



**PROPUESTA DE UN PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN BACTERIANA  
EN SUELOS EMPLEADOS PARA EL CULTIVO DE ARROZ EN PAZ DE  
ARIPORO A PARTIR DE UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

Daniela Piraban Ramírez  
Daniela Rincón Martínez

Universidad El Bosque  
Facultad de Ingeniería  
Programa Ingeniería Ambiental  
Bogotá, 23 de octubre de 2018

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana  
en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de  
Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

## **Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Ingeniero Ambiental**

Daniela Piraban Ramírez  
Daniela Rincón Martínez

Director (a):

Carel Elizabeth Carvajal

Línea de Investigación:  
Salud Ambiental

Universidad El Bosque  
Facultad de Ingeniería  
Programa Ingeniería Ambiental  
Bogotá, Colombia

2018

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

### **Nota de Salvedad de Responsabilidad Institucional**

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

## **Agradecimientos**

Este trabajo está dedicado a Dios por permitirnos llegar a este punto de nuestra formación y darnos la guía por el camino.

A nuestros padres por su amor, sacrificio, ser un pilar fundamental y brindarnos un apoyo incondicional para poder llegar hasta este punto de nuestras vidas. Por confiar y creer en nosotras siempre.

A los docentes, quienes nos brindaron, no solo los conocimientos, sino también las herramientas que fueron necesarias durante nuestra formación.

A nuestra directora, por brindarnos su apoyo y guía para la exitosa culminación de este proyecto.

## **1. Tabla de contenido**

<b>4. Resumen</b> .....	<b>7</b>
<b>5. Abstract</b> .....	<b>7</b>
<b>6. Introducción</b> .....	<b>8</b>
<b>7. Planteamiento del problema</b> .....	<b>9</b>
<b>8. Objetivos general y específicos</b> .....	<b>10</b>
8.1 Objetivo general .....	10
8.2 Objetivos específicos .....	11
<b>9. Justificación</b> .....	<b>11</b>
<b>10. Marco de referencia</b> .....	<b>12</b>
10.1 Antecedentes .....	12
10.2 Marco conceptual .....	18
10.3 Marco teórico .....	20
10.4 Marco normativo .....	24
10.5 Marco geográfico .....	28
10.6 Marco institucional .....	31
10.7 Marco metodológico .....	31
<b>11. Metodología</b> .....	<b>32</b>
<b>12. Plan de trabajo en un cronograma</b> .....	<b>35</b>
<b>13. Resultados, análisis y discusiones</b> .....	<b>36</b>
<b>14. Conclusiones</b> .....	<b>52</b>
<b>15. Recomendaciones</b> .....	<b>53</b>
<b>16. Referencias bibliográficas</b> .....	<b>54</b>
<b>17. Anexos</b> .....	<b>62</b>

## **2. Listado de tablas**

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

<b>Tabla 1. Cronograma</b> .....	<b>35</b>
<b>Tabla 2. Recopilación de artículos de técnicas de biorremediación</b> .....	<b>36</b>
<b>Tabla 3. Recopilación de artículos de bacterias utilizadas en procesos de biorremediación</b> ...	<b>41</b>
<b>Tabla 4. Técnicas de biorremediación reportadas</b> .....	<b>46</b>
<b>Tabla 5. Porcentaje de biorremediación por técnica encontrada</b> .....	<b>47</b>
<b>Tabla 6. Porcentaje de biorremediación por género o consorcio bacteriano</b> .....	<b>48</b>
<b>Tabla 7. Parámetros monitoreados durante el proceso de biorremediación</b> .....	<b>51</b>

### **3. Listado de gráficas**

<b>Grafica 1. Técnicas de biorremediación reportadas</b> .....	<b>45</b>
<b>Grafica 2. Porcentaje de biorremediación por técnica encontrada</b> .....	<b>46</b>
<b>Grafica 3. Porcentaje de biorremediación por género o consorcio bacteriano</b> .....	<b>48</b>

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

#### 4. Resumen

El presente estudio de investigación tiene como objetivo proponer diseñar una propuesta para realizar un proceso de biorremediación bacteriana en suelos contaminados con plaguicidas en la finca El Triunfo ubicada en paz de Ariporo, Casanare, tomando como base una revisión bibliográfica con el fin de comparar las técnicas y los microorganismos utilizados en diferentes estudios y así elegir la que resultara más eficiente. Se obtuvo como resultado que el género bacteriano *Pseudomona* ha sido reportado por la gran capacidad que tiene para degradar contaminantes presentes en los suelos, así mismo, se encontró que la técnica reportada que obtuvo un mayor porcentaje de eficiencia en cuanto a la degradación de plaguicidas fue la bioaumentación. Finalmente se propuso la utilización de *Pseudomona fulvia*, ya que es una bacteria que se puede encontrar en el arroz, y como técnica de biorremediación, se propuso la utilización de biopilas junto con la bioaumentación, ya que, a pesar de no ser las que tuvieron un mayor porcentaje de biorremediación de plaguicidas, fueron los más reportados en los estudios consultados.

**Palabras clave:** biorremediación, plaguicidas, bacterias, suelos, biopilas, bioaumentación.

#### 5. Abstract

The objective of this study is to design a bacterial bioremediation proposal for pesticides contaminated soil on “El Triunfo” farm located in Paz de Ariporo, Casanare, taking into account a bibliographic review in order to compare techniques and microorganisms used in different studies and choose the ones that were more efficient. The genere *Pseudomona* was reported for the great capacity to degrade soil pollutants, likewise, it was found that the most reported soil bioremediation technique to degrade pesticides was bioaugmentation. Finally, it was proposed the use of *Pseudomona fulvia* as is a bacterium that can be found on rice crops, and, as a bioremediation technique, the application of biopiles along with bioaugmentation were proposed, because, even when those weren't the ones with a higher degradation percentage, were the most reported ones.

**Keywords:** bioremediation, pesticides, bacteria, soils, biopiles, bioaugmentation.

## **6. Introducción**

El suelo es un recurso importante y está siendo degradado debido a numerosas fuentes como metales pesados (proveniente de industrias, uso de plaguicidas y fertilizantes, aguas residuales, entre otras) basuras municipales (que pueden contener desechos domésticos e industriales) (Uqab, Mudasir & Nazir, 2016).

Durante los últimos tiempos se han experimentado las consecuencias desfavorables del rápido desarrollo que han tenido las diferentes actividades humanas como la urbanización, transporte, industrias y agricultura (Gavrilescu, Demnerová, Aamand, Agathos & Fava, 2015). La contaminación ambiental que se ha generado ha llevado a la búsqueda de técnicas para disminuir los contaminantes, técnicas que sean “amigables” con el entorno y que tengan bajos costos y además resulten eficientes, por esto la biorremediación se considera como una de las alternativas más prometedoras para llevar a cabo esa disminución. (Hlihor, Gavrilescu, Tavares, Favier & Olivieri, 2017).

El uso de sistemas biológicos para la remoción o disminución de sustancias contaminantes en el ambiente se denomina biorremediación, en esta tecnología se incluyen diversas técnicas, entre ellas la fitorremediación y biorremediación microbiana, pueden utilizarse plantas o diferentes microorganismos, los cuales representan una alternativa potencial ya que son considerados como una opción relativamente económica (Salgado Bernal, Pérez Ortega, Carballo Valdés, Martínez Sardiñas & Cruz Arias, 2015). La biorremediación involucra la descomposición de plaguicidas y otros compuestos orgánicos, usualmente por microorganismos, a compuestos menos complejos (Villaverde, Rubio-Bellido, Merchán & Morillo, 2017).



## **7. Planteamiento del problema**

El rápido desarrollo en los sectores agrícolas e industriales ha sido acompañado por la extensiva aplicación de plaguicidas organoclorados, particularmente DDT y HCH (Sharma et al., 2014). Los plaguicidas son importantes en muchos sistemas agrícolas debido a que previenen y controlan plagas, malezas y enfermedades, los plaguicidas se someten a muchas vías diferentes una vez que ingresan al ambiente, incluyendo transformación/degradación, desorción, adsorción, volatilización, adsorción por las plantas, escurrimiento a las aguas superficiales y transporte a las aguas subterráneas (Cycoń, Mrozik & Piotrowska-Seget, 2017).

Los agroquímicos son muy utilizados en los cultivos y se dividen en tres grupos: organoclorados, organofosfatos y carbamatos. Los compuestos de los organoclorados y de los carbamatos pueden encontrarse en una gran variedad de insecticidas. Algunos plaguicidas comunes son (Santiago, Rivera, Pabón & García, 2016):

- Insecticidas
- Fungicidas
- Herbicidas
- Acaricidas
- Nematicidas
- Ovicidas
- Repelentes

Debido a que los plaguicidas están diseñados para ser tóxicos para ciertos organismos, pueden tener considerables efectos adversos sobre otras criaturas y el medio en el que se encuentran: agua, suelo, aire. Algunos plaguicidas contienen contaminantes orgánicos persistentes que son resistentes a la degradación y permanecen en el ambiente durante mucho tiempo (Kim, Kabir & Jahan, 2017).

La exposición a los plaguicidas puede ser directamente de uso ocupacional, para agricultura y uso doméstico, aunque también puede ser indirecta, por medio de los alimentos. Las principales rutas de exposición de los seres humanos son por medio de la cadena alimentaria, aire, agua, suelo, flora y fauna (Kim, Kabir & Jahan, 2017). Cuando estos son absorbidos por el cuerpo, no se metabolizan rápidamente, sino que son almacenados en los tejidos grasos. Se ha encontrado que algunos plaguicidas son disruptores endocrinos. Se ha asumido que una larga exposición a los agroquímicos puede causar diferentes efectos en la salud humana como inmunosupresión, disrupción hormonal, anormalidades reproductivas y cáncer (Yadav et al., 2015).

La biorremediación involucra el uso de microorganismos para la degradación de diferentes contaminantes orgánicos que se pueden encontrar en el ambiente y los transforma en compuestos más simples y que resultan menos peligrosos. Esta estrategia tiene bajos costos, una amplia aceptación pública y se puede llevar a cabo en el sitio. Si se compara con otros métodos la biorremediación es una forma más prometedora y menos costosa de eliminar los contaminantes presentes en el medio. (Betancur Corredor, Pino, Peñuela, & Cardona Gallo, 2013); el proyecto estará enfocado en la biorremediación del suelo contaminado a causa del uso de agroquímicos en el cultivo de arroz en la finca El Triunfo ubicada en municipio de Paz de Ariporo en el departamento Casanare.

## **8. Objetivos general y específicos**

### **8.1. Objetivo general**

Diseñar una propuesta para realizar un proceso de biorremediación bacteriana en suelos contaminados con plaguicidas de la finca el triunfo en Paz de Ariporo, Casanare, a partir de una revisión bibliográfica.

### **8.2. Objetivos específicos**

1. Identificar los estudios previos relacionados con el tema de investigación por medio de una revisión bibliográfica teniendo en cuenta factores y condiciones que influyen en la propuesta el proceso.
2. Establecer la técnica y género de bacteria o consorcios bacterianos, que puedan disminuir la

cantidad de contaminantes presentes en el suelo de acuerdo con el porcentaje de eficiencia del proceso.

3. Sugerir una metodología para llevar a cabo la biorremediación bacteriana en suelos usados para la agricultura de arroz en la finca el triunfo.

## 9. Justificación

El tema se enfocará en el municipio de Paz de Ariporo del departamento de Casanare donde actualmente la agricultura representa la segunda actividad económica más importante para la región después de la ganadería, en especial el cultivo de arroz que abarca el 48.4% del total de hectáreas agrícolas sembradas en el departamento anualmente (Gobernación de Casanare, 2018).

El proyecto se enfocará en la finca “El Triunfo”, ubicada en el departamento de Casanare, en el municipio de Paz de Ariporo, a 87 Km de la cabecera municipal. Las actividades económicas que se llevan a cabo allí son ganadería y cultivo de arroz, siendo esta última la actividad económica de mayor importancia realizada y ocupa un espacio de 200 Ha dentro del terreno total de la finca (Piraban Molina, 2018); la siembra de arroz, al ser una actividad agrícola requiere el uso de múltiples insumos como los plaguicidas que resultan altamente contaminantes para los suelos.

El cultivo de arroz utiliza una gran cantidad de plaguicidas debido a la presencia de plagas limitantes de los cultivos de arroz como el Gusano cogollero (*Spodoptera sp*) y el Minador del follaje (*Hydrellia sp.*) (Ramírez M, 2017) ; en la finca “El Triunfo” debido a la presencia de estas plagas limitantes del arroz se utilizan plaguicidas como *Dimilin*, *Saat Lambada* y *Fiprolan* (Piraban Molina, 2018), que permiten controlar la presencia de las plagas y así evitar pérdidas económicas a corto plazo en el cultivo.

La utilización de los plaguicidas, aunque resulta efectiva para controlar las plagas, trae consecuencias, ya que al finalizar el proceso de corta se puede evidenciar el deterioro de los suelos (Anexo 3), esto genera una menor eficiencia en los procesos agrícolas que se quieran realizar posteriormente en dichos suelos y a su vez implica una pérdida económica para los agricultores debido a que los suelos se desgastan y los cultivos pierden calidad generando una disminución en el precio del producto final.

