



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**PROGRAMA DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

**INSTITUTO DE GEOLOGÍA**

**“INFLUENCIA DEL NITRÓGENO SOBRE LA  
MIGRACIÓN DE ATRAZINA EN SUELO”**

**T E S I S**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

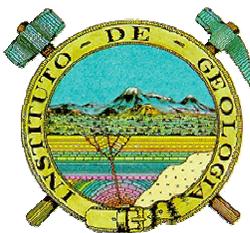
**(GEOLOGÍA AMBIENTAL)**

**P R E S E N T A:**

**ROSA ANGÉLICA GUILLÉN GARCÉS**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DRA. ANNE M. HANSEN**



MÉXICO D.F.

2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por su financiamiento y apoyo para la realización de los estudios de doctorado.

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), por permitirme el uso de las instalaciones para desarrollar la presente investigación.

Al comité tutorial Dra. Anne M. Hansen, Dr. Manfred van Afferden y Dra. Christina Siebe por su paciencia, entusiasmo y compromiso para la dirección de este trabajo.

Al jurado de examen Dra. Susana Saval Bohórquez, Dra. Banca Jiménez Cisneros, Dr. Marcos A. Ortega Guerrero, Dra. Pilar Ortega Larrocea, Dr. Mario Vilalobos Peñalosa, por sus comentarios y sugerencias.

A Mariana Villada Canela, Luis Carlos González Márquez, Diana Navarro, Adriana Villa Navia, por su colaboración y compañerismo en el laboratorio de Hidrogeoquímica del IMTA.

---

## **Dedicatoria**

### **A Dios**

Padre te agradezco el estar conmigo en todo momento.

EBEN-EZER

### **A mi esposo**

Por el apoyo y amor que siempre me haz dado.

Te amo

### **A mis hijos**

Por su paciencia y amor.

Los amo mis pequeños

### **A toda mi familia**

Por su apoyo.

### **A mis hermanos en Cristo**

Por sus oraciones.



<b>Índice</b>	
Resumen	viii
Abstract	xi
1 Introducción	1
2 Marco teórico y antecedentes	4
2.1 Uso de atrazina a nivel internacional y nacional	4
2.2 Normatividad sobre el uso de atrazina	6
2.3 Propiedades fisicoquímicas de la atrazina	8
2.4 Toxicidad	9
2.5 Prácticas agrícolas del uso de atrazina	10
2.6 Migración de atrazina en el suelo hacia el agua subterránea	11
2.6.1 Transporte de atrazina en el suelo	12
2.6.1.1 Transporte por advección	13
2.6.1.2 Transporte por difusión molecular	14
2.6.1.3 Transporte por dispersión	15
2.6.1.4 Coeficiente de dispersión hidrodinámica	16
2.6.1.5 Flujos preferenciales	16
2.6.2 Adsorción de atrazina en suelo	17
2.6.3 Biodegradación de atrazina en suelo	19
2.6.3.1 Crecimiento microbiano y consumo de sustrato	21
2.6.3.2 Descripción matemática	23
2.7 Inhibición de la biodegradación de atrazina en el suelo	27
2.7.1 Procesos fisicoquímicos	27
2.7.2 Procesos biológicos	29
2.7.3 Inhibición de la degradación de atrazina	32
3 Justificación, objetivos e hipótesis	35
3.1 Justificación	35
3.2 Objetivo general	36
3.2.1 Objetivos específicos	36
3.2.2 Hipótesis	36
4 Metodología	37
4.1 Selección de los sitios de muestreo	37

---

---

4.2 Muestreo	38
4.3 Caracterización de las muestras de suelo	41
4.4 Mineralización de atrazina en suelo	42
4.4.1 Respiración microbiana del suelo	44
4.4.2 Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo	47
4.5 Mineralización de atrazina en medio líquido	49
4.5.1 Aislamiento y caracterización de microorganismos	49
4.5.1.1 Preparación de inóculo	49
4.5.1.2 Crecimiento de microorganismos en medio líquido	50
4.5.1.3 Crecimiento de microorganismos en medio sólido	51
4.5.2 Rendimiento de la biomasa como función del nitrógeno disponible en la estructura molecular	51
4.5.3 Inhibición de mineralización de atrazina en medio líquido en condiciones limitadas y no limitadas de nitrógeno	52
4.6 Adsorción de atrazina en suelo	53
4.7 Dispersión de atrazina en suelo	55
4.7.1 Diseño de columnas de suelo para determinar el coeficiente de dispersión	56
4.7.2 Dispersión de atrazina en columna de suelo	57
5 Resultados y discusiones	59
5.1 Caracterización de las muestras de suelo	59
5.2 Mineralización de atrazina en suelo	61
5.2.1 Mineralización de atrazina en diferentes muestras de suelo	61
5.2.2 Respiración microbiana del suelo	63
5.2.3 Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo	65
5.2.4 Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo no limitado con carbono	68
5.3 Mineralización de atrazina en medio líquido	70
5.3.1 Cultivo microbiano	70
5.3.2 Rendimiento de la biomasa microbiana como función del nitrógeno disponible en la estructura molecular	71

5.3.3 Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en medio líquido_____	-73
5.4 Comparación del efecto inhibitorio entre el sistema suelo y el sistema agua	74
5.5 Adsorción de atrazina en suelo_____	77
5.6 Dispersión de atrazina en suelo_____	77
5.7 Migración de atrazina en el suelo hacia el agua subterránea_____	80
6 Conclusiones_____	84
7 Recomendaciones_____	86
8 Literatura citada _____	87
Anexo 1. Área de estudio _____	107
Anexo 2. Metodología para la caracterización de las muestras de suelo	112
Anexo 3. Hojas de entrada para el modelo Victor 0.1_____	125
Anexo 4. Análisis de sensibilidad del modelo Victor 0.1_____	128

## Índice de cuadros

Cuadro 2.1 Situación legal del uso de atrazina y límites permisibles en agua para consumo humano	7
Cuadro 2.2 Propiedades fisicoquímicas de la atrazina	9
Cuadro 4.1 Ubicación de los puntos de muestreo en el DR 063	40
Cuadro 4.2 Métodos utilizados para la caracterización de las muestras de suelo	42
Cuadro 4.3 Diseño experimental para la cuantificación de la capacidad respiratoria del suelo en presencia de diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno	46
Cuadro 4.4 Concentraciones de nitrógeno aplicadas al suelo para los experimentos de inhibición de la mineralización de atrazina en suelo limitado de carbono	48
Cuadro 4.5 Concentraciones de nitrógeno y carbono aplicadas al suelo para los experimentos de inhibición de la mineralización de atrazina en suelo no limitado de carbono	49
Cuadro 4.6 Composición de medios de cultivo utilizados para el crecimiento de microorganismos en 100 mL de agua	50
Cuadro 4.7 Concentraciones de nitrógeno adicionadas al medio líquido	52
Cuadro 4.8 Concentraciones de N-KNO <sub>3</sub> utilizadas para los experimentos de degradación de atrazina en medio líquido	53
Cuadro 5.1 Caracterización de las muestras de suelo	60
Cuadro 5.2 Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en diferentes muestras de suelo	62
Cuadro 5.3 Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) adicionando diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante	67

---

---

Cuadro 5.4 Determinación de producción de biomasa variando la concentración de KNO<sub>3</sub> y atrazina como fuente de atrazina\_\_\_\_\_72

Cuadro 5.5 Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en suelo (muestra 1) adicionando diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante\_\_\_\_\_ 73

Cuadro 5.6 Coeficientes de adsorción de atrazina en suelo\_\_\_\_\_ 77

Cuadro 5.7 Resultado de dispersión de atrazina en suelo\_\_\_\_\_ 80

## Índice de figuras

Figura 1.1	Vías de degradación de atrazina (adaptada de Zeng et al., 2001)	2
Figura 2.1	Aplicación del herbicida atrazina con tractor y con mochila	10
Figura 2.2	Procesos que afectan el transporte de herbicidas en suelo	12
Figura 2.3	Proceso de transporte de herbicidas en el suelo (A) Advección, (B) y (C) Dispersión mecánica y (D) difusión molecular (Freeze y Cherry, 1979)	13
Figura 2.4	Transporte preferencial y uniforme (Freeze y Cherry, 1979)	17
Figura 2.5	Curva de crecimiento microbiano	23
Figura 2.6	Descripción de la relación entre los microorganismos, la estructura del suelo y plaguicida (adaptada de Mihelcic y Luthy, 1991)	28
Figura 2.7	Vías tortuosas por las que las moléculas atraviesan un medio poroso (Freeze y Cherry, 1979)	29
Figura 2.8	Vías de degradación de atrazina (adaptada Zeng et al., 2001)	31
Figura 4.1	Metodología para evaluar la influencia de las diferentes concentraciones de nitrógeno en suelo sobre la migración de atrazina	37
Figura 4.2	División en lotes del campo experimental "El Trapecio" Cárdenas, Tabasco	39
Figura 4.3	Módulos del DR 063 Guasave, Sinaloa (Coordenadas en unidades UTM)	40
Figura 4.5	Sistema para cuantificar la respiración microbiana en suelo (van Afferden et al., 2002)	47
Figura 4.6	Metodología para evaluar la adsorción de herbicidas en el suelo	55
Figura 4.7	Columnas utilizadas para evaluar la dispersión de atrazina en muestras de suelo	57
Figura 4.8	Procedimiento para evaluar la dispersión de atrazina en	

---

---

columnas de suelo_____	58
Figura 5.1 Mineralización de atrazina muestras de suelo procedentes de Cárdenas Tabasco_____	63
Figura 5.2 Respiración microbiana de suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) con diferentes concentraciones de carbono_____	64
Figura 5.3 Respiración en suelo Procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) no limitado con carbono y con diferentes concentraciones de nitrógeno_____	65
Figura 5.4 Mineralización de atrazina en suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante_____	66
Figura 5.5 Mineralización de atrazina en suelo (muestra 1) no limitado con carbono en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante_____	69
Figura 5.6 Rendimiento de biomasa microbiana en medio líquido variando la concentración de KNO <sub>3</sub> y atrazina como fuente de nitrógeno_____	72
Figura 5.7 Mineralización de atrazina en medio líquido en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante_____	74
Figura 5.8 Inhibición de la mineralización de atrazina en suelo (a) y medio líquido (b) por la presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno_____	76
Figura 5.9 Isotermas de Freundlich para adsorción de atrazina en suelos_____	77
Figura 5.10 Transporte de atrazina en columnas de suelo_____	78

## Resumen

La atrazina es un herbicida triazinico selectivo usado para eliminar hierba de hoja ancha en cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, frijol, soya, piña, plátano, entre otros. Debido a sus características fisicoquímicas, movilidad y persistencia en el ambiente, se ha considerado un contaminante orgánico persistente, prohibiendo y restringiendo su uso en la Unión Europea, Canadá y Estados Unidos. Sin embargo, en países de Asia, África y Latinoamérica, el uso de atrazina no está restringido ni prohibido.

La mineralización de atrazina que incluye la ruptura del anillo triazinico es muy importante para los procesos de disipación y migración de este herbicida en el medio ambiente. Ha determinado que la atrazina es fuente de nitrógeno para los microorganismos, por lo que la presencia de fertilizantes nitrogenados en el suelo inhibe la mineralización de este herbicida. Debido a que la atrazina es una fuente de nitrógeno para los microorganismos, compite con el fertilizante contenido en el suelo, lo que inhibe su mineralización. Hasta el momento sólo se ha determinado que la presencia de nitrógeno inhibe la mineralización, pero no se ha considerado el nivel de concentración de nitrógeno que afecta la mineralización del anillo triazinico.

Por tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia de diferentes concentraciones de nitrógeno sobre la migración de atrazina en zonas tropicales, considerando niveles de fertilización similares e inferiores a las recomendaciones de aplicación en campo.

Para lo cual se realizaron los siguientes pasos: con base en la profundidad del nivel freático, concentración de nitrógeno en el suelo, tipo de suelo, capacidad de degradar atrazina, se seleccionó un suelo para la investigación y se realizó el muestreo. Del suelo seleccionado se aislaron siete

especies, de las cuales tres crecieron en medio que contenía atrazina como única fuente de nitrógeno. Asimismo, se realizó la mineralización de atrazina en suelo y medio líquido en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno, y se determinó la dinámica de la atrazina en suelo, considerando la adsorción, dispersión y biodegradación.

La mineralización de atrazina en suelo varió entre 6 y 99 % después de 18 d de incubación, mientras que la vida media varió de 0.99 a más de 18 d. Asimismo, la cinética de mineralización y el grado de mineralización fueron inversamente proporcional a la concentración de nitrógeno disponible en el suelo.

En medio líquido, se obtuvo una vida media de 0.12 d en ausencia del fertilizante nitrogenado y de 79 d en presencia de 1 000 mg L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub>-N. Asimismo, sólo el 20 % de la atrazina fue mineralizada después de 18 d de incubación en presencia de 1 000 mg L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>-N, mientras que en ausencia de fertilizante nitrogenado el grado de mineralización de atrazina fue mayor al 90 % después de 2 días. Por tanto, estos resultados demuestran que la mineralización de atrazina es parcialmente inhibida en concentraciones similares a las recomendaciones de aplicación en campo.

También se pudo observar que la inhibición de la mineralización en suelo es menor que medio líquido, debido probablemente al grado de complejidad de la matriz del suelo. Lo que puede explicar el porque la atrazina es más persistente en cuerpos de agua que en el suelo.

Considerando que la mineralización es principal mecanismo de disipación de atrazina en el ambiente, la inhibición total de la mineralización debido a la sobrefertilización de los suelos permitirá la migración de atrazina hacia diferentes cuerpos de agua, contaminándolos y favoreciendo la persistencia de este herbicida en el ambiente. Mientras que en suelos con concentraciones de nitrógeno similares a las recomendaciones de

aplicación en campo, la inhibición es parcial, disminuyendo la posibilidad de contaminación por infiltración.

El presente documento puede ser utilizado como herramienta para establecer restricciones y normatividad del uso de atrazina en México y zonas tropicales.

## Abstract

Atrazine is a selective triazine herbicide used to control broadleaf and grassy weeds in crops of corn, sugar cane, bean, sorghum, soy, pineapple, banana and others. Due to its physicochemical characteristics and mobility, it is considered to be a persistent organic contaminant. Now its use is prohibited or restricted in the European Union, Canada and the United States. On the other hand, atrazine use is not prohibited and restricted in Asia, Africa and Latin American countries.

The mineralization of atrazine that includes rupture of the N-bearing triazine ring, plays an important role in the dissipation and migration processes of this herbicide in the environmental. In this way, atrazine is a source of nitrogen for microorganisms that competes with nitrogen fertilizer in the soil, and thus inhibiting the mineralization of atrazine. Up to now, it has been determined that the presence of nitrogen fertilizers inhibits the mineralization of atrazine without taking in to consideration the concentration of nitrogen in the soil, that affects mineralization of the triazine ring.

Therefore, the main objective of this work is to evaluate the influence of different levels of concentration of nitrogen on the migration of atrazine in tropical zones, considering lower and similar levels of fertilizer concentrations as those applied field.

This work included the following steps: based on groundwater dept, soil nitrogen concentration, soil type, atrazine degradation capacity, a study area was defined and soil sampling carried out. The microorganisms of the soils were characterized, identifying at least seven species. The degrading capacity of these species suggests that only three are involved in the degradation of atrazine. Mineralization experiments were carried out for atrazine in the soil samples and in liquid media with soil bacteria in presence

of different concentrations of nitrogen. Likewise, the dynamics of the atrazine was determined including sorption, dispersion, and biodegradation.

The mineralization of atrazine in soils varied between 6% and 99% after 18 d of incubation. Half-lives of between 0.99 and more than 18 d were obtained. Mineralization kinetics and degree are related by a reciprocal trend to concentrations of available nitrogen in the soil. In liquid media, half-lives were calculated as 0.12 d in the absence of fertilizer nitrogen and as 79 d in the presence of 1,000 mg L<sup>-1</sup> of KNO<sub>3</sub>-N. Only 20% of atrazine was mineralized after 18 d of incubation in the presence of this concentration of KNO<sub>3</sub>-N, whereas higher than 90% mineralization occurred after 2 d of incubation in liquid medium without KNO<sub>3</sub>-N. The results demonstrated that the mineralization of atrazine is inhibited even at fertilizer nitrogen levels lower than typical field applications. Inhibition in soil is lower than that in liquid medium, possibly because of the higher complexity of the soil system. This may explain why atrazine that infiltrates to the groundwater is persistent.

Considering that the mineralization of atrazine in soil is the principal dissipation mechanism of this herbicide in the environment, a complete inhibition of this process will allow the migration of atrazine in overfertilized soil contaminating groundwater and favoring the persistence of this herbicide in the environment, while soils with nitrogen concentration similar to the ones recommended in soil applications, the inhibition is partially decreased and the possibility of contaminating groundwater decreased.

The present work may be used as an argument to establish atrazine restrictions and normativity in Mexico.

## 1. Introducción

El uso de plaguicidas en la agricultura se ha incrementado significativamente en las últimas décadas, ya que estos incrementan la productividad agrícola, controlando plagas y asegurando las cosechas. Sin embargo, debido a sus características físicas, químicas y toxicológicas, los plaguicidas se han relacionado con riesgos a la salud y contaminación del ambiente. Se estima que en México la producción de plaguicidas se ha incrementado de 12 mil toneladas de herbicidas en 1997 a 22 500 toneladas en el 2004, con un promedio anual de alrededor de 18 000 toneladas (INEGI, 2005).

Entre los plaguicidas figuran los herbicidas, compuestos que sirven para eliminar las malas hierbas en cultivos. Los grupos más importantes de herbicidas por su amplio uso en la agricultura y elevado riesgo para la salud pública son los derivados fenoxiacéticos, triazínicos y bupiridílicos (Albert, 1990).

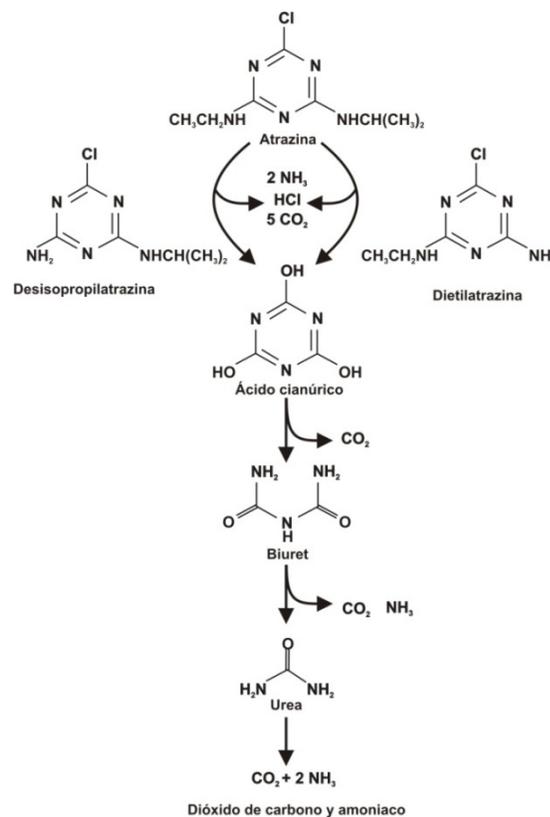
La atrazina herbicida triazínico es utilizada como herbicida selectivo (uso exclusivo para hierba de hoja ancha) en cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, frijol, soya, piña, plátano y como herbicida no selectivo (empleado para cualquier tipo de hierba) en zonas agrícolas no cultivadas (Belluck *et al.*, 1991).

A nivel mundial, la atrazina se clasifica como contaminante orgánico persistente y su uso está prohibido en varios países de la Unión Europea y restringido en los Estados Unidos, ya que ha sido detectado en cuerpos de agua tanto superficial como subterránea (Franti *et al.*, 1996).

Sin embargo, en la mayoría de los países de Asia, África y América, el uso de atrazina no está restringido ni prohibido (Pesticide Database, 2004). Por ejemplo, en México el uso de atrazina está registrado ante el CICOPALFEST

que es la Comisión Intersecretarial para el Control de Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST, 2004) pero no se ha regulado.

Se ha determinado que atrazina es un compuesto que tiene gran movilidad en los suelos, estabilidad en el ambiente, considerándola como un compuesto recalcitrante (Kaufman y Kearney, 1980; Winkelmann y Klaine, 1991), que potencialmente puede contaminar las aguas subterráneas (Kruger *et al.*, 1993). Aún así se han obtenido mineralizaciones rápidas y completas del anillo de atrazina (Radosevich *et al.*, 1995). Esta contradicción se debe a que la atrazina es metabolizada hasta biuret y urea (Figura 1.1), compuestos que sirven como fuente de nitrógeno para los microorganismos (Martens y Bremmer, 1997; Bichat *et al.*, 1999).



**Figura 1.1.** Vías de degradación de atrazina (adaptada de Zeng *et al.*, 2001)

Asimismo se ha evaluado que la degradación de atrazina disminuye en forma drástica en presencia de concentraciones de nitrógeno diez veces mayores (Abdelhafid *et al.*, 2000a) a la recomendación de aplicación en campo que van desde 120 hasta 250 kg de N ha<sup>-1</sup> en cultivos de maíz, sorgo, frijol, caña de azúcar y trigo (INPOFOS, 1999).

Hasta el momento se conoce que la presencia de compuestos nitrogenados inhibe la degradación de atrazina, pero no se conoce el efecto de las concentraciones de nitrógeno similar o inferior a la recomendación de aplicación en campo (intervalo de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup>) sobre este mecanismo de disipación.

Considerando el riesgo de contaminación que representa la atrazina al agua subterránea, es necesario evaluar cómo influye la presencia de concentraciones de nitrógeno similares e inferiores a la recomendación de aplicación en campo (intervalo de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup>) sobre la migración de este herbicida en el suelo.

## 2. Marco teórico y antecedentes

Para estudiar el efecto que tiene el nitrógeno sobre la migración de atrazina en suelo, es necesario establecer un panorama que permita entender la problemática del uso de este herbicida en la actualidad, considerando: su empleo, prácticas agrícolas, normatividad establecida sobre su uso, sus propiedades físicas, químicas y biológicas, migración en el suelo y el proceso inhibición de su mineralización. Por tanto en el presente capítulo se pretende proporcionar una visión de los aspectos y procesos que impactan la migración de atrazina en suelo, así como de los antecedentes de la presente investigación.

### 2.1. Uso de atrazina a nivel internacional y nacional

La atrazina (6-cloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina) pertenece al grupo de los herbicidas triazínicos organoclorados. Es un herbicida selectivo pre- y post-emergente (se aplica antes y después de la siembra).

De acuerdo con las etiquetas de productos comerciales que contienen atrazina, este herbicida se aplica en un intervalo de 1.0 a 3.0 kg ha<sup>-1</sup>, dependiendo del tipo de cultivo, el suelo y los productos, ya que contienen entre 25 y 95 % de ingrediente activo.

La atrazina es ampliamente usada desde principios de la década de los 60' en Norteamérica, Australia, Sudáfrica, Venezuela y la mayoría de los países europeos para controlar la aparición de malezas en cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, trigo y varios tipos de pastos, en campos de golf, en céspedes y a lo largo de carreteras o vías férreas, así como también para crecimiento de malezas acuáticas en lagos y estanques. A nivel mundial, hasta 1994 se empleaban entre 70 y 90 mil toneladas de atrazina cada año (Steinberg *et al.*, 1995).

Se han encontrado residuos de atrazina en cuerpos de agua de Estados Unidos (USEPA, 2003), Canadá (Hébert y Rondeau, 2004) y países de Europa como Francia, Alemania, Suecia y Dinamarca (Stevenson *et al.*, 2003), en concentraciones superiores a límites máximos permisibles (intervalo entre 0.1 y 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) establecidos por en varias normas internacionales (WHO, 2004; USEPA, 2003; CCME, 1999; CEE, 2004; OPS, 2002; NRA, 2002; Giupponi, 2001; Tappe *et al.*, 2002). Además la atrazina se ha asociado con riesgos para la salud como genotóxico y posible cancerígeno, por lo que su uso ha disminuido, prohibiendo su aplicación en varios países de Europa (OLCA, 2000). Aún con esta medida en la actualidad se han detectado atrazina y sus metabolitos en el agua subterránea (Kolpin y Martín, 2003). Por ello, la Unión Europea redactó la "Decisión de la Comisión del 10 de marzo del 2004", que insta a todos los miembros a que en un plazo breve sean retiradas todas las licencias de fabricación de productos fitosanitarios que contengan atrazina; remarcando que España, Irlanda, Portugal y el Reino Unido utilizarán atrazina únicamente en cultivos de maíz hasta Junio del 2007. Después de esta fecha quedará prohibido su uso en todos los países pertenecientes a la Unión Europea (CEE, 2004).

