



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA



TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

“CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS CON CAPACIDAD BIORREMEDIADORA DE PESTICIDAS, Piretroides (CIPERMETRINA), Organofosforados (CLORPIRIFOS) Y N-(fosfometil) glicina (GLIFOSATO).”

AUTOR:

Ing. Rodríguez Acosta Jorge Luis
Jorgelaco.rodriguez@uteq.edu.ec

DIRECTOR :

Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez

Quevedo – Los Ríos - Ecuador.

2018

INTRODUCCION

Pesticidas Piretroides



Obtenidos a partir (*Crisanthemum spp.*), piretrina usada desde 1850

Tipo I (Sx T: temblor)	Tipo II (Sx CS: coreoatetosis-salivación)
<ul style="list-style-type: none">AletrinaTetrametrinaPermetrina 	<ul style="list-style-type: none">CipermetrinaDeltametrina 

Dos grupos principales : : Tipo I (carece del grupo alfa-ciano) y Tipo II (la posee) permanece mas tiempo en el ambiente



Usados ampliamente para el control de insectos plaga



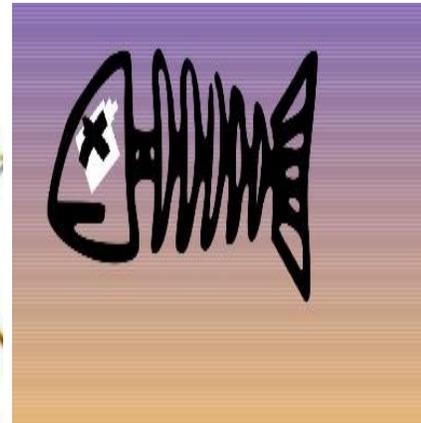
Residualidad en tejidos de plantas y suelo



Abeja



Avispa



Baja selectividad , afecta especies benéficas



44,9 % de pesticidas a nivel mundial son piretroides (Zaccagnini 2011)

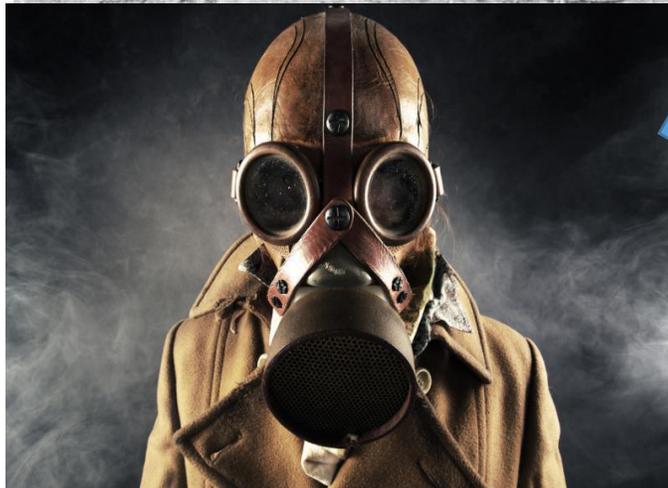
INTRODUCCION

Pesticidas Organofosforados son “sobras” de armas químicas (gases neurotóxicos) de la primera guerra mundial

Uso de los organofosforados en la agricultura es cada vez mas creciente

Glifosato uno de los herbicidas mas usados para el control de malezas

Pesticidas Organofosforados



Usado como insecticida para un amplio rango de cultivos en el Ecuador



Fuente: Seed Ranch 2014

INTRODUCCION

Efectos de pesticidas sobre el medio Ambiente

Generación de organismos resistentes

Persistencia ambiental de residuos tóxicos

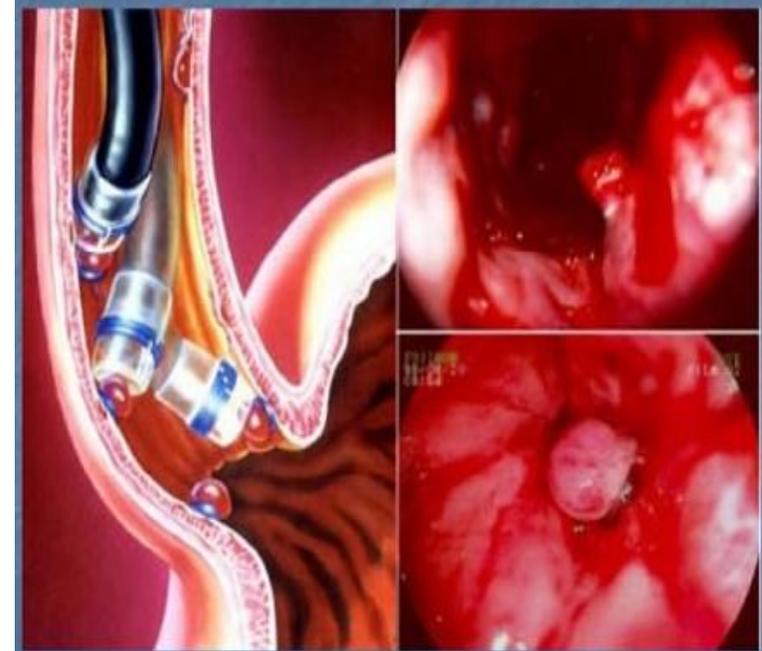
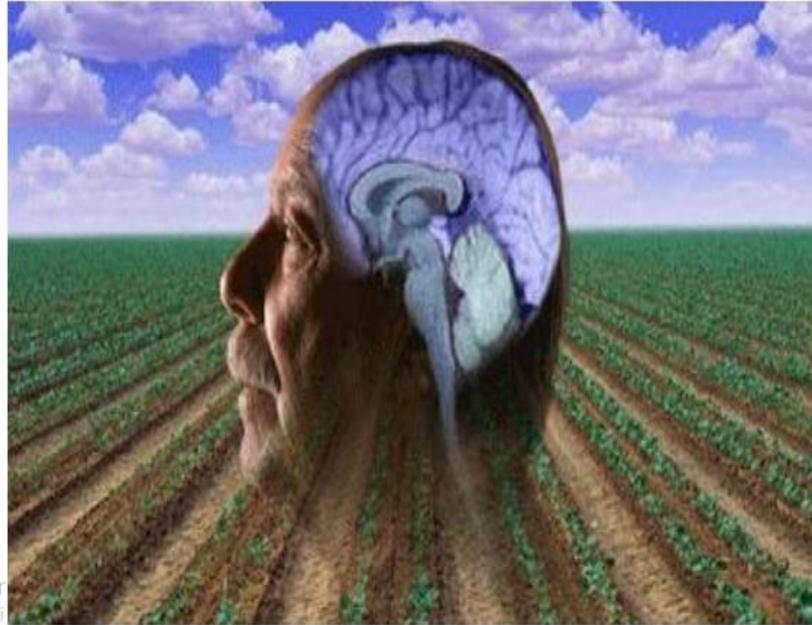
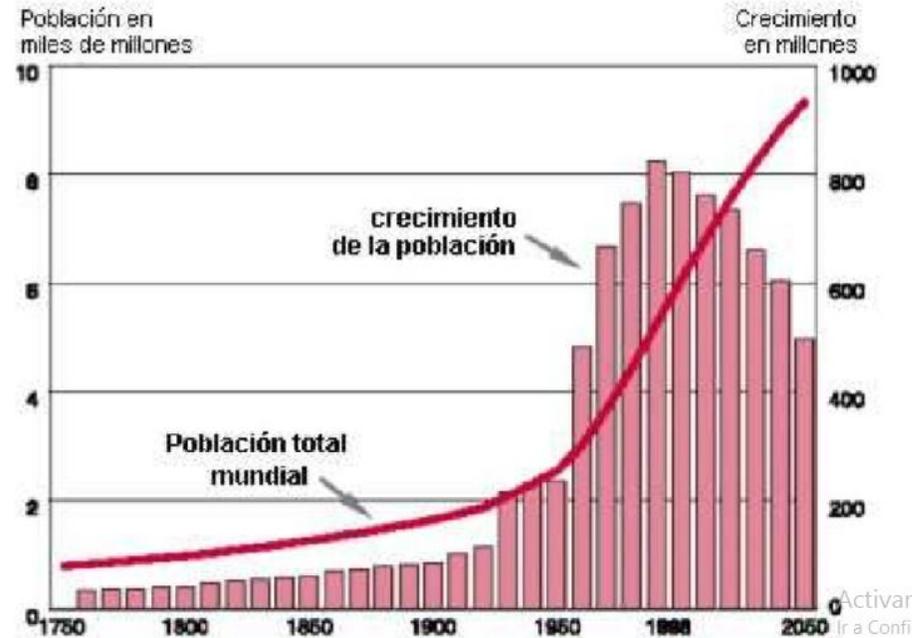
Contaminación de recursos hídricos

