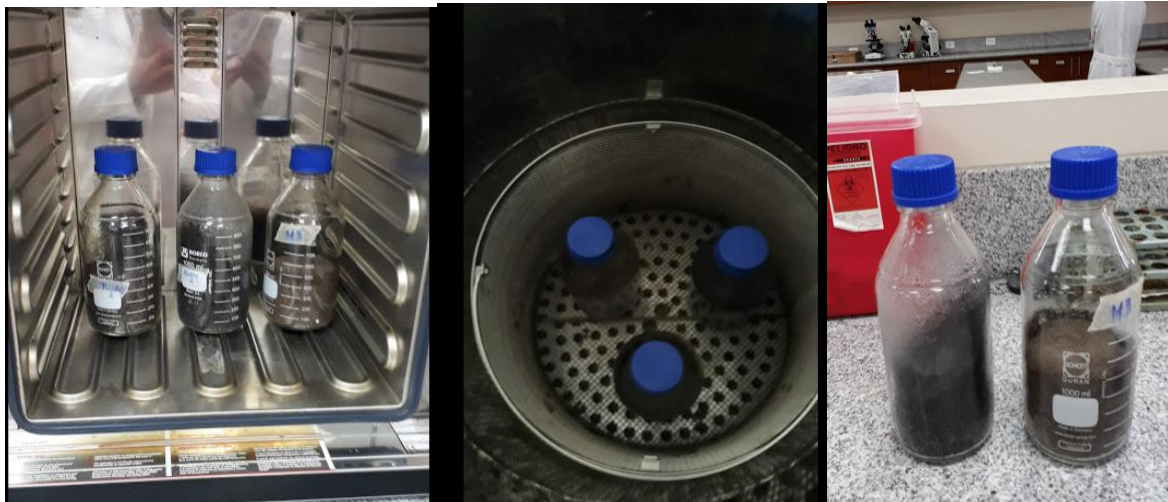
Fuente: El Autor

Anexo III. Preparación de los tubos PVC empacados con suelo para el proceso de biotransformación y lixiviación del ingrediente activo imidacloprid.



Fotografía 5. Preparación de las columnas de suelo en tubos PVC.

Fuente: El Autor.



Fotografía 6. Esterilización de las muestras de suelo (autoclave y estufa).

Fuente: El Autor.



Fotografía 7. Columnas de suelo y frascos recolectores del lixiviado.

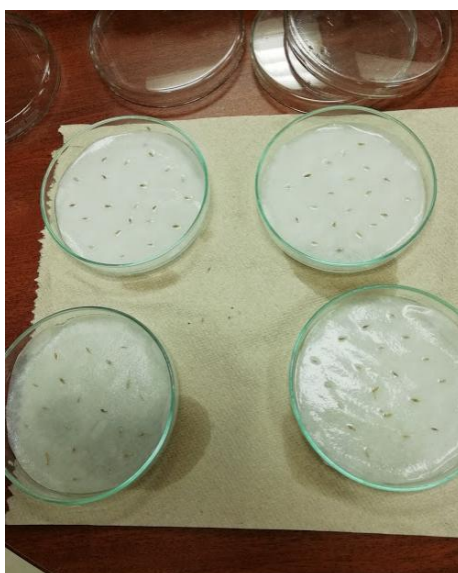
Fuente: El Autor

Anexo IV. Elaboración del bioensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa*.



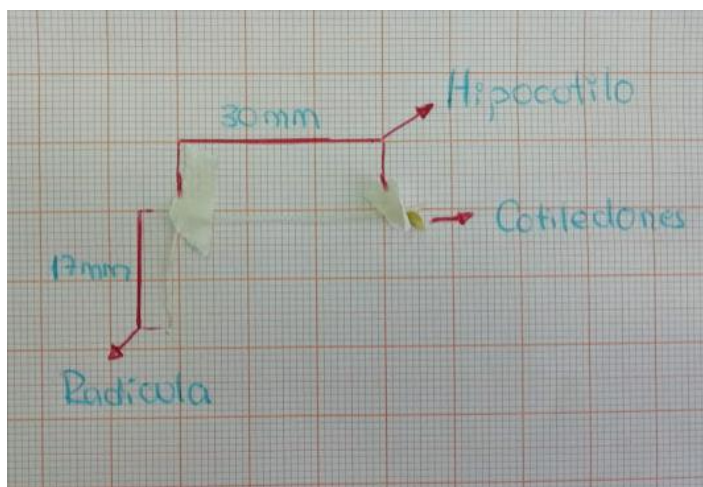
Fotografía 9. Grupos para los bioensayos.