Por otro lado, la autoridad de Inscripción Nacional de Australia (NRA) ha realizado revisiones de la seguridad del uso de atrazina por varios años. En abril del 2002, emitió un estudio con base en varios muestreos de calidad del agua superficial y subterránea, donde se sugieren cambios en las recomendaciones y precauciones que se incluyen en las etiquetas de productos que contienen atrazina (NRA, 2002).

En los Estados Unidos se estima que la atrazina fue el herbicida que más se utilizó a principios de la década de los 80's, encontrándose concentraciones de 5.4  $\mu\text{g L}^{-1}$  en abastecimientos de agua potable. Por ello, en 1991 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) inició una revisión especial del posible riesgo cancerígeno de la atrazina. Con base en

ella se estableció que la concentración máxima de atrazina en agua potable debe ser  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  (USEPA, 2003).

En noviembre de 1994, la USEPA inicia una revisión especial de los herbicidas triazínicos considerándolos posibles cancerígenos (USEPA, 1994); y en enero de 2003 emite una *Decisión Provisional*, donde se evalúa si existe el riesgo de contraer cáncer como consecuencia a la exposición a atrazina (USEPA, 2003). Se concluyó que la atrazina puede continuar siendo utilizada, siempre y cuando se sigan las precauciones y las medidas específicas para reducir los riesgos de contaminación del agua para consumo ayudando a asegurar su continua protección (Kentucky Department of Agriculture, 2007). Por lo anterior, el uso de atrazina como ingrediente activo ha disminuido de 21 mil toneladas en 1995 (USDA, 1996) a 2 mil toneladas en el 2004 (NASS, 2005). Sin embargo, en la mayoría de los países de Asia, África y América, el uso de atrazina no está restringido ni prohibido (Pesticide Database, 2004).

Las marcas comerciales más conocidas de la atrazina en México son: Gesaprim, Aatrex, Aterbutox, Arrasina, Atranex, Atranova, Atraplex 90, Atrapol, Atraz 500 FW, Boxer, Desyerbal, Novaprim y Sanazina. De acuerdo con la Asociación Mexicana de la Industria de Plaguicidas y Fertilizantes (AMIPFAC) se estima que en 1995, el empleo de herbicidas que contienen atrazina como ingrediente activo fue de 2 012 toneladas (INE, 2005), manteniendo su uso hasta años recientes con un promedio anual 1 800 toneladas anuales (Villada-Canela, 2005).

## **2.2. Normatividad sobre el uso de atrazina**

El establecimiento de normas relacionadas con el uso de atrazina, ha permitido establecer límites máximos de concentración en cuerpos de agua, así como prohibiciones y restricciones del uso de este herbicida a nivel mundial (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1.** Situación legal del uso de atrazina y límites permisibles en agua para consumo humano

Región	País u organización	Uso	Límite permisible en agua para consumo humano [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]
Todo el mundo	OMS	Permitido <sup>(1)</sup>	2.0 <sup>(1)</sup>
Norteamérica	Estados Unidos	Restringido <sup>(2)</sup>	3.0 <sup>(2)</sup>
	Canadá	Permitido <sup>(2)</sup>	5.0 <sup>(3)</sup>
	México	Permitido <sup>(4)</sup>	No se incluye en la normatividad <sup>(4)</sup>
Europa	Italia, Alemania, Suecia, Austria, Hungría, Francia, Finlandia, Noruega, Dinamarca, España, Irlanda, Portugal y Reino Unido	Prohibido <sup>(5 y 6)</sup>	0.1 <sup>(5)</sup>
	Suiza, Bélgica, Luxemburgo	Permitido <sup>(5)</sup>	
Asia	China, Taiwán, Tailandia, Indonesia, Malasia	Permitido <sup>(7)</sup>	No se incluye en la normatividad <sup>(7)</sup>
Centro y Sudamérica	Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Chile, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Perú, República Dominicana, Uruguay, Venezuela	Permitido <sup>(7)</sup>	No se incluye en la normatividad <sup>(7)</sup>
	Costa Rica, Nicaragua, Antigua y Barbuda, Bahamas, Barbados, Bermuda, Belice, Dominica, Granada, Guyana, Haití, Jamaica, Saint Wits y Nevis, Saint Lucia, San Vicente y las Granadinas, Surinam, Trinidad y Tobago	Permitido <sup>(7)</sup>	Adoptaron el valor de la OMS ( $2 \mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>(7)</sup>
Oceanía	Australia	Restringido <sup>(8)</sup>	0.1 <sup>(8)</sup>

<sup>(1)</sup>WHO, 2004; <sup>(2)</sup>USEPA, 2003; <sup>(3)</sup>CCME, 1999; <sup>(4)</sup>DOF, 2000; <sup>(5)</sup>CRE, 2003; <sup>(6)</sup>CEE, 2004; <sup>(7)</sup>OPS, 2002;

<sup>(8)</sup>NRA, 2002.

La USEPA estableció un límite de concentración de atrazina para agua de consumo humano de  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  (Cuadro 2.1), mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1993 estipula un límite de concentración de atrazina de  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  (Cuadro 2.1); en la Unión Europea el límite de concentración establecido ha sido más estricto, debido a que en monitoreos recientes sigue encontrando atrazina y sus metabolitos en los cuerpos de agua (Kolpin y Martín, 2003).

Aún con las normas ya establecidas, varios países de América, Asia y África, siguen empleando atrazina para el control de malezas en sus cultivos.

En México la norma que regula la calidad del agua para uso y consumo humano es la modificación de la NOM-127-SSA1-1994 publicada en el 2000 "Salud Ambiental, Agua para Uso y Consumo Humano"; en esta norma se incluyen los límites permisibles para algunos herbicidas, no considerando límites para atrazina.

### **2.3. Propiedades fisicoquímicas de la atrazina**

La atrazina es un polvo blanco sólido cristalino en forma de gránulos, sin olor, poco volátil y difícil de disolver en agua. Con la adición de agentes surfactantes se puede obtener en forma acuosa. Sus propiedades fisicoquímicas (Cuadro 2.2) permiten confirmar la afinidad de la atrazina al suelo. Considerando que esta afinidad tiene una influencia sobre su mineralización, es necesario tener presentes dichas propiedades para entender su comportamiento en el ambiente.

**Cuadro 2.2.** Propiedades fisicoquímicas de la atrazina

Parámetro	Característica
Peso molecular	215.7 g mol <sup>-1</sup> (1)
Punto de fusión	175 °C (1)
Presión de vapor	3 x 10 <sup>-7</sup> mm Hg (20°C) (1)
Gravedad específica	1.187 g mL <sup>-1</sup> (1)
Solubilidad en agua	33 mg L <sup>-1</sup> (25°C) (1)
Constante de la ley de Henry (K <sub>H</sub> )	3 x 10 <sup>-9</sup> atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> (1)
Potencial de la constante de ionización ácida (pK <sub>a</sub> )	1.6 (20°C), 1.7 (21°C)(2)
Coefficiente de partición en carbono orgánico (log K <sub>oc</sub> )	1.95 – 2.71(1)
Coefficiente de partición octanol/agua (log K <sub>ow</sub> )	2.33 – 2.80(3)

(1) Montgomery, 1997; (2) Bailey *et al.*, 1968; (3) Liu y Quian, 1995.

## 2.4. Toxicidad

Con respecto a los efectos agudos en seres humanos la atrazina produce irritación severa de ojos, piel (dermatitis), nariz y garganta. Cuando los efectos son crónicos, puede producir alteraciones en las funciones del corazón, hígado y riñón, interferir en el sistema endocrino provocando problemas de reproducción y alterando los niveles de hormonas que afectan la ovulación; asimismo, se ha asociado con defectos de nacimiento en humanos, tales como piernas reducidas (ATSDR, 2001).

La toxicidad de un compuesto se determina por la dosis necesaria para que el 50 % de una población de especie animal sea envenenada y muera, y se representa por la dosis letal (DL<sub>50</sub>). En el caso de la atrazina la DL<sub>50</sub> en ratas es: 3 090 mg kg<sup>-1</sup> ingerida y 3 000 mg kg<sup>-1</sup> cutánea, lo que indica una baja toxicidad en mamíferos pequeños, no así en animales como ovejas donde la dosis letal es de 250 mg kg<sup>-1</sup> (Yarto *et al.*, 2003; Montgomery, 1997).

Se considera no tóxica para aves y ligeramente tóxica para vida acuática, aunque se ha asociado como inductor de hermafroditismo en ranas, en concentraciones aproximadas de  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  (Yarto *et al.*, 2003), asimismo, la atrazina tiene efecto cancerígeno en animales, no demostrándose aún este efecto en humanos (USEPA, 2003).

## 2.5. Prácticas agrícolas del uso de atrazina

La atrazina como herbicida pre-emergente deberá aplicarse inmediatamente después de la siembra y antes de la germinación del cultivo y como post-emergente debe aplicarse cuando la maleza no sea mayor a 4 cm. Para su aplicación, se recomienda que el suelo se encuentre húmedo, ya que esto favorece el modo de acción del herbicida (BASF, 2005).

Cuando el herbicida se aplica las hierbas nacen, se forman las primeras hojas, se inhibe la producción de clorofila (tornándose de color amarillo) y mueren en un intervalo de 5 a 10 días posteriores a la aplicación. En la actualidad la atrazina es aplicada mediante rocío por dos métodos principales: tractor y mochila (Figura 2.1).



**Figura 2.1.** Aplicación del herbicida atrazina con tractor y con mochila

La atrazina es utilizada para remover únicamente hierba de hoja ancha tales como: quelite cenizo (*Chenopodium album*), Quelite bledo (*Amaranthus*

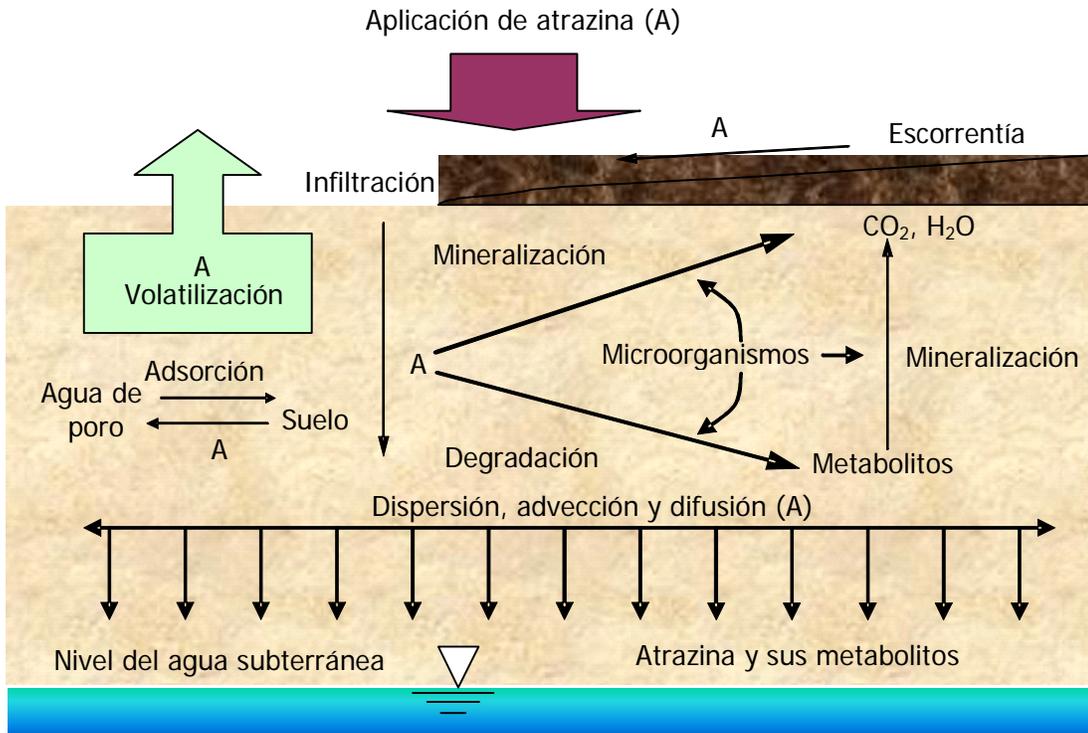
*hybridus*), mala mujer ( *Solanum rostratum*), toloache (*Datura stramonium*) y para ampliar su efecto sobre otros tipos de hierbas (cadillo "*Census echinatus*", muela de caballo "*Brachiaria spp*", Zacate pillo "*Echinochloa solanum*") se mezcla con otros herbicidas tales como Pendimetalín, Terbutrina, Ametrina, Acetoclor, Dimetenamida, S-Metolaclor y Zimazina entre otros (BASF, 2005). También se recomienda su aplicación en mezclas con fertilizantes, que contienen nitrógeno, fósforo y potasio, utilizando la técnica de fertiriego, con lo que se disminuyen los costos de aplicación (BASF, 2005).

## **2.6. Migración de atrazina en el suelo hacia el agua subterránea**

La atrazina es uno de los herbicidas más empleados a nivel mundial. Al ser aplicado, puede ser transportado a diferentes compartimentos del ambiente por medio de la volatilización, la escorrentía y la infiltración, representando un riesgo de contaminar los cuerpos de agua (superficiales y subterráneos).

En el suelo la atrazina se distribuye principalmente entre las fases sólida y líquida. La fracción que permanece en solución está disponible para los procesos de adsorción, degradación, infiltración y escorrentía (Johnson *et al.*, 1999; Bollag *et al.*, 1992), dependiendo de los equilibrios que se establezcan con la matriz del suelo (Figura 2.2).

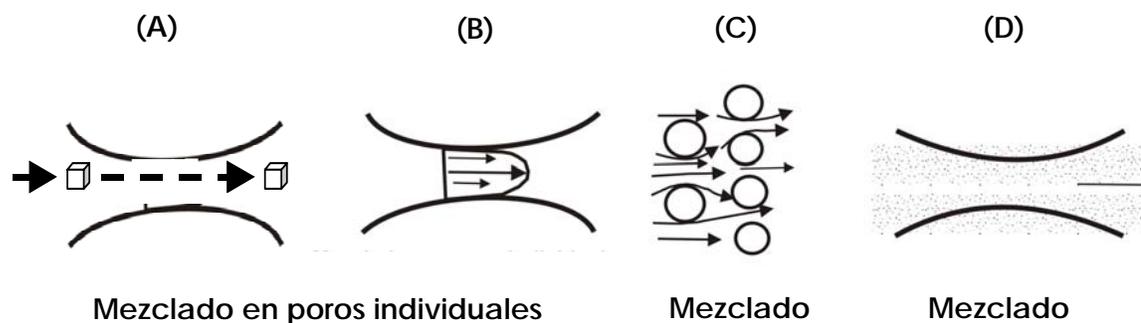
Los procesos que influyen sobre la migración de atrazina, son controlados por las características del compuesto, del suelo, las condiciones ambientales y del agente emulsificante contenido en el producto (Weber *et al.*, 1993; Reinhardt y Nel, 1993).



**Figura 2.2.** Procesos que afectan el transporte de herbicidas en suelo

### 2.6.1. Transporte de atrazina en el suelo

Los herbicidas como la atrazina, cuando son descargados al medio ambiente en los procesos industriales, agrícolas y la eliminación de residuos, regularmente se transportan a través del suelo por diferentes mecanismos de transporte como la advección, dispersión y difusión molecular (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Proceso de transporte de herbicidas en el suelo (A) advección, (B) y (C) dispersión mecánica y (D) difusión molecular (Freeze y Cherry, 1979)

El proceso de transporte que rige la infiltración de la atrazina a través del suelo es la advección (Bear, 1988); seguido de mecanismos de difusión molecular y dispersión mecánica (Leeds, 1995).

### 2.6.1.1. Transporte por advección

La atrazina disuelta que no interactúa con el medio poroso es transportada por el agua a una velocidad igual a la de infiltración; este proceso se llama transporte advectivo o convectivo. La cantidad de atrazina transportada está en función de la concentración del herbicida y de la cantidad de agua que fluye a través del medio poroso, esta última depende del suministro de agua al suelo.

El flujo unidimensional de la sección transversal de un medio poroso depende de la velocidad de Darcy. El flujo de masa unidimensional a través de la sección transversal debido al fenómeno de advección es igual a la cantidad de agua que fluye multiplicado por la concentración de soluto (Bear, 1988).

$$f_z = v_x n C \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde

$f_z$  = Flujo de masa unidimensional ( $\text{g s}^{-1}$ )

$v_x$  = Velocidad lineal promedio "Darcy" ( $\text{L s}^{-1}$ )

$n$  = Porosidad efectiva del suelo

$C$  = Concentración del soluto ( $\text{g L}^{-1}$ )

### 2.6.1.2. Transporte por difusión molecular

La atrazina disuelta en agua se transporta cuando no hay flujo de mayor a menor concentración en un medio. Este proceso se denomina difusión molecular. La difusión se presenta mientras exista un gradiente de concentración, aún cuando el fluido no esté en movimiento.

El flujo de masa que se difunde, es proporcional a una constante por el gradiente de concentración del soluto a través de la región de interés (Leeds, 1995). Esta ley fue postulada por Bertholot a principios de 1800 y probada experimentalmente por Fick cincuenta años más tarde. Se conoce como la primera ley de Fick:

$$F_m = -D \left( \frac{dC}{dx} \right) \quad \text{Ecuación 2.2}$$

Donde

$F_m$  = Flujo de masa del soluto ( $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

$D$  = Coeficiente de difusión ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )

$C$  = Concentración ( $\text{g mL}^{-1}$ )

$x$  = Longitud en la dirección del movimiento (cm)

El signo negativo indica que el movimiento es de la zona de mayor a menor concentración.

### 2.6.1.3. Transporte por dispersión

Cuando se adiciona atrazina al suelo y empieza a moverse con el agua, la atrazina se dispersa y migra por diferentes caminos a través de los poros o las grietas del suelo (Leeds, 1995).

Existen tres factores fundamentales que intervienen en la dispersión los cuales son:

- La fricción del fluido en las paredes de los poros: el fluido se moverá más rápido en la parte central de los canales formados por los poros que en la pared de los canales.
- Longitud del recorrido: algunas moléculas del herbicida se infiltrarán por trayectorias en el medio poroso más largas mientras que otras migrarán por trayectorias más cortas.
- Tamaño de poro: algunos poros son más grandes que otros, lo cual permite que los herbicidas migren más rápido en los macroporos (diámetro efectivo superior a 30  $\mu\text{m}$ ) que en los microporos (diámetro efectivo inferior a 30  $\mu\text{m}$ ).

El coeficiente de dispersión (D) se expresa con la siguiente ecuación (Bear y Bachmat, 1991).

$$D = \alpha v + D_m \quad \text{Ecuación 2.3}$$

Donde

$\alpha$ = Dispersividad (m)

$v$ = Velocidad de poro en una sola dirección ( $\text{m s}^{-1}$ )

$D_m$ = Difusión molecular ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ).

#### 2.6.1.4. Coeficiente de dispersión hidrodinámica

El coeficiente de dispersión hidrodinámica es un parámetro empleado como medida de la dispersión de atrazina que fluye, debido a la suma de los efectos de la dispersión mecánica y de la difusión molecular en medio poroso (Leeds, 1995).

Se consideran dos coeficientes de dispersión en función de su orientación respecto a la dirección principal del flujo del agua subterránea:

Coeficiente de dispersión longitudinal ( $D_L$ ).

$$D_L = \alpha_L V_e + D^* \quad \text{Ecuación 2.4}$$

Coeficiente de dispersión transversal ( $D_T$ ).

$$D_T = \alpha_T V_e + D^* \quad \text{Ecuación 2.5}$$

Donde

$D$  = Coeficientes de dispersión ( $m^2 s^{-1}$ )

$\alpha_L$  = Dispersividad longitudinal (m)

$\alpha_T$  = Dispersividad transversal (m)

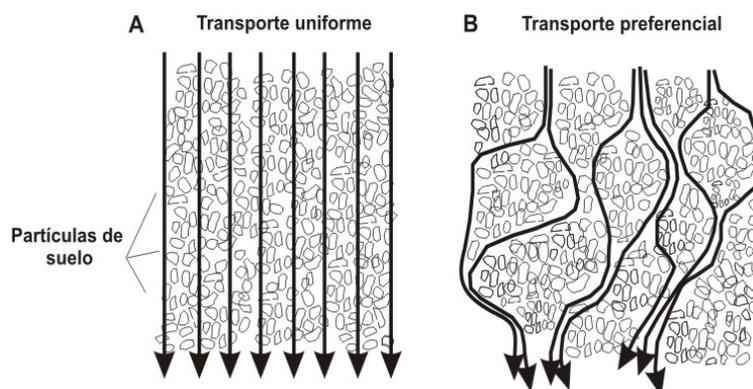
$V_e$  = Velocidad de poro ( $m s^{-1}$ )

$D^*$  = Coeficiente de difusión molecular ( $m^2 s^{-1}$ )

#### 2.6.1.5. Flujos preferenciales

El transporte de atrazina en el suelo a velocidades que exceden las predichas para el transporte, es a menudo atribuido a rutas preferenciales de flujo, y es conocido como transporte preferencial. Este transporte involucra el

movimiento de agua y solutos a través de dos regiones de flujo diferentes (Figura 2.4).



**Figura 2.4.** Transporte preferencial y uniforme (Freeze y Cherry, 1979)

El movimiento rápido de un soluto a través del medio poroso se presenta debido a que la migración ocurre a través de rutas de flujo preferencial.

Los procesos asociados a ambientes no perturbados promueven la formación de macroporos continuos (Locke y Bryson, 1997) ofreciendo un flujo preferencial al transporte de agua y herbicida lo anterior impide el proceso de adsorción dejando la atrazina en la solución del suelo (Kung *et al.*, 2000).

### 2.6.2. Adsorción de atrazina en suelo

Uno de los procesos iniciales que influyen sobre la migración de herbicidas en el suelo es la adsorción, la cual es la atracción y retención de un compuesto (adsorbato) sobre una superficie (adsorbente), generalmente en sistemas líquido/sólido o gas/sólido (Bennett, 2004). Este proceso es de tipo fisicoquímico y lo limitan la biodisponibilidad del herbicida y su capacidad de transportarse a través del suelo. La adsorción de los herbicidas en el suelo se considera el proceso de retención inicial (Bailey y White, 1970).

Los herbicidas son adsorbidos por los coloides orgánicos e inorgánicos del suelo y el proceso depende de las características químicas del herbicida (la estructura molecular, carga, polaridad, constante de adsorción octanol-

agua ( $K_{ow}$ ) y solubilidad en agua); las propiedades de los coloides del suelo (textura, contenido de materia orgánica, pH y humedad); las condiciones climáticas y los cambios a través del perfil de suelo, ya que conforme aumenta la profundidad en una columna de suelo hay cambios físicos, químicos y biológicos que modifican estos procesos (Barriuso *et al.*, 1994; Laird *et al.*, 1992; Dupont *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1992; Ma *et al.*, 1993).

Los agentes emulsificantes pueden incrementar o disminuir la adsorción de ingrediente activo en el suelo, favoreciendo o limitando el transporte de compuestos hacia el agua subterránea, dependiendo del tipo de emulsificante (iónico, aniónico o catiónico) que se mezcla con el ingrediente activo (Abu-Zreig *et al.*, 1999; Abu-Zreig *et al.*, 2000; Sanchez-Camanzano *et al.*, 2000). La aplicación de emulsificantes aniónicos disminuye la infiltración de la atrazina en el suelo (Abu-Zreig *et al.*, 2003), ya que en concentraciones superiores a 3 000 mg L<sup>-1</sup> incrementan significativamente el coeficiente de adsorción de atrazina en arena y limo (Abu-Zreig *et al.*, 1999), mientras que un emulsificante no-iónico incrementa la infiltración de atrazina hacia cuerpos de agua (Abu-Zreig *et al.*, 2000).

El modelo matemático empleado frecuentemente para describir la adsorción de los herbicidas en solución es la isoterma de Freundlich (Ecuación 2.6), obtenida empíricamente:

$$\frac{X_A}{m} = K_F C_{A_e}^{1/n} \quad \text{Ecuación 2.6}$$

Donde

- $X_A$  = Masa de A adsorbida por la fase sólida (g)
- $m$  = Masa de la fase sólida (g)
- $K_F$  = Coeficiente de adsorción (L g<sup>-1</sup>)
- $C_{A_e}$  = Concentración de A en la fase líquida (g L<sup>-1</sup>)
- $n$  = Coeficiente empírico o parámetro de ajuste, adimensional

El coeficiente de adsorción ( $K_F$ ) caracteriza el equilibrio de adsorción e indica la afinidad del herbicida por el adsorbente. El inverso del coeficiente empírico ( $n$ ) está relacionado con la cantidad de lugares de adsorción del sólido y se interpreta como la capacidad de adsorción del suelo (Swartjes *et al.*, 1991).