Degradación de la flora y fauna

Problemas en la salud humana



Efectos de pesticidas sobre el medio Ambiente



Bioremediación de suelos contaminados

Biodep



Agrequima 2010

- ✓ Creado en Suecia como camas biológicas (Torstensson, L. and M. d. P. Castillo (1997).
- ✓ Compuesta en su mayoría por un sustrato vegetal(arroz , tigo , maíz) fuente de energía para microorganismos descomponedores de moléculas de pesticidas
- ✓ Usada para verter excedentes de pesticidas para su posterior degradación microbológica
- ✓ Posibles usos para aislamiento de microorganismos degradadores de moléculas específicas de pesticidas

Degradación enzimática

Remediación microbiana

Fitorremediación

BIORREMEDIACIÓN

1. OBJETIVOS

1.1. General

Evaluar la capacidad biorremediadora del consorcio microbiano de cama biológica (Biodep) en pesticidas, Piretroide (cipermetrina), Organosfoforado (clorpirifos) y N-fosfonometil glicina (glifosato).

1.2. Específicos

- Analizar el consorcio microbiano de la cama biológica (Biodep) proveniente de la Finca La María, UTEQ.
- Seleccionar microorganismos de adaptación, en medios minerales constituidos con el 10 % de piretroide (cipermetrina), organosfoforado (clorpirifos) y N (fosfonometil) glicina (glifosato).
- Caracterizar microorganismos en base a relación morfológica y bioquímica de capacidad degradadora de pesticidas.

METODOLOGIA



Cama biológica "Biodep"



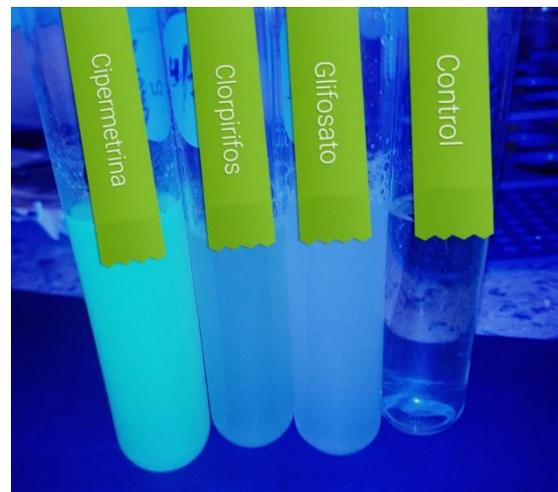
Toma de muestras de suelo



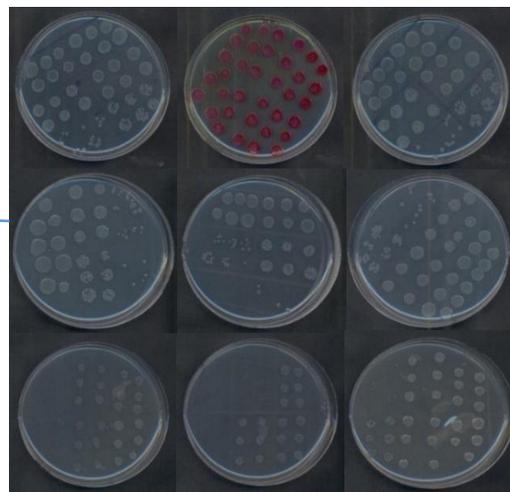
Siembra inicial de muestras en medio de cultivo King B



Siembra de preinoculo en medio mineral contaminado de piretroide (cipermetrina), organosforado (clorpirifos) y N (fosfometil) glicina (glifosato).



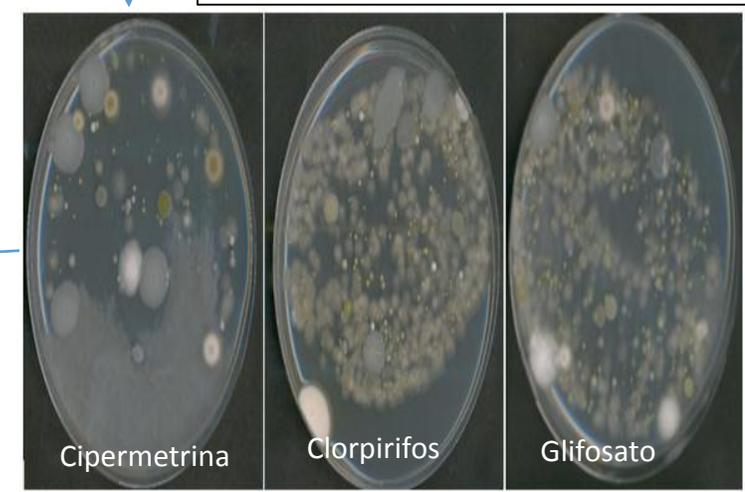
Ensayos de biodegradación de las cepas seleccionadas