Es por lo mencionado anteriormente que se busca generar una propuesta de biorremediación que pueda ser aplicada en los suelos agrícolas de la finca objeto de estudio, contribuyendo así al mejoramiento de la calidad de los suelos y por consiguiente al rendimiento de los cultivos que como se mencionaba anteriormente son de importancia económica en la región.

## **10. Marco de referencia**

### **10.1 Antecedentes**

#### **10.1.1 Estudios de bacterias degradadoras de plaguicidas**

**10.1.1.1** Basados en la consulta bibliográfica, se identificaron las principales investigaciones realizadas sobre procesos de biorremediación bacteriana, en el estudio titulado “*In situ Bioremediation of Chlorpyrifos by Klebsiella sp. Isolated from Pesticide Contaminated Agricultural Soil*” publicado en el año 2018 en India, se enfocó en los clorpirifos, que es uno de los plaguicidas organofosforados más frecuentemente utilizados en India; es un plaguicida de amplio espectro y de toxicidad moderada con nombres comerciales como Dursban, Lorsban y Spannit, este tiene una vida media aproximada de entre 10-120 días en el medio ambiente. Tiene una solubilidad muy baja en agua (2 mg / L) pero es fácilmente soluble en la mayoría de los solventes orgánicos y se usa para el control de los principales insectos y plagas que afectan una amplia gama de cultivos de cereales, algodón y vegetales, etc (John, Varghese, & Krishnasree, 2018).

Según la revisión bibliográfica realizada en el estudio, la degradación de clorpirifos usando métodos convencionales da como resultado varios productos tóxicos y la acumulación de residuos recalcitrantes, por esta razón se emplearon microorganismos nativos de la zona de estudio para realizar el proceso de biorremediación, en este estudio se buscaba aislar y caracterizar las bacterias degradantes de clorpirifos presentes en el suelo agrícola estudiado para así investigar el potencial de estas para la biorremediación del plaguicida.

Se tomaron cuatro muestras de suelo de diferentes lugares con tierras agrícolas donde se había utilizado el plaguicida, estas muestras fueron tomadas a una profundidad de 10 cm y fueron

transferidas inmediatamente al laboratorio para realizar los estudios posteriores. Se utilizó un medio de sales minerales con componentes (g/L-1):  $K_2HPO_4$  1.5, NaCl 0.5,  $MgSO_4$  0.2,  $FeSO_4$  0.02,  $CaCl_2$  0.05, pH  $7.6 \pm 0.2$ . La formulación del plaguicida se esterilizó por filtración y se añadió a los medios de forma aséptica como la única fuente de carbono y nitrógeno (John, Varghese, & Krishnasree, 2018).

Las muestras de suelo recogidas se enriquecieron con medio salino mineral, después se realizó una dilución en serie y un recubrimiento extendido para obtener el crecimiento en placas de agar CP (clorpirifos). Las colonias que mostraron diferentes características morfológicas se seleccionaron, estas fueron nombradas desde S1 hasta S7. La eficiencia de la degradación del plaguicida se obtuvo por medio de análisis de HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia). Las 7 muestras estudiadas obtuvieron porcentajes de degradación mayores del 23%, La muestra denominada S6 mostró un mayor porcentaje de degradación (82,38%) y, por esta razón se sometió a una caracterización morfológica y bioquímica cuyos resultados correspondieron a *Genus Klebsiella* (John, Varghese, & Krishnasree, 2018).

**10.1.1.2** En el estudio titulado “ *Organophosphorus pesticides degrading bacteria present in contaminated soils*” publicado en el año 2016 en Cartagena, se realizó una caracterización de bacterias capaces de degradar compuestos organofosforados; para este fin se tomaron tres muestras de un terreno contaminado con plaguicidas en la ciudad de Cartagena; las muestras se homogeneizaron para ser tratadas como una sola muestra que posteriormente se dividió en dos partes, la primera parte se utilizó para extraer los plaguicidas presentes, se identificaron por medio de un análisis cromatográfico, y la segunda parte se expuso al plaguicida monocrotofos de 200 ppm por un periodo de 30 días (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

Se utilizó un medio mínimo M9 que fue preparado con Fosfato ácido de sodio hidratado (6 g), Fosfato ácido de potasio (3 g), Cloruro de amonio (4 g), Cloruro de sodio (0,5 g), Sulfato de manganeso hepta hidratado (0,25 g), Cloruro de calcio hidratado (0,0168 g), patrón de monocrotofos (0,2 g) y se completó a 1L con agua destilada y agitación constante. De la solución de medio mínimo M9 se prepararon 16 medios de fase sólida utilizando agar-agar (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

Posteriormente se realizó una siembra masiva del suelo diluido en agar nutritivo para así aislar las bacterias con capacidad de crecimiento en el medio mínimo M9. Luego este se llevó a incubación a 36°C por una semana, después de que se comprobó el crecimiento de las colonias, fueron inoculadas en medio líquido M9 las más grandes y con mejores cualidades, el crecimiento bacteriano se verificó mediante la espectrofotometría Ultravioleta Visible (UV/VIS) después de una semana (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

La verificación de la degradación del pesticida fue realizada por medio de Cromatografía de gases, transcurridas 72 h de incubación se pudo evidenciar una gran disminución del plaguicida, la degradación del estándar de monocrotofos fue de hasta un 100% transcurrida 48 horas de incubación. Por último, se pudo determinar que las tres cepas bacterianas aisladas en las muestras de suelo pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Estas especies demostraron su capacidad para la degradación de plaguicidas organofosforados (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

**10.1.1.3** En la investigación titulada “*Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos*” realizado en Nicaragua en el año 2016, se evaluó el proceso de biorremediación de plaguicidas organoclorados en suelo agrícola con altas concentraciones de toxafeno. Se empleó la técnica de bioestimulación en el proceso de biorremediación, utilizando biosólidos como fuente de nutrientes esenciales para los microorganismos (Durán Acosta & Ladera Hernández, 2016).

El diseño experimental del estudio contó con 3 unidades, a cada una se le agregó diferentes proporciones de biosólido estableciendo relaciones suelo: biosólido. Para la identificación de bacterias se utilizaron criterios morfológicos como forma, tinción de Gram, movilidad y pigmentación, y criterios bioquímicos como prueba de oxidación. la incorporación del biosólido permitió disminuir de forma significativa la concentración del toxafeno en las unidades experimentales, mostrando porcentajes de eficiencias por encima del 70% en todas ellas y se pudo evidenciar además que la eficiencia en el proceso fue mayor cuando la porción de biosólido era mayor, esto evidencia la efectividad de los biosólidos como fuente de nutrientes para la estimulación metabólica de microorganismos autóctonos en el proceso de biorremediación de suelos contaminados con toxafeno (Durán Acosta & Ladera Hernández, 2016).

**10.1.1.4** En la investigación titulada “*Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina*” publicado en el año 2015 en la ciudad de Cartagena, se tomaron dos muestras de suelo de las que se extrajeron 7 gramos que fueron utilizados para identificar los plaguicidas presentes en el suelo por medio de cromatografía de gases, se encontró presencia de clorpirifos en concentraciones entre 272.9 y 1793.3 ppm en los suelos (Marín L & Jaramillo C, 2015).

Se aislaron bacterias nativas de suelo con capacidad degradadora de estos plaguicidas, *Bacillus sp* y *Pantoea agglomerans*, Las colonias de estudio fueron sembradas en medio mínimo M9 con una concentración de clorpirifos de 200 ppm, se incubaron a 36 °C y cada 24 horas fue monitoreado el crecimiento bacteriano midiendo su densidad óptica por medio de un espectrofotómetro UV-VIS, las dos cepas bacterianas pudieron crecer en este medio selectivo usando como única fuente de carbono el pesticida organofosforado; se obtuvo como resultado la de degradación de clorpirifos de 73.5% y 68.67% (Marín L & Jaramillo C, 2015).

## **10.1.2 Estudios de técnicas de biorremediación**

**10.1.2.1** En el estudio titulado “*Biorremediación de suelo contaminado con el plaguicida 1,1,1-tricloro-2,2’bis(p-clorofenil) etano (DDT) mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*”, realizado en Medellín en el año 2013, se buscaba evaluar la biorremediación realizada en suelo contaminado con DDT mediante bioestimulación y adición de surfactante. Se realizó la caracterización fisicoquímica del suelo tratado, antes y después del proceso de biorremediación para conocer el impacto de los tratamientos en las características del suelo (Corredor, 2013).

En este estudio se llevó a cabo una bioestimulación, para la bioestimulación con adición de surfactante, se contaminó el suelo con el detergente en una concentración de 6.55 mg/g en solución acuosa, luego el suelo se sometió al mismo tratamiento con bioestímulo adicionando dihidrógeno fosfato de potasio y urea como nutrientes.

La concentración de DDT se estimó por medio de cromatografía de gases, se obtuvo una reducción de 79% con respecto a la concentración inicial del suelo mediante el tratamiento de adición de

surfactante luego de 8 semanas de tratamiento, con el tratamiento por bioestimulación la concentración de DDT se redujo en 94.3%, siendo este el más efectivo. En cuanto al aislamiento de bacterias se identificaron cepas de *Bacillus thuringiensis*, *Flavobacterium sp.*, *Cupriavidus*, *Variovorax soli*, *Phenylobacterium sp.*, *Lysobacter sp.* entre otras. Algunas de estas cepas como *Cupriavidus sp.* y *Phenylobacterium sp.* han sido identificadas en previas investigaciones como degradadoras de plaguicidas y compuestos organoclorados (Corredor, 2013).

**10.1.2.2** En el año 2010 se publicó el estudio titulado “*Biostimulation of agricultural biobeds with NPK fertilizer on chlorpyrifos degradation to avoid soil and water contamination*”, en este se evaluó la degradación del insecticida clorpirifos, por medio de la técnica de bioestimulación con el fertilizante orgánico (NPK) (Tortella, Rubilar, Cea, Wulff, Martínez & Diez, 2010).

Se tomaron tres concentraciones diferentes del fertilizante y posteriormente se evaluaron en función de la degradación de clorpirifos; el contaminante fue degradado en >75% después de 40 días de incubación y no se obtuvo una disipación adicional al aumentar la concentración de NPK. La actividad biológica en el medio aumentó por la presencia de NPK en todas las concentraciones evaluadas (Tortella, Rubilar, Cea, Wulff, Martínez & Diez, 2010).

En conclusión, los resultados obtenidos demostraron que el proceso de biorremediación bioestimulado con nutriente NPK se puede recomendar como una alternativa viable de disipación de clorpirifos, evitando la probabilidad de contaminación del suelo y el agua (Tortella, Rubilar, Cea, Wulff, Martínez & Diez, 2010).

**10.1.2.3** En el año 2016 se publicó el estudio titulado “*Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts*” en este llevó a cabo un proceso de biorremediación con vermicompost que fueron expuestos a altas concentraciones de plaguicidas, para la degradación del contaminante presente se encontraron seis cepas de bacterias y cuatro cepas de hongos. Se realizaron tres mezclas compuestas hechas con WM (residuos de bodega), GM (vermicomposts hechos de invernadero) y OM (almazara), los cuales fueron incubados e inoculados por un mes (WMI, OMI, GMI); los inóculos fueron monitoreados por medio de DGGE (electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización) y Q-PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Se pudo observar que hubo una gran cantidad de bacterias en WMI y de hongos en OMI, los plaguicidas encontrados se monitorearon por medio de una cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de



diodos (HPLC-DAD). En WMI, los consorcios lograron degradar tebuconazol, metalaxil y oxifluorfen por 1.6, 3.8 y 7.7 veces, respectivamente. En OMI logró degradar en un 30% el oxifluorfen en treinta días (Castillo Diaz, Delgado-Moreno, Núñez, Nogales & Romero, 2016).