Los coeficientes de adsorción pueden variar ampliamente (Kosken y Clay, 1997; Green y Karickhoff, 1990); para atrazina se han obtenido coeficientes de adsorción que van de 0.47 a 8.70 L kg<sup>-1</sup> (Seybold y Mersie, 1996; Clay y Koskinen, 1990). Estos valores dependen de los componentes del suelo y en el caso de atrazina se ha encontrado que se adsorbe principalmente en la materia orgánica (Dorado *et al.*, 2003; Chung y Alexander, 2002; Hang y Sereno, 2002). Teniendo en cuenta que cada suelo tiene diferente composición, los coeficientes de adsorción no se pueden extrapolar de un suelo a otro.

Para atrazina al inicio de su aplicación en suelo el proceso de adsorción puede ser muy rápido, volviéndose más lento e irreversible como función de la disminución de la disponibilidad de sitios activos en el suelo (Wauchope y Myers, 1985), presentando con mayor frecuencia la histéresis (Altfelder *et al.*, 2000) que es la tendencia de un compuesto a conservar sus propiedades en ausencia del proceso que lo haya generado. Es por esto que el proceso de adsorción influye sobre la persistencia de los herbicidas en los suelos y toma importancia en los riesgos de contaminación por transporte a aguas subterráneas (Koskinen y Clay, 1997).

### **2.6.3. Biodegradación de atrazina en suelo**

La biodegradación es un proceso que ocurre predominantemente en los primeros cinco centímetros de la capa superficial, en donde hay mayor actividad microbiana (Bonilla *et al.*, 2000). Los responsables de llevar a cabo este proceso son los microorganismos del suelo tales como: algas, hongos,

actinomicetos y bacterias, los cuales pueden utilizar los herbicidas como fuente de carbono, nitrógeno o energía.

La biodegradación cambia la estructura molecular de los herbicidas incluyendo la atrazina, y el grado de transformación determina si se lleva a cabo una degradación o la mineralización. La primera se refiere a la descomposición del herbicida a otras moléculas orgánicas más sencillas, llamadas metabolitos y la mineralización es la descomposición del herbicida a compuestos inorgánicos tales como: H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>. En el caso de la atrazina son pocos los microorganismos que llevan a cabo la mineralización, siendo el más conocido *Pseudomonas* sp. (García-González *et al.*, 2004).

Para que el proceso de biodegradación se efectúe se deben reunir las siguientes condiciones (Alexander, 1994):

1. Los microorganismos deben tener las enzimas necesarias para metabolizar los compuestos a degradar.
2. La población de microorganismos debe estar presente donde se encuentre el compuesto químico.
3. El compuesto debe estar biodisponible.
4. Las condiciones microambientales deben ser adecuadas (pH, temperatura, etc.) para el crecimiento microbiano.
5. Debe existir un aceptor final de electrones, que para el caso de la biodegradación aerobia es el oxígeno molecular.

Estos cuatro puntos muestran una relación entre la biodegradación y los microorganismos existentes en el sistema.

### 2.6.3.1. Crecimiento microbiano y consumo de sustrato

Para que se lleve a cabo el crecimiento microbiano, los microorganismos deben tener disponibles compuestos que al degradarlos sirvan como fuente de carbono, nitrógeno y energía, estos compuestos se denominan sustrato. Los herbicidas aplicados al suelo o agua al entrar en contacto con poblaciones microbianas contenidas en los sistemas, pueden servir de sustrato para los microorganismos; entonces, conforme aumenta la población de microorganismos la concentración de herbicida puede disminuir (Millar y Westra, 1998). A esta reducción de concentración de un contaminante debida al consumo de sustrato por microorganismos se le llama degradación microbiana o biodegradación.

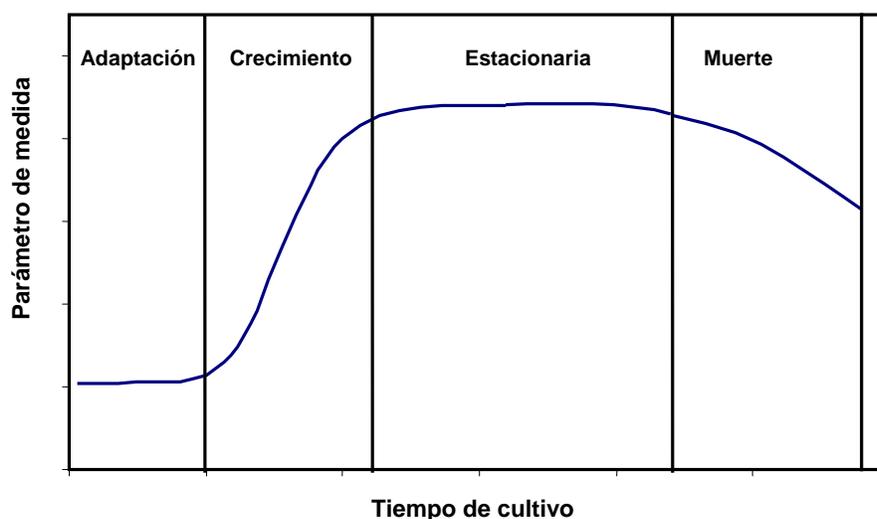
La biodegradación de los herbicidas sigue una curva típica de crecimiento microbiano conocida también como cinética de biodegradación y consta de cuatro fases:

**Fase de adaptación.** En este periodo el metabolismo de los microorganismos se adapta a las condiciones ambientales del sistema para poder iniciar el crecimiento. Por tanto, no hay crecimiento microbiano y la concentración de sustrato no disminuye (Figura 2.5), lo que aumenta el riesgo de contaminar otros sistemas ambientales aledaños; este periodo puede variar desde horas hasta meses ó años (Crawford y Crawford, 1996). Durante esta fase, los microorganismos producen algunas enzimas independientemente de la presencia del herbicida (sustrato); estas enzimas son denominadas constitutivas. Otro proceso que se lleva a cabo en esta fase es el denominado inducción de enzimas, en el que los microorganismos producen las enzimas sólo en presencia del herbicida, metabolitos o estructuras químicas similares al herbicida. La inducción es un proceso complejo, que incluye el incremento en la velocidad de síntesis de enzimas que intervienen en los procesos de biodegradación (Madigan *et al.*, 2006).

**Fase de crecimiento microbiano.** En esta fase, los microorganismos consumen el herbicida presente en el medio, disminuyendo su concentración de manera exponencial y generando microorganismos en un tiempo determinado (Figura 2.5). La velocidad con la que se degrada un herbicida depende de sus características químicas y su concentración, de los microorganismos responsables de la degradación y de los factores ambientales (Crawford y Crawford, 1996).

**Fase estacionaria y de muerte.** En el periodo estacionario no hay un incremento o decremento del número de microorganismos, y aunque algunos pueden continuar con su función celular, metabolismo y procesos biocinéticos, su crecimiento es lento, debido a que la presencia de nutrientes ha disminuido. Asimismo, mientras algunos microorganismos crecen, otros mueren por falta de nutrientes esenciales para el crecimiento o debido a la toxicidad de los metabolitos generados durante la fase exponencial, o por la presencia de microorganismos competidores que limitan su crecimiento. Al llevarse a cabo estos procesos de manera simultánea, se da lugar a la estabilización del crecimiento microbiano (Figura 2.5). En este periodo se produce una acumulación y liberación de metabolitos secundarios generados a partir de los herbicidas aplicados (Madigan *et al.*, 2006).

La última de las fases en la cinética de biodegradación es la fase de muerte (Figura 2.5), en ella hay una reducción exponencial del número de bacterias viables (Crawford y Crawford, 1996). Aún cuando esta fase también es exponencial, la velocidad de muerte es mucho más lenta que la velocidad de crecimiento.



**Figura 2.5.** Curva de crecimiento microbiano

La información sobre cinéticas de biodegradación es muy importante ya que caracteriza la concentración del herbicida restante en cualquier momento. Tal conocimiento es esencial para la estimación del riesgo potencial asociado a la contaminación del agua subterránea y a la exposición de los seres vivos a los herbicidas.

### 2.6.3.2. Descripción matemática

El estudio de la cinética de la biodegradación en ambientes naturales es a menudo empírico, reflejando conocimiento elemental de la actividad y las poblaciones microbianas en el ambiente. Un modelo matemático que se aproxima a la cinética de biodegradación fue establecido por Hamaker (1972).

$$-\frac{dC}{dt} = kC^n \quad \text{Ecuación 2.7}$$

Donde

C= Concentración de sustrato ( $\text{mol L}^{-1}$ )

t= Tiempo (s)

k= Coeficiente de degradación ( $\text{s}^{-1}$ )

n= Parámetro de ajuste (adimensional)

Este modelo puede ajustar la desaparición del sustrato a una curva variando los valores de k y n hasta obtener el mejor ajuste. A partir de esta ecuación es evidente que la velocidad es proporcional a la concentración elevada a una potencia. El modelo de la velocidad a una potencia se obtiene con base en la comparación de varias curvas experimentales. Asimismo, con él se puede obtener la vida media  $t_{1/2}$  de los herbicidas en suelo, modificando la ecuación 2.7 para obtener la siguiente ecuación.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{Ecuación 2.8}$$

Las cinéticas de biodegradación pueden seguir un modelo de orden cero, primer y segundo (Alexander, 1994).

En el orden cero, la velocidad es independiente de la concentración del herbicida.

En la cinética de primer orden, al inicio de la degradación la concentración del herbicida decae rápidamente, decreciendo la velocidad al final del proceso, por lo tanto en las reacciones de primer orden desaparece un porcentaje del herbicida por unidad de tiempo.

En una cinética de segundo orden, la velocidad es proporcional a la concentración del herbicida elevada al cuadrado o en otras circunstancias a la concentración de dos herbicidas, involucrando cambios de concentración de los dos compuestos.

La descripción de la cinética de biodegradación depende de lo siguiente: (Alexander, 1994):

- Determinación de una curva que describa el crecimiento microbiano (degradación del herbicidas), con lo que se obtiene un modelo matemático, que permita un mejor ajuste al metabolismo desarrollado en el consorcio microbiano.
- Factores que pueden afectar las reacciones bioquímicas que se dan en los microorganismos que llevan a cabo la degradación de herbicidas, afectando así su velocidad de degradación. Los principales factores son: temperatura, humedad, pH, oxígeno, concentración inicial del herbicida, actividad biológica.

Las cinéticas de biodegradación permiten evaluar coeficientes de biodegradación, con los que se obtienen la vida media de los herbicidas, parámetro que ayuda a evaluar la persistencia de los herbicidas en el ambiente y proporcionan conocimientos acerca de la población y actividad microbiana en sistema en estudio.

En el caso de la atrazina, se ha considerado a la biodegradación como el principal factor que afecta destino y comportamiento en el ambiente, especialmente en suelos (Esser *et al.*, 1985). Este herbicida es clasificado desde ligero hasta altamente persistente en suelo, debido a la amplia variación en los valores de vidas media que se han obtenido, los cuales van desde 10 días hasta más de 15 años (Abdelhafid *et al.*, 2000a; Schoen y Winterlin, 1987).

Por otro lado, se ha estudiado en varias investigaciones la biodegradación de atrazina en medio líquido con cepas aisladas. Con la capacidad de degradar parcialmente el herbicida por reacciones de desalquilación, deshalogenación ó desaminación (Bouquard *et al.*, 1997). También se han identificado cepas capaces de hacer la conversión a ácido cianúrico y otras

que llevan a cabo la mineralización de la atrazina, entre las cuales están las siguientes:

- *Pseudomonas* sp. strain ADP, es capaz de catabolizar la atrazina a concentraciones mayores a 1 000 mg L<sup>-1</sup>; es usada ampliamente en estudios de catabolismo del herbicida bajo condiciones anóxicas y de desnitrificación (Shapir *et al.*, 1998) ya que es capaz de degradar la atrazina en presencia de otras fuentes de nitrógeno diferentes al herbicida (Gebendinger y Radosevich, 1999).
- *Agrobacterium radiobacter* strain J14a, tiene la capacidad de desalquilar, deshalogenar y mineralizar el anillo triazínico cuando la molécula es usada como fuente de nitrógeno (Struthers *et al.*, 1998); este microorganismo se ha encontrado en abundancia en suelo y al igual que la *Pseudomonas* sp strain ADP tiene la capacidad de degradar atrazina aún en presencia de otras fuentes de nitrógeno (Gebendinger y Radosevich, 1999).
- *Rhodococcus* strains TE1 es un microorganismo que tiene la capacidad de desalquilar a la atrazina (Behiki *et al.*, 1993).

Considerando que cada microorganismo tiene una función específica en la degradación de atrazina, se han realizado experimentos utilizando microorganismos aislados de suelos agrícolas bajo diferentes concentraciones de nitrógeno (Mandelbaum *et al.*, 1993).

En trabajos realizados con comunidades microbianas se han obtenido algunas que utilizan el herbicida como única fuente de nitrógeno (Mandelbaum *et al.*, 1993).

Por otro lado, se ha demostrado que el número de microorganismos degradadores de atrazina aumenta en la rizosfera en comparación con suelos que no tienen cultivos presentes, por lo que la presencia de cultivos

favorece la degradación de atrazina en el suelo (Alvey y Crowley, 1996), debido a la presencia de microorganismos vivos.

Todos estos resultados dan un panorama general de la variabilidad que existe en el proceso de biodegradación de atrazina, por lo que las diferencias entre las vidas media pueden ser un factor que dificulte la evaluación de riesgos de contaminar con atrazina el agua subterránea.

## **2.7. Inhibición de la biodegradación de atrazina en el suelo**

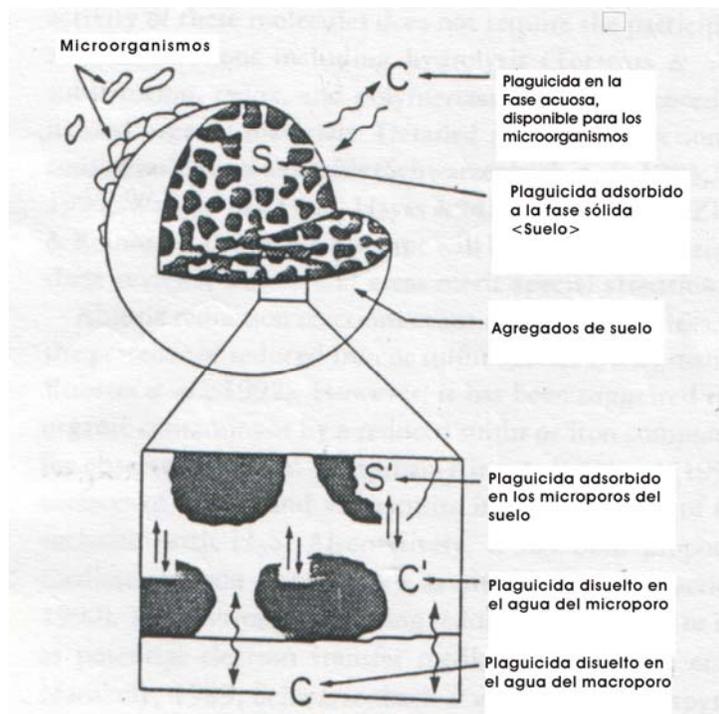
Hay diversos procesos que aceleran o limitan la biodegradación de un herbicida. Estos pueden ser de tipo fisicoquímico y biológico.

### **2.7.1. Procesos fisicoquímicos**

La adsorción puede limitar la biodegradación de atrazina ya que condiciona su biodisponibilidad de este herbicida en el suelo para los microorganismos que llevan a cabo la biodegradación del herbicida. Una fuerte adsorción de la atrazina en la matriz del suelo o en la materia orgánica provoca que el herbicida no se encuentre en la fase líquida, en donde se llevan a cabo los procesos de biodegradación y transporte (McCarthy, 1991). Por tanto, la biodegradación de la atrazina se vuelve lenta, favoreciendo la acumulación y el proceso de envejecimiento del compuesto en los estratos superiores del suelo, disminuyendo el riesgo de lixiviación al nivel freático, pero aumentando el riesgo en personas y animales debido al contacto directo con este herbicida provocado por el transporte de partículas en el aire (Alexander, 2000). Por otro lado, si la adsorción de la atrazina es mínima, el riesgo de contaminar el nivel freático puede aumentar, ya que la infiltración ocurre más rápido que si se encontrará el herbicida adsorbido al suelo. Sin embargo, bajo estas condiciones la atrazina es susceptible a la biodegradación y su vida media es más corta (Dorado *et al.*, 2003).

Considerando que la atrazina se adsorbe principalmente a la materia orgánica del suelo, un alto contenido de carbono orgánico, pueden inhibir la biodegradación de este herbicida (Park *et al.*, 2003).

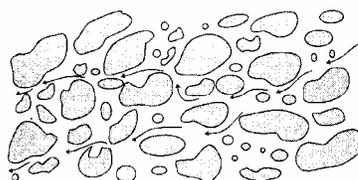
El secuestro es otro proceso que disminuye la biodegradación de atrazina debido a la presencia de microporos en la matriz de suelo (Alexander, 2000). En suelos principalmente arcillosos la formación de conglomerados puede resultar en estructuras con diámetro efectivo inferior a  $0.2 \mu\text{m}$ , en estos conductos las moléculas de atrazina pueden ser transportadas por medio de difusión, pero los microorganismos no tienen acceso a estas zonas debido a que su tamaño es mayor a  $0.2 \mu\text{m}$  (Figura 2.6). Considerando que la tercera parte del volumen total del suelo tiene un diámetro inferior al valor promedio del diámetro de los microorganismos (Mihelcic y Luthy, 1991) se tiene un fuerte impacto sobre la disponibilidad de la atrazina para los microorganismos, lo que limita su degradación (Alexander, 2000).



**Figura 2.6.** Descripción de la relación entre los microorganismos, la estructura del suelo y plaguicida (adaptada de Mihelcic y Luthy, 1991)

Por otro lado, los poros pueden estar llenos de agua ó aire, permitiendo que los herbicidas se muevan a través de los microporos por difusión, hasta los sitios donde se encuentran los microorganismos, aumentando la biodisponibilidad y permitiendo nuevamente la degradación.

Generalmente las vías para la difusión de estos contaminantes son tortuosas (Figura 2.7), es decir, el flujo del herbicida en los poros del suelo no sigue un camino recto y parejo, incrementándose enormemente si en el camino por el que la molécula atraviesa existen varias partículas pequeñas, por tanto, la difusión tiene una mayor influencia sobre la biodegradación (Scow y Alexander, 1992; Scow y Hutson, 1992).



**Figura 2.7.** Vías tortuosas por las que las moléculas atraviesan un medio poroso (Freeze y Cherry, 1979)

### **2.7.2. Procesos biológicos**

Los procesos biológicos incluyen la inhibición de la biodegradación de atrazina, por regulación para la síntesis y la actividad de enzimas y modificación covalente.

**Regulación de la síntesis de enzimas:** los microorganismos presentes en el suelo pueden contar con enzimas capaces de degradar los herbicidas adicionados en la agricultura. En ocasiones los microorganismos no poseen las enzimas para la degradación de estos compuestos, por lo cual se inicia un proceso conocido como inducción de enzimas, que permite que los microorganismos inicien la degradación de los herbicidas presentes.

El proceso de inducción enzimática está ligado con otro proceso llamado represión enzimática que impide la producción de las enzimas necesarias para las reacciones de degradación. Esto se debe a la presencia de sustratos con características químicas similares al herbicida, dándose así la inhibición de la degradación de los compuestos presentes (Lewis, 2001).

La represión e inducción enzimática actúan a nivel de transcripción del ARN (ácido ribonucleico); la síntesis de las enzimas se controla por la iniciación de ARN mensajero. Los inductores y correpresores se combinan con el represor (proteínas reguladoras) induciendo o afectando la síntesis del ARN mensajero (Madigan *et al.*, 2006).

**Regulación de la actividad enzimática:** cuando los microorganismos cuentan con las enzimas, ya sea por el proceso de inducción o por que son enzimas constituidas, la actividad enzimática se ve regulada por varios mecanismos, entre los cuales está la inhibición por producto, por retroalimentación y la modificación covalente (Alexander, 1994).

En la inhibición por producto ocurre fundamentalmente cuando algún intermediario (producto de una reacción) inhibe reacciones anteriores a las que generan el intermediario (Madigan *et al.*, 2006).

En la inhibición por retroalimentación, el producto final inhibe la actividad de la primera enzima de la vía de degradación.

En la Modificación covalente un grupo modificante se une por enlace covalente a una enzima alostérica (enzimas que tienen dos sitios activos), alterando drásticamente su función catalítica. La eliminación del grupo modificante devuelve a la enzima a su estado inicial (Lewis, 2001).

Cuando los herbicidas en suelo sirven de sustrato para los microorganismos presentes, éstos descomponen los herbicidas en sustancias más sencillas por medio de diversas reacciones enzimáticas (Figura 2.8).

Por tanto, para que un microorganismo tenga la capacidad de degradar los herbicidas aplicados en suelo, es necesario que pueda sintetizar las enzimas (catalizador biológico proteico) encargadas de catalizar las reacciones de descomposición de herbicidas. Además, una enzima puede catalizar un tipo de reacción química, o en todo caso varias reacciones en las que el sustrato tenga la misma estructura básica.

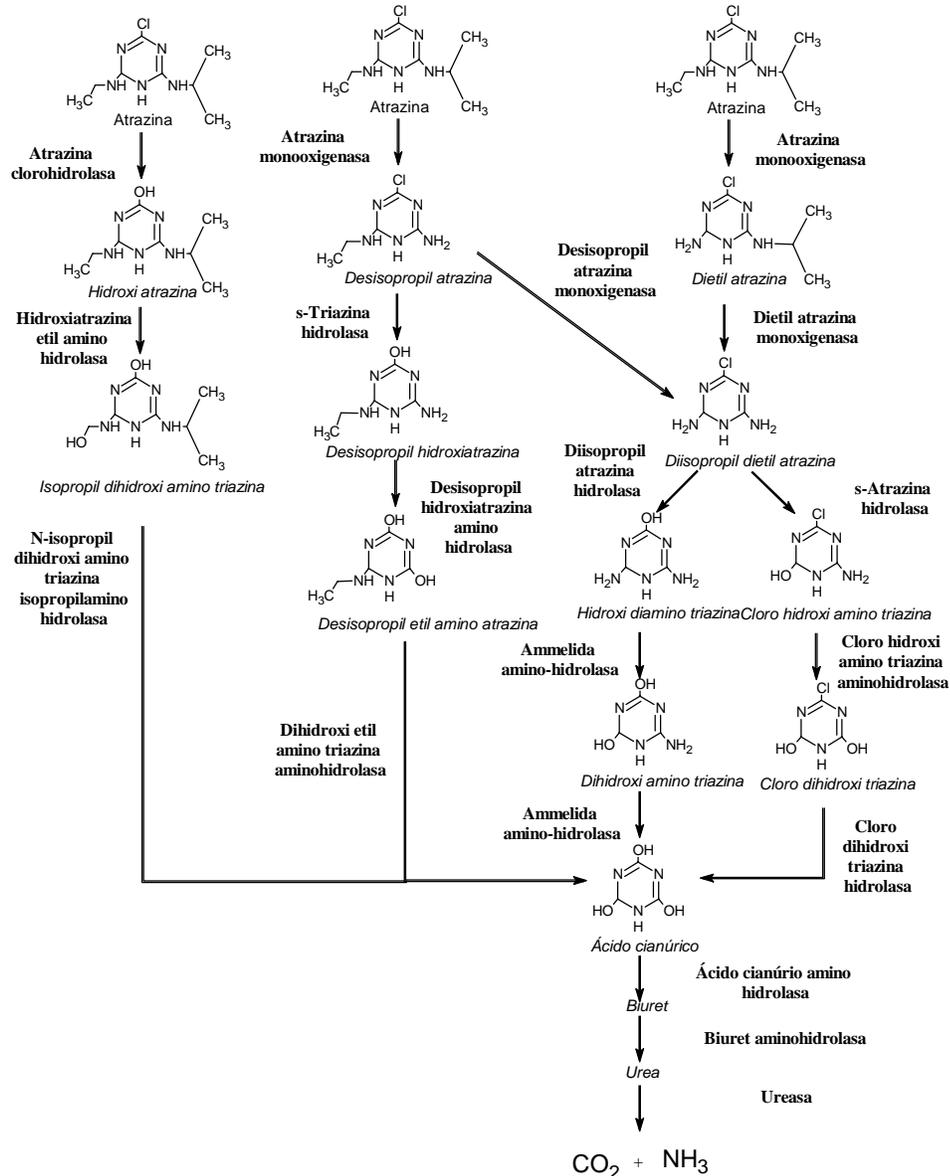


Figura 2.8. Vías de degradación de atrazina (adaptada Zeng *et al.*, 2001)

Para la atrazina existen cuatro vías de degradación y cada vía depende de la presencia de uno o varios microorganismos que posean las enzimas requeridas para cada una de las reacciones de degradación (Figura 2.8).