Caracterización de cepas seleccionadas como degradadoras de pesticidas

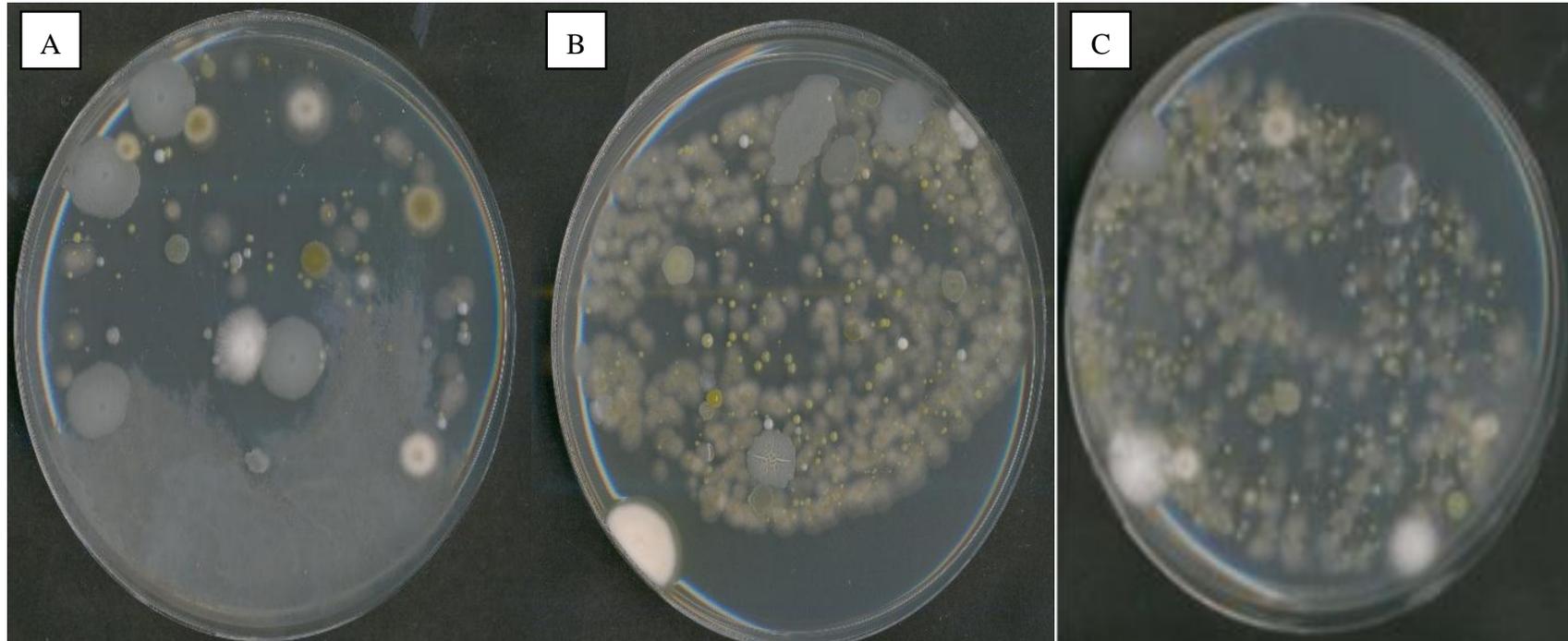


pruebas individuales de adaptación en medio contaminado (0.01 , 1 y 5 %)



Observación del desarrollo de las colonias microbianas 48 horas después de la inoculación

Resultados



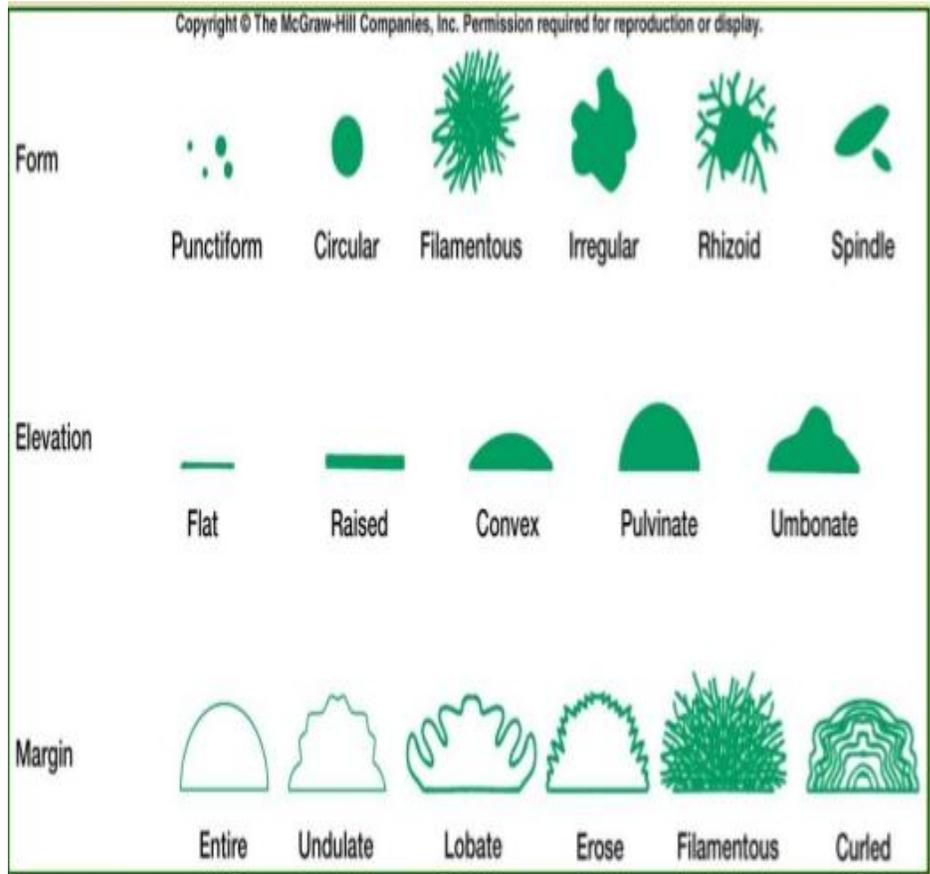
Aislamiento de microorganismos descomponedores de pesticidas. **A**, consorcio microbiano desarrollado en medio contaminado con glifosato. **B**, consorcio microbiano desarrollado en medio contaminado con Cipermetrina. **C**, consorcio microbiano desarrollado en medios contaminado con Clorpirifos.

Resultados

Aislado	Antibiótico	Fungicida	0,01%	1%	5%
cp1	0	1	1	1	1
cp2	0	1	1	1	1
cp3	0	1	1	1	1
cp4	0	1	1	1	0
cp5	1	0	1	0	0
gl1	0	1	1	1	1
gl2	0	1	1	1	1
gl3	0	1	1	1	1
gl4	1	0	1	0	0
cl1	0	1	1	1	1
cl2	0	1	1	1	1
cl3	0	1	1	1	1
cl4	1	0	1	1	0
cl5	1	1	1	0	0
cl6	1	1	1	0	0