**10.1.2.4** En el año 2015 se publicó el estudio titulado “Use of *Bacillus thuringiensis* supernatant from a fermentation process to improve bioremediation of chlorpyrifos in contaminated soils.” el objetivo de este estudio fue investigar el potencial de la bacteria *Bacillus thuringiensis* como un agente bioestimulante para mejorar y mantener las poblaciones microbianas, así como sus actividades enzimáticas, asistiendo en la biorremediación de los suelos contaminados con clorpirifos en altas dosis. La técnica utilizada en este estudio fue biodegradación y bioestimulación, para esto se realizaron tres muestras de suelos que fueron contaminadas con el plaguicida (clorpirifos) y suplementados el sobrenadante de la fermentación de *Bacillus thuringiensis*. Se eligió una concentración de plaguicidas de 70 mg kg<sup>-1</sup>, para representar la dosis más alta de plaguicida alcanzado en aplicaciones agrícolas. El control fue creado utilizando el mismo protocolo de fortificación, pero adicionando agua en lugar de la fermentación de *Bacillus thuringiensis* (BtS, por sus siglas en inglés), al suelo contaminado con el plaguicida. El suelo utilizado con y sin BtS fue utilizado para estudiar el efecto de la materia orgánica presente en el residuo orgánico en la degradación del plaguicida utilizado y para determinar las pérdidas tanto físicas como químicas de clorpirifos que podrían ocurrir durante el experimento. El suelo contaminado se mantuvo cubierto y sin sellar, se incubó a 20°C. Las muestras de suelo tratadas fueron monitoreadas por ochenta (80) días y analizadas con HPCL (Cromatografía líquida de alta eficacia) para determinar la concentración de clorpirifos, el número de microorganismos, y la actividad microbiana en el suelo. Se obtuvo como resultado que el sobrenadante de la fermentación de *B. thuringiensis* como agente bioestimulante se pudo observar que después de completar el proceso de fermentación el sobrenadante fue convertido en agua residual con un alto contenido orgánico y no podía descartarse sin darle un previo tratamiento, además, se pudo observar que estas aguas residuales mostraron una alta biodegradabilidad, lo que indicó un alto contenido de compuestos fácilmente degradables, como sacáridos, glucosa, entre otros, debido a que los microorganismos fueron utilizados inicialmente para energía y crecimiento, una alternativa sería utilizar el sobrenadante como un agente bioestimulador para promover el crecimiento de la población microbiana propia en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas.

## ***10.2. Marco conceptual***

- **Suelo:** El suelo se define como la parte externa de la corteza terrestre, está formada por la transformación de minerales y materia orgánica muerta. Es considerado como un recurso natural no renovable de gran importancia para la producción, está compuesto de materia no sólida compuesta de microorganismos, materia orgánica e inorgánica, tierra y agua (Casallas, 2015).
- **Bioestimulación:** La bioestimulación incluye la modificación del ambiente para estimular las bacterias existentes que tienen la capacidad de biorremediar. Esto puede realizarse por medio de la adición de diferentes formas de nutriente limitantes y aceptores de electrones, como fósforo, oxígeno y carbón, que se encuentran disponibles en cantidades lo suficientemente bajas para restringir la actividad microbiana. Es la adición de nutrientes, oxígeno y otros donadores y aceptores de electrones para aumentar de forma natural la población y la actividad disponible para la biorremediación (Omokhagbor Adams, Tawari Fufeyin, Eruke Okoro & Ehinomen, 2015)
- **Bioaumentación:** Es el proceso de agregar cepas o cultivos selectos a reactores para mejorar el catabolismo de un compuesto específico, la bioaumentación consiste utilizar bacterias altamente especializadas para incrementar y mejorar la capacidad de degradación de la población bacteriana natural presente en suelos o agua (Herrero & Stuckey, 2015).
- **Bioacumulación:** La bioacumulación se define como el consumo de sustancias del entorno o una acumulación sobre el tiempo de retención de una sustancia (Zenker, Cicero, Prestinaci, Bottoni & Carere, 2014).
- **Contaminación:** Se considera todo agente físico, biológico o químico que es capaz de alterar la estructura y funcionamiento de los ecosistemas. Después de que es generada puede causar daños a la salud, bienestar y seguridad de los seres vivos. Además, puede generar una pérdida directa

o indirecta, reversible o irreversible de las condiciones normales de un ecosistema, lo que puede tener consecuencias negativas a nivel sanitario, estético, recreacional, económico y ecológico (Casallas, 2015).

- **Suelo contaminado:** El suelo contaminado se considera el suelo que ha sido afectado por agentes o sustancias bien sean químicas o físicas, que pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas, estas sustancias pueden afectar la biota ya que pueden limitar el crecimiento de las plantas y perturbar la biota edáfica y tener como resultado consecuencias graves en la salud humana y animal (Casallas, 2015).
- **Remoción:** Desde el punto de vista ambiental, la palabra remoción, se refiere a la eliminación o traslado de una sustancia de un lugar a otro. especialmente si se trata de una sustancia contaminante y que pueda traer consecuencias graves como riesgo a la salud, alteración del bienestar de las especies vegetales, animales y a los seres humanos (Casallas, 2015).
- **Recuperación:** Restaurar un ecosistema a su condición natural, se refiere a la reparación de los recursos que han sido deteriorados debido al desarrollo humano, en este caso a las prácticas agrícolas que realizan, las cuales, debido a la sobreexplotación y la contaminación que producen, traen como consecuencias problemáticas a la salud humana y animal (Casallas, 2015).
- **Plaguicidas:** Los plaguicidas son productos químicos que son utilizados para eliminar plagas, enfermedades o maleza que pueden afectar a diferentes cultivos agrícolas. A pesar de que existen diferentes métodos para proteger los cultivos, el control químico es el más utilizado debido a que actúa rápidamente (Ramírez, 2017). De acuerdo con la estructura química que posean, los plaguicidas se clasifican como: organoclorados, organofosforados, este es el grupo más utilizado ya que representa más del treinta y seis (36) por ciento del mercado mundial, carbamatos, tiocarbamatos y piretroides, entre otros (Hernández Ruiz, Álvarez Orozco, & Ríos Osorio, 2017).
- **DDT:** Es un compuesto organoclorado muy resistente a la degradación por medios biológicos,

químicos o fotolíticos, ya que su estructura molecular contiene estructuras aromáticas y alifáticas que logran que los DDT tengan una gran estabilidad química, debido a esto se considera como un compuesto tóxico, persistente y contaminante (Corredor, 2013).

- **Biorremediación:** Es un proceso por el que se busca la recuperación de lugar que han sido contaminados, por medio de la utilización de diferentes organismos como hongos, bacterias, plantas o enzimas; la técnica que se emplea consiste en estimular los organismos nativos para la degradación de contaminante a compuestos que resulten menos tóxicos (Superintendencia de industria y comercio, 2014)

### ***10.3. Marco teórico***

Los organoclorados han sido muy utilizados durante las últimas dos décadas como insecticidas para la protección de los cultivos y control de vectores transmisores de enfermedades (Qu, Xu, Ai, Liu & Liu, 2015). Actividades como la agricultura han generado que el número de suelos afectados por el uso de plaguicidas haya ido en aumento durante los últimos años trayendo como resultado impactos a los recursos acuáticos e incluso a la salud humana (Durán Acosta & Ladera Hernández, 2016). Es debido a esto que se han desarrollado diferentes alternativas para disminuir este impacto y técnicas como la biorremediación, son una alternativa que resulta económica y viable, donde los microorganismos son la instrumento más importante en el proceso de descontaminación, debido a que utilizan los contaminantes como fuente de energía, disminuyendo la disponibilidad del mismo en los suelos afectados (Durán Acosta & Ladera Hernández, 2016).

Dado el impacto de la contaminación por plaguicidas en nuestro país, se requiere el uso de técnicas que mitiguen el impacto de este tipo de contaminantes en suelos y fuentes hídricas. Una de las técnicas empleadas para reducir los contaminantes en el medio ambiente, es la biorremediación (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

Existen dos clases de biorremediación: in situ y ex situ. La biorremediación ex situ se refiere a la extracción del lugar contaminado y moverlo a otro lugar para su tratamiento, mientras que la biorremediación in situ trata los contaminantes en el lugar. En ambos casos, si el contaminante se encuentra en el suelo entonces se debe excavar el suelo. Si la contaminación ha alcanzado el agua subterránea se debe bombear y luego, tanto el suelo como el agua subterránea son removidos. El

principal beneficio de la biorremediación in situ es que el suelo contaminado no debe ser removido o transportado, la desventaja es que es menos eficiente que la biorremediación ex-situ, sin embargo, las técnicas in-situ son más favorecidas que las ex-situ, ya que las excavaciones son costosas y la exposición a los contaminantes puede afectar la salud de los excavadores, pero, a pesar de los altos costos, las técnicas ex-situ usualmente requieren menos tiempo para alcanzar una limpieza eficiente del contaminante, se monitorea con facilidad y se logra de manera uniforme (De Voogt, 2016).

## **Técnicas in-situ**

### **Biopilas**

Las biopilas representan un sistema de confianza para reducir la concentración de contaminantes en el suelo por medio de la biodegradación. Esta tecnología incluye recolectar y transferir suelo contaminado a un sitio específicamente creado para simular la actividad microbiana anaerobia dentro del suelo por medio de la aireación o la adición de minerales, nutrientes y humedad (Baldan, Basaglia, Fontana, Shapleigh & Casella, 2015).

### **Hileras**

Las hileras dependen de las vueltas periódicas del suelo contaminado para mejorar la biorremediación por el aumento de actividad degradante autóctona de las bacterias presentes en el suelo contaminado. Las vueltas periódicas junto con adición de agua brindan un aumento de la aireación, una distribución uniforme de contaminantes, nutrientes y actividad microbiana degradante, acelerando la tasa de biorremediación, la cual puede alcanzarse por medio de biotransformación y mineralización (Azubuiké, Chikere & Okpokwasili, 2016).

### **Biorreactores**

Los biorreactores son un recipiente en donde material crudo son transformados en productos específicos siguiendo una serie de reacciones biológicas. Existen diferentes métodos de funcionamiento de los biorreactores incluyendo lote, lote alimentado, secuencia de lote, continuo y multietapa. Las muestras contaminadas pueden ser puestas en un biorreactor bien sea como

materia seca o líquida, en cualquiera de los dos casos, el uso de biorreactores en el tratamiento de suelos contaminados tiene muchas ventajas comparado con otras técnicas de biorremediación ex-situ (Azubuiké, Chikere & Okpokwasili, 2016).

## **Land Farming**

Es una de las técnicas más utilizadas para la biorremediación de suelos. En esta técnica, los suelos contaminados excavados son extendidos en una capa delgada en la superficie del suelo. La actividad microbiana aeróbica dentro del suelo se estimula por medio de la aireación y la adición de minerales, nutrientes y humedad. Landfarming es relativamente una tecnología simple, es barata y efectiva para biodegradar contaminantes, solo en bajas concentraciones (Dzionek, Wojcieszynska & Guzik, 2016).

## **Técnicas ex-situ**

### **Bioventing**

Involucra la estimulación controlada de flujo de aire entregando oxígeno en zonas insaturadas para incrementar la biorremediación, por medio del aumento de la actividad de bacterias autóctonas. En esta técnica las modificaciones son hechas por medio de la adición de nutrientes y humedad para mejorar la biorremediación con el objetivo de alcanzar una transformación microbiana de los contaminantes a un estado inofensivo (Azubuiké, Chikere & Okpokwasili, 2016). Esta técnica ha ganado popularidad sobre otras técnicas in-situ, especialmente en restauración de lugares contaminados con derrames ligeros de derivados del petróleo (Höhener & Ponsin, 2014).

Otra técnica de biorremediación utilizada, es la biorremediación bacteriana, esta, utiliza microorganismos capaces de degradar compuestos químicos complejos por medio de diversas rutas metabólicas bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas, lo que conlleva a obtener altas tasas de eficiencia y eficacia a bajos costos en la reducción del nivel de contaminación por plaguicidas (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

En el suelo, los compuestos bifenilos clorados como el DDT y otros plaguicidas pueden ser parcialmente biodegradados por un grupo de bacterias capaces de cometabolizar el contaminante presente en el medio (Corredor, 2013). Algunos microorganismos que han demostrado tener la capacidad de degradar DDT, son: *Xanthomonas sp.* ICH12 removi6 completamente 100 mg L<sup>-1</sup> g-HCH en cultivo l6quido despu6s de 8 d6as de incubaci6n, *Arthrobacter citreus* BI-100 removi6 completamente la concentraci6n de g-HCH en 8 horas. *Trichoderma viride*, *Ralstonia eutrophus* y *Pseudomonas acidovorans* (Qu, Xu, Ai, Liu & Liu, 2015). La biodisponibilidad de los contaminantes puede ser mejorada, si los suelos son tratados utilizando agentes movilizadores del contaminante como lo son los surfactantes (Corredor, 2013).

#### **10.4. Marco normativo**

- **Constituci6n Pol6tica de Colombia**

Presenta 17 art6culos espec6ficos, relacionados con la protecci6n, conservaci6n, control y mejoramiento de los recursos naturales: 49, 67, 79, 80, 81, 82, 88, 95, 277, 313, 317, 330, 331 y 334 (Casallas, 2015).

- **Cap6tulo 3.** De los derechos colectivos y del ambiente.
- **Art6culo 79.** Todas las personas tienen derecho a gozar de un ambiente sano. La ley garantizar6 la participaci6n de la comunidad en las decisiones que puedan afectar. Es deber del Estado proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las 6reas de especial importancia ecol6gica y fomentar la educaci6n para el logro de estos fines.
- **Art6culo 80.** El Estado planificar6 el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservaci6n, restauraci6n o sustituci6n. Adem6s, deber6 prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales y exigir la reparaci6n de los da6os causados (Alcald6a Mayor de Bogot6, 1991).
- **Ley 99 de 1993.** Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector P6blico encargado de la gesti6n y conservaci6n del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA y se dictan otras disposiciones. En esta ley se habla sobre el da6o ambiental que puede afectar el funcionamiento de los ecosistemas o la renovabilidad del recurso o la salud y bienestar de las personas (Casallas, 2015).