Por otro lado, en el caso de la atrazina se ha encontrado que algunos de sus metabolitos tales como ácido cianúrico, biuret y la urea (intermediarios finales), son represores de las enzimas encargadas de la degradación del herbicida (Abdelhafid *et al.*, 2000b; Gebendinger y Radosevich, 1999).

### **2.7.3. Inhibición de la degradación de atrazina**

La degradación de atrazina puede ser inhibida por diferentes fuentes de nitrógeno o compuestos análogos al herbicida. Estudios sobre este tema con compuestos análogos fueron realizados por Gebendinger y Radosevich (1999) quienes adicionaron cianazina y diferentes fuentes de nitrógeno al suelo contaminado con atrazina, encontrando una inhibición competitiva de la degradación del herbicida. Observaron que la cianazina, propazina, Ametrina, ácido cianurico, 2-hidroxiatrazina, biuret y urea, minimizan el proceso de degradación de atrazina. Los resultados sugieren que el metabolismo de degradación de atrazina está ligado a las rutas metabólicas de oxidación de los compuestos nitrogenados en bacterias aisladas. Además, se conoce que compuestos similares a la atrazina, tales como la simazina, sirven como inductores de la vía de degradación de este herbicida. Por otro lado, la inhibición de la mineralización de atrazina por fuentes de nitrógeno con estructuras químicas más sencillas como  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ha sido estudiada en medio líquido con bacterias aisladas (Mandelbaum *et al.*, 1993) y en suelo (Abdelhafid *et al.*, 2000b), en este último, con concentraciones diez veces mayores a las recomendaciones de aplicación en campo que van desde 120 hasta 250 kg de N  $\text{ha}^{-1}$  y con suelos no limitados en carbono y nitrógeno, reportando en ambos casos una fuerte inhibición de la degradación de atrazina por la presencia de estas moléculas.

La atrazina y sus derivados heterocíclicos pueden ser asimilados como fuentes de nitrógeno y carbono. La adición de residuos con una alta relación carbono/nitrógeno, produce condiciones limitantes de nitrógeno en el suelo, lo que provoca que los compuestos xenobióticos como la atrazina sirvan como fuente de nitrógeno para los microorganismos, no inhibiendo la mineralización de atrazina en el suelo. Esto fue comprobado con experimentos realizados por Alvey y Crowley (1995) quienes llevaron a cabo cinéticas de mineralización de atrazina en presencia de materia orgánica, incluyendo cascarilla de arroz, composta y almidón, observando una modificación en la degradación de atrazina entre un 88, 59 y 15%, respectivamente. Asimismo, la adición de fuentes de carbono con estructura química menos compleja a las antes mencionadas, tales como glucosa y citrato de sodio, inhiben la mineralización de atrazina, debido a que favorecen la formación de enlaces entre los residuos de atrazina y la materia orgánica (Abdelhafid *et al.*, 2000b).

En los últimos años se han incrementado los estudios sobre la inhibición de la biodegradación de atrazina, y se han enfocado principalmente a aspectos genéticos (García-González *et al.*, 2004), específicamente del microorganismo *Pseudomonas* sp. que tiene la capacidad de mineralizar completamente la atrazina debido a que codifica los genes *atzA*, *atzB*, y *atzC* y el operón *atzDEF*, los cuales son responsables de la degradación de atrazina, llevando a cabo este proceso en varios pasos enzimáticos. Los genes *atzA*, *atzB*, y *atzC* son responsables de la remoción hidrolítica del cloro, y los radicales isopropilamina y etilamina, produciendo ácido cianúrico, intermediario central en el proceso catabólico de la atrazina y otras s-triazinas. El operón *atzDEF* codifica las enzimas responsables de rompimiento del anillo triazínico y, por tanto, de la mineralización de atrazina hasta amonio y dióxido de carbono (Wackett *et al.*, 2002).

También se han realizado estudios del catabolismo de atrazina en *Pseudomonas* sp. en condiciones limitadas de nitrógeno encontrando que

este control de nitrógeno es similar al descrito para las enterobacterias, el cual considera: 1.- una regulación de la expresión de genes, 2.- la adición de amonio no tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento de microorganismos capaces de degradar atrazina y 3.-la represión del catabolismo en presencia de fuentes de nitrógeno de estructura química sencilla (García- González *et al.*, 2004).

Hasta el momento se han desarrollado estudios donde se han demostrado, a nivel de consorcio microbiano en sistema líquido y suelo, así como a nivel enzimático, los efectos inhibitorios de las fuentes de nitrógeno, pero no se ha determinado el efecto de la concentración de nitrógeno en el suelo sobre la mineralización de atrazina.

Con el presente estudio, se contribuiría al mejoramiento de las prácticas agrícolas actuales con respecto a la aplicación de atrazina y fertilizantes nitrogenados en el suelo, y se establecerá la relación que existe entre la inhibición de la mineralización de atrazina y la concentración de nitrógeno.



### **3. Justificación, objetivos e hipótesis**

#### **3.1. Justificación**

Por su movilidad y estabilidad en el ambiente, atrazina es un compuesto que potencialmente puede contaminar a las aguas superficiales y subterráneas. Asociado a esto la presencia de fuentes de nitrógeno inhibe la biodegradación de este herbicida en agua y suelo, aumentando su persistencia y probabilidad de contaminar los cuerpos de agua. Además, hasta el momento sólo se ha considerado que la presencia de nitrógeno inhibe la degradación de atrazina, sin considerar el efecto de la concentración de nitrógeno en la degradación de atrazina y por consiguiente sobre su migración hacia el agua subterránea.

A nivel nacional se aplica atrazina en cultivos de sorgo, maíz, piña y caña de azúcar y su uso está registrado ante el CICOPLAFEST que es la Comisión Intersecretarial para el Control de proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST, 2004) y no se tienen restricción alguna para su aplicación.

Con el fin de estimar el efecto de las diferentes concentraciones de nitrógeno (incluyendo las concentraciones similares e inferiores a la recomendación de aplicación en campo que van de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup>) sobre la biodegradación de atrazina en suelo y medio líquido, así como su influencia sobre la migración de atrazina en suelo hacia agua subterránea. Se debe determinar la mineralización de atrazina en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno en sistemas, donde la atrazina y el nitrógeno se encuentren parcial y totalmente disponibles. Así como la dinámica de atrazina en suelo (adsorción, biodegradación y dispersión) y el efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de nitrógeno sobre la actividad microbiana.

Con el análisis de estos resultados se pueden establecer restricciones para producción, uso y liberación de atrazina al ambiente a nivel nacional.

### **3.2. Objetivo general**

Evaluar la influencia de diferentes concentraciones de nitrógeno, incluyendo las similares e inferiores a la recomendación de aplicación en campo (120 a 250 kg de N ha<sup>-1</sup>), sobre la migración de atrazina en suelos de zonas tropicales de México.

#### **3.2.1. Objetivos específicos**

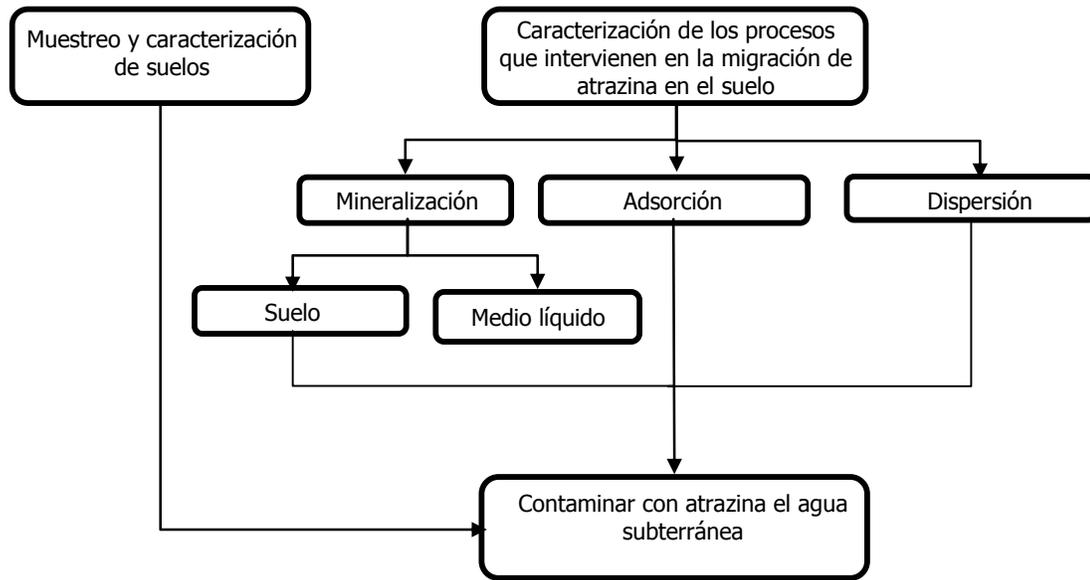
- Evaluar los procesos principales que intervienen en la migración de atrazina en suelo hacia el agua subterránea.
- Estimar la influencia de la concentración de nitrógeno y carbono, incluyendo las concentraciones similares e inferiores a la recomendación de aplicación en campo (intervalo de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup>) sobre la biodegradación de atrazina en suelo y agua.
- Establecer el riesgo de contaminar con atrazina el agua subterránea, en suelos con diferentes grados de fertilización, incluyendo concentraciones de nitrógeno disponible similares o inferiores a la recomendación de aplicación en campo (intervalo de 120 a 250 kg ha<sup>-1</sup>).

#### **3.2.2. Hipótesis**

La persistencia de atrazina y su migración a través del suelo hacia los cuerpos de agua depende de la concentración de atrazina presente en el suelo, por tanto hay una correlación directa entre la inhibición de la mineralización y el grado de fertilización de un suelo con nitrógeno.

#### 4. Metodología

La metodología utilizada para alcanzar los objetivos establecidos en el presente trabajo es la siguiente:



**Figura 4.1.** Metodología para evaluar la influencia de las diferentes concentraciones de nitrógeno en suelo sobre la migración de atrazina

A continuación se describen cada uno de los bloques metodológicos.

##### 4.1. Selección de los sitios de muestreo

Para el estudio se tomaron muestras de dos diferentes zonas agrícolas del país, con base en las siguientes características: a) profundidad de nivel freático, b) superficie sembrada de cultivo indicador y c) características del suelo. Estas zonas se encuentran ubicadas en los estados de Tabasco y Sinaloa. A continuación se describen con mayor detalle las características.

**a) Profundidad de nivel freático.** Se optó por seleccionar regiones que presentaran un nivel freático somero (1 y 3 m). Ya que esto aumenta la posibilidad de contaminar con atrazina el agua subterránea.

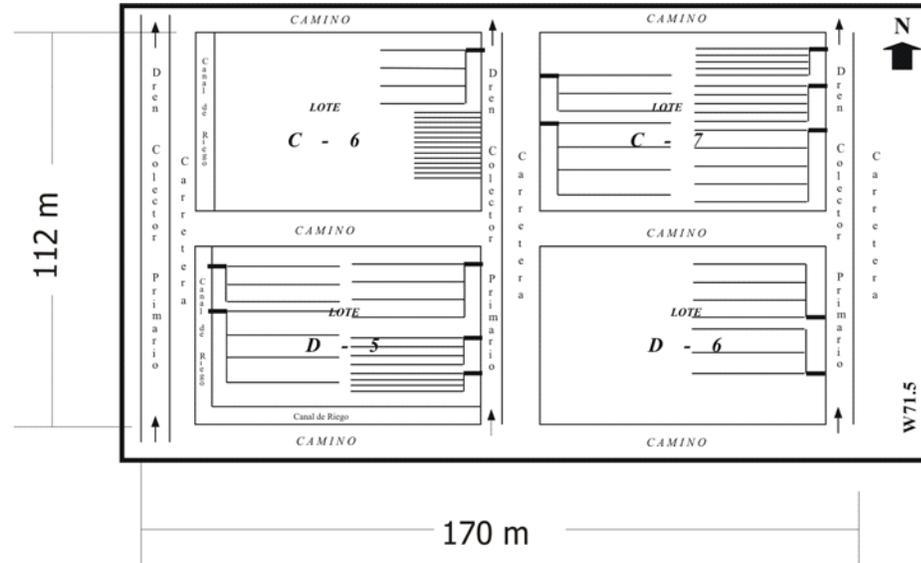
**b) Superficie sembrada de cultivo indicador.** El padrón de cultivo de ambos está diversificado en más de 30 productos, mismos que anualmente demandan gran cantidad de herbicidas. La selección de las zonas se realizó con base a los tipos de cultivos que se siembran, tales como pastos, maíz y caña de azúcar, los cuales tienen la mayor demanda de uso de atrazina.

**c) Tipo de suelo.** Se realizó una caracterización granulométrica de diferentes puntos de las áreas de estudio, y se seleccionó suelos que cumplieran con dos características principales: representatividad de las zonas agrícolas en México y permeabilidad de los suelos considerando un mayor riesgo de infiltración hacia el nivel freático.

#### **4.2. Muestreo**

Para el estudio se consideraron dos sitios de muestreo, el primero se ubica en el campo experimental que pertenece al Colegio de Postgraduados (CP), en "El Trapecio" Cárdenas, Tabasco, localizada geográficamente entre los meridianos 93° 23' y 93° 33' de longitud Oeste y los paralelos 17° 49' y 18° 00' de latitud Norte dentro del área del Plan de la Chontalpa, la zona se encuentra en el área de influencia del distrito de temporal tecnificado 002, zona agrícola con alta producción agrícola.

Las características principales por lo que se seleccionó el campo experimental son las siguientes: nivel freático promedio somero (1 m), los cultivos que se dan en la zona son indicadores del uso de atrazina, caña de azúcar, pastos, cacao y maíz, el tipo de suelo se cataloga como Vertisoles crómicos y Fluvisoles eútricos (FAO, 2003) y el suelo contiene microorganismos capaces de mineralizar este herbicida (Hansen *et al.*, 1999; Hansen *et al.*, 2000). La zona de estudio en Cárdenas Tabasco (campo experimental) se divide en cuatro lotes denominados C-6, C-7, D-5 y D-6 (Figura 4.2). La muestra de suelo de esta zona fue obtenida del lote D-5 y se le estableció como muestra 1.



**Figura 4.2.** División en lotes del campo experimental "El Trapecio" Cárdenas, Tabasco

El segundo de los sitios es DR 063 ubicado en Guasave, Sinaloa área potencialmente agrícola y uno de los más importantes en el estado de Sinaloa, su nivel freático promedio es somero de aproximadamente 1.5 m. El maíz, cultivo que tiene la mayor demanda de uso de atrazina, es uno de los principales productos agrícolas de la región, su tipo de suelo es de textura media, predominando el Feozem y Vertizol según la clasificación FAO-UNESCO (FAO, 2003). La zona está constituida de 5 módulos (figura 4.3) en los que se establecieron seis puntos de muestreo, los cuales se ubican en las siguientes coordenadas.

Cuadro 4.1. Ubicación de los puntos de muestreo en el DR 063

Módulo	Muestra	Coordenadas (GG,MM,SS)	
		latitud	longitud
I-2	2	25,20,02	108,26,50
II-2	3	25,48,46	108,39,16
II-1	4	25,42,53	108,21,29
II-2	5	25,42,25	108,29,21
III	6	25,58,41	108,23,05
I-1	7	25,30,01	108,26,15

++ GG,MM,SS (grados,minutos,segundos)

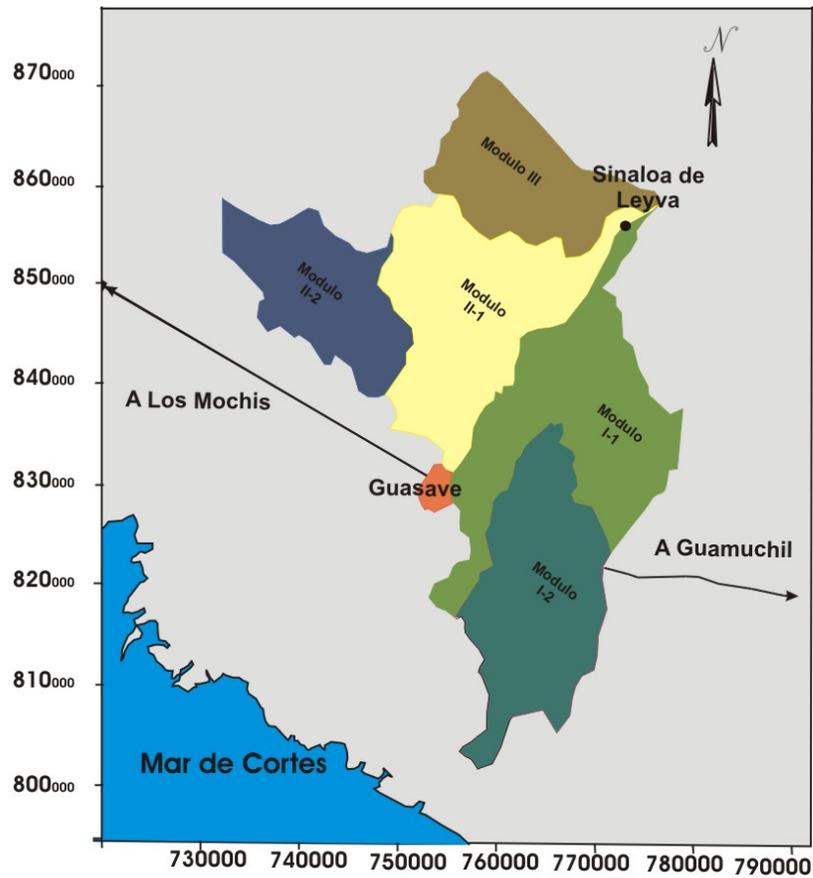


Figura 4.3. Módulos del DR 063 Guasave, Sinaloa (coordenadas en unidades UTM)

En cada una de las zonas de muestreo se delimitó un área de 10 por 10 m, se establecieron cinco puntos de muestreo en cada área, obteniéndose cinco muestras de suelo superficial (primeros 5 cm), por cada muestra se recolectaron 4 kg; éstas cinco muestras fueron mezcladas en el laboratorio para conformar una muestra compuesta de 20 kg representativa de cada área de muestreo. Las muestras se almacenaron a 4 °C, para su caracterización.

En el anexo 1 se encuentra una mayor descripción de las zonas de muestreo.

### **4.3. Caracterización de las muestras de suelo**

Se caracterizaron las muestras compuestas, una procedente del campo experimental de Cárdenas, Tabasco y seis provenientes del DR 063 de Guasave, Sinaloa, los parámetros determinados fueron: contenido de agua, textura, materia orgánica, pH, densidad, capacidad de campo, porosidad, conductividad hidráulica, granulometría y nitrógeno disponible.

Los métodos utilizados para cada uno de los parámetros determinados se enlistan a continuación y su descripción se presenta en el anexo 2 del presente documento.

**Cuadro 4.2.** Métodos utilizados para la caracterización de las muestras de suelo

Parámetro	Método	Referencia
Contenido de agua	D2974 00	ASTM, 2000b
Materia orgánica		
pH	D4972-95	ASTM, 1995
Granulometría	F1632-00	ASTM, 2000c
Textura	Triangulo de texturas del departamento de agricultura de EE.UU	Eweis, 1999
Conductividad hidráulica	Soil Water Characteristics Hydraulic Properties Calculator	USDA, 2003; Saxton, 1986
Densidad	F1815-97	ASTM,1997
Capacidad de campo		
porosidad		
Nitrógeno disponible	Determinación de nitratos con aleación de dervada y de amonio con MgO	Wehrmann y Scharpf, 1979

#### 4.4. Mineralización de atrazina en suelo

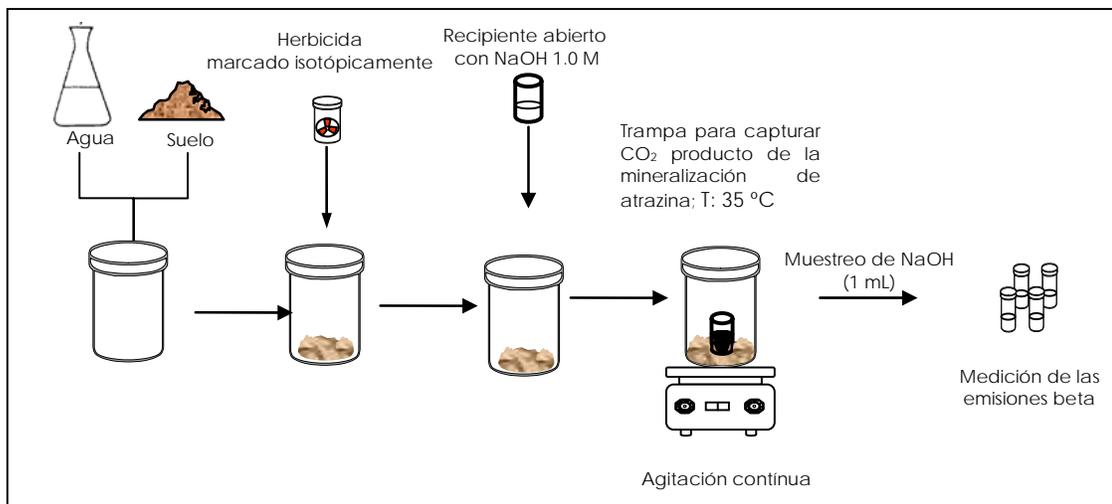
Los procesos biológicos como la biodegradación influyen en la concentración y la migración de herbicidas en el suelo. El proceso de degradación, puede llegar hasta la biodegradación completa (producción de compuestos inorgánicos) o parcial (generación de metabolitos) de los herbicidas aplicados en zonas agrícolas. Se realizó la determinación de mineralización para las siete muestras de suelo, con tres repeticiones en cada experimento.

En frascos de 250 mL con tapas metálicas con recubrimiento de teflón® y sellado hermético, se colocaron 10 g de suelo, se adicionaron 0.54 mL de

solución de atrazina con trazas de atrazina marcada isotópicamente (la solución patrón tenía una concentración de 20 mg L<sup>-1</sup>, 3.16 x 10<sup>3</sup> Bq mL<sup>-1</sup>), ajustando la concentración de atrazina en el suelo a 1.08 mg kg<sup>-1</sup> y contenido de agua a 50 % de la capacidad de campo; el suelo fue mezclado perfectamente.

Después, dentro de los frascos se colocó una trampa con NaOH con el fin de capturar el CO<sub>2</sub> (incluyendo [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub>) producido durante la mineralización de atrazina. La trampa consistía en vasos de precipitado de 10 mL con 5 mL de NaOH 1 M y un agitador magnético de teflón®.

Los contenedores fueron incubados a 35 ± 1 °C y se abrían diariamente durante 1 min, para asegurar la apropiada provisión de oxígeno al sistema. La temperatura seleccionada fue con base en estudios previos que indican que la temperatura superficial de los suelos en zonas tropicales es por arriba de los 30 °C durante varios meses del año (Cruz- Mendoza *et al.*, 2005). A ciertos intervalos de tiempo, se tomó una alícuota de 1 mL de la solución de NaOH y se depositó en viales de borosilicato de centelleo líquido que contenían 8 mL de solución de centelleo. Las emisiones producidas por la captura de [<sup>14</sup>C]CO<sub>2</sub> fueron cuantificadas en un espectrofotómetro de emisiones beta (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA). En la figura 4.4 se presenta un esquema del procedimiento.



**Figura 4.4.** Diagrama de flujo para la cuantificar la mineralización de herbicidas en suelo húmedo

#### 4.4.1. Respiración microbiana del suelo

Para los experimentos de respiración del suelo, se seleccionó el suelo donde se obtuvo la menor vida media y menor concentración de nitrógeno disponible, para observar la influencia de la concentración de sustratos sobre la actividad microbiana.