Clasificación microbiana en diferentes concentraciones de contaminantes

Clave de identificación morfológica

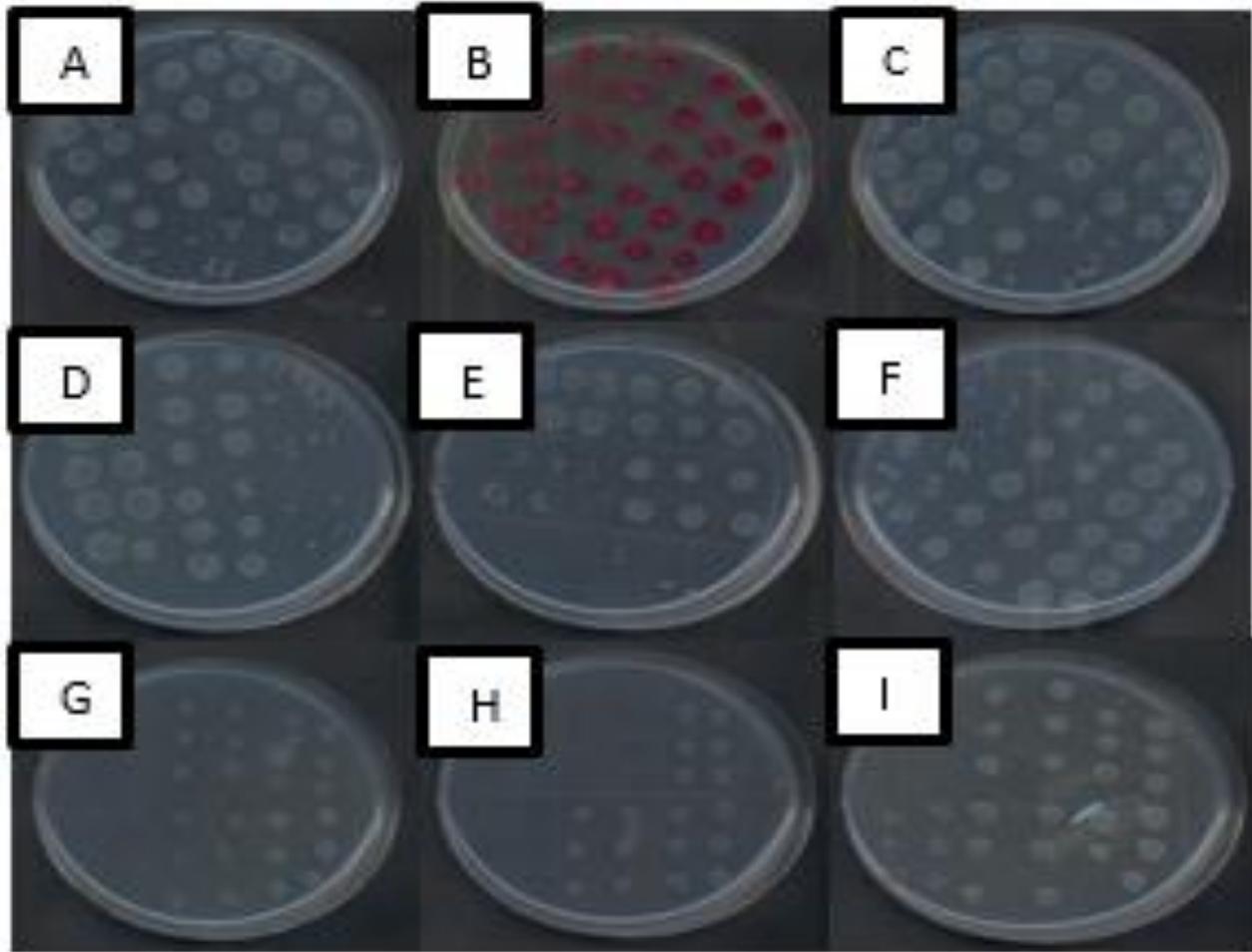


Resultados

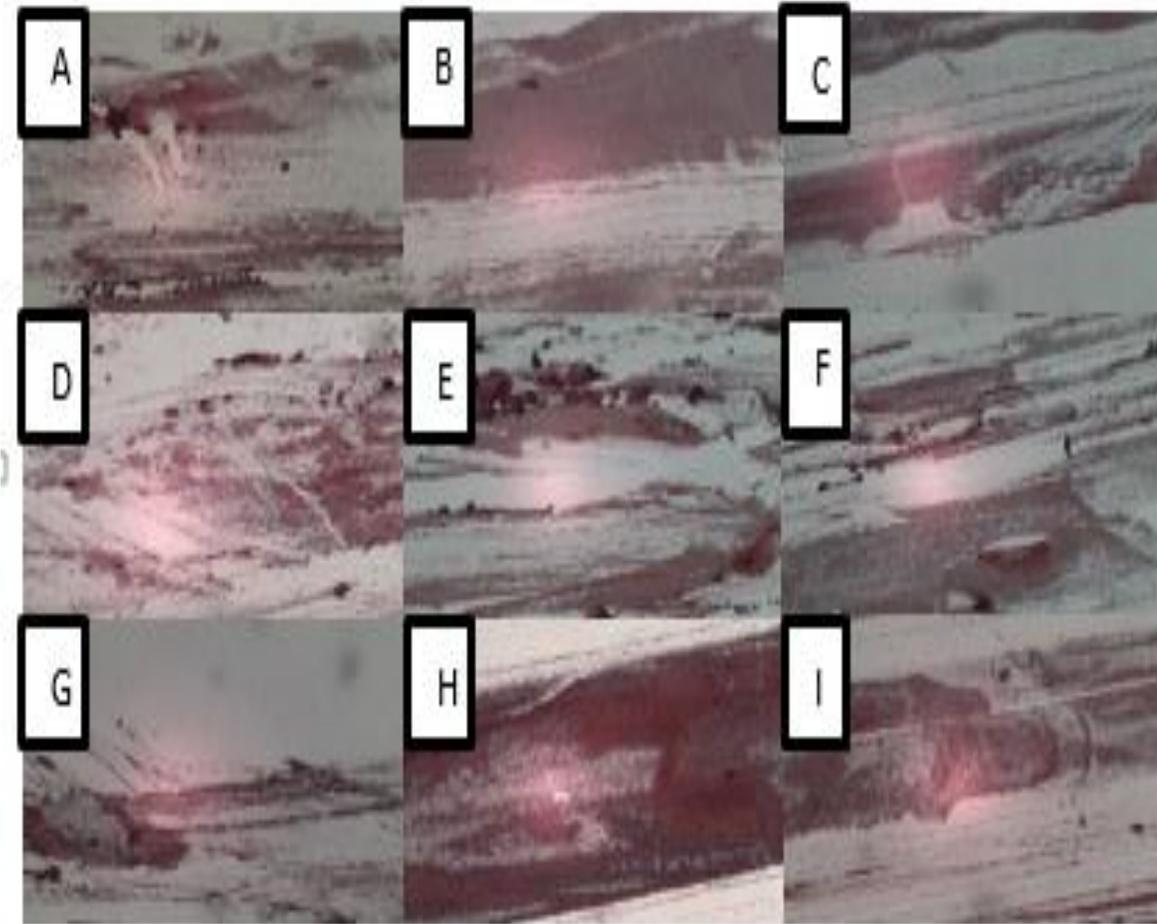
CEPA	FORMA			ELEVACIÓN			MARGEN			CATALASA		PROTEASA	
	C	F	G	P	C	PL	E	O	D	P	N	P	N
CL1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
CL2	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
CL3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
CP1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
CP2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
CP3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
GL1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
GL2	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
GL3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0

Caracteres morfológicos y bioquímicos. FORMA: Circular (C), Filamentosa (F), Granular (G). ELEVACION: Plana (P), Convexa (C), Pulvinada (PL). MARGEN: Entera (E), Ondulada (O), Lobulada (L). CATALASA Y PROTEASA: Positivo (P), Negativo (N).