- **Decreto 775 del 16 de abril de 1990.** Por el cual se reglamentan parcialmente los Títulos III, V, VI, VII y XI de la Ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas.
- Resolución 447 de 1974 del Ministerio de Agricultura prohíbe el uso y venta de Insecticidas Clorados con destino al cultivo del tabaco: Aldrin, BHC, Clordano, DDD, DDT, Dieldrin, Endrin, Heptacloro, Heptacloro Epoxido, isobenzan, Melipax y Toxapheno.
- Resolución 243 de 1982 del ICA. Prohíbe la producción, importación, y venta de los plaguicidas a base de Dibromocloropropano (DBCP), utilizados en el control de plagas del suelo.
- Resolución 1849 de 1985 del ICA. Prohíbe la importación, producción y venta de los insecticidas de uso agrícola que contengan el ingrediente activo Endrin.
- Resolución 19408 de 1987 del Ministerio de Salud. Prohíbe el uso y manejo de los plaguicidas a base de Clordimeform y sus sales.
- Resolución 2471 de 1991 del ICA. Restringe los usos de PARATHION, únicamente a plagas de algodón y pastos tecnificados y del METIL PARATHION únicamente a plagas del algodón y arroz tecnificado.
- Resolución 10255 de 1993 del Ministerio de Salud. Prohíbe la importación, producción, formulación, comercialización, uso y manejo de los siguientes productos: Dieldrin, Clordano, Dodecacloro o Mirex, Pentacloro.
- Resolución 1158 de 1985 del ICA. Prohíbe la importación, producción y venta de los plaguicidas de uso agrícola que contengan el ingrediente activo Dibromuro de Etileno (EBD)
- Resolución 930 de 1987 del ICA. Prohíbe la importación, producción y venta de los plaguicidas de uso agrícola que contengan el ingrediente activo Dinoseb.
- Resolución 19408 de 1987 del Ministerio de Salud. Prohíbe el uso y manejo de los plaguicidas a base de Clordimeform y sus sales.
- Resolución 4863 de 1989 del ICA. Cancela licencia de venta correspondiente al fungicida de uso agrícola denominado Dithane M-22 (Maneb)
- Resolución 5052 de 1989 del ICA. Cancela licencias de venta a los plaguicidas de uso agrícola denominados Manzate D y Manzate.
- **Artículo 2:** Régimen Aplicable al Uso y Manejo de Plaguicidas. El uso y manejo de Plaguicidas estarán sujetos a las disposiciones contenidas en la Ley 09 de 1979, el Decreto 2811 de 1974, Reglamento Sanitario Internacional, las demás normas complementarias previstas en el presente Decreto y las que dicten los Ministerios de Salud y de Agricultura o sus institutos adscritos.
- **Artículo 10:** De las funciones del Consejo Seccional. Son funciones del Consejo Seccional:



- a. Promover y divulgar las disposiciones legales sobre plaguicidas.
  - b. Estudiar, evaluar y proponer soluciones a los problemas propios de cada región o municipio ocasionados por el uso de estas sustancias;
  - c. Promover en los centros de investigación y universidades, estudios tendientes a identificar y solucionar los problemas ocasionados por estas sustancias en cada región (Ministerio de Salud, 1990).
- **Decreto Número 1843 de 1991.** Por el cual se reglamenta parcialmente los títulos III, V, VI, VII Y XI de la ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas (INVIMA, 1991).
  - **Artículo 86.** De la prevención de riesgos ambientales. Al aplicar plaguicidas cerca de zonas pobladas, criaderos de peces, abejas, aves u otros animales; cursos o fuentes de agua y áreas de manejo especial para protección de recursos naturales, deben utilizarse técnicas acordes con los riesgos inherentes a la actividad respectiva (INVIMA, 1991).
  - **Ley 23 de 1973.** Tiene como prioridad la prevención y control de la contaminación del medio ambiente, mejoramiento, conservación y restauración de los recursos naturales; determinando también como bienes contaminables el aire, el agua y el suelo.
  - **Art. 1.** Es objeto de la presente ley prevenir y controlar la contaminación del medio ambiente y buscar el mejoramiento, conservación y restauración de los recursos naturales renovables, para defender la salud y el bienestar de todos los habitantes del Territorio Nacional.
  - **Art. 2.** El medio ambiente es un patrimonio común; por lo tanto, su mejoramiento y conservación son actividades de utilidad pública, en las que deberán participar el Estado y los particulares. Para efectos de la presente Ley, se entenderá que el medio ambiente está constituido por la atmósfera y los recursos naturales renovables (Ministerio de Ambiente, 1973).
  - **Decreto 2811 de 1974.** El código nacional de los recursos naturales renovables y no renovables y de protección del medio ambiente; en donde se regula el manejo de los RNR y sus elementos. En este decreto se presenta el artículo 3 habla sobre la regulación de suelo y subsuelo como recurso natural renovable, en el artículo 8 se habla de la degradación de suelos como factor de deterioro del ambiente la defensa del ambiente y en los artículos desde el 182-186 y 324-326 se dan especificaciones sobre el uso y la conservación del suelo (Casallas, 2015).
  - **Decreto 4741 de 2005.** En el artículo 19 habla de la responsabilidad acerca de la contaminación y remediación de sitios (Alcaldía Mayor de Bogotá D.C., 2005).
  - **ISO 5264.** La calidad del suelo y como se determina el pH en muestras de suelo, el método

referenciado en esta norma es el potenciométrico y puede ser aplicada en campos relacionados con la agricultura, medio ambiente y recursos naturales (Casallas, 2015).

- **ISO 4113.** Establece el diseño de programas de muestreo con el propósito de caracterizar y controlar la calidad del suelo; y también para identificar fuentes y efectos de contaminación del suelo y el material presente (Casallas, 2015).
- **ISO 11074.** Da términos y definiciones en relación a la protección y contaminación del suelo (Casallas, 2015).
- **ISO 1522.** Se refiere a los procedimientos que deben seguirse en operaciones de tamizado, para así lograr determinar la composición granulométría del suelo (Casallas, 2015).
- **ISO 3656.** Esta norma se basa en la contaminación del suelo en la cual se establece la metodología para la toma de muestras de suelo y de igual forma garantizar que los análisis permitan evaluar la calidad y el grado de contaminación y además el efecto sobre la aptitud y uso de tierras (Casallas, 2015).
- **ISO 4508.** Aplica para la determinación de posibles efectos tóxicos sobre la germinación y las primeras etapas de crecimiento y el desarrollo de plantas terrestres (Casallas, 2015).
- **Ley 822 de 2003.** Esta ley tiene como objetivo establecer los requisitos y procedimientos concordados para el registro, control y venta de agroquímicos genéricos en el territorio nacional, incluidos sus ingredientes activos grado técnico y sus formulaciones, para minimizar los riesgos de la salud humana y su impacto en el medio ambiente (Instituto Colombiano Agropecuario, 2003).
- **Código Internacional de Conducta para La Distribución y Uso de Plaguicidas.** Este código es un instrumento jurídico aprobado por la Organización para la Agricultura y la Alimentación - FAO, tiene como objetivo: “promover las prácticas que fomenten el uso seguro y eficaz de los plaguicidas, lo que implica, entre otras cosas, la reducción al mínimo de los efectos perjudiciales para los seres humanos y el ambiente, así como la prevención del envenenamiento accidental provocado por la manipulación impropia de los mismos” (Gobernación de Antioquia, 2005).
- **Decreto 1753 de 1994, modificado por el Decreto 1180 de 2003 del Ministerio del Medio Ambiente.** En su Artículo 7°, los casos en que se requieren licencias ambientales; en el numeral 8° especifica el requisito de tener dichas licencias para producir y para importar plaguicidas, sustancias, materiales y productos sujetos a controles por virtud de tratados, convenios y protocolos internacionales vigentes y ratificados por Colombia (Gobernación de Antioquia, 2005).

- **Resolución 3079 de 1995.** El ICA realiza el control técnico de los insumos agrícolas que se comercializan en el territorio nacional, mediante el registro de productores, que implica la autorización para la importación de los productos terminados y las materias primas utilizadas en la producción (Gobernación de Antioquia, 2005).

### ***10.5. Marco geográfico***

El municipio de Paz de Ariporo está situado al noreste del Departamento de Casanare, posee una extensión aproximada de 13.800 km<sup>2</sup>, está a una distancia de 90 km de Yopal y a 426 km de Bogotá. Limita al norte con el municipio de Hato Corozal, al este con los departamentos de Arauca y Vichada, al sur con el municipio de Trinidad y al oeste con los municipios de Pore y Támara (Alcaldía de Paz de Ariporo, 2017).

El municipio pertenece a la Orinoquia Colombiana, tiene un número de habitantes aproximado de 33.446, su constitución geográfica se caracteriza por un piso térmico cálido con una temperatura media de 27 grados centígrados, altitud de 340 metros sobre el nivel del mar, estas características geográficas permiten la conformación de una gran reserva de fauna y flora, que incluye praderas, sabanas y esteros donde habitan variedad de especies animales como chigüiros y garzas. Los cultivos de arroz, papaya, yuca y plátano, la exportación ganadera extensiva en las sabanas abiertas, constituyen el principal renglón de su economía (Ministerio de Cultura, 2010).

El proyecto se enfocará en la finca “El Triunfo”, ubicada en el corregimiento montañas del totumo en el municipio de Paz de Ariporo, Casanare, a 87 Km de la cabecera municipal, las actividades económicas que se llevan a cabo en esta finca son ganadería y en menor proporción cultivo de arroz como principal actividad económica.

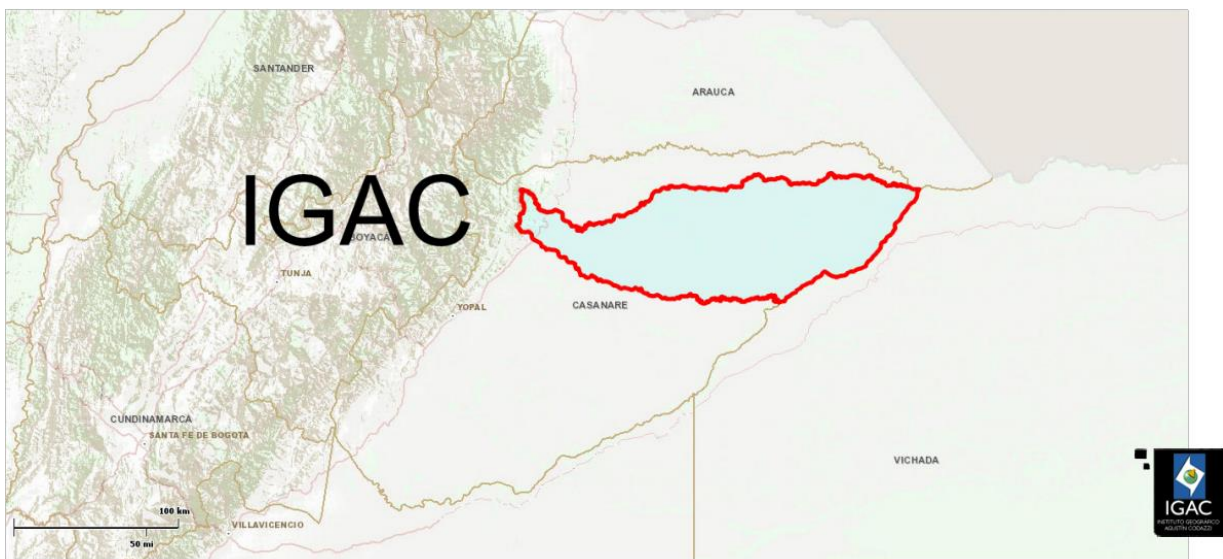
Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

*Ilustración 1. El municipio en el país*



*Tomada de: (Alcaldía de Paz de Ariporo, 2018)*

*Ilustración 2. Municipio de Paz de Ariporo*



*Tomada de: (Alcaldía de Paz de Ariporo, 2018)*



Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

*Ilustración 3. Finca el triunfo*

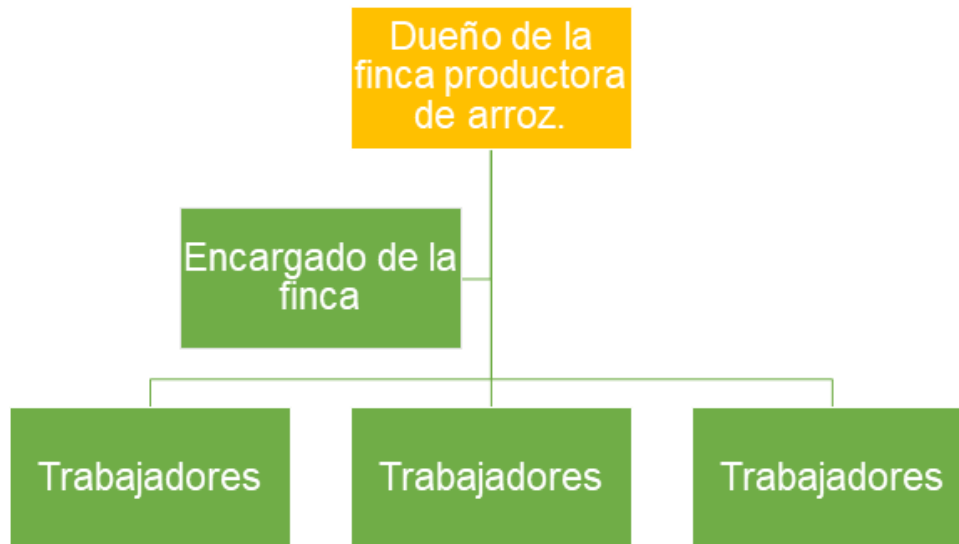


*Tomada de: (Google earth, 2018)*

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

## 10.6 Marco institucional

*Ilustración 4. Organigrama de la finca El triunfo*



Fuente: (Autores, 2018)

## 10.7 Marco metodológico

### 10.7.1 Enfoque

Se plantea la utilización de un enfoque mixto ya que tiene una parte cualitativa, debido a que el proyecto tiene como objetivo diseñar una propuesta para realizar un proceso de biorremediación bacteriana; al tratarse de una propuesta se realizará por medio de una revisión bibliográfica en donde la información cualitativa obtenida se analiza para obtener los resultados esperados, y cuantitativo en el momento de comparar los datos de los factores que influyen en el proceso de biorremediación (temperatura, oxigenación, entre otros) y el rendimiento de los procesos.