Se determinó la respiración en la muestra procedente de cárdenas Tabasco, la cual se designó muestra de suelo 1, con el objetivo de cuantificar la respiración basal del suelo y establecer la concentración necesaria de carbono para tener suelos no limitados en este nutrimento, y así poder evaluar únicamente la influencia de nitrógeno sobre el proceso de mineralización.

En un matraz erlenmeyer se depositaron 100 g de suelo (peso seco) y se agregó agua hasta alcanzar 50 % de la capacidad de campo, nitrato de potasio como fuente de nitrógeno y sacarosa y acetato de sodio como fuentes de carbono.

Se realizaron diferentes experimentos de respiración de suelo por triplicado, en los cuales se varió la concentración de carbono hasta alcanzar la máxima capacidad respiratoria, es decir un suelo sin limitaciones de carbono (determinaciones de la 1 a la 4). Al suelo no limitado de carbono se le adicionaron diferentes concentraciones de nitrógeno, hasta obtener un suelo no limitado en nitrógeno y carbono (determinaciones de la 5 a la 9). En el cuadro 4.3 se pueden observar estas concentraciones.

La concentración de estos nutrimentos contenida en el suelo al inicio de las determinaciones fueron: para nitrógeno disponible 24 mg kg<sup>-1</sup> (22 kg ha<sup>-1</sup>) y carbono 5 090 mg kg<sup>-1</sup> (4 666 kg ha<sup>-1</sup>).

Para realizar la conversión de la concentración de de nitrógeno utilizada en el laboratorio (mg kg<sup>-1</sup>) a concentraciones aplicadas en campo (kg ha<sup>-1</sup>) se utilizó la siguiente ecuación:

$$N_A = Z \cdot \rho \cdot N_s \cdot 10^{-2} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

Donde

$N_A$  = Concentración de nitrógeno aplicada en campo (kg ha<sup>-1</sup>)

$N_s$  = Concentración de nitrógeno aplicada en laboratorio (mg kg<sup>-1</sup>)

$Z$  = profundidad (m)

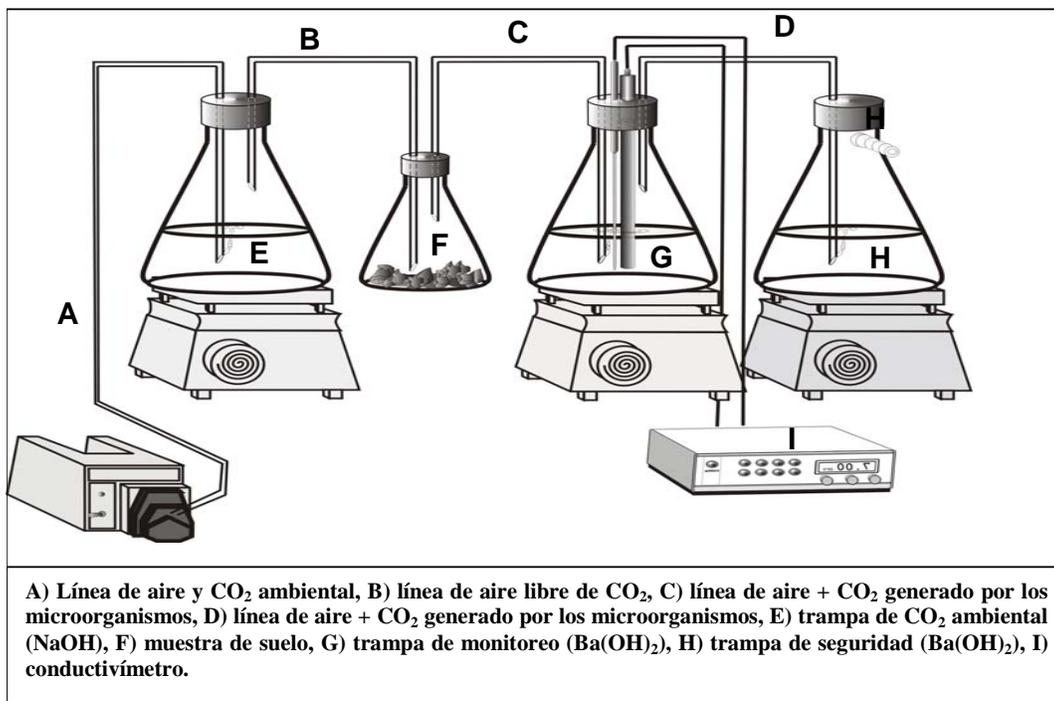
$\rho$  = Densidad (kg m<sup>-3</sup>)

La profundidad considerada para esta conversión fue de 5 cm.

**Cuadro 4.3.** Diseño experimental para la cuantificación de la capacidad respiratoria del suelo en presencia de diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno

Determinación	Carbono (sacarosa y acetato de sodio)		Nitrógeno (KNO <sub>3</sub> )	
	(kg ha <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )
1	0	0	0	
2	3 600	3 927	0	0
3	9 000	9 818	0	0
4	14 400	15 709	0	0
5	14 400	15 709	90	98
6	14 400	15 709	900	981
7	14 400	15 709	1 800	1 964
8	14 400	15 709	4 500	4 909
9	14 400	15 709	9 000	9 818

Se hizo pasar una corriente de aire libre de CO<sub>2</sub> a través del suelo y el contenedor con suelo fue conectado a una serie de trampas que contenían hidróxido de bario (Ba(OH)<sub>2</sub>) con el fin de capturar el CO<sub>2</sub> generado por la respiración de los microorganismos presentes en el suelo (Figura 4.5).



**Figura 4.5.** Sistema para cuantificar la respiración microbiana en suelo (van Afferden *et al.*, 2002)

El CO<sub>2</sub> generado por la actividad microbiana reacciona con el Ba(OH)<sub>2</sub> contenido en las trampas, formando carbonato de bario (BaCO<sub>3</sub>). La formación de BaCO<sub>3</sub> fue cuantificada midiendo la conductividad eléctrica en las trampas (van Afferden *et al.*, 2002). Estos experimentos sirvieron para: A) determinar la respiración basal del suelo, B) determinar cual es la concentración mínima necesaria de carbono para que el suelo no se encuentre limitado en este nutriente y así eliminar la influencia del carbono sobre la mineralización de atrazina y C) establecer a qué concentraciones de nitrógeno y carbono el suelo no se encuentra limitado en nutrientes (carbono y nitrógeno).

#### 4.4.2. Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo

Siguiendo la técnica para la mineralización de atrazina, se evaluó la inhibición de este proceso en los siguientes escenarios experimentales:

- Suelo limitado en carbono y nitrógeno
- Suelo limitado en nitrógeno hasta con exceso de este nutrimento

Las concentraciones de nitrógeno aplicadas en los experimentos con suelo limitado en carbono y nitrógeno, se presentan en el cuadro 4.4 mientras que las concentraciones utilizadas en experimentos con suelo no limitado en carbono, se presentan en el cuadro 4.5.

**Cuadro 4.4.** Concentraciones de nitrógeno aplicadas al suelo para los experimentos de inhibición de la mineralización de atrazina en suelo limitado de carbono;  $[\text{carbono}]_{\text{suelo}}=5\ 090\ \text{mg kg}^{-1}$

Determinación	Concentración N-KNO <sub>3</sub>	
	(mg kg <sup>-1</sup> )	(Kg ha <sup>-1</sup> )
1	0	0
2	33	22
3	66	61
4	133	122
5	266	244
6	2 000	1 833
7	3 650	3 346

**Cuadro 4.5.** Concentraciones de nitrógeno y carbono aplicadas al suelo para los experimentos de inhibición de la mineralización de atrazina en suelo no limitado de carbono

Experimento	C-sacarosa y acetato de sodio		N-KNO <sub>3</sub>	
	(kg ha <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )
1	0	0	0	
2	3 600	3 927	0	0
3	9 000	9 818	0	0
4	14 400	15 709	0	0
5	14 400	15 709	90	98
6	14 400	15 709	900	981
7	14 400	15 709	1 800	1 964

#### 4.5. Mineralización de atrazina en medio líquido

Para evaluar la inhibición de la mineralización de atrazina en un sistema donde no intervengan procesos como la adsorción y el transporte como factores limitantes, se realizaron experimentos de mineralización en medio líquido, con lo que se aseguraba la completa disponibilidad de nutrientes para los microorganismos.

##### 4.5.1. Aislamiento y caracterización de los microorganismos

Se realizó el aislamiento y caracterización de los microorganismos de la muestra de suelo 1 procedente de Cárdenas, Tabasco.

##### 4.5.1.1. Preparación de inóculo

Se colocó 10 g de suelo en un tubo de centrifuga de 100 mL, el suelo fue suspendido en 50 mL de solución isotónica libre de nitrógeno (1.6 g L<sup>-1</sup>

$K_2HPO_4$ ,  $0.4 \text{ g L}^{-1}$   $KH_2PO_4$ ,  $0.2 \text{ g L}^{-1}$   $MgSO_4 \cdot H_2O$ ,  $0.1 \text{ g L}^{-1}$   $NaCl$  y  $0.02 \text{ g L}^{-1}$   $CaCl_2$ ) y se colocaron en agitación durante un día.

Una vez agitados se procedió a filtrar la suspensión (Whatman no. 4), el filtrado se centrifugó durante 15 minutos a 6 000 rpm, el sobrenadante obtenido se desechó y los residuos de suelo se suspendieron con 50 mL de solución isotónica, repitiendo dos veces el procedimiento de centrifugación y resuspensión. La última resuspensión se llevó a cabo en 5 mL de solución isotónica y se tomó una alícuota de 0.1 mL como inóculo para las siguientes determinaciones.

#### 4.5.1.2. Crecimiento de microorganismos en medio líquido

La composición del medio líquido utilizado para el crecimiento de microorganismos capaces de degradar la atrazina fue la siguiente (Cuadro 4.6):

**Cuadro 4.6.** Composición de medios de cultivo utilizados para el crecimiento de microorganismos en 100 mL de agua

Compuesto	Fórmula	Cantidad (g)
atrazina	$C_8H_{14}N_5Cl$	0.005
Acetato de sodio	$CH_3COOH$	0.100
Sacarosa	$C_{12}H_{22}O_{11}$	0.100
Fosfato ácido de sodio	$Na_2HPO_4$	0.200
Sulfato de magnesio	$MgSO_4$	0.010
Cloruro de calcio	$CaCl_2$	0.010
Cloruro de hierro hexahidratado	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.001

La dosis de sales, fuente de carbono y atrazina, fueron tomadas de Mandelbaum *et al.*, 1993.

Se depositaron 9.9 mL del medio de cultivo antes mencionado en tubos de vidrio estériles de 20 mL a los que se les adicionó 0.1 mL del inóculo preparado, se incubaron a  $35 \pm 2$  °C durante 24, 48 y 72 horas. Una vez que se detectó el crecimiento de microorganismos en medio líquido (aumento de la turbidez en el medio), se procedió a su cultivo en medio sólido.

#### **4.5.1.3. Crecimiento de microorganismos en medio sólido**

De los cultivos realizados en medio líquido se tomó una alícuota de 1 mL y se inoculó una caja Petri con medio sólido selectivo de atrazina, la distribución se llevó a cabo con un asa de vidrio previamente esterilizada. Una vez inoculado el medio de cultivo, se procedió a incubar a  $35 \pm 2$  °C durante 24, 48 o 72 horas (dependiendo del crecimiento microbiano). Después de este tiempo se observó el crecimiento microbiano y se tomó una asada de las colonias que habían crecido. Estas fueron sembradas por separado en nuevas cajas Petri con medio sólido selectivo de atrazina hasta el aislamiento de cada cepa; para su posterior identificación, mediante pruebas bioquímicas con un sistema Microscan (Dade Behring, Deerfield, IL, USA).

La composición del medio sólido selectivo de atrazina utilizado para el aislamiento de microorganismos degradadores de atrazina, es la descrita en el cuadro 4.6 para medios líquidos con  $15 \text{ g L}^{-1}$  de agar para solidificar el medio.

#### **4.5.2. Rendimiento de la biomasa como función del nitrógeno disponible en la estructura molecular**

Se realizaron determinaciones por quintuplicado para comparar la producción de biomasa con base en la presencia del tipo de fuente de nitrógeno.

Se preparó un medio líquido similar al descrito en la cuadro 4.6, al cual no se le adicionó atrazina como fuente de nitrógeno. En 16 matraces Erlenmeyer

de 125 mL se depositaron 25 mL del medio. A ocho matraces se les adicionaron diferentes concentraciones de N-KNO<sub>3</sub> y a los otros ocho matraces se le adicionaron la misma concentración de N-atrazina. Las concentraciones de N-KNO<sub>3</sub> y N-atrazina adicionadas a cada uno de los matraces se presentan en el cuadro 4.7

**Cuadro 4.7.** Concentraciones de nitrógeno adicionadas al medio líquido

Concentración de N-KNO <sub>3</sub> ó N-atrazina(g L <sup>-1</sup> )
0
0.00010
0.00025
0.00050
0.00075
0.00100
0.00300
0.01000

Una vez preparados los medios se inocularon con los microorganismos aislados se monitoreó el crecimiento microbiano por medio de la técnica para cuantificación de proteínas con el método de Folin Fenol establecida por Lowry *et al.* (1951). Con lo que se cuantificó la biomasa producida por el crecimiento microbiano con las dos fuentes de nitrógeno utilizadas en los experimentos en suelo (nitrato de potasio y atrazina).

#### **4.5.3. Inhibición de mineralización de atrazina en medio líquido en condiciones limitadas y no limitadas de nitrógeno**

Se realizaron experimentos de mineralización de atrazina en medio líquido en sistema limitado y no limitado de nitrógeno, donde se tuvo la disponibilidad total del herbicida para los microorganismos aislados del suelo.

Se utilizó la metodología descrita para los experimentos de mineralización de atrazina en medio líquido y se varió la concentración de nitrógeno disponible ( $\text{KNO}_3$ ); las diferentes concentraciones de  $\text{N-KNO}_3$  se presentan en el cuadro 4.8.

Con lo anterior se evaluó el efecto inhibitorio del nitrógeno a diferentes concentraciones en la mineralización de la atrazina, en un sistema menos complejo que el suelo.

**Cuadro 4.8.** Concentraciones de  $\text{N-KNO}_3$  utilizadas para los experimentos de degradación de atrazina en medio líquido

<b><math>\text{N-KNO}_3</math> (g L<sup>-1</sup>)</b>
0
0.0001
0.0005
0.0010
0.0050
0.0100
0.1000
1.0000

#### **4.6. Adsorción de atrazina en suelo**

Considerando la importancia de la adsorción en la dinámica de los herbicidas en suelo, se utilizó la siguiente metodología para determinar los coeficientes de adsorción en suelo (OECD, 2002b).

Se determinaron coeficientes de adsorción de atrazina en los suelos donde se observó biodegradación del herbicida (muestras 1, 2 y 3). La adsorción fue evaluada en suelos pasteurizados a 60 °C durante 1 hr para evitar la degradación microbiológica durante la determinación y de esta manera

separar el efecto de adsorción de la biodegradación. Las determinaciones se realizaron por duplicado empleando el método de dilución isotópica con atrazina marcada isotópicamente en el anillo triazínico adquirida en Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA.

La determinación del coeficiente de adsorción se llevó a cabo en una serie de tubos de teflón para centrifuga de 50 mL. En cada tubo se agregaron 2.0 g de suelo (peso seco) y se adicionaron 10 mL de agua calidad MilliQ; las suspensiones se pasteurizaron a 60 °C por una hora. Posteriormente se sometieron a agitación durante 48 h para hidratar el suelo perfectamente, y después de la agitación, se agregó atrazina con trazas de atrazina marcada isotópicamente en diferentes concentraciones (muestra 1 procedente de cárdenas Tabasco de 0.0005 a 0.005 mg L<sup>-1</sup> y para las muestras 2 y 3 procedentes de Guasave Sinaloa de 0.0001 a 0.1 mg L<sup>-1</sup>) y agua MilliQ hasta un volumen total de 20 mL en cada tubo.

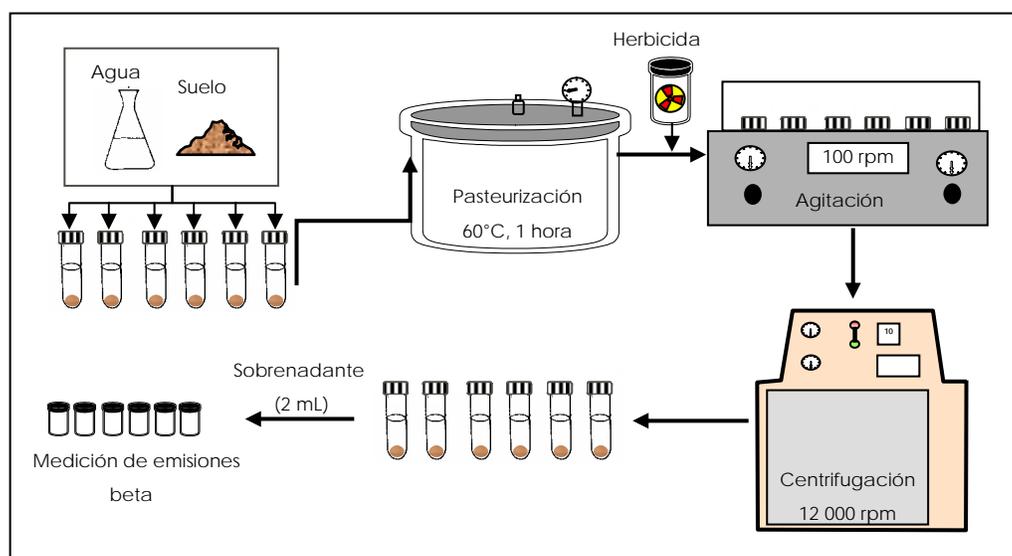
Se equilibraron las suspensiones bajo agitación en un rotor (Cole Parmer, model 7637) a 100 revoluciones por minuto (rpm) durante 24 h, tiempo suficiente para llevar a cabo la adsorción de la atrazina en la muestra de suelo según Hansen *et al.*, (2000) y posteriormente se separaron las fases por centrifugación a 12 000 rpm durante 10 min en una centrifuga Beckman J2-21, rotor JA-20  $r_{max}=108$ .

Del extracto obtenido se tomó una alícuota de 2 mL y se depositó en viales de conteo, después se agregaron 10 mL de líquido de centelleo y por último se midieron las emisiones radiactivas en un contador de centelleo líquido (Beckman Coulter model LS 6500).

Paralelamente se preparó un "blanco" sin isótopo (con agua y suelo) para conocer la radiación "de fondo" y un "total" (con herbicida, isótopo pero sin suelo) para conocer la cantidad total de las emisiones agregadas por unidad de volumen.

Para la estimación del coeficiente de adsorción, se determinaron las concentraciones de los herbicidas retenidos en el suelo a partir de las concentraciones en la fase acuosa. Con las concentraciones en equilibrio obtenidas en las dos fases se realizó una gráfica doble logarítmica. El equilibrio entre las concentraciones de los contaminantes adsorbidos (suelo) y disueltos (fase acuosa) se describió matemáticamente con la isoterma de Freundlich.

En la figura 4.6 se muestra en forma esquematizada la metodología para la adsorción de herbicidas en suelo.



**Figura 4.6.** Metodología para evaluar la adsorción de herbicidas en el suelo

#### 4.7. Dispersión de atrazina en suelo

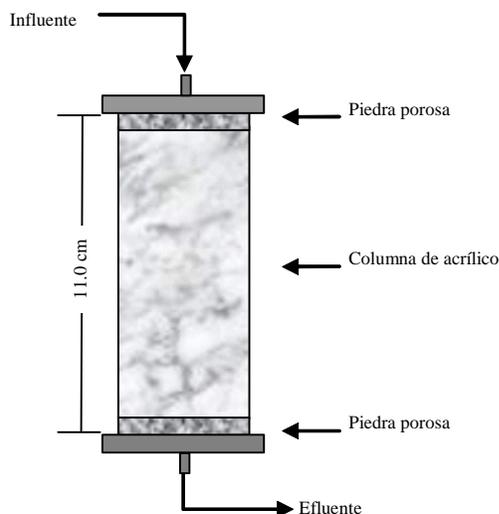
Para determinar el coeficiente de dispersión de la atrazina en el suelo se hizo pasar una solución de atrazina a través de una columna de suelo preparada conforme a la conductividad hidráulica de campo, la cual fue determinada como se muestra en el anexo 2.

#### **4.7.1. Diseño de columnas de suelo para determinar el coeficiente de dispersión**

Se estudió la dispersión en columnas de 4.5 cm de diámetro y 11 cm de altura (Figura 4.7) con piedra porosa en la parte superior e inferior de la columna (OECD, 2002c). El diámetro mínimo para una columna experimental, debe ser 10 veces mayor que el diámetro de la partícula de mayor tamaño que se encuentre en el suelo (Department of the Army, 1986). Considerando la relación entre el tamaño máximo de partícula del suelo en estudio (2 mm para arenas) y el diámetro de la columna. El diámetro mínimo para estudiar la dispersión en una columna sería de 2 cm. Por tanto la columna diseñada está dentro de los requerimientos establecidos para reducir los efectos de pared en estos experimentos.

La altura de la columna se definió considerando que, para observar adecuadamente el fenómeno de dispersión en suelo en dirección vertical y mínimo efecto de pared en la columna de suelo es necesario tener por lo menos dos veces el tamaño del diámetro (Department of the Army, 1986). Por lo que se eligió una altura de la columna de 11 cm con el fin de cumplir con la regla anterior y no tener una columna muy alta.

Las columnas fueron construidas con acrílico, material en el que la adsorción de atrazina no es significativa (Topp y Smith, 1992).



**Figura 4.7.** Columnas utilizadas para evaluar la dispersión de atrazina en las muestras de suelo

#### 4.7.2. Dispersión de atrazina en columna de suelo

La columna fue empacada con suelo en tres capas similares con una energía de compactación de  $0.495 \text{ kg cm cm}^{-3}$ , la cual se determinó con las técnicas de American Society for Testing and Materials D698 (ASTM, 2000a) y D5084 (ASTM, 2003) descritas en el anexo 2. Se aplicaron los golpes necesarios para obtener la conductividad hidráulica de campo. Posteriormente la columna se conectó a una bomba peristáltica y se le bombeó agua desionizada ( $24.6 \text{ mL h}^{-1}$ ). Esta operación se mantuvo hasta que la condición de estado estable se alcanzó (24 h).

El estado estable es cuando el flujo del influente es igual al flujo del efluente en la columna. Una vez que se alcanzó este estado, se aplicó un pulso de 3 mL de herbicida con trazas de herbicida marcado isotópicamente ([atrazina]=  $21.3 \text{ mg L}^{-1}$ ; 250 000 cpm). La concentración de atrazina fue acorde a la utilizada en campo ( $0.315 \text{ kg ha}^{-1}$ ) y se calculó con la siguiente ecuación:

$$M = \frac{A * 10^9 * d^2 * \pi}{10^8 * 4} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

Donde

M= Cantidad de atrazina aplicado ( $\mu\text{g columna}^{-1}$ )

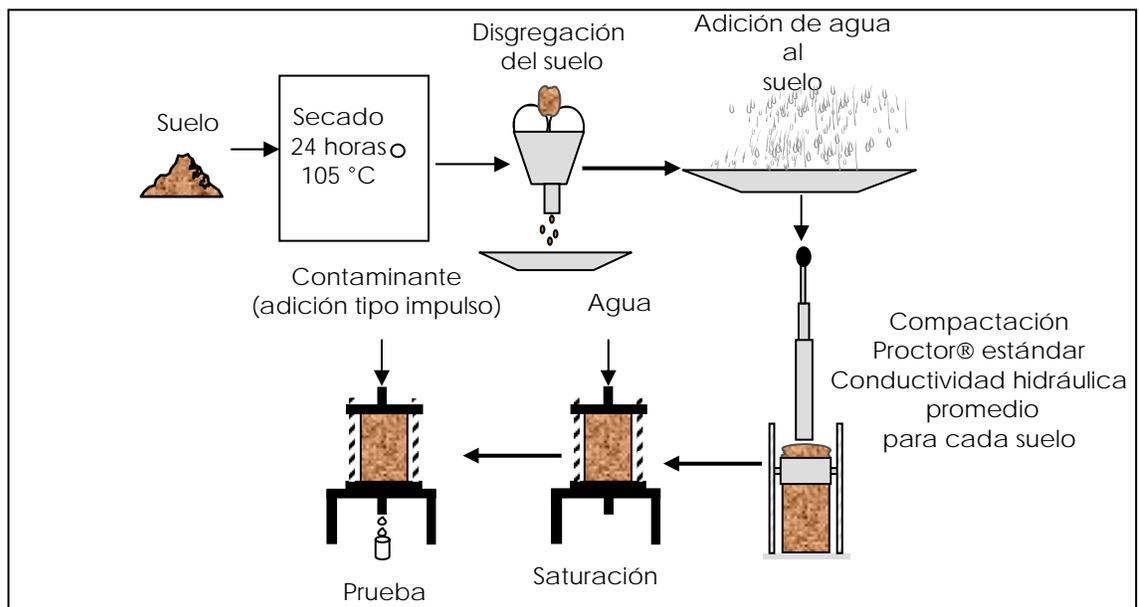
A= Tasa de aplicación del atrazina en campo ( $\text{kg ha}^{-1}$ )

d= Diámetro de la columna de suelo (cm)

$10^9$ = Conversión de kg a  $\mu\text{g}$

$10^8$ = Conversión de ha a  $\text{cm}^2$

El procedimiento antes descrito se presenta en la figura 4.8.