Fuente: El Autor



Fotografía 10. Adición de 4 ml de las disoluciones y semillas en la caja Petri.

Fuente: El Autor



Fotografía 11. Medición de la elongación de la raíz y el hipocotilo.

Fuente: El Autor

Anexo V. Socialización de resultados.







Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

ESCUELA CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES
ÁREA DE VINCULACIÓN CON LA COMUNIDAD

PROCESO DE SOCIALIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN

El siguiente cuestionario nos permitirá implementar mejoras constantes en los procesos de socialización de trabajos de investigación por favor háganos llegar sus comentarios y sugerencias:

FECHA	08 - Agosto - 2019		
EXPOSITOR	Miry Guzmán Hidalgo		
LUGAR	DENTRO PUCESI	FUERA PUCESI	<input checked="" type="checkbox"/>

NOTA IMPORTANTE: Por favor conteste las preguntas según la siguiente escala:

5. MUY ALTO / 4. ALTO / 3. MEDIO / 2. BAJO / 1. NULO

DETALLE DE VALORACIÓN	1	2	3	4	5
ORGANIZACIÓN DEL EVENTO DE SOCIALIZACIÓN:					
1. ¿Considera Usted que la sala donde se desarrolló este evento brindó las comodidades necesarias?					<input checked="" type="checkbox"/>
2. ¿Considera Usted que el material audiovisual utilizado en la presentación fue adecuado?					<input checked="" type="checkbox"/>
EJECUCIÓN DEL EVENTO POR PARTE DEL EXPOSITOR					
3. ¿Considera Usted que el expositor mostró dominio del tema?					<input checked="" type="checkbox"/>
4. ¿Estima Usted que el manejo del auditorio por parte del expositor fue adecuado?					<input checked="" type="checkbox"/>
5. ¿Considera Usted que el Expositor demostró facilidad de expresión?					<input checked="" type="checkbox"/>
MEDICIÓN DE IMPACTO DE LA INVESTIGACIÓN:					
6. ¿Considera Usted que el tema investigado posee relevancia para algún actor y/o sector de la sociedad?					<input checked="" type="checkbox"/>
7. ¿Considera Usted que esta investigación posee perspectivas para estudios complementarios posteriores?					<input checked="" type="checkbox"/>
8. ¿Considera Usted que el tema investigado genera actualmente o a futuro un beneficio concreto para alguna organización, empresa pública o privada, comunidad o institución?					<input checked="" type="checkbox"/>
9. ¿En función de los objetivos planteados expuestos en la investigación, considera Usted que éstos se cumplieron?					<input checked="" type="checkbox"/>
REALICE UN COMENTARIO O SUGERENCIA PARA LOS ORGANIZADORES DE ESTE EVENTO					
<p><i>Pedimos que de parte de la PCI se realice más frecuentemente estos estudios y socialización con los actores principales</i></p>					
MENCIONE USTED OTRAS PROBLEMÁTICAS QUE A SU PARECER PODRÍAN SER INVESTIGADAS Y QUE POSEAN IMPORTANCIA PARA ALGÚN ACTOR Y/O SECTOR DE NUESTRA COLECTIVIDAD					
<p><i>investigaciones más frecuentes en efectos secundarios a las personas y animales</i></p>					
INSTITUCIÓN U ORGANIZACIÓN A LA QUE PERTENECE EL ENCUESTADO					
<i>El Otlogro</i>					