### **10.7.2 Alcance**

Se determinó que el proyecto tiene un alcance descriptivo ya que se busca identificar la metodología, técnica y condiciones del proceso y el género de bacteria o consorcio bacteriano más efectivo para biorremediar suelos contaminados con plaguicidas, tomando en cuenta los porcentajes de eficiencia que se obtuvieron en diferentes estudios consultados en una revisión bibliográfica.

### **10.7.3 Método**

El proyecto tiene un método inductivo-deductivo (Sampieri,2014), ya que este es un método que puede ir de lo general a lo particular o viceversa, esto debido a que su enfoque es mixto y el autor nos indica que este es el método correspondiente. Para la realización del proyecto es necesario plantear una pregunta de investigación y corroborar siguiendo los pasos de la metodología para poder obtener unas conclusiones y demostrar si el proyecto resulta o no efectivo.

## **11. Metodología**

La investigación se realizó basada en la siguiente pregunta: Con base en una revisión bibliográfica, ¿cuál técnica de biorremediación es más eficiente en la degradación de plaguicidas presentes en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo, Casanare?; para dar respuesta a dicha pregunta se plantea una metodología para cada objetivo específico propuesto para la investigación.

**11.1** Para dar cumplimiento al primer objetivo específico, *“Identificar los estudios previos relacionados con el tema de investigación por medio de una revisión bibliográfica teniendo en cuenta factores que influyen en la propuesta”*, se plantea la realización de la metodología que se enumera a continuación.

### **11.1.1 Definir el problema**

La problemática a tratar debe ser lo suficientemente clara para poder realizar una búsqueda bibliográfica que responda a las necesidades del investigador en particular, y que además aporte al estado de la técnica, de manera que conduzca a un escenario bastante amplio y permita la retroalimentación de la investigación (Gómez Luna, Navas, Aponte Mayor & Betancourt Buitrago, 2014).

### **11.1.2 Búsqueda de la información**

Para la búsqueda de información se debe contar con material informativo diverso (revistas, libros, sitios web, etc.) (Gómez Luna, Navas, Aponte Mayor & Betancourt Buitrago, 2014). Para el cumplimiento del primer objetivo específico planteado se realizará una revisión bibliográfica en la que se tendrán en cuenta estudios previos relacionados con el tema de investigación. Además, durante esta búsqueda se tendrán en cuenta criterios inclusivos como: artículos no inferiores al año 2013, estudios realizados en suelos de uso agrícola y con condiciones climatológicas similares a las de la zona de estudio planteada, estudios donde se haya tenido como objeto de estudio los plaguicidas y estudios de biorremediación bacteriana donde se especifique la técnica utilizada, y como criterios de exclusión se tendrán en cuenta estudios donde se hayan utilizado otros microorganismos diferentes a las bacterias, estudios inferiores al 2013 y estudios en los que se hayan estudiado compuestos diferentes a los plaguicidas.

### **11.1.3 Organización de la información**

Después de concluir la búsqueda de información se procederá a organizar en una tabla los datos más representativos de cada documento consultado, se realizarán dos tablas diferentes, una enfocada en el género de bacteria utilizada en cada estudio y otra enfocada en la técnica de biorremediación empleada; se tendrán en cuenta datos como fecha de publicación, país de publicación, técnica o bacteria empleada para el proceso de biorremediación y el porcentaje de eficiencia de biorremediación obtenido en cada estudio, para poder realizar un análisis de la información.



**11.2** Para dar cumplimiento al segundo objetivo específico, “*Establecer la técnica y género de bacteria o consorcios bacterianos, que puedan disminuir la cantidad de contaminantes presentes en el suelo de acuerdo con el porcentaje de eficiencia del proceso*” se plantea la metodología enunciada a continuación.

### **11.2.1 Análisis de la información**

Con base en las tablas realizadas en la metodología planteada anteriormente, se realizará una comparación entre las investigaciones consultadas para determinar qué técnica y cuál género de bacteria resulta más eficiente en el proceso de biorremediación, esto, teniendo en cuenta datos como la eficiencia (en porcentajes) y cantidad de estudios que reporten con éxito la implementación de estas para biorremediar suelos agrícolas. Una vez hecha la comparación se explicará de forma clara y concisa la técnica de biorremediación y el género de bacteria escogida y las razones que llevaron a seleccionarla.

**11.3** Para dar cumplimiento al tercer objetivo específico, “*Sugerir una metodología para llevar a cabo la biorremediación bacteriana en suelos usados para la agricultura de arroz en la finca el Triunfo*” se plantea la metodología enunciada a continuación.

### **11.3.1 Planteamiento de metodología de biorremediación**

Teniendo en cuenta la técnica de biorremediación y la especie bacteriana seleccionada en el paso anterior, así como las diferentes metodologías de biorremediación bacteriana utilizadas en otros estudios identificados en el primer paso, se procederá a plantear una metodología para realizar el proceso de biorremediación que podría ser aplicada en el lugar de estudio de este proyecto, tomando como base aquellas metodologías que al emplearse obtuvieron un alto porcentaje de eficiencia y que fueron realizadas en lugares de estudio con condiciones similares a las de la finca el Triunfo en el municipio de Paz de Ariporo en el departamento de Casanare.



Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

Planteamiento de la metodología de biorremediación bacteriana										X	X
Análisis de resultados											X
Conclusiones y recomendaciones											X

Fuente: (Autores, 2018)

### 13. Resultados, análisis y discusiones

**13.1. Objetivo 1** “Identificar los estudios previos relacionados con el tema de investigación por medio de una revisión bibliográfica teniendo en cuenta factores que influyen en la propuesta”

Con base en la revisión bibliográfica se construyó la Tabla 2, donde se incluyó la información obtenida de los principales artículos consultados, para dicha tabla se tomaron datos relevantes de cada artículo como, título, año y lugar de realización, contaminante presente en el lugar de estudio, microorganismo empleado para la biorremediación y el porcentaje de efectividad obtenido.

**Tabla 2.** Recopilación de artículos de técnicas de biorremediación

Título	Año de publicación	Lugar de realización	Contaminante presente	Técnica utilizada	% de biorremediación
Bioremediation of diuron contaminated soils by a novel degrading microbial consortium	2017	Sevilla, España	Diuron	Bioaumentación y bioestimulación	94.9%
Evaluation of biostimulation and	2014	Medellín, Colombia	DDT	Bioestimulación	94,3%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil					
Characterization of the biodegradation, bioremediation and detoxification capacity of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole	2017	Francia	Tiabendazol (TBZ)	Bioaumentación	60%
Biodegradación estimulada de los suelos contaminados con pesticidas organoclorados	2017	Cesar, Colombia	DDT (dicloro difenil tricloroetano) DDD (diclorodifenil dicloroetano) DDE (diclorodifenil tricloroetano)	Bioestimulación; bioaumentación	DDT: 56.2% DDD: 17.1% DDE: 44.5%
Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el sector	2016	Ecuador	Profenofos Dianizon	Biopilas y bioestimulación	Dianizón: 99.84% Profenofos: 93.34%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

Gatazo Zambrano Cantón Colta provincia de Chimborazo					
Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos	2016	Chinandega, Nicaragua	Toxafeno	Bioestimulación	84%
Evaluación de la capacidad degradadora y acción de biorremediación de bacterias presentes en suelos con residuos de pesticidas de la florícola pencaflor	2014	No reporta	Cyhalofop Butyl	Bioacumulación	Aproximadamen te 100%
Simultaneous degradation of organophosphorus and organochlorine pesticides by bacterial consortium	2014	No reporta	Clorpirifós Monocrotofós Endosulfán	Bioreactores	90%
Biotreatment of Chlorpyrifos in a Bench Scale	2015	No reporta	Cloriporifós	Bioreactores	70.3%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

Bioreactor using Psychrobacter Alimentarius T14					
In situ Bioremediation of Chlorpyrifos by Klebsiella sp. Isolated from Pesticide Contaminated Agricultural Soil	2018	No reporta	Cloriporifós	Bioaumentación	82.38%
Bioremediation of Hexachlorocyclohexane-Contaminated Soil by the New Rhodococcus wratislaviensis Strain Ch628	2017	No reporta	Hexachlorocyclohexane	Bioaumentación	95.8%
Bioremediation using Novosphingobium strain DY4 for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-contaminated soil and impact on microbial community structure	2014	China	2,4-diclorofenoxiacético ácido (2,4-D)	Bioaumentación	96.3%
Screening of Efficient Monocrotophos Degrading Bacterial Isolates from Paddy	2016	India	Monocrotofos	Bioaumentación	> 85%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

Field Soil of Sivagangai District, Tamil Nadu, India					
Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils	2017	España	Diuron	Bioestimulación y bioaumentación	78.6%
Molinate biodegradation in soils: natural attenuation versus bioaugmentation	2013	Portugal	Molinato	Bioaumentación	63%

Fuente: (Autores, 2018)

**Tabla 3.** Recopilación de artículos de bacterias utilizadas en procesos de biorremediación

<b>Título</b>	<b>Año de publicación</b>	<b>Contaminante presente</b>	<b>Organismo (s) utilizado(s)</b>	<b>% de biorremediación</b>
Assessment of genetic diversity and bioremediation potential of pseudomonads isolated from pesticide-	2018	Pentaclorofenol	<i>Pseudomonas putida</i>	91%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

contaminated artichoke farm soils				
Bioremediation of organophosphorus pesticide phorate in soil by microbial consortia	2018	Forato	<i>Brevibacterium frigoritoleran</i> <i>Bacillus aerophilus</i> <i>Pseudomonas fulva</i>	<i>B. frigoritolerans</i> + <i>B. aerophilus</i> (92.28–94.09%) <i>B. aerophilus</i> + <i>P. fulva</i> (95.45–97.15%) <i>B. frigoritolerans</i> + <i>P. fulva</i> (94.08–97.42%)
Engineering <i>Pseudomonas putida</i> KT2440 for simultaneous degradation of organophosphates and pyrethroids and its application in bioremediation of soil	2015	Mezcla de plaguicidas: Metilparatión, Fenitrotión, Cloriporifós, Permetrina, Fenpropatrin y Cipermetrina	<i>Pseudomonas putida</i>	100%
Isolation and evaluation of potent <i>Pseudomonas</i> species for bioremediation of phorate in amended soil	2015	Forato	<i>Pseudomonas sp</i>	95.62%
Spectrophotometric Analysis of Degradation	2016	Cloriporifós	<i>Bacillus</i> <i>Micrococcus sp</i>	44% 46%



Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

of Chlorpyrifos Pesticide by Indigenous Microorganisms Isolated from Affected Soil				
Bioremediation of Soil Contaminated by Dichlorodiphe	2017	Dicloro difenil tricloroetano	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i>	99.7%
Isolation and characterization of potential pendimethalin degrading bacteria from pesticides polluted soil	2018	Pendimetalina (herbicida)	<i>Bacillus cereus</i>	90%
Use of Bacillus thuringiensis supernatant from a fermentation process to improve bioremediation of chlorpyrifos in contaminated soils	2015	<i>Cloriporifós</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	73.74%
Isolation and Molecular Characterization of Novel Chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol-degrading Bacteria from Sugarcane Farm Soils	2017	Cloriporifós	<i>Xanthomonas sp</i> <i>Pseudomonas sp</i> <i>Rhizobium sp</i>	90% 90% 60%

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Aripuro a partir de una revisión bibliográfica.