**Figura 4.8.** Procedimiento para evaluar la dispersión de atrazina en columnas de suelo

A diferentes tiempos se recolectaron muestras de efluente de la columna; las muestras se centrifugaron a 15 000 rpm; durante 15 min (Beckman J2-21, rotor JA-20  $r_{\text{max}}=108$ ) y fue medida la radiación emitida en un espectrómetro de centelleo líquido para emisiones  $\beta$  (Beckman Coulter). Con los datos obtenidos se trazaron curvas de ruptura y avance (OECD, 2002c).



## 5. Resultados y discusiones

### 5.1. Caracterización de las muestras de suelo

Con la caracterización de las muestras obtenidas se clasificaron los suelos con base en su grado de fertilización, textura y contenido de materia orgánica, los resultados obtenidos de esta caracterización se presentan en la cuadro 5.1.

En los suelos muestreados predominaron los de textura media, de los cuales en cinco muestras fueron de textura franco-limosa (2 a la 6), la muestra 7 fue definida como textura limosa y por último la muestra 1 por su granulometría es clasificada como textura arcillo-arenosa. Los resultados observados con respecto a pH, humedad y materia orgánica, densidad, capacidad de campo y porosidad característicos de suelos agrícolas y son similares entre sí.

Para el nitrógeno disponible ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ ), se encontraron suelos con concentraciones de  $22 \text{ kg ha}^{-1}$  ( $24 \text{ mg kg}^{-1}$ ) hasta concentraciones de  $961 \text{ kg ha}^{-1}$  ( $1\ 068 \text{ mg kg}^{-1}$ ) comparando estos valores con el contenido de nitrógeno en la capa arable del suelo ( $90 - 300 \text{ kg ha}^{-1}$ ; Schachtschabel y Scheffer, 1998) los suelos muestreados presentaban deficiencia y exceso de concentración de nitrógeno.

Cuadro 5.1 Caracterización de las muestras de suelo

Muestra (Figuras 4.2y 4.3)	Procedencia	Granulometría [%]			Humedad [%]	pH	Materia orgánica [%]	Nitrógeno disponible [mg kg <sup>-1</sup> ]			Densidad aparente [g cm <sup>-3</sup> ]	Capacidad de campo [% vol]	Porosidad [% vol]	Conductividad hidráulica [m s <sup>-1</sup> ]
		Arena	Limo	Arcilla				NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N <sub>Total</sub>				
1	Cárdenas, Tabasco	49	10	41	28	6.4	2.0	23	1	24	1.8	49	54	5.0x10 <sup>-6</sup>
2	Guasave, Sinaloa	44	51	5	5	7.2	2.7	16	13	29	1.3	27	50	3.1x10 <sup>-6</sup>
3		28	55	17	16	8.8	3.2	87	2	89	1.3	31	51	6.4x10 <sup>-6</sup>
4		21	70	9	10	7.7	2.4	346	18	364	1.4	26	47	3.8x10 <sup>-6</sup>
5		16	74	10	10	8.2	2.9	521	4	525	1.8	5	31	1.2x10 <sup>-7</sup>
6		21	70	9	8	6.7	2.5	834	7	841	1.5	15	44	2.3x10 <sup>-6</sup>
7		7	82	11	5	7.5	2.9	1053	15	1068	1.3	42	52	1.4x10 <sup>-5</sup>

---

## 5.2. Mineralización de atrazina en suelo

A continuación se muestran los resultados obtenidos en los experimentos de mineralización de atrazina.

### 5.2.1. Mineralización de atrazina en diferentes muestras de suelo

Para asegurar la mineralización del anillo triazínico en los experimentos realizados, se utilizó atrazina marcada en un carbono del anillo triazínico, asegurando así la mineralización del herbicida.

A través de los resultados de cinéticas de mineralización de atrazina obtenidas (Figura 5.1) se calcularon las respectivas constantes de mineralización,  $k$  (ecuación 2.7), y vidas media  $t_{1/2}$  (ecuación 2.8) para atrazina en las muestras de suelo (Cuadro 5.2).

El porcentaje de mineralización de atrazina después de 35 d de incubación claramente indicó que la concentración de nitrógeno disponible en suelo afecta directamente la mineralización de atrazina.

También se observó que en los suelos donde la concentración de nitrógeno era mayor  $364 \text{ mg kg}^{-1}$ , la mineralización de atrazina fue mínima de un 4 y 8 %, mientras que para suelos con concentraciones de nitrógeno disponible menores a las recomendadas en cultivos agrícolas ( $24 \text{ mg kg}^{-1}$ ) la mineralización se llevó a cabo principalmente en los primeros siete días de incubación alcanzando casi la totalidad (99 %) después de 30 días de experimentación.

Por otro lado, las vidas media obtenidas para las muestras 1 (Cárdenas, Tabasco) y 2 (DR 063 Guasave, Sinaloa) fueron 0.99 y 4.47 d respectivamente, las cuales son menores a las reportadas en la literatura (Hand y Nassetta, 2003; Abdelhafid *et al.*, 2000a).

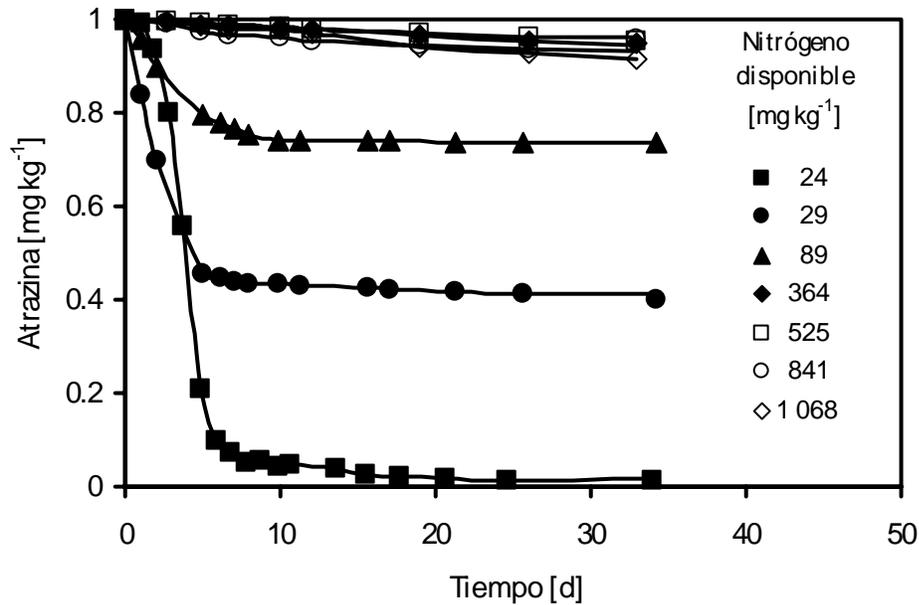
**Cuadro 5.2** Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en diferentes muestras de suelo; contenido de agua 50 % de la capacidad de campo;  $[\text{atrazina}]_{\text{suelo}} = 1.08 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $T = 35^\circ\text{C}$ ,  $t = 35$  días

Muestra	Procedencia	Nitrógeno disponible [mg kg <sup>-1</sup> ]	k [d <sup>-1</sup> ]	t <sub>1/2</sub> [d]	Mineralización de atrazina [%]
1	Cárdenas, Tabasco	24	0.69±0.0023	0.99	99
2	Guasave, Sinaloa <sup>1</sup>	29	0.15±0.00014	4.47	56
3		89	0.04±0.00006	18.73	26
4		364	-	>35 d	8
5		525	-	>35 d	7
6		841	-	>35 d	4
7		1 068	-	>35 d	4

Con respecto al grado de inhibición, se encontró que éste es controlado por la concentración de nitrógeno disponible en el suelo. Asimismo, se observó que el grado de inhibición de la mineralización de atrazina no sólo depende de la concentración de nitrógeno en el suelo, sino también de otros factores. Lo anterior debido a que aún cuando las concentraciones de nitrógeno disponibles en las muestras 1 (Cárdenas, Tabasco) y 2 (DR 063 Guasave, Sinaloa) fueron similares, en la muestra 2 se presentó un mayor efecto inhibitorio en comparación con la muestra 1, donde éste fue casi nulo. Lo anterior probablemente a las especies de nitrógeno disponible contenidas en el suelo, ya que aún cuando la concentración de nitrógeno disponible es similar, la concentración de nitratos es mayor en el la muestra 1 procedente de Cárdenas, Tabasco (23 mg kg<sup>-1</sup>), mientras que en la muestra 2

<sup>1</sup> En el cuadro 4.1 se encuentra los sitios de muestreo de las muestras procedentes de Guasave Sin

procedente de Guasave, Sinaloa la concentración de nitratos es de ( $16 \text{ mg kg}^{-1}$ ), siendo mayor en esta última la concentración de amonio, compuesto que inhibe la mineralización pero favorece la degradación de atrazina y la producción de intermediarios en el suelo (Abdelhafid *et al.*, 2000b). Efecto que explica el resultado obtenido ya que en la presente investigación se cuantificó la mineralización y no la degradación.

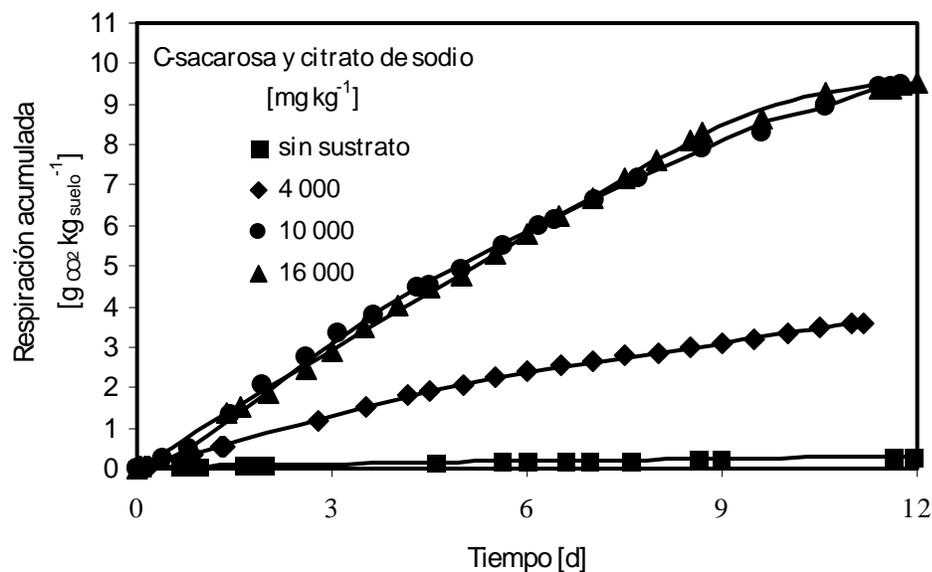


**Figura 5.1** Mineralización de atrazina muestras de suelo procedentes de Cárdenas Tabasco ( $24 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Guasave, Sinaloa ( $29$  a  $1\ 068 \text{ mg kg}^{-1}$ ); contenido de agua 50 % de la capacidad de campo;  $[\text{atrazina}]_{\text{suelo}} = 1.08 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $T = 35^\circ\text{C}$

### 5.2.2. Respiración microbiana del suelo

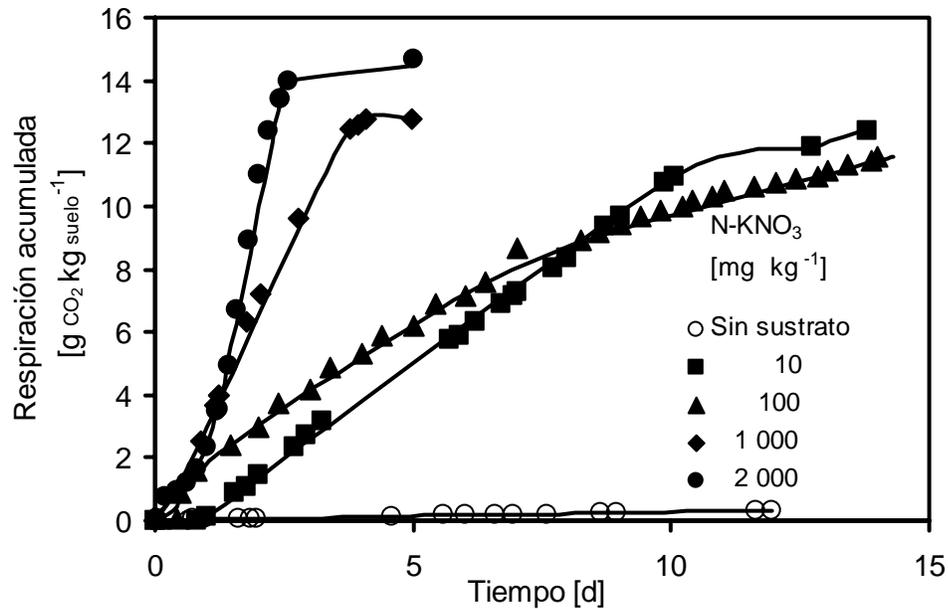
Los experimentos de respiración se realizaron en la muestra 1, procedente de Cárdenas, Tabasco, debido a que presentó la menor vida media y concentración de nitrógeno disponible. Con lo que se permitiría evaluar efectos del aumento de la concentración de nitrógeno en el suelo sobre la respiración del suelo y la mineralización de atrazina.

Para ello se cuantificó la respiración del suelo (muestra 1) sin la adición de sustratos obteniendo una producción media de  $\text{CO}_2$  de  $0.023 \text{ g d}^{-1} \text{ kg}^{-1} \pm 3 \times 10^{-4}$ , similar a la obtenida en suelos agrícolas (Silva *et al.*, 2007; Wassergüte y Abfallwirtschaft, 1991). En este suelo se adicionaron diferentes concentraciones de carbono para evaluar el efecto que tiene la adición de este sustrato sobre la respiración biológica. Se encontró que a concentraciones de carbono menores a los  $10\,000 \text{ mg kg}^{-1}$  el suelo estaba limitado en carbono (Figura 5.2). Al suelo procedente Cárdenas, Tabasco (muestra 1) se le adicionó una concentración de  $16\,000 \text{ mg kg}^{-1}$ , con lo que se obtuvo una respiración media por día de  $0.812 \text{ g de CO}_2 \text{ d}^{-1} \text{ kg}^{-1} \pm 0.022$  y con esto se aseguró que el suelo no se encontrara limitado en carbono, estableciendo así la concentración de carbono basal para realizar experimentos de inhibición de atrazina en suelos no limitados por este nutrimento.



**Figura 5.2** Respiración microbiana de suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) con diferentes concentraciones de carbono

Para encontrar la máxima respiración del suelo, como un indicador de la máxima actividad microbiana, se adicionaron diferentes concentraciones de nitrógeno al suelo no limitado de carbono ( $10$  a  $2\ 000\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$ ), obteniendo una producción máxima de  $\text{CO}_2$  de  $8.41\ \text{g}\ \text{de}\ \text{CO}_2\ \text{d}^{-1}\ \text{kg}^{-1} \pm 0.22$  (Figura 5.3).



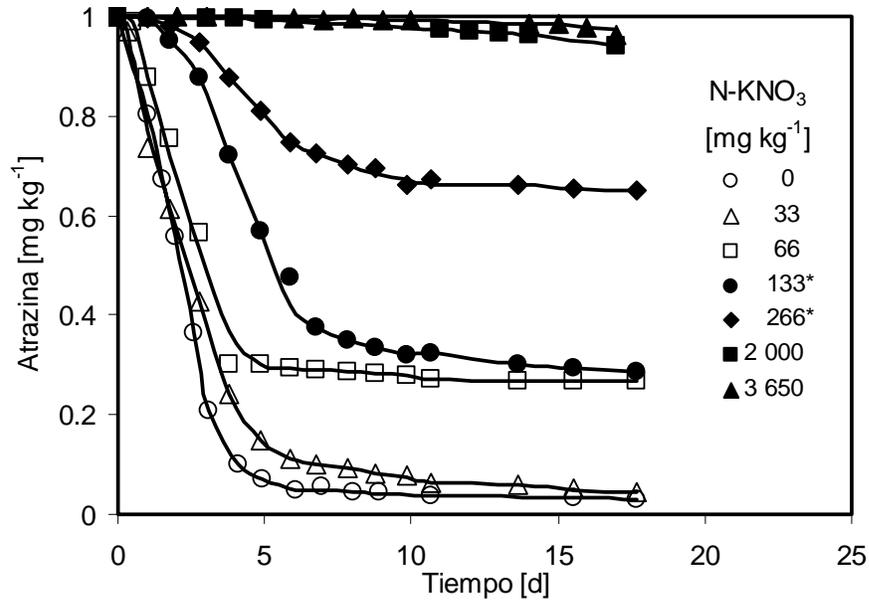
**Figura 5.3** Respiración en suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) no limitado con carbono y con diferentes concentraciones de nitrógeno.  $[\text{Carbono}]_{\text{suelo}} = 16\ 000\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$

A partir de los resultados obtenidos se establecieron las diferentes concentraciones de nitrógeno, para evaluar el efecto de la concentración de nitrógeno sobre la mineralización de atrazina en suelo.

### 5.2.3. Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo

Se evaluó el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la inhibición de la mineralización de atrazina en la muestra de suelo 1, el cual se encontraba limitado en carbono y nitrógeno, para lo que se obtuvieron los siguientes

resultados para diferentes concentraciones de nitrógeno (Figura 5.4 y Cuadro 5.3).



**Figura 5.4** Mineralización de atrazina en suelo procedente de Cárdenas, Tabasco en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante; contenido de agua 50 % de la capacidad de campo; [atrazina]<sub>suelo</sub>=1.08 mg kg<sup>-1</sup>; T= 35°C, \*Concentraciones de N similares a las aplicadas en campo

Las concentraciones de nitrógeno aplicadas al suelo corresponden a una aplicación en campo de 0 hasta 3 285 kg ha<sup>-1</sup>, (de 0 hasta 3 650 mg kg<sup>-1</sup>) considerando que el fertilizante se concentra en los primeros cinco centímetros después de la aplicación y que la actividad microbiana es mayor en esta zona (Bonilla *et al.*, 2000). La aplicación de atrazina y fertilizante se realizó de manera simultánea, práctica agrícola realizadas por los agricultores y recomendada por los fabricantes de este herbicida (BASF, 2005).

**Cuadro 5.3** Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1) adicionando diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante; contenido de agua 50 % de la capacidad de campo; [atrazina]<sub>suelo</sub>=1.08 mg kg<sup>-1</sup>, T= 35°C; t=18 días

N-KNO <sub>3</sub> [mg kg <sup>-1</sup> ] Dosis experimental	N-KNO <sub>3</sub> [kg ha <sup>-1</sup> ] Dosis de campo	k [d <sup>-1</sup> ]	t <sub>1/2</sub> [d]	Mineralización de atrazina [%]	Inhibición [%]
0	0	0.69±0.002	0.99	99	1
33	30	0.44±0.053	1.6	95	5
66	59	0.29±0.012	2.4	74	26
133	120	0.21±0.005	3.3	72	28
260	239	0.07±0.0002	9.9	36	64
2 000	1 800	-	-	6	94

Los resultados presentados en la figura 5.4 y cuadro 5.3 muestra que el incremento en la concentración de fertilizante nitrogenado aplicado disminuye el grado y la velocidad de mineralización de atrazina aumentando así su vida media en el suelo. Por tanto, el nitrógeno es un represor de la mineralización de atrazina en suelo.

En la figura 5.4 se observa que a concentraciones de fertilización con nitrógeno inferiores o similares a las recomendadas en campo que van de 120 hasta 250 kg ha<sup>-1</sup> ó 133–280 mg kg<sup>-1</sup> (INPOFOS, 1999), la inhibición de la mineralización de atrazina fue parcial, obteniendo vidas media de 1.6 a 3.3 días y porcentajes de inhibición entre 0 y 28 % respectivamente.

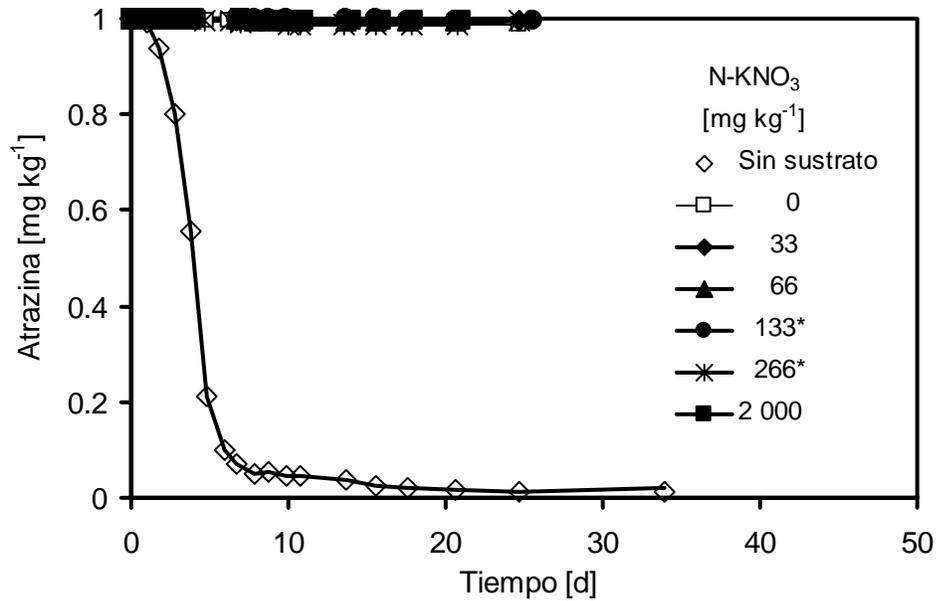
En suelo con concentraciones mayores de nitrógeno la inhibición fue en aumento, con una vida media de 9.9 días y alcanzado un porcentaje de inhibición del 64 % (Cuadro 5.3).

La mineralización de atrazina en presencia de concentraciones de 1 800 kg ha<sup>-1</sup> (2 000 mg kg<sup>-1</sup>) fue fuertemente inhibida, alcanzando porcentajes de mineralización de tan sólo 6 % de la concentración inicial.

Otro factor que interviene en el grado de inhibición de la mineralización de atrazina es la presencia en el suelo de microorganismos capaces de mineralizar este herbicida, ya que al comparar los resultados obtenidos en los experimentos de mineralización en la muestra 3 procedente de Guasave, Sinaloa (Figura 5.1) contra el experimento de mineralización de atrazina realizado con la muestra 1 (Cárdenas, Tabasco) cuando se fertiliza (Figura 5.4), con concentraciones similares al contenido de nitrógeno en la muestra 3. Se puede observar que en muestra 3 (concentración de nitrógeno disponible de 89 mg kg<sup>-1</sup>) se presentó un porcentaje de inhibición del 74 %, mientras que en la muestra 1 (concentración nitrógeno disponible de 66 mg kg<sup>-1</sup>, similar a la muestra 3) fue del 26 %, esta diferencia puede deberse al tipo de microorganismos y el grado de adaptación de la comunidad microbiana al herbicida en estudio.

#### **5.2.4. Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en suelo no limitado con carbono**

Con el objetivo de observar el efecto del nitrógeno sobre la mineralización de atrazina en suelo donde el carbono (nutriente esencial para el crecimiento de microorganismos) no se encuentra limitado, se realizaron experimentos de mineralización de atrazina variando la concentración de nitrógeno en muestras de suelo, y adicionando a todas las muestras 16 000 mg kg<sup>-1</sup> de carbono como sacarosa y citrato de sodio. En la figura 5.5 se pueden observar los resultados obtenidos.