Resultados

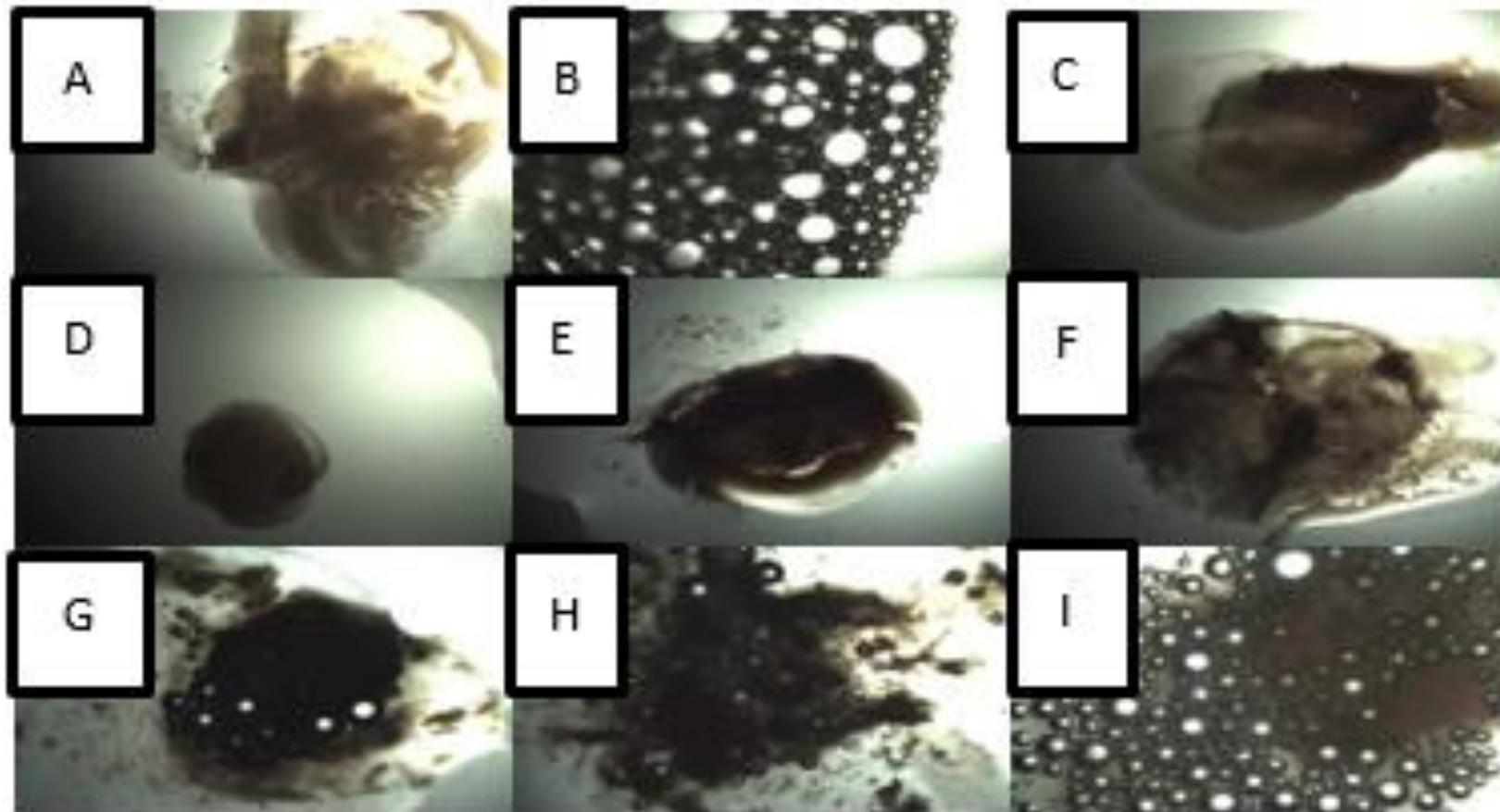


. **Caracteres morfológicos coloniales.** Corresponden a la evaluación de las cepas a las 48 horas de crecimiento en medio King B sólido, **A** CL1, **B** CL2, **C** CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. **D** CP1, **E** CP2, **F** CP3, grupo Cipermetrina. **G** GL1, **H** GL2, **I** GL3, grupo Glifosato.



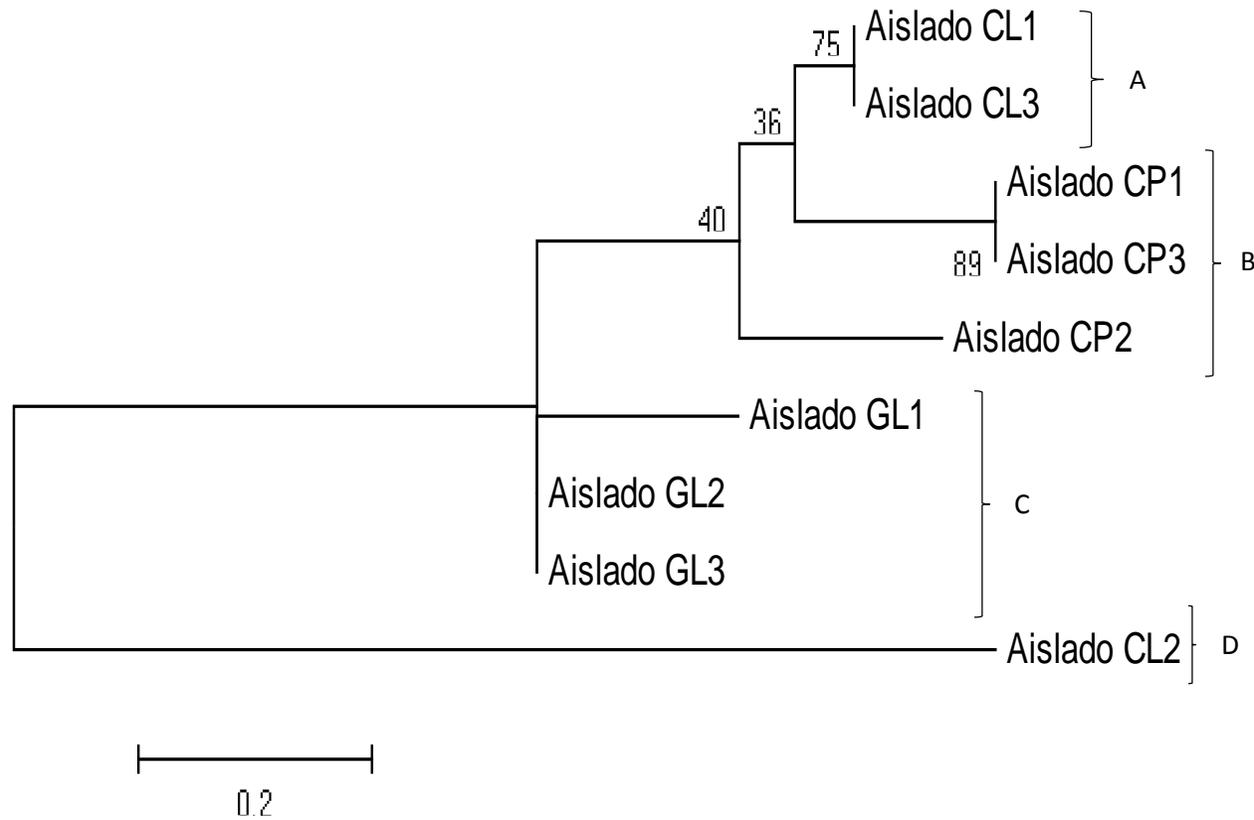
Tinción de GRAM. Células bacterianas con 24 horas de crecimiento en medio de cultivo sólido, **A** CL1, **B** CL2, **C** CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. **D** CP1, **E** CP2, **F** CP3, grupo Cipermetrina. **G** GL1, **H** GL2, **I** GL3, grupo Glifosato.