Biodegradation of Insecticide Monocrotophos by <i>Bacillus subtilis</i> KPA-1, Isolated from Agriculture Soils	2014	Monocrotófós	<i>Bacillus subtilis</i>	94.2%
Enhanced degradation of isoproturon in an agricultural soil by a <i>Sphingomonas</i> sp. strain and a microbial consortium	2017	Isoproturón	<i>Sphingomonas</i> sp	67.5

Fuente: (Autores, 2018)

A partir de la revisión bibliográfica realizada, se obtuvieron un total de veintiséis artículos relevantes de los cuales quince corresponden a técnicas de biorremediación empleadas en diferentes estudios y los once artículos restantes a especies bacterianas capaces de degradar satisfactoriamente plaguicidas.

En la tabla 2 se pueden evidenciar los artículos más relevantes de la investigación realizada, se encontró que la técnica más reportada fue la bioaumentación, ya que esta técnica fue utilizada en seis artículos, adicional a esto, se utilizó en compañía de la técnica de bioestimulación en otros cuatro documentos; por otro lado, la bioestimulación fue utilizada de manera independiente en dos artículos más.

Se pudo identificar que la información disponible para biorremediación de plaguicidas no es muy amplia en diferentes técnicas, ya que no se encontró reporte de la implementación de técnicas como landfarming, bioventing, entre otras, para el caso de plaguicidas, caso contrario de la biorremediación de hidrocarburos para los que se podía encontrar una amplia variedad de artículos que incluían las diferentes técnicas de biorremediación.

**13.2. Objetivo 2.** *“Establecer la técnica y género de bacteria o consorcios bacterianos, que puedan disminuir la cantidad de contaminantes presentes en el suelo de acuerdo con el porcentaje de eficiencia del proceso”.*

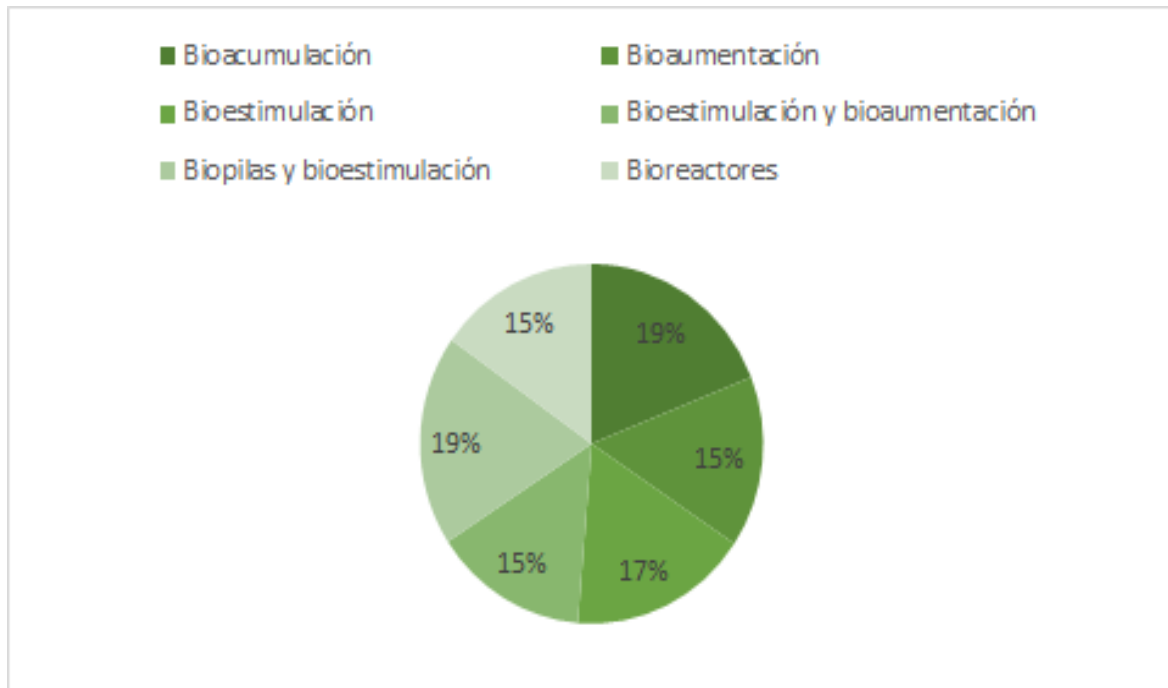
Con base en la información recopilada en la Tabla 2, donde se sintetizó la información obtenida de los principales estudios consultados, se determinó que la técnica más utilizada fue bioaumentación como se evidencia en la gráfica 1, con un 38% de reincidencia frente a los demás técnicas encontradas; y un porcentaje de biodegradación óptimo entre el rango (60%- 100%), por lo que la aplicación de esta técnica se considera viable para el proceso de biorremediación bacteriana en suelos contaminados con plaguicidas.

Se encontraron además estudios en los que se reporta el uso de técnicas como biopilas, bioacumulación y biorreactores; estas técnicas pueden ser complementadas con el uso de las mencionadas anteriormente, bioestimulación y bioaumentación, como lo reporta Romero & Echeverría (2016), donde implementaron la técnica de biopilas junto con bioestimulación para un proceso de biorremediación bacteriana en el que obtuvieron un porcentaje de degradación de > 90%. Aunque la bioaumentación no fue la técnica con el porcentaje de biorremediación más alto obtenido es la elegida para el proceso de biorremediación ya que fue la técnica más reportada en la bibliografía encontrada y en la gran mayoría de los estudios obtuvo un porcentaje de biorremediación superior al 90%, lo que la hace una alternativa eficiente para degradar plaguicidas.

La otra técnica que se propone implementar junto con la bioaumentación es biopilas, aunque esta es una de las menos reportadas se pudo identificar que logró alcanzar un porcentaje de biorremediación de más 99.84%, además de que resulta una alternativa más económica respecto a otras técnicas como los biorreactores (Suárez Beltrán, 2013)

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

**Gráfica 1. Técnicas de biorremediación reportadas**



*Fuente: (Autores, 2018)*

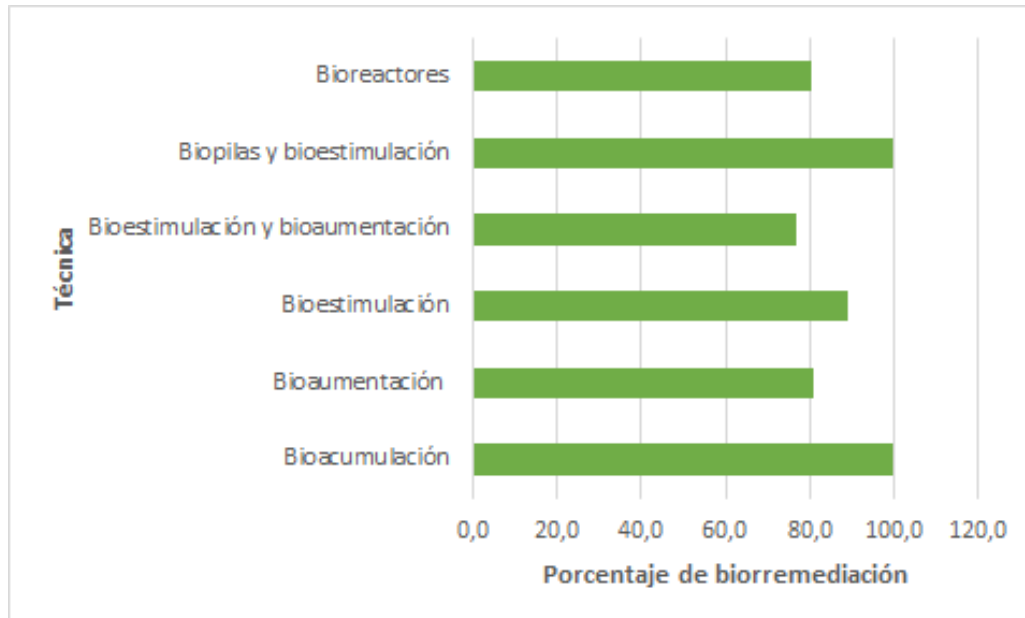
**Tabla 4. Técnicas de biorremediación reportadas**

Técnica	Procentaje de biorremediación (%)
Bioacumulación	100,0
Bioaumentación	81,1
Bioestimulación	89,2
Bioestimulación y bioaumentación	76,6
Biopilas y bioestimulación	99,8
Bioreactores	80,2

*Fuente: (Autores, 2018)*

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

**Gráfica 2.** Porcentaje de biorremediación por técnica encontrada



*Fuente: (Autores, 2018)*

**Tabla 5.** Porcentaje de biorremediación por técnica encontrada

Técnica	Procentaje de biorremediación (%)
Bioacumulación	100,0
Bioaumentación	81,1
Bioestimulación	89,2
Bioestimulación y bioaumentación	76,6
Biopilas y bioestimulación	99,8
Bioreactores	80,2

*Fuente: (Autores, 2018)*

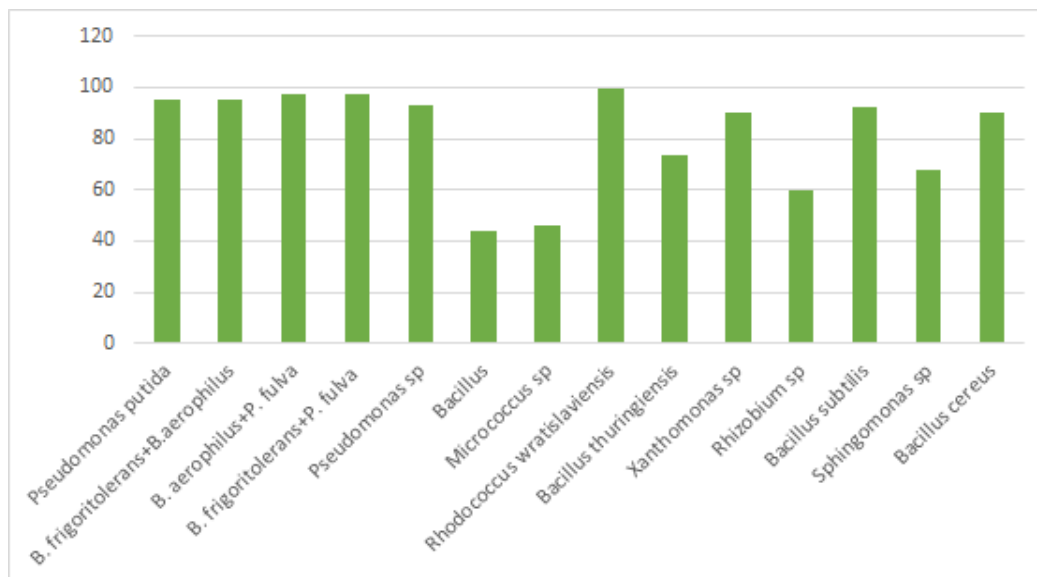
De acuerdo con la revisión bibliográfica realizada y los principales artículos encontrados en la Tabla 3, se pudo identificar el género bacteriano que reportó mayor capacidad degradadora de los plaguicidas encontrados en los diferentes artículos consultados; cómo se puede evidenciar en la

Gráfica 3, el género *Pseudomona sp* posee una capacidad degradadora superior al 90% en todos los estudios consultados, al ser empleada en consorcios bacterianos o de manera individual.

De acuerdo a varios autores como Jariyal, M., Gupta, V. K., Jindal, V., & Mandal, K. (2015) las bacterias del género *Pseudomonas sp* tienen un alto potencial para la biorremediación en suelos agrícolas contaminados, ya que en su estudio obtuvieron un porcentaje de degradación de 95.62% del plaguicida organofosforado Forato, utilizando este género de bacteria; por esta razón fue la especie seleccionada para ser utilizada en la metodología de biorremediación propuesta.

Según Liu, Q, et al (2015) la bacteria *Pseudomona fulva* es una bacteria ambiental gram negativa, que suele aislarse de los cultivos de arroz como el que se encuentra en el lugar de estudio, además según Yang, et al (2018), esta bacteria tiene una gran capacidad de degradar plaguicidas que se asocian a la contaminación del medio ambiente, esta especie bacteriana también fue reportada en la bibliografía consultada para la tabla 3, se encontró que obtuvo un porcentaje de degradación de 97.42% en el plaguicida organofosforado forato, este es el mismo tipo de plaguicidas usado en el cultivo de arroz del lugar de estudio, de acuerdo a lo manifestado por el agricultor de la finca en la entrevista que se le realizó (Anexo 1), por esta razón se propone el uso de la bacteria *Pseudomona fulva* dentro de la metodología de biorremediación.

**Gráfica 3.** Porcentaje de biorremediación obtenido por género o consorcio bacteriano



Fuente: (Autores, 2018)

Propuesta de un proceso de biorremediación bacteriana en suelos empleados para el cultivo de arroz en Paz de Ariporo a partir de una revisión bibliográfica.