**Figura 5.5** Mineralización de atrazina en suelo (muestra 1) no limitado con carbono en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante; contenido de agua 50 % de la capacidad de campo; [atrazina]<sub>suelo</sub>=1.08 mg kg<sup>-1</sup>; [Carbono]=16 000 mg kg<sup>-1</sup>; T= 35°C; t=35 días

En este experimento se observa que el carbono también tiene un efecto inhibitorio sobre la mineralización de atrazina, debido a que con la presencia únicamente de carbono en el suelo la mineralización fue completamente inhibida. Asimismo, se observó un crecimiento acelerado de hongos en el suelo y la presencia de olor fermentativo.

Con la aplicación de sustancias orgánicas como fuente de carbono en suelo, se obtuvieron tasas de respiración elevadas en comparación con el suelo sin la adición de algún sustrato adicional (Figura 5.1 y 5.2). Esto fue un indicador del aumento en la actividad microbiana en el suelo, pero cuando se adicionó atrazina al suelo no limitado en carbono, la mineralización de atrazina fue completamente inhibida. Este resultado es similar al obtenido por Abdelhafid *et al.* (2000a) quienes adicionaron a un suelo adaptado glucosa como fuente de carbono, encontrando que la adición de glucosa

---

favorece la formación de hidroxiatrazina, compuesto intermediario de la vía de mineralización de este herbicida, limitando así el proceso de mineralización. Por tanto considerando que la sacarosa es precursor de la glucosa, la adición de sacarosa puede favorecer la formación de hidroxiatrazina inhibiendo el proceso de mineralización.

Otra posible explicación de la inhibición de la mineralización de atrazina debido a la presencia de carbono, es la formación de compuestos no extraíbles del suelo y de baja disponibilidad a microorganismos. La elevada actividad microbiana favorece el enlace entre residuos de atrazina y la fracción orgánica de suelo menor a 50  $\mu\text{m}$ , la cual contienen entre un 70 y 90 % de carbono orgánico total de la materia orgánica humificada (Barriuso *et al.*, 1991; Munier-Lamy *et al.*, 2002), aumentando la formación de compuestos no extraíbles y de baja biodisponibilidad. Considerando que en estos experimentos la actividad microbiana y crecimiento de hongos fue elevado, es probable que los residuos de atrazina se hayan enlazado con la materia orgánica del suelo y limitando la mineralización de atrazina. Esto se ha confirmado con varios estudios donde resaltan la importancia de los microorganismos en la estabilización de los residuos de plaguicidas (Abdelhafid *et al.*, 2000a, Munier-Lamy *et al.*, 2002).

### **5.3. Mineralización de atrazina en medio líquido**

#### **5.3.1. Cultivo microbiano**

Las cepas aisladas del cultivo microbiano del suelo procedente de Cárdenas, Tabasco (muestra 1), fueron identificadas con un intervalo de confiabilidad entre 99 %, obteniendo las siguientes: *Micrococcus* sp., *Ochrobactrum anthropi*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, *Providencia rustigianii*, y *Acinetobacter iwoffii*. De ellas únicamente tres crecieron en cultivo con atrazina como única fuente de nitrógeno y sólo una (*Ochrobactrum anthropi*) es

---

mencionada en estudios de degradación de atrazina en el medio ambiente (Laura *et al.*, 1996).

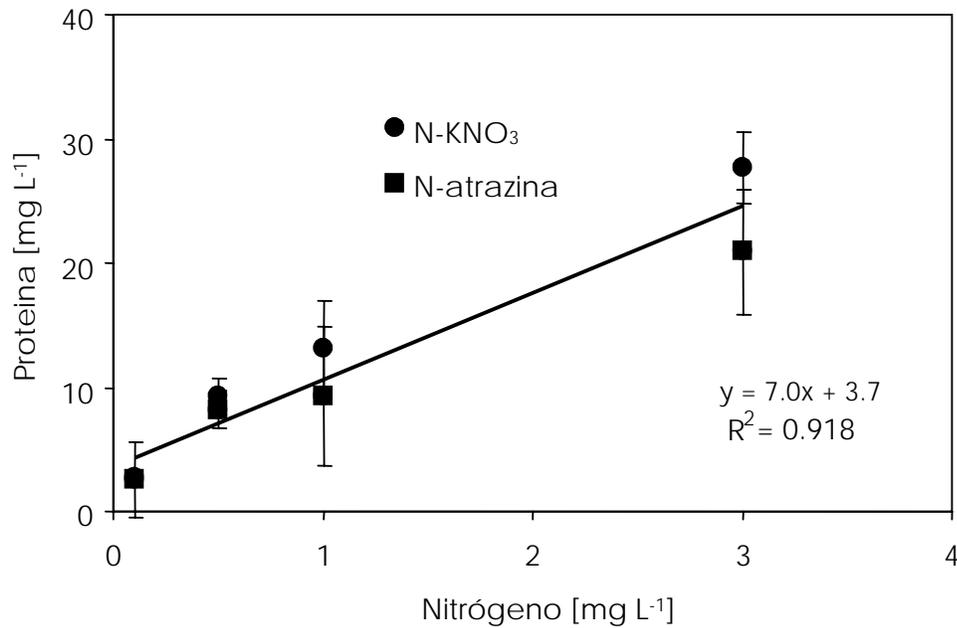
### **5.3.2. Rendimiento de la biomasa microbiana como función del nitrógeno disponible en la estructura molecular**

El crecimiento del cultivo microbiano en medio con atrazina como única fuente de nitrógeno indica que por lo menos uno de los cinco átomos de nitrógeno contenidos en la molécula de atrazina es utilizado por los microorganismos. Por tanto, con el fin de determinar la asimilación de los átomos de nitrógeno contenidos en el anillo de atrazina por los microorganismos, se cuantificó el máximo rendimiento de biomasa microbiana ( $\text{mg}_{\text{proteína}} \text{L}^{-1}$ ) adicionando al medio líquido diferentes concentraciones de  $\text{KNO}_3$  ó atrazina.

En la figura 5.6 se puede observar un rendimiento promedio de biomasa microbiana de  $7 \text{ mg}_{\text{proteína}} \text{mg}_{\text{nitrógeno}}^{-1}$  y que N-atrazina es asimilado por los microorganismos de manera estequiométrica, ya que los cinco átomos de nitrógeno en atrazina dieron origen a una formación proporcional de biomasa microbiana que con N- $\text{KNO}_3$ , lo que indica que todos los átomos de nitrógeno son completamente usados por el cultivo microbiano como fuente de nitrógeno para su crecimiento. Por otro lado, los tiempos para alcanzar el máximo crecimiento variaron entre 1 y 3 d para N- $\text{KNO}_3$  y entre 1 y 3 d para N-atrazina cuadro 5.4.

**Cuadro 5.4** Determinación de producción de biomasa variando la concentración de  $\text{KNO}_3$  y atrazina como fuente de nitrógeno

Nitrógeno [mg L <sup>-1</sup> ]	Fuente	Tiempo de incubación [d]	Proteína [mg L <sup>-1</sup> ]
0.1	Atrazina	1.0	2.5
0.5		1.5	8.2
1.0		3.0	9.3
3.0		3.5	20.9
0.1	Nitrato de potasio	1.0	2.7
0.5		1.5	9.3
1.0		2.0	13.2
3.0		2.5	27.7



**Figura 5.6** Rendimiento de biomasa microbiana en medio líquido variando la concentración de  $\text{KNO}_3$  y atrazina como fuente de nitrógeno

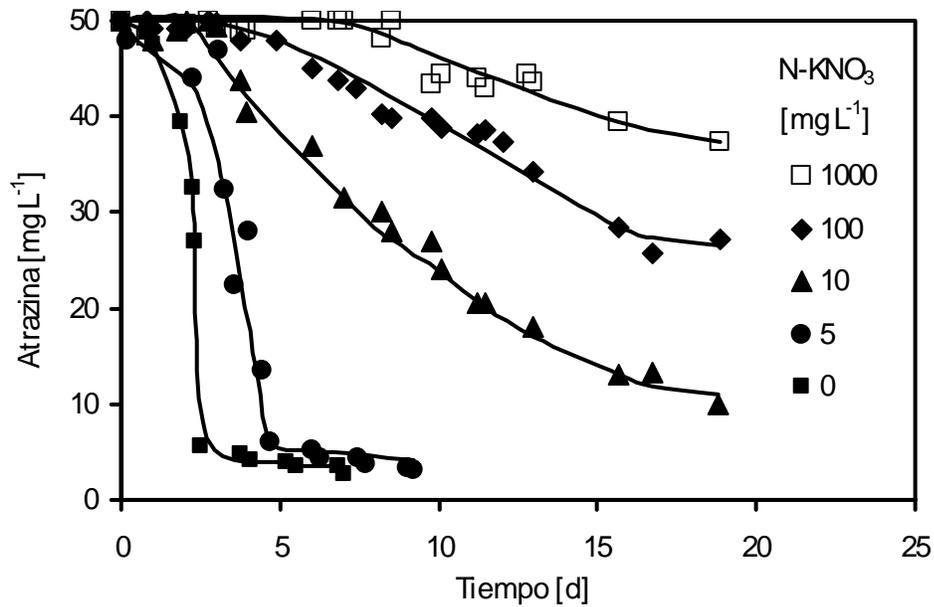
### 5.3.3. Inhibición por nitrógeno de la mineralización de atrazina en medio líquido

Para determinar la influencia de la fertilización con nitrógeno sobre la mineralización de atrazina en un sistema donde la atrazina y el nitrógeno se encuentran totalmente disponibles, sin la presencia de procesos que tienen lugar en un el suelo tales como, adsorción y dispersión en el medio poroso, se estudió la mineralización de atrazina en medio líquido.

Los resultados señalan que cuando se adicionó atrazina como única fuente de nitrógeno, el porcentaje de mineralización fue del 91 %, con una vida media de 0.12 d (Figura 5.7 y Cuadro 5.5) la cual es una de las velocidades más rápidas que se mencionadas en la literatura usando consorcios microbianos (Mandelbaum *et al.*, 1995; Radosevich *et al.*, 1995; Gebendinger y Radosevich, 1999).

**Cuadro 5.5** Parámetros cinéticos obtenidos de la mineralización de atrazina en suelo (muestra 1) adicionando diferentes concentraciones de nitrógeno como fertilizante; contenido de agua 50 % de la capacidad de campo; [atrazina]<sub>suelo</sub>=1.08 mg kg<sup>-1</sup>; T= 35°C; t= 18 días

N-KNO <sub>3</sub> [mg L <sup>-1</sup> ]	K [d <sup>-1</sup> ]	t <sub>1/2</sub> [d]	Mineralización de atrazina [%]	Inhibición [%]
0	5.66±0.49	0.12	91	9
5	0.88±0.026	0.79	89	11
10	0.11±0.001	6.30	85	15
100	0.042±0.0002	16.58	40	60
1 000	0.009±0.00018	79.00	20	80



**Figura 5.7** Mineralización de atrazina en medio líquido en presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno; [atrazina]<sub>medio líquido</sub> = 50 mg L<sup>-1</sup>; T = 35°C

En la cuadro 5.5 se observa que conforme aumenta la concentración de N-KNO<sub>3</sub>, la constante de mineralización de atrazina se reduce. En presencia de bajas concentraciones de nitrógeno (0 y 5 mg L<sup>-1</sup>) se mineraliza atrazina casi por completo después de dos a cinco días de incubación. Para concentraciones de nitrógeno de 1 000 mg L<sup>-1</sup> la mineralización de atrazina no excedió el 20 % después de 18 días de incubación.

#### 5.4. Comparación del efecto inhibitorio entre los sistemas suelo y agua

Para realizar una comparación del efecto inhibitorio de la concentración del nitrógeno sobre la mineralización de atrazina en las muestras de suelo y en el medio líquido, se convirtió la concentración de nitrógeno en suelo a mg L<sup>-1</sup>, mediante la siguiente ecuación:

$$N_{PW} = \frac{N_s}{0.5 FC} \quad \text{Ecuación 5.1}$$

Donde

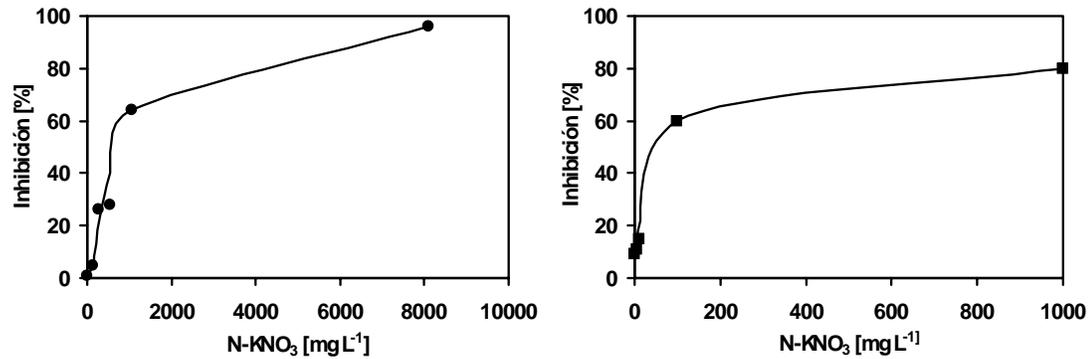
$N_{PW}$ = Concentración de nitrógeno en el agua de poro ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$N_s$ = Concentración de nitrógeno en el suelo ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco)

$FC$ = Capacidad de campo ( $\text{L kg}^{-1}$ )

En la figura 5.8 se puede observar la tendencia de la mineralización de atrazina en suelo y medio líquido hallando que la inhibición de la mineralización de atrazina es aproximadamente un orden de magnitud mayor en medio líquido que en suelo.

Aún cuando el suelo es un sistema más complejo que el medio líquido, en los resultados obtenidos se observó que la inhibición de atrazina en medio líquido fue más fuerte que en suelo. Esto debido probablemente a que la disponibilidad del nitrógeno en el medio líquido es mayor que en el suelo, lo que favoreció de manera más efectiva la inhibición de la mineralización de atrazina con el aumento de la concentración de nitrato. Entonces, la disponibilidad de nitrato en el suelo se ve afectada por la complejidad del sistema, debido a que los fertilizantes nitrogenados pueden ser afectados por procesos de oxidación-reducción, adsorción y mecanismos de inmovilización en los microporos del suelo (Mihelcic y Luthy, 1991). Por tanto en el suelo estos procesos disminuyen la disponibilidad de los fertilizantes nitrogenados para los microorganismos, mientras que en el medio líquido se encuentran totalmente disueltos y disponibles para ellos, incrementando el efecto inhibitorio sobre la mineralización de atrazina en suelo. Esto puede explicar la persistencia de atrazina en aguas contaminadas con fertilizantes nitrogenados u otras fuentes de nitrógeno.

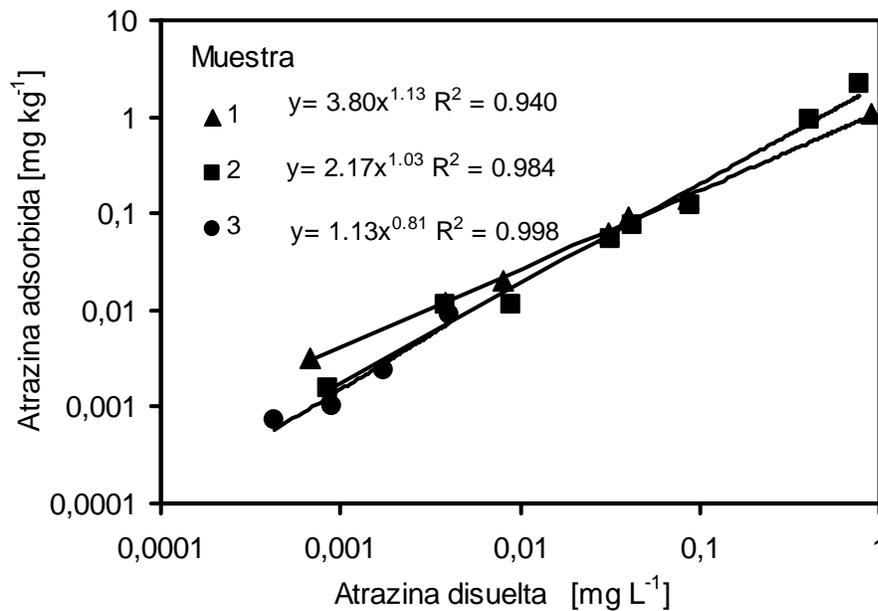


**Figura 5.8** Inhibición de la mineralización de atrazina en suelo (a) y medio líquido (b) por la presencia de diferentes concentraciones de nitrógeno; contenido de agua = 50 % de la capacidad de campo; [atrazina]<sub>suelo</sub> = 1.08 mg kg<sup>-1</sup>; [atrazina]<sub>medio líquido</sub> = 50 mg L<sup>-1</sup>; T= 35°C

Con respecto al efecto inhibitorio de la mineralización de atrazina, Entry (1999) establece que la regulación de la mineralización de atrazina ocurre a nivel enzimático, ya que la presencia de nitrógeno reprime a la enzima catecol 2-3 oxigenasa y protocatechuate 2-3 oxigenasa, enzimas que catalizan las reacciones de degradación del anillo triazínico. Asimismo, García-González *et al.* (2004) sugieren que la mineralización de atrazina es controlada por nitrógeno, mediante procesos similares a los observados en las enterobacterias, los cuales se basan en: la regulación de expresión genética, la represión por nitrógeno del catabolismo de atrazina relacionado con el crecimiento de cepas degradadoras y la presencia de nitrógeno intracelular procedente del medio. Esta explicación fue establecida para la cepa *Pseudomonas* sp. y puede explicar los resultados obtenidos en medio líquido y suelo con especies de microorganismos distintas a *Pseudomonas* sp.

### 5.5. Adsorción de atrazina en suelo

Se evaluó el equilibrio entre las concentraciones del herbicida en el agua y suelo de muestras precedentes de Cárdenas Tabasco (muestra 1) y dos muestras de Guasave Sinaloa (muestras 2 y 3) por medio de la isoterma de Freundlich (Figura 5.9). Con la isoterma se obtuvo los coeficientes de adsorción (Cuadro 5.6), que es una herramienta útil para determinar la cantidad de herbicida que se encuentra adsorbido y disuelto en el suelo.



**Figura 5.9** Isotermas de Freundlich para adsorción de atrazina en suelos; [suelo]=100 g L<sup>-1</sup>

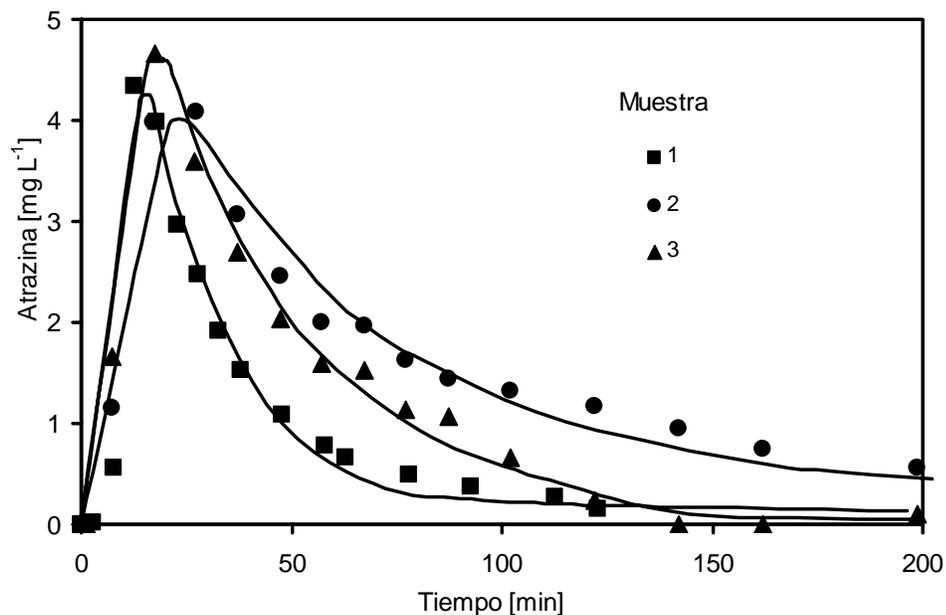
**Cuadro 5.6** Coeficientes de adsorción de atrazina en suelo

Muestra	Zona de muestreo	Procedencia	Coefficiente [L kg <sup>-1</sup> ]
1	Campo experimental	Cárdenas, Tabasco	3.80±0.002
2	Módulo I-2	Guasave, Sinaloa	2.17±0.001
3	Módulo II-2		1.13±0.001

## 5.6. Dispersión de atrazina en suelo

En la figura 5.10 se presenta el transporte de atrazina en una columna de suelo modificado en función del tiempo. Los tiempos de salida, la concentración máxima obtenida y el porcentaje de recuperación obtenidos se presentan en la Cuadro 5.7.

Los datos de infiltración de atrazina en la columna de suelo se utilizaron para obtener el coeficiente de dispersión, que se calculó a partir del modelo Víctor 0.1. El modelo considera la ecuación de advección-dispersión para una columna semi-infinita, con un término de reacción de primer orden y un pulso constante en una frontera (Arroyo, 1998).



**Figura 5.10** Transporte de atrazina en columnas de suelo; Pulso = 3 mL; [atrazina]<sub>pulso</sub> = 20.238 mg L<sup>-1</sup>; Velocidad de flujo= 0.41 mL min<sup>-1</sup>; modelado —

$$\frac{\partial C_c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_c}{\partial x^2} - v \frac{\partial C_c}{\partial x} - k_1 C_c$$

Ecuación 5.2

Donde

$C_c$ = Concentración del atrazina en la fase líquida ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$T$ = Tiempo (min)

$x$ = Distancia que recorre el contaminante (cm)

$D$ = Coeficiente de dispersión ( $\text{cm}^2\text{min}^{-1}$ )

$v$ = Velocidad de poro ( $\text{cm min}^{-1}$ )

$k_1$ = Coeficiente de adsorción ( $\text{L mg}^{-1}$ )

Con los resultados experimentales se calibró el modelo antes descrito. Después se fue modificando el coeficiente de dispersión en el modelo hasta ajustar la curva de infiltración modelada a la experimental, las hojas de entrada se presentan en el anexo 3. Se obtuvieron los valores de dispersión para las muestras de suelo y la dispersividad (ecuación 5.3) para cada una de las muestras de suelo, considerando una velocidad de poro de  $0.03 \text{ cm min}^{-1}$ .

$$D = \alpha V$$

Donde

$V$ = velocidad de poro ( $\text{cm min}^{-1}$ )

$\alpha$ = Constante de dispersividad (cm)

**Cuadro 5.7** Resultado de dispersión de atrazina en suelo

Muestra	Concentración máxima [mg L <sup>-1</sup> ]	Tiempo de salida de la máxima concentración [min]	Recuperación [%]	Coficiente de dispersión [cm <sup>2</sup> min <sup>-1</sup> ]	Dispersividad [cm]
1	4.3	12.77	77	1.9	63.3
2	4.1	23.2	90	6.0	322.6
3	4.5	17.22	74	2.8	72.9

Considerando el tiempo de retención de las columnas, en estos experimentos se favoreció principalmente el proceso de dispersión sobre la biodegradación y adsorción, ya que para alcanzar el equilibrio en estos dos últimos procesos disipación el tiempo necesario es por lo menos de un día.

Asimismo, se puede observar que el suelo procedente de Cárdenas, Tab. (muestra 1) tiene menor retención de la concentración de atrazina en comparación con las otras dos muestras de suelo. Lo cual se ve reflejado en la constante de dispersividad que indica que a menor dispersividad los contaminantes tendran menor tiempo de residencia en el suelo (Fetter, 1999).

El tiempo de retención y porcentaje de recuperación de la atrazina en la muestra 3 fue mayor, considerando la caracterización de la muestra 3 con respecto al porcentaje de limo, estos resultados coinciden con los obtenidos por Chinkuyu y Kanwar (1998), quienes observaron que a mayor porcentaje de limo, la infiltración de atrazina en el suelo es mayor.

### **5.7. Migración de atrazina en el suelo hacia el agua subterránea**

Se ha encontrado que existen varios procesos que tienen influencia sobre la migración de atrazina en suelo, entre los cuales se encuentran la biodegradación (mineralización), adsorción y dispersión. De estos factores se sabe que la biodegradación es el proceso más importante en la disipación

de atrazina en el ambiente. También se conoce que sin el efecto de la biodegradación existiría una mayor probabilidad de contaminar con atrazina el agua subterránea (González-Márquez, 2005 y Hansen *et al*, 2000).