Resultados



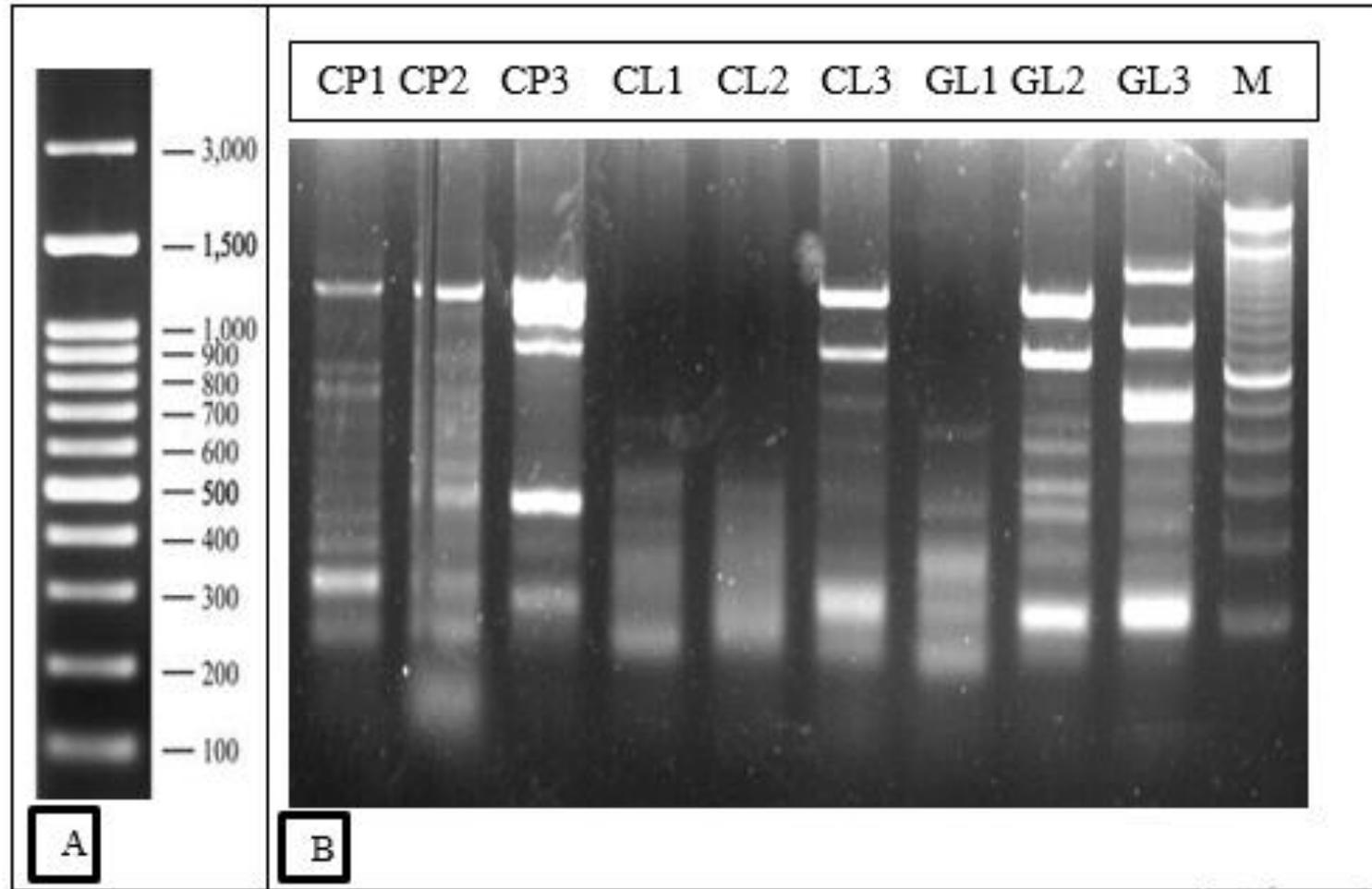
Prueba de catalasa., A CL1, B CL2, C CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. D CP1, E CP2, F CP3, grupo Cipermetrina. G GL1, H GL2, I GL3, grupo Glifosato.

Resultados



Relación filogenética de aislados asociados a degradación de pesticidas. Dendrograma construido con datos de caracteres morfológicos y bioquímicos de los aislados correspondientes a la degradación de *Piretroides* (CIPERMETRINA), Organofosforados (*CLORPIRIFOS*) Y *N*-(*fosfonometil*) *glicina* (GLIFOSATO). La distancia evolutiva se dedujo empleando el método Neighbor-Joining. El árbol filogenético se construyó empleando Maximum Composite Likelihood. Los números representan porcentajes de bootstrap.

Resultados



Perfiles electroforéticos generados por ERIC-PCR. A, marcador de peso molecular. B, mapeo genómico de las cepas correspondientes a la degradación de PESTICIDAS, CP1, CP2, CP3, grupo correspondiente al tratamiento Cipermetrina. CL1, CL2, CL3, grupo Clorpirifo y GL1, GL, GL3, grupo Glifosato.

Resultados

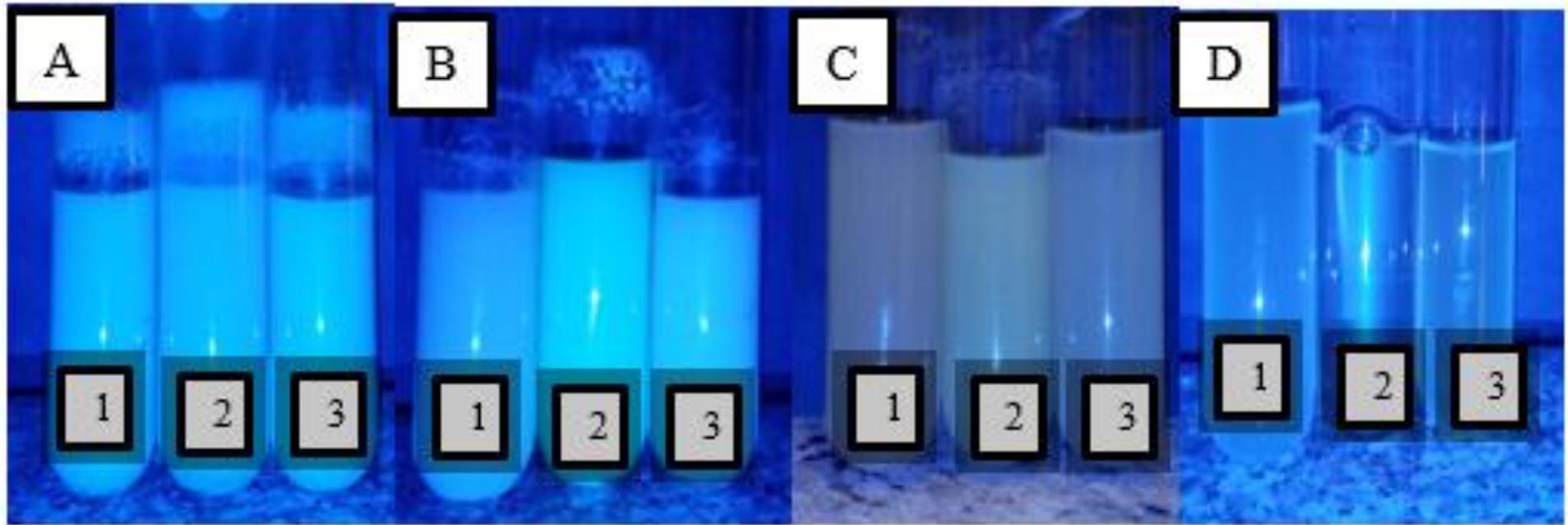
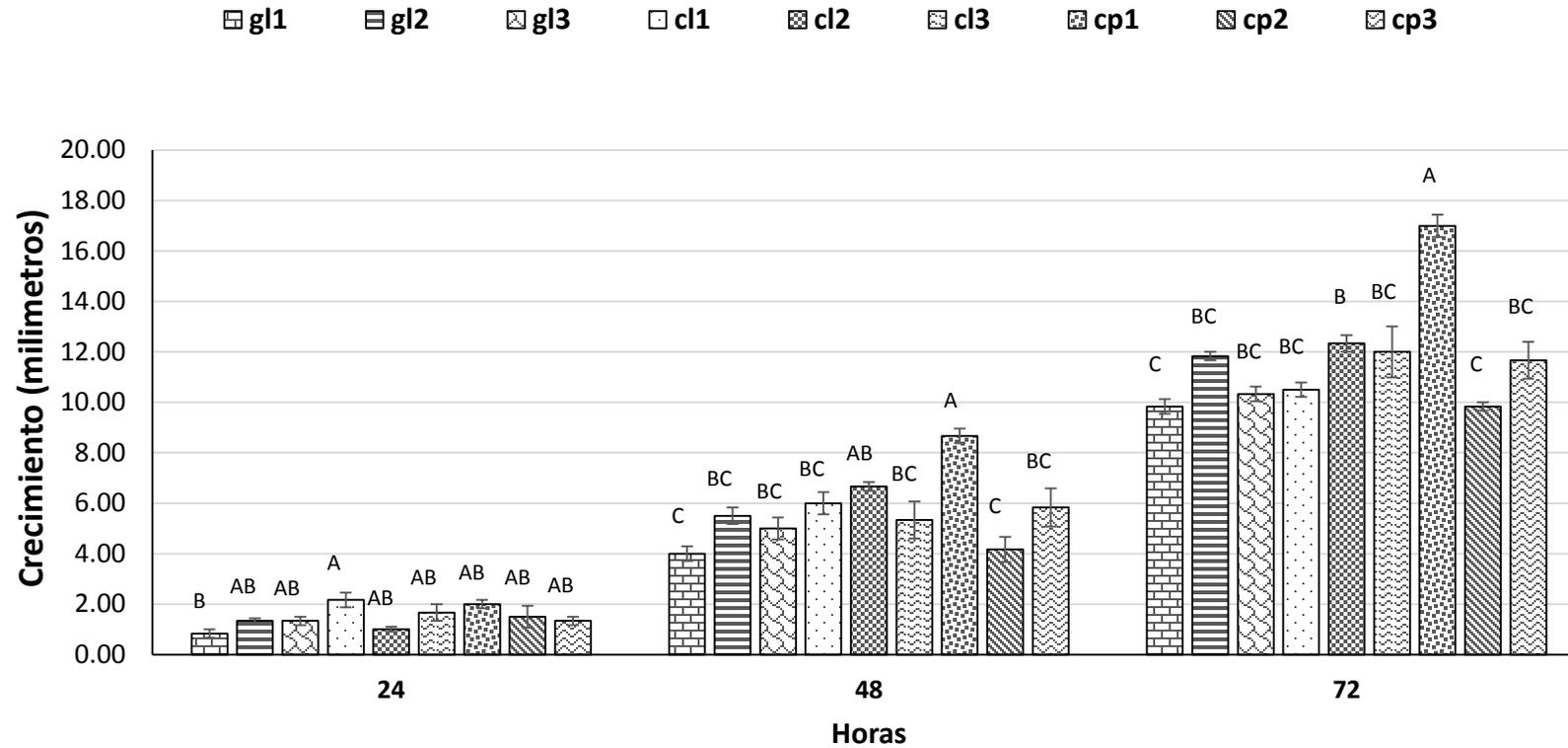