**Tabla 6.** Porcentaje de biorremediación obtenido por género o consorcio bacteriano

Género bacteriano o consorcio	Porcentaje de biorremediación (%)
<i>Pseudomonas putida</i>	95,5
<i>B. frigoritolerans</i> + <i>B. aerophilus</i>	94,9
<i>B. aerophilus</i> + <i>P. fulva</i>	97,15
<i>B. frigoritolerans</i> + <i>P. fulva</i>	97,42
<i>Pseudomonas sp</i>	92,81
<i>Bacillus</i>	44
<i>Micrococcus sp</i>	46
<i>Rhodococcus wratislaviensis</i>	99,7
<i>Bacillus thuringiensis</i>	73,74
<i>Xanthomonas sp</i>	90
<i>Rhizobium sp</i>	60
<i>Bacillus subtilis</i>	92,4
<i>Sphingomonas sp</i>	67,5
<i>Bacillus cereus</i>	90

Fuente: (Autores, 2018)

**13.3. Objetivo 3** “Sugerir una metodología para llevar a cabo la biorremediación bacteriana en suelos usados para la agricultura de arroz en la finca el triunfo”

De acuerdo con los resultados obtenidos en el objetivo número dos y para el cumplimiento del tercer objetivo, se propone una metodología de una duración aproximada de 50 días tomando como referencia a Romero & Echeverría (2016), se implementará el uso de la técnica de biopilas junto con la bioaugmentación, dicha metodología será planteada tomando como base lo reportado diversos autores consultados en la revisión bibliográfica.

#### 13.3.1. Caracterización fisicoquímica del suelo

Se realizará un análisis físico-químico inicial para determinar las condiciones del suelo de estudio, para esto se debe tomar una muestra de suelo a 10 cm de profundidad. De acuerdo con Durán Acosta (2016) se debe realizar un HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) para determinar el contaminante presente en el suelo estudiado y también para poder determinar la concentración en la que este se encuentra, adicional a esto se debe realizar un HPLC al finalizar el proceso para determinar el porcentaje de remoción del contaminante encontrado.

### **13.3.2. Inoculación de la bacteria (*Pseudomonas fulva*)**

La cepa bacteriana será adquirida por medio de fuentes externas, luego de esto se procederá a realizar un medio de agar-plaguicida en el que se incluya el plaguicida que fue identificado en el HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) en el que se realizará una siembra masiva de *Pseudomonas fulva* y se debe llevar a incubación por una semana a una temperatura de 36°C, con el objetivo de que las colonias crezcan utilizando el plaguicida como única fuente de nutrientes, pasado este tiempo las colonias con mejores cualidades serán inoculadas en un medio líquido M9 para posteriormente ser agregadas al suelo contaminado para el proceso de bioaumentación (Jaramillo Colorado, Bermúdez Tobón, & Tirado Ballestas, 2016).

### **11.3.3 Implementación de la técnica de biopilas y bioaumentación**

Para realizar el montaje de las biopilas se debe realizar en primera instancia una visita técnica al lugar de estudio para determinar el volumen de suelo a tratar y de esta forma poder calcular las dimensiones que debe tener cada biopila y cuántas de estas deben crearse, se propone que cada una de ellas tenga una profundidad aproximada de 0,4 (Rojo Santiesteban, 2013); una vez establecidos estos datos se iniciará la construcción de la biopila.

#### **13.3.3.1. Preparación de la base de la biopila**

Primero se debe preparar una sub-base que debe tener una pendiente de entre 2% y 3% para impedir que los lixiviados se almacenen en la base de la biopila, esta sub-base de está compuesta por una capa de arcilla con el fin de impermeabilizar la base y así evitar la contaminación de cuerpos de agua y suelo por los lixiviados, a su alrededor se crean zanjas o canales que se recomienda que tengan una profundidad de 20 cm y un ancho de 30cm para conducir el exceso de agua fuera de la biopila (Roldán Martín & Iturbe Arguelles, 2002).

Sobre la sub-base se instala una geomembrana de polietileno de alta densidad que debe extenderse 90 cm más allá del ancho de la biopila para cubrir los canales (Roldán Martín & Iturbe Arguelles, 2002), sobre esta se instala el sistema de colector de lixiviados.



### 13.3.3.2. Recolección de lixiviados

El sistema colector de lixiviados se constituye por tubos de PVC de 2'' de diámetro que siga la pendiente de la base para que se conduzcan los lixiviados hacia las zanjas, además el sistema recolector debe contar con una bomba para transferir los lixiviados a un tanque de almacenamiento desde la zanja; Sobre esta tubería se coloca una capa de arena de un espesor aproximado de 15 cm procurando mantener siempre la pendiente de la base y como capa final se instala una geomembrana (Roldán Martín & Iturbe Arguelles, 2002).

### 13.3.3.3. Tratamiento del suelo

Una vez terminada la base de la biopila se procede a agregar las capas de suelo contaminado y a realizar el proceso de bioaumentación; para esto se propone adicionar capas de suelo de 30 cm de grosor a las que a su vez se añade la cepa bacteriana elegida (*Pseudomona fulva*) a través de la solución preparada anteriormente para llevar a cabo la bioaumentación, este mismo proceso se repetirá hasta la altura deseada en la biopila.

Adicional a esto las biopilas deben ser aireadas periódicamente, como lo propone (Rojo Santiesteban, 2013) se debe realizar tres veces por semana, por medio de volteo de forma manual y constante; también se debe hacer una medición de los valores de pH, temperatura y humedad que son de importancia para el proceso de biorremediación como se observa en la tabla 7, estos deben ser monitoreados a lo largo del proceso de biorremediación y como lo proponen Romero & Echeverría (2016) en su estudio, se recomienda hacer estas mediciones una vez por semana para asegurarse de que los parámetros se encuentran dentro del rango óptimo con el fin de proporcionar las condiciones adecuadas para que los microorganismos se desarrollen .

De acuerdo con Salgado Bernal (2015) dentro de los factores que pueden afectar el proceso de biorremediación se encuentran el balance de nutrientes en el medio, la naturaleza de los contaminantes, el pH, la temperatura y las características propias de la biomasa.

**Tabla 7.** Parámetros monitoreados durante el proceso de biorremediación

Parámetro	Rango óptimo	Medición	Importancia
pH	6 a 7,5	Se recomienda la dilución de una muestra del suelo en	Representa una influencia en la actividad metabólica de los

		agua destilada en partes iguales de suelo y agua destilada, y el uso de papel indicador	microorganismos, en pH extremo la biodegradación se hace lenta.
Temperatura	18 a 30°C.	Se medirá utilizando un termómetro de suelo	La temperatura influye en el metabolismo de los microorganismos y en la tasa de biodegradación, las tasas de degradación usualmente aumentan cuando la temperatura incrementa.
Humedad	30 al 60 %	Existen varios métodos para determinar la cantidad de humedad presente en el suelo, se recomienda la prueba del puño en donde si existe un exceso de humedad el agua escurre, si es baja se deshace el montículo de tierra atrapado por el puño y si la humedad es adecuada su forma se mantiene al ser soltado.	La humedad interviene en el transporte de nutrientes y oxígeno, el exceso de humedad puede reducir la presencia de oxígeno, y la escasez de esta afecta la movilidad de nutrientes y gases, afectando la actividad de los microorganismos.

*Fuente: (Romero & Echeverría 2016)*

#### 14. Conclusiones

- Debido a que la metodología planteada en la propuesta no posee un nivel de complejidad alto, puede ser realizada por cualquier persona que reciba una capacitación adecuada para que pueda apoyar el proceso de biorremediación realizando las mediciones periódicas (pH, humedad y temperatura) y los volteos de las biopilas.

- Las variables que pueden llegar a afectar la eficiencia de la biorremediación bacteriana por medio de biopilas y bioaumentación son la temperatura, el pH y la humedad debido a que estas afectan directamente la actividad microbiana.
- Las condiciones climáticas propias del lugar de estudio pueden resultar favorables para el crecimiento de la cepa de *Pseudomonas fulva*, ya que se trata de un lugar cuya temperatura promedio supera los 26°C.
- De acuerdo a lo expresado por el agricultor de la zona de estudio en la entrevista que se le realizó; en el mercado nacional la oferta de plaguicidas se limita a los considerados peligrosos para el ambiente y la salud, por lo que para el gremio agricultor es difícil acceder a productos menos perjudiciales.
- A pesar de que Colombia es un país con gran presencia del sector agrícola y también con problemas por el uso indiscriminado de plaguicidas; no se reportan muchos estudios realizados en el país que busquen alternativas de mejora o mitigación a la problemática.
- La normatividad colombiana permite que se comercialicen plaguicidas que están prohibidos en otros países donde se consideran peligrosos para el medio ambiente y para la salud.
- Al utilizar la bacteria *Pseudomonas fulva* el costo de la biorremediación podría llegar a ser menor debido a que es una bacteria que se puede aislar directamente del cultivo de arroz que se encuentra en la zona de estudio.
- La biorremediación es una alternativa que ha demostrado una gran viabilidad para degradar contaminantes presentes en suelos, logrando así un beneficio a nivel, económico, ambiental y social.

## 15. Recomendaciones

- Antes de realizar el proceso de biorremediación bacteriana se recomienda realizar una prueba piloto en menor escala para comprobar la eficiencia de las técnicas y la bacteria propuestas y así evitar posibles errores en el proceso.
- Se debe mejorar el control por parte de las autoridades nacionales con respecto a los productos agroquímicos que se comercializan en el país, para así evitar los impactos negativos del uso de estos insumos considerados peligrosos.
- Realizar más estudios en el país sobre el uso de agroquímicos como los plaguicidas que permitan conocer sobre los procesos y técnicas existentes para degradar estas sustancias y la viabilidad para aplicarlos en Colombia de forma exitosa.

## 16. Referencias Bibliográficas

1. Abraham, J., Silambarasan, S., & Logeswari, P. (2014). Simultaneous degradation of organophosphorus and organochlorine pesticides by bacterial consortium. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(5), 2590–2596. doi:10.1016/j.jtice.2014.06.014.
2. Aceves-Diez, A. E., Estrada-Castañeda, K. J., & Castañeda-Sandoval, L. M. (2015). Use of *Bacillus thuringiensis* supernatant from a fermentation process to improve bioremediation of chlorpyrifos in contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 157, 213–219. doi:10.1016/j.jenvman.2015.04.026.
3. Aceves-Diez, A. E., Estrada-Castañeda, K. J., & Castañeda-Sandoval, L. M. (2015). Use of *Bacillus thuringiensis* supernatant from a fermentation process to improve bioremediation of chlorpyrifos in contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 157, 213–219. doi:10.1016/j.jenvman.2015.04.026.
4. Acharya, K. P., Shilpkar, P., Shah, M. C., & Chellapandi, P. (2014). Biodegradation of Insecticide Monocrotophos by *Bacillus subtilis* KPA-1, Isolated from Agriculture Soils. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175(4), 1789–1804. doi:10.1007/s12010-014-1401-5.
5. Alcaldía Mayor de Bogotá. (1991). Constitución Política. [online] Available at: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=4125> [Accessed 3 Apr. 2018].
6. Alcaldía Mayor de Bogotá D.C. (30 de diciembre de 2005). Decreto 4741 de 2005 Nivel Nacional. Obtenido de Alcaldía de Bogotá: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=18718>.
7. Azubuiké, C., Chikere, C., & Okpokwasili, G. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal Of Microbiology And Biotechnology*, 32(11). doi: 10.1007/s11274-016-2137-x.
8. Baby Sharma, Sonika Saxena, Aparna Datta and Sudipti Arora. 2016. Spectrophotometric Analysis of Degradation of Chlorpyrifos Pesticide by Indigenous Microorganisms Isolated

- from Affected Soil. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 5(9): 742-749. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.509.085>.
- 9.** Baldan, E., Basaglia, M., Fontana, F., Shapleigh, J., & Casella, S. (2015). Development, assessment and evaluation of a biopile for hydrocarbons soil remediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 98, 66-72. doi: 10.1016/j.ibiod.2014.12.002.
  - 10.** Betancur Corredor, B., Pino, N., Peñuela, G., & Cardona Gallo, S. (2013). Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT. *Gestión y ambiente*, 119-125.
  - 11.** Betancur-Corredor, B., Pino, N. J., Cardona, S., & Peñuela, G. A. (2015). Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, 28, 101–109. doi:10.1016/j.jes.2014.06.044.
  - 12.** Buvaneswar, G., Thenmozhi, R., Nagasathya, A., & Thajuddin, N. (2016). Screening of Efficient Monocrotophos Degrading Bacterial Isolates from Paddy Field Soil of Sivagangai District, Tamil Nadu, India. *Journal Of Environmental Science And Technology*, 10(1), 13-24. doi: 10.3923/jest.2017.13.24.
  - 13.** Casallas, J. K. (2015). Fitorremediación in situ para la recuperación de suelos contaminados por metales pesados ( plomo y cadmio) y evaluación del selenio en la finca Furatena Alta en el municipio de Útica ( Cundinamarca). Bogotá D.C.
  - 14.** Castillo Diaz, J., Delgado-Moreno, L., Núñez, R., Nogales, R., & Romero, E. (2016). Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*, 214, 234-241. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.105.
  - 15.** Cea, M., Jorquera, M., Rubilar, O., Langer, H., Tortella, G., & Diez, M. (2010). Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol by *Anthracophyllum discolor* and its effect on soil microbial community. *Journal Of Hazardous Materials*, 181(1-3), 315-323. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.05.013.
  - 16.** Chirom, Archana & Saharan, Neelam & Rathor, Gaurav & Srivastava, PP & Rani, Babitha & Pandey, Pramod. (2018). Isolation and characterization of potential pendimethalin degrading bacteria from pesticides polluted soil. *JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES*. 6. 1842-1848.