Figura 9. Desarrollo de microorganismos en medios contaminados. A, grupo perteneciente al apartado Cipermetrina A1, aislado CP1, A2, aislado CP2, A3, aislado CP3. B, grupo Clorpirifo, B1, aislado CL1, B2, aislado CL2, B3, aislado CL3. C, grupo glifosato, C1, aislado GL1, C2, aislado GL2, C3, aislado GL3. C, hongos procedentes de los apartados Cipermetrina, Clorpirifo y Glifosato, D1, aislado CP4, D2, aislado CL4, D3 aislado GL6.

Resultados

CRECIMIENTO COLONIAL



Velocidad de crecimiento bacteriano en medios contaminados. Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$). Las barras indican el crecimiento bacteriano correspondiente de cada tratamiento, mostrando resultados simultáneos a las 24,48 y 72 horas después de la inoculación.

Resultados

Degradación Cipermetrina

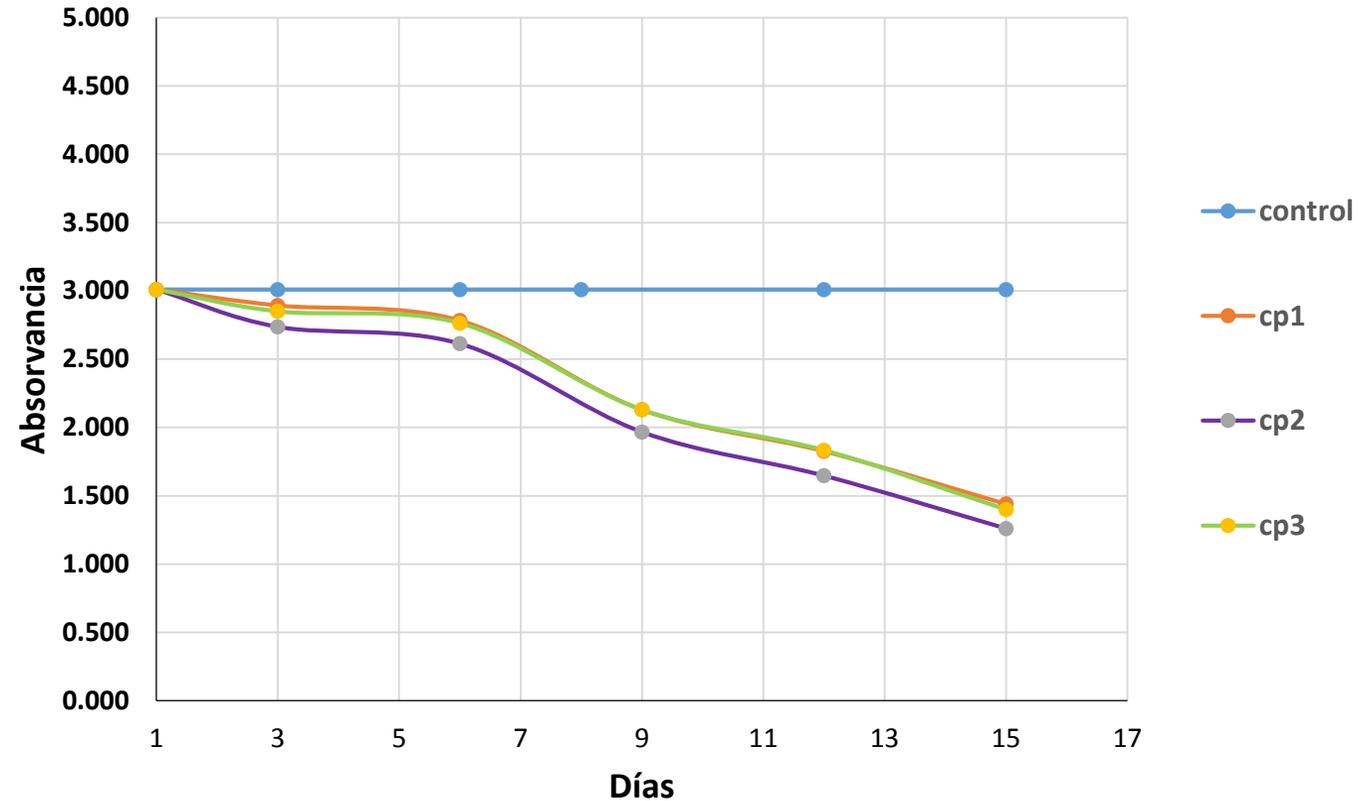
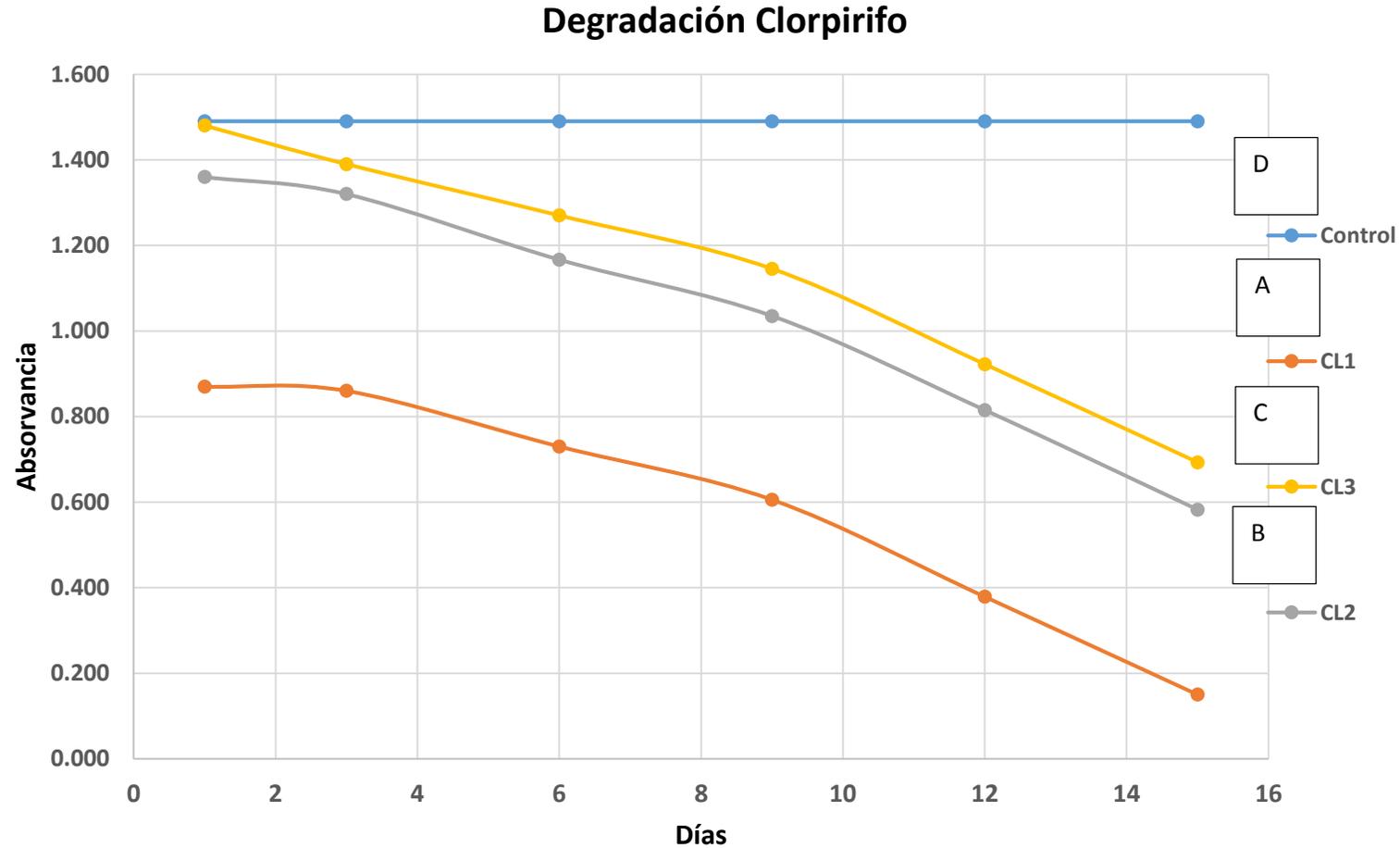


Figura 11. Espectrofotometría Degradación de Cipermetrina. Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las y muestra los valores de absorbancia y eje de las x proyección en días.

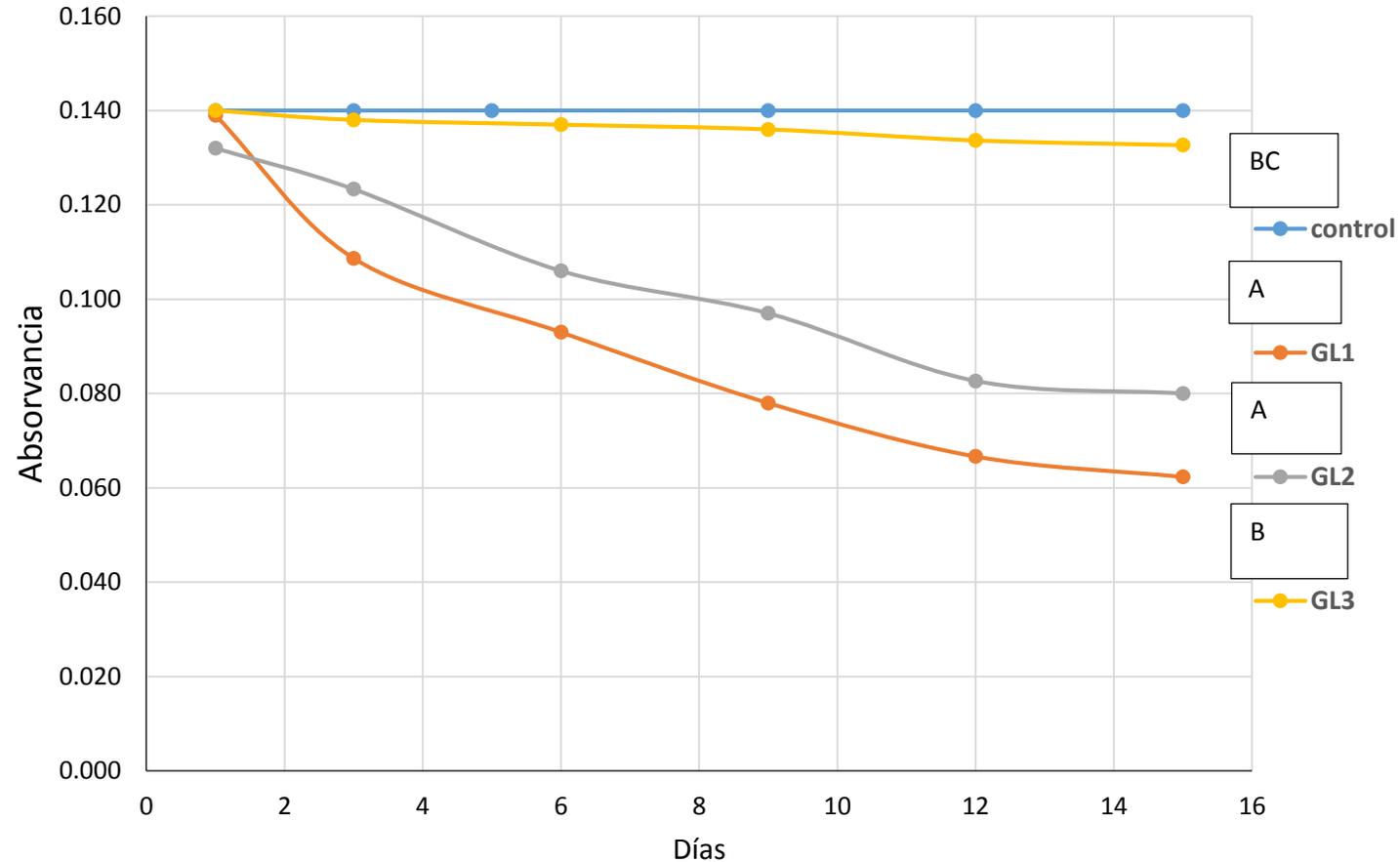
Resultados



Espectrofotometría Degradación de Clorpirifo. Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las y muestra los valores de absorbancia y eje de las x proyección en días.

Resultados

Degradación Glifosato



Espectrofotometría Degradación de glifosato. Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las Y muestra los valores de absorbancia y eje de las X proyección en días.

A small, vibrant green tree with a dense canopy is growing out of a globe. The globe is cut in half, revealing the soil and roots of the tree. The background is a soft, out-of-focus natural setting with green and brown tones.

La contaminación nunca debería ser el precio de la prosperidad

-Al Gore

lifeder