17. Cycoń, M., Mroziak, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2017). Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. *Chemosphere*, 172, 52-71. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.129.
18. Dai, Y., Li, N., Zhao, Q., & Xie, S. (2015). Bioremediation using *Novosphingobium* strain DY4 for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-contaminated soil and impact on microbial community structure. *Biodegradation*, 26(2), 161–170. doi:10.1007/s10532-015-9724-7.
19. De Voogt, P. (2016). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 236*. Cham: Springer International Publishing.
20. Durán Acosta, L., & Ladera Hernández, M. (2016). Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos. *Nexo*, 29(1), 22-28.
21. Dzionek, A., Wojcieszynska, D., & Guzik, U. (2016). Natural carriers in bioremediation: A review. *Electronic Journal Of Biotechnology*, 23, 28-36. doi: 10.1016/j.ejbt.2016.07.003.
22. Echeverría Salas, A., & Romero Vacacela, J. (2016). Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados con pesticidas a través de biopilas con adición de dos inóculos diferentes en el Sector Gatazo Zambrano Cantón Colta Provincia de Chimborazo.
23. Egorova, D. O., Buzmakov, S. A., Nazarova, E. A., Andreev, D. N., Demakov, V. A., & Plotnikova, E. G. (2017). Bioremediation of Hexachlorocyclohexane-Contaminated Soil by the New *Rhodococcus wratislaviensis* Strain Ch628. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(5). doi:10.1007/s11270-017-3344-2.
24. Gavrilesco, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*, 32(1), 147-156. doi: 10.1016/j.nbt.2014.01.001.
25. Gobernación de Antioquia. (2005). Lineamientos de políticas sobre uso y manejo mesurado con énfasis en el sector agropecuario y forestal. Medellín.
26. Gobernación de Casanare. (2018). Sector agropecuario. Retrieved from <https://www.casanare.gov.co/?idcategoria=1227>.

- 27.** Gómez Luna, E., Navas, D., Aponte Mayor, G., & Betancourt Buitrago, L. (2014). Metodología para la revisión bibliográfica y la gestión de información de temas científicos, a través de su estructuración y sistematización.
- 28.** Hassen, W., Neifar, M., Cherif, H., Mahjoubi, M., Souissi, Y., Raddadi, N., ... Cherif, A. (2018). Assessment of genetic diversity and bioremediation potential of pseudomonads isolated from pesticide-contaminated artichoke farm soils. *3 Biotech*, 8(6). doi:10.1007/s13205-018-1256-5.
- 29.** Hernández Ruiz, G. M., Álvarez Orozco, N. A., & Ríos Osorio, L. A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 139-147.
- 30.** Herrero, M., & Stuckey, D. (2015). Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, 140, 119-128. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.033.
- 31.** Hlihor, R., Gavrilesco, M., Tavares, T., Favier, L., & Olivieri, G. (2017). Bioremediation: An Overview on Current Practices, Advances, and New Perspectives in Environmental Pollution Treatment *Biomed Research International*. doi: 10.1155/2017/6327610.
- 32.** Höhener, P., & Ponsin, V. (2014). In situ vadose zone bioremediation. *Current Opinion In Biotechnology*, 27, 1-7. doi: 10.1016/j.copbio.2013.08.018.
- 33.** Instituto Colombiano Agropecuario. (2003). Ley 822 de 2003.
- 34.** INVIMA (1991). Decreto Número 1843 de 1991. [online] p.21. Available at: [https://www.invima.gov.co/images/stories/normatividad/decreto\\_1843\\_1991.pdf](https://www.invima.gov.co/images/stories/normatividad/decreto_1843_1991.pdf) [Accessed 4 Apr. 2018].
- 35.** Jaramillo Colorado, Beatriz E., Bermúdez Tobón, Adriana, & Tirado Ballestas, Irina. (2016). Bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados presentes en suelos contaminados. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 25(3), 13-22.
- 36.** Jariyal, M., Gupta, V. K., Jindal, V., & Mandal, K. (2015). Isolation and evaluation of potent *Pseudomonas* species for bioremediation of phorate in amended soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 24–30. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.07.007.
- 37.** Jariyal, M., Jindal, V., Mandal, K., Gupta, V. K., & Singh, B. (2018). Bioremediation of organophosphorus pesticide phorate in soil by microbial consortia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 159, 310–316. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.04.063.

- 38.** John, E. M., Varghese, E. M., & Krishnasree, J. (2018). In situ Bioremediation of Chlorpyrifos by *Klebsiella* sp. Isolated from Pesticide Contaminated Agricultural Soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 1-10.
- 39.** Khalid, S., & Hashmi, I. (2015). Biotreatment of chlorpyrifos in a bench scale bioreactor using *Psychrobacter alimentarius* T14. *Environmental Technology*, 37(3), 316–325. doi:10.1080/09593330.2015.1069406.
- 40.** Kim, K., Kabir, E., & Jahan, S. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science Of The Total Environment*. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.009.
- 41.** Kopytko, M., Correa-Torres, S., & Estévez- Gómez, M. (2017). Biodegradación estimulada de los suelos contaminados con pesticidas organoclorados. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 8(1), 119-130. doi: 10.22490/21456453.1843.
- 42.** Li, R., Dörfler, U., Munch, J. C., & Schroll, R. (2017). Enhanced degradation of isoproturon in an agricultural soil by a *Sphingomonas* sp. strain and a microbial consortium. *Chemosphere*, 168, 1169–1176. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.10.084.
- 43.** Liu, Q., Zhang, Y., Yu, N., Bi, Z., Zhu, A., Zhan, X., ... Cao, L. (2015). Genome sequence of *Pseudomonas parafulva* CRS01-1, an antagonistic bacterium isolated from rice field. *Journal of Biotechnology*, 206, 89–90. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.03.017.
- 44.** Lopes, A. R., Danko, A. S., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2012). Molinate biodegradation in soils: natural attenuation versus bioaugmentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(6), 2691–2700. doi:10.1007/s00253-012-4096-y.
- 45.** Marín L, Luis Fernando, & Jaramillo C, Beatriz. (2015). Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 179-185.
- 46.** Mary John, E., Varghese, E., Krishnasree, N., & Jisha, M. (2018). In situ Bioremediation of Chlorpyrifos by *Klebsiella* sp. Isolated from Pesticide Contaminated Agricultural Soil. *International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences*, 7(03), 1418-1429. doi: 10.20546/ijcmas.2018.703.170.
- 47.** Ministerio de Ambiente. (1973). Ley 23 de 1973. Bogotá D.C.
- 48.** Ministerio de Cultura (2010). Por caminos de la ruta libertadora-Paz de Ariporo. [online] pp.4-7. Available at: <http://www.mincultura.gov.co/SiteAssets/documentos/Turismo/municipios/5.%20Paz%20de%20Ariporo.pdf> [Accessed 1 Apr. 2018].



49. Ministerio de Salud. (1990). Decreto 775 del 16 de abril de 1990.
50. Omokhagbor Adams, G., Tawari Fufeyin, P., Eruke Okoro, S., & Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal Of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1). doi: 10.1.1.832.3079.
51. Pérez Vasco, M. (2014). Evaluación de la capacidad degradadora y acción de biorremediación de bacterias presentes en suelos con residuos de pesticidas de la florícola pencaflor.
52. Perruchon, C., Pantoleon, A., Veroutis, D., Gallego-Blanco, S., Martin-Laurent, F., Liadaki, K., & Karpouzias, D. G. (2017). Characterization of the biodegradation, bioremediation and detoxification capacity of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole. *Biodegradation*, 28(5-6), 383–394. doi:10.1007/s10532-017-9803-z.
53. Piraban Molina, J.D. (28 de Julio de 2018). Entrevista sobre el uso de plaguicidas. (D. Piraban Ramírez, Entrevistador).
54. Qu, J., Xu, Y., Ai, G., Liu, Y., & Liu, Z. (2015). Novel *Chryseobacterium* sp. PYR2 degrades various organochlorine pesticides (OCPs) and achieves enhancing removal and complete degradation of DDT in highly contaminated soil. *Journal Of Environmental Management*, 161, 350-357. doi: 10.1016/j.jenvman.2015.07.025.
55. Ramírez, E. H. (2017). *Biorremediación de Suelos Agrícolas en México*. Saltillo, Coahuila, México.
56. Ramírez, M. P ( Marzo de 2017). Ficha técnica Dimilin 48 SC. Obtenido de [http://www.arysta.com.co/PDF-FILES/DIMILIN%2048/F.T.%20DIMILIN%2048%20SC%20\(vr.%202\).pdf](http://www.arysta.com.co/PDF-FILES/DIMILIN%2048/F.T.%20DIMILIN%2048%20SC%20(vr.%202).pdf).
57. Rayu, S., Nielsen, U. N., Nazaries, L., & Singh, B. K. (2017). Isolation and Molecular Characterization of Novel Chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol-degrading Bacteria from Sugarcane Farm Soils. *Frontiers in Microbiology*, 8. doi:10.3389/fmicb.2017.00518.
58. Rojo Santiesteban, S. (2013). Biorrecuperación de suelos contaminados con diesel, mediante biopilas utilizando estrategias de bioaumentación y bioestimulación. Instituto Politécnico Nacional.
59. Roldán Martín, A., & Iturbe Arguelles, R. (2002). SANEAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS MEDIANTE BIOPILAS.
60. Salgado Bernal, I., Pérez Ortega, J., Carballo Valdés, M., Martínez Sardiñas, A., & Cruz Arias, M. (2015). Aplicación de rizobacterias en la biorremediación del cromo hexavalente

- presente en aguas residuales. *REVISTA CUBANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS*, 4(2). Retrieved from <http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/article/view/166/275>.
61. Sampieri Hernández, R. F. (2014). *metodología de la investigación*. México: INTERAMERICANA EDITORES, S.A. D.
  62. Santiago, X., Rivera, D., Pabon, A., & Garcia, A. (2016). An Examination of the Use of Pesticides in Puerto Rican Agriculture. *RURALS: Review Of Undergraduate Research In Agricultural And Life Sciences*, 10(1).
  63. Sharma, B., Bharat, G., Tayal, S., Nizzetto, L., Čupr, P., & Larssen, T. (2014). Environment and human exposure to persistent organic pollutants (POPs) in India: A systematic review of recent and historical data. *Environment International*, 66, 48-64. doi: 10.1016/j.envint.2014.01.022.
  64. Suarez Beltran, R. (2013). *Guía de métodos de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos*. Bogotá. Retrieved from <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TRABAJO%20FINAL%20cd.pdf?sequence=1>.
  65. Superintendencia de industria y comercio. (2014). *Biorremediación de sitios contaminados*. Bogotá. Obtenido de [http://www.sic.gov.co/recursos\\_user/documentos/publicaciones/Boletines/Boletin\\_biorremediacion\\_09052014.pdf](http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/publicaciones/Boletines/Boletin_biorremediacion_09052014.pdf).
  66. Tortella, G.R, Rubilar, O, Cea, M, Wulff, C, Martínez, O, & Diez, M.C. (2010). BIOSTIMULATION OF AGRICULTURAL BIOBEDS WITH NPK FERTILIZER ON CHLORPYRIFOS DEGRADATION TO AVOID SOIL AND WATER CONTAMINATION. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(4), 464-475. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162010000200007>.
  67. Uqab, B., Mudasir, S., & Nazir, R. (2016). Review on Bioremediation of Pesticides. *Journal Of Bioremediation & Biodegradation*. doi: 10.4172/2155-6199.1000343.
  68. Villaverde, J., Rubio-Bellido, M., Lara-Moreno, A., Merchan, F., & Morillo, E. (2018). Combined use of microbial consortia isolated from different agricultural soils and cyclodextrin as a bioremediation technique for herbicide contaminated soils. *Chemosphere*, 193, 118–125. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.172.

- 69.** Villaverde, J., Rubio-Bellido, M., Merchán, F., & Morillo, E. (2017). Bioremediation of diuron contaminated soils by a novel degrading microbial consortium. *Journal Of Environmental Management*, 188, 379-386. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.12.020.
- 70.** Yadav, I., Devi, N., Syed, J., Cheng, Z., Li, J., Zhang, G., & Jones, K. (2015). Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: A comprehensive review of India. *Science Of The Total Environment*, 511, 123-137. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.041.
- 71.** Zenker, A., Cicero, M. R., Prestinaci, F., Bottoni, P., & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of Environmental Management*, 133, 378–387. doi:10.1016/j.jenvman.2013.12.017
- 72.** Zuo, Z., Gong, T., Che, Y., Liu, R., Xu, P., Jiang, H., ... Yang, C. (2015). Engineering *Pseudomonas putida* KT2440 for simultaneous degradation of organophosphates and pyrethroids and its application in bioremediation of soil. *Biodegradation*, 26(3), 223–233. doi:10.1007/s10532-015-9729-2.