Considerando que ciertas concentraciones de nitrógeno disponible limita la biodegradación de atrazina se puede decir, que en suelos sobrefertilizados con nitrógeno, la posibilidad de contaminar el agua subterránea es mayor que en los suelos con concentraciones menores a 200 mg kg<sup>-1</sup>.

La aplicación simultánea de fertilizantes nitrogenados en concentraciones superiores a los 150 kg ha<sup>-1</sup> con atrazina también representa un factor de favorece la persistencia de la atrazina en el ambiente, y por tanto aumenta las posibilidades de contaminar con este herbicida el agua subterránea. Por otro lado, se puede decir que la aplicación de atrazina en suelos con bajo contenido de nitrógeno favorecería su biodegradación y disminuiría la migración de este herbicida hacia el agua subterránea.

Por tanto, considerando los resultados obtenidos en el presente trabajo, se debe evitar como practica agrícola la aplicación simultánea de fertilizantes con atrazina, como una medida para disminuir la posibilidad de contaminar con atrazina el agua en las zonas agrícola.

Por otro lado, el tipo de compuesto nitrogenado que contenga el suelo también afectará la migración de atrazina, ya que en suelos donde la especie de nitrógeno disponible sea amonio la mineralización de atrazina se verá limitada, permitiendo principalmente la degradación del herbicida y por tanto la formación de intermediarios que potencialmente pueden migrar hacia el agua subterránea (Abdelhafid *et al.*, 2000b), aspecto que se apoya en los resultados observados en la muestra 1 procedente de Cárdenas Tabasco y la muestra 2 procedente de la zona 1 de Guasave, Sinaloa muestras que contenían una concentración similar de nitrógeno disponible total, pero diferente concentración de amonio y nitratos.

En zonas agrícolas donde se aplica atrazina de manera regular, se puede considerar que la posibilidad de que los suelos contengan microorganismos capaces de mineralizar este herbicida es alta, por tanto la posibilidad de migración de atrazina disminuiría, ya que la concentración de atrazina en el agua de poro sería afectada por el proceso de mineralización. Aunque esto también dependería del grado de fertilización del suelo, ya que aún cuando el suelo cuente con los microorganismos capaces de mineralizar el herbicida, si este se encuentra sobrefertilizado, la posibilidad de que la atrazina llegue al agua subterránea aumentaría.

Experimentos realizados con suelos pateurizados permitieron evaluar la adsorción de atrazina en diferentes suelos con contenidos de materia orgánica similares. Si consideramos que el día que aplican atrazina en el campo experimental de Cárdenas Tabasco, la concentración de este encontrada por Hansen *et al.* (1999) fue de  $0.17 \text{ mg kg}^{-1}$  en el extracto superior de la columna de suelo (de cero a 20 cm) y aplicando los coeficientes de adsorción obtenidos en el presente trabajo ( $3.8 \text{ L kg}^{-1}$  para la muestra de Cárdenas, Tabasco,  $2.17 \text{ L kg}^{-1}$  y  $1.13 \text{ L kg}^{-1}$  para las muestras del DR 063); se puede obtener las concentraciones del herbicida en el agua de los poros, que serían de  $0.06$ ,  $0.08$  y  $0.096 \text{ mg L}^{-1}$ , para las muestras 1, 2 y 3. Si además aplicamos los porcentajes de recuperación obtenidos en los experimentos de infiltración de atrazina en columna, las concentraciones que potencialmente pueden llegar al agua subterránea (nivel freático 1 y 1,5 m) serían de  $0.046$ ,  $0.072$  y  $0.071 \text{ mg L}^{-1}$  para las tres muestras de suelo. Las cuales son concentraciones superiores a los límites establecidos por la Organización Mundial de la Salud ( $0.003 \text{ mg L}^{-1}$ ; WHO, 2004).

Como resultado de un amplio monitoreo realizado en varios cuerpos de agua en los Estados Unidos actualmente se conoce que se encuentran contaminados con atrazina, por lo que se ha restringido su uso,

En México, no se conoce el grado de contaminación de los cuerpos de agua para atrazina, ya que sólo se ha realizado monitoreo en tres zona agrícolas, encontrando atrazina en el agua subterránea en concentraciones inferiores a la establecida en los límites (Villada-Canela, 2005). Esto no indica que los cuerpos de agua en México no se encuentren contaminados por este herbicida, ya que existen varios factores tales como, prácticas agrícolas actuales, el clima como factor que favorece la oxidación de fertilizantes nitrogenados a sus formas más disponibles, la sobrefertilización que inhibe el proceso de mineralización y la movilidad de la atrazina en suelo, que en conjunto aumentan la posibilidad de contaminar los cuerpos de agua con atrazina. Por tanto se sugiere se realice un monitoreo más amplio para determinar el estado en que se encuentran los sistemas hídricos en el país.

Por tanto, El presente trabajo puede dar una expectativa general de cuando se puede aplicar atrazina en suelos agrícolas dependiendo de los aspectos antes mencionados. Asimismo, los resultados obtenidos en la presente tesis se deben tomar con precaución ya que se deben analizar las condiciones de cada zona para decidir si la aplicación de atrazina no aumenta la posibilidad de contaminar cuerpos de agua.



## 6. Conclusiones

- El grado de inhibición de la mineralización de atrazina en suelo y agua dependerá de la concentración de nitrógeno disponible presente en el medio. Ya que en presencia de concentraciones de nitrógeno menores o iguales a  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  se obtuvo una mineralización de atrazina del 70 %, inhibiendo parcialmente este proceso de disipación.
- La vida media se incrementa conforme aumenta la concentración de nitrógeno en el suelo.
- En suelos sobrefertilizados con concentraciones de nitrógeno mayores a  $1\ 068 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $1\ 000 \text{ kg ha}^{-1}$ ) la inhibición de la mineralización de atrazina es total, lo cual favorece su acumulación en el suelo.
- La aplicación simultánea de atrazina y fertilizantes que contienen nitrógeno, práctica actual en las zonas agrícolas, puede inhibir parcial o totalmente la mineralización de atrazina en el suelo.
- El control de la fertilización con nitrógeno en zonas agrícolas donde se aplica atrazina, podría favorecer los procesos de mineralización de este herbicida y con ello disminuir la posibilidad de contaminar los cuerpos de agua.
- En suelos con características similares a las muestras de suelo 1, 2 y 3, la adsorción no representa un mecanismo importante para inmovilizar la atrazina en la parte superficial, entre 10 y 20 cm de profundidad. Si se considera que después de la mineralización la adsorción es el mecanismo de retención más relevante, la cantidad de atrazina disuelta en el agua de poro puede migrar hasta el agua subterránea en zonas sobrefertilizadas.

- La atrazina presentó mayor persistencia en medio líquido que en suelo, debido probablemente a una mayor disponibilidad de los compuestos nitrogenados. Con esto se aumenta su efecto inhibitorio sobre la mineralización de este herbicida. Esto explica por que la atrazina es más persistente en agua que en suelo.
- También se observó, que conforme aumenta la concentración de carbono en el suelo también se incrementa el efecto inhibitorio sobre el proceso de mineralización de la atrazina.
- Los resultados obtenidos en la presente investigación pueden contribuir y aportar evidencia útil para implementar prácticas agrícolas mejor planeadas y establecer medidas para el control del uso de atrazina en zonas agrícolas tropicales.
- El presente trabajo presenta las bases experimentales en suelos nacionales para instrumentos regulatorios sobre el uso de atrazina en zonas agrícolas.

## 7. Recomendaciones

- A partir de los resultados obtenidos se recomienda no aplicar atrazina: 1) en zonas donde el nivel freático sea somero, 2) donde no exista un historial de aplicación del herbicida, 3) en zonas donde exista una sobrefertilización, 4) de manera simultánea con fertilizantes nitrogenados, enmiendas orgánicas y otros herbicidas que contengan nitrógeno en su estructura molecular, 5) antes del riego y 6) en suelo seco. Aplicando estas medidas se puede disminuir el riesgo de contaminar con atrazina el agua subterránea. Aunque se tendría que evaluar si no es afectada la efectividad del herbicida.
- En relación con estudios posteriores se recomienda considerar el efecto de la concentración de otros nutrientes y su relación sobre la migración de atrazina.

## 8. Literatura citada

Abdelhafid A., Houot S. y Barriuso E. 2000a. Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soil, *Soil Biology & Biochemistry* 32:389-401.

Abdelhafid A., Houot S. y Barriuso E. 2000b. How increasing availabilities of carbon and nitrogen affect atrazine behaviour in soils, *Biology and Fertility of Soils* 30:333-340.

Abu-Zreig M., Rudra R. P. y Dickenson W.T. 2000. Influence of surfactants on leaching of atrazine through soil columns. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 75:1-16.

Abu-Zreig M., Rudra R. P., Dickenson W.T. y Evans L.J.1999. Effect of surfactants on sorption of atrazine by soil. *Journal of Contaminant Hydrology* 36: 249-263.

Abu-Zreig M., Rudra R.P. y Dickenson W.T. 2003. Effect of application of surfactants on hydraulic properties of soil. *Biosystems Engineering*. 84:363-372.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2003. Reseña toxicológica de la atrazina (en inglés). Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU, Servicio de Salud Pública, Atlanta, GA. USA. Disponible en World Wide Web [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts153.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts153.pdf) (último acceso 4 de diciembre de 2007).

Albert L. A. 1990. Los plaguicidas, el ambiente y la salud. Centro de Ecodesarrollo, México D.F. 361p.

Alexander M. 1994. Biodegradation and remediation. Academic press, San

Diego, CA. USA., 320 p.

- Alexander M. 2000. Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology* 34(20):4259-4265.
- Altfelder S., Streck T., y Richter J. 2000. Nonsingular sorption of organic compounds in soil: The role of slow kinetics. *Journal Environmental Quality* 29:917-925.
- Alvey S. y Crowley D. E. 1996. Survival and activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rhizosphere soil, *Environmental Science Technology* 30:1596-1603.
- Alvey S. y Crowley D. 1995. Influence of organics amendments on biodegradation of atrazine as a nitrogen source. *Journal Environmental Quality* 24:1156-1162.
- Arroyo V. 1998. Uso eficiente y conservación del agua en el medio rural. Publicación interna. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Proyecto HC-9803, Jiutepec Morelos México.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 1995. Standard test method for pH of soils. D4972-95. In annual book of ASTM standards, Vol 04.08. Philadelphia, CA, United State American, 3p.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 1997. Standard test method for saturated hydraulic conductivity, water retention, porosity, particle density, and bulk density of putting green and sports turf root zones. F1815-97. In Annual book of ASTM standards, Vol 15.07. Philadelphia, CA, USA 6p.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2000a. Standard Test methods for laboratory compaction characteristics of soil using

- standard effort (12 400 ft-lbf/ft<sup>3</sup> (600 kN-m/m<sup>3</sup>)). D 698. In Annual book of ASTM standards, Philadelphia, CA, USA.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2000b. Standard test methods for moisture, ash, and organic matter of peat and other organic soils. D2974-00. In Annual Book of ASTM Standards, Vol 04.08. Philadelphia, CA, USA, 5p.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2000c. Standard test methods for particle size analysis and sand shape grading of golf course putting green and sports field rootzone mixes. F1632-00. In Annual Book of ASTM Standards. Vol. 15.07. West Conshohocken, PA. 11 p.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2003. Standard test methods for measurement of hydraulic conductivity of saturated porous materials using a flexible wall permeameter. D 5084. In Annual Book of ASTM Standards. West Conshohocken, PA.
- ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades). 2001. Atrazina. Departamento de salud y servicios humanos de los E.U.A. Disponible para World Wide Web: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts153.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts153.html) (último acceso 27 de noviembre de 2007).
- Bailey G., White J. y Rothberg T. 1968. Adsorption of organics herbicides by montmorillonite. Soil Science Society of America Proceedings 32:222-234.
- Bailey G.W. y White J.L. 1970. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. Residue Review 32:29-92
- Barriuso E., Benoit P. y Bergheaud V. 1994. Role of soil fractions in retention and stabilisation of pesticides in soils. In Copin V., Houins G., Pussemier

- L. y Salembier J.F., Ed., Environmental behaviour of pesticides and regulatory aspects, COST, European Study Service, Rixensart, Bélgica, 138-143p.
- BASF. 2005. Diccionario de especialidades agroquímicas: Fertilizantes, agroquímicos y productos orgánicos (versión digital), Editorial Thomson, México D. F.
- Bear J. 1988. Dynamics of fluids in porous media. Dover Publicaciones, New York NY. USA. 764p.
- Bear J. y Bachmat Y. 1991. Introduction to modelling of transport phenomena in porous media, Kluwer Academic, Inglaterra, 253p.
- Behki R. M., Toop E., Dick W. y Germon P. 1993. Metabolism of the herbicide atrazine by *Rhodococcus* strains. Applied Environmental Microbiology 59:1955 – 1959.
- Belluck D. A., Benjamin S. L. y Dawson T. 1991. Groundwater contamination by atrazine and its metabolites: risk assessment, policy and legal implication. In: Somasundaram L., Coats J. R., Eds, Pesticide transformation products: fate and significance in the environment, American Chemical Society, Washington, D. C, USA, pp. 254-273.
- Bennett P. 2004. Environmental organic geochemistry, Lecturas del curso. Department of Geological Sciences. University of Texas at Austin. Disponible en Word Wide Web <http://www.geo.utexas.edu/courses/87e/> (último acceso 27 de noviembre de 2007).
- Bichat F., Sims G. K. y Mulvaney R. L. 1999. Microbial utilization of heterocyclic nitrogen from atrazine. Soil Science Society of America Journal 63:100-110.
- Bollag J. M., Myers C. y Minard R. 1992. Biological and chemical interactions

of pesticides with soil organic matter. *The Science of the Total Environment* 123/124:205-217.

Bonilla J. P., Peinado J. E. Asdrúbal M., Carasacal E. 2000. Informe Nacional sobre el uso y manejo de plaguicidas en Colombia, tendiente a identificar y proponer alternativas para reducir el escurrimiento de plaguicidas al mar caribe, global environmental facility proyecto GEF PDF-B, Bogotá Colombia 53p.

Bouquard C., Ouazzani J., Prome J. C., Briand Y. M. y Plesiat P. 1997. Dechlorination of atrazine by a *Rhizobium* sp. Isolate. *Applied Environmental Microbiology* 63:862-866.

Carballas M., Carballas T. y Jaquin F. 1979 Biodegradation and humification of soil organic matter in humiferous atlantic soils, *Manuales de Edafología y Agrobiología* 38:1699-1717.

CCME (Canadian Council for Ministers of the Environment). 1999. Canada's guidelines for canadian drinking water quality. Disponible en World Wide Web: <http://www.ccme.ca/sourcetotap/atrazine.html> (último acceso el 29 de noviembre de 2007).

CEE (Comisión Económica Europea), 2004. Decisión de la comisión del 10 de marzo de 2004 relativa a la no inclusión de la atrazina en el anexo I de la Directiva 91/414/CEE del consejo y a la retirada de las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan esta sustancia activa. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Disponible en World Wide Web: [http://www.mma.es/normativa/jurisp/doce/20040316\\_L78\\_53.pdf](http://www.mma.es/normativa/jurisp/doce/20040316_L78_53.pdf) (último acceso el 29 de noviembre de 2007).

Chinkuyu AJ., y Kanwar RS. 1998. Effect of lime application on the movement of atrazine and nitrate-nitrogen through undisturbed-saturated soil columns. *Water, air & soil pollution* 115:371-384.

- Chung N., y Alexander M. 2002. Effect of soil properties on bioavailability and extractability of phenanthrene and atrazine sequestered in soil. *Chemosphere* 48:109-115.
- CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas). 2004. Catálogo oficial de plaguicidas. Disponible en World Wide Web <http://www.cofepris.gob.mx/cis/tramites/infpynv/InfRegPlagNutVeg.htm> (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Clay S. A., Koskinen W. C. 1990. Adsorption and desorption of atrazine, hydroxyatrazine, and S-glutathione atrazine on two soils. *Weed Science* 38:262-266.
- CNA-IMTA-CP (Comisión Nacional del Agua-Instituto Mexicano de Tecnología del Agua-Colegio de Posgraduados). 1993. Construcción de un módulo de drenaje subterráneo controlado en 60 ha del campo experimental - El Trapecio, CEICADES-CP, Memoria Técnica. Montecillo, Estado de México, México 149 p.
- Crawford R. L. y Crawford D. L. 1996. *Bioremediation: Principles and applications*, Cambridge University Press, Great Britain, 399 p.
- CRE (Center for Regulatory Effectiveness). 2003. International actions on atrazine. Disponible en World Wide Web: <http://www.thecre.com/atrazine/intactions.htm>. (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Cruz-Mendoza I., Ibarra-Velarde F., Quintero-Martínez M.T., Naranjo-García E., Lecumberri-López J. Correa D. 2005. Seasonal transmission of *Fasciola hepatica* in cattle and *Lymnaea (Fossaria) humilis* snails in central Mexico. *Parasitol Res* 95:283-286.
- Department of the Army. 1986. *Laboratory Soils Testing, Engineering and*

- Design, United State American. 77p.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2000. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Modificación a la NOM-127-SSA1-1994, México D.F. pp. 1-8.
- Dorado J., Tinoco P. y Almendros G. 2003. Soil parameters related with the sorption of 2, 4-D and atrazine. Communications of soil and plant analyses 34 (7,8):1119-1133.
- Dupont R. R., Sims R. C, Sims J. L. y Sorensen D. L. 1998. In situ biological treatment of hazardous waste-contaminated soils. Biotreatment Systems, Vol. II, CRC Press, Inc., Boca Ratón, FL. USA. 450 p.
- Entry J. A. 1999. Influence of nitrogen on atrazine and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid mineralization in blackwater and redwater forested wetland soils. Biology and Fertility of Soils 29:348-353.
- Esser H. O., Dupuis G., Ebert E., Marco G. J., Vogel C. 1985. Herbicides chemistry: degradation and mode of action. In Kearney P. C., Kaufman D. D., Eds. Herbicides. chemistry, degradation, and mode of action, 2nd ed, Vol 1. Marcel Dekker, New York, NY, USA, pp 129-130.
- Eweis J., Ergas S., Chang D., Schroeder E. 1999, Principios de biorecuperación, 1ra edición, Mc Graw Hill, Madrid España, 327p.
- FAO (Food agricultural organization), 2003, World reference base for soil resources, soils maps, Disponible en World Wide Web: <http://www.fao.org/ag/agL/agll/wrb/mapindex.stm> (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Fetter C. W. 1999. Contaminant hidrogeology, segunda edición, Prentice Hall, New York, NY, USA, pp. 458.

- Franti T., Roeth F., Klein R., Holshouse D., Christiansen A., Schild J., Zoubek G.L. 1996. Agricultural management practices to reduce atrazine in surface water. G96-1299. Nebraska Cooperative Extension University of Nebraska, Institute of Agriculture and Natural Resources, 79 p.
- Freeze, R. A. y Cherry J. A. 1979. Groundwater. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1350p.
- García C., Hernández T. y Costa F. 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions, *Soil Biology & Biochemistry* 26:1182-1191.
- García-González V., Govantes F., Shaw L. J., Burns R. G., Santero E. 2004. Nitrogen control of atrazine utilization in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *Applied Environmental Microbiology* 12:6987-6993.
- Gebendinger N., Radosevich M. 1999. Inhibition of atrazine degradation and exogenous nitrogen in bacterial isolate M91-3. *Applied Microbiology Biotechnology* 51:375-381.
- Geller A. 1980. Studies on the degradation of atrazine by bacterial communities enriched from various biotopes. *Archives Environmental Contamination Toxicology* 9:289-305.
- Giupponi C. 2001. The substitution of hazardous molecules in production process: the atrazine case study in Italian agriculture. Disponible en World Wide Web: [http://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=278243](http://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=278243) (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Glanville T., Baker J. y Newman J. 1995. Understanding and reducing pesticide contamination in rural wells, Project Summary, Iowa Department of Agriculture and Land Steward Ship, 41 p.
- González Márquez, A. 2005. Migración de herbicidas (atrazina y 2,4-D) en

suelo del distrito de riego 063, Guasave, Sinaloa. Tesis de maestría en Ingeniería Ambiental. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería, Campus Morelos. Universidad Nacional Autónoma de México, Jiutepec Mor. 103p.

Green R. E. y Karickhoff S. W. 1990. Sorption estimates for modeling. En Cheng H.H. (Ed.) Pesticides in the soil environmen: Processes, impact, and modeling. SSSA Book Ser.2.SSSA, Madison, W. p. 179-101.

Hamaker J. W. 1972. Organic chemicals in the soil environment, C. A. I. Goring y J. W. Hamaker Eds. Dekker , N.Y. pp. 253-340.

Hand S, Nasseta M. 2003. Evolución de la degradación de atrazina en dos perfiles de suelo de la provincia de Córdoba. Revista de Ingeniería Ambiental 32:57-69.

Hang S. y Sereno R. 2002. Adsorción de atrazina y su relación con las características sedimentológicas y el desarrollo del perfil de dos suelos de la provincia de Córdoba. Revista de Investigaciones Agropecuarias 31:73-88.

Hansen A. M., van Afferden M., Quintero O., Martínez E. y Guillén R.A. 2001. Migración de agroquímicos en suelo agrícola y cuantificación en el agua drenada a nivel parcelario (Etapa III), Documento Técnico, Proyecto TH-2015, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua y Comisión Nacional del Agua, 80 p.

Hansen A.M., van Afferden M., Quintero Q., Martínez E., Guillén R. 1999. Migración de agroquímicos en suelo agrícola y cuantificación en el agua drenada a nivel parcelario (1998-2000). Comisión Nacional del Agua e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

Hébert, S. and B. Rondeau. 2004. Saint Laurent Vision 2000 actions plan. Phase III: The Water Quality of Lake Saint-Pierre and its Tributaries.

Disponible en World Wide Web [http://www.slv2000.qc.ca/plan\\_action/phase3/biodiversite/suivi\\_ecosysteme/atelier\\_20041203/presentations/S\\_H\\_qual\\_eaux\\_a.htm](http://www.slv2000.qc.ca/plan_action/phase3/biodiversite/suivi_ecosysteme/atelier_20041203/presentations/S_H_qual_eaux_a.htm) (ultimo acceso 27 de noviembre de 2007).

INE (Instituto Nacional de Ecología). 2005. El convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México. Disponible en World Wide Web: <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/gacetitas/422/convenio.html> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2000a. Carta de climas, INEGI, México D.F.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2000b. Marco geoestadístico, INEGI, México D.F.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2004. El Sector alimentario en México 2004 INEGI, Aguascalientes, Ags.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2005. Censos económicos; producción bruta total de las unidades económicas por sector de actividad 2004. INEGI, México D.F.

INPOFOS (Instituto de la Potasa y el Fósforo). 1999. Nuevos criterios en la recomendación de fertilización en sistemas de alta productividad agrícola en México", Agronomic informations, Querétaro, México, v.3 no. 6, 15p.

Jekel M., Reemtsma T. 2006. Organic pollutants in the water cycle: properties, occurrence, analysis and environmental relevance of polar compounds, Water Chemical Society, WILEY-vch, 141p.

Jiménez B. 2001. La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. Editorial Limusa. 925 p.

- Johnson S., Herman J., Mills A., Hornberger G. 1999. Bioavailability and desorption characteristics of aged, nonextractable atrazine in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:1747-1754.
- Kaufman D. D. y Kearney P. C. 1980. Microbial degradation of triazine herbicides. *Residue Reviews* 32:235-265.
- Kentucky Department of Agriculture. 2007. Guidelines for atrazine use and application for groundwater and surface water protection best management practices, Kentucky State University, Kentucky, USA. Disponible en World Wide Web en <http://www.kyagr.com/consumer/envsvs/technical/documents/AtrazineGuidelines.pdf> (último acceso 27 de noviembre de 2007).
- King J. A., Harrison R. 2002. Measuring soil respiration in the field: an automated closed chamber system compared with portable IRGA and alkali absorption methods. *Communications on Soil Science and Plant Analysis* 33:403-423.
- Kolpin D.W. y Martin J.D. 2003. Pesticides in Ground Water: Summary Statistics; Preliminary results from cycle I of the national water quality assessment program (NAWQA), 1992-2001 Disponible en World Wide Web: [http://ca.water.usgs.gov/pnsp/pestgw/Pest-GW\\_2001\\_Text.html](http://ca.water.usgs.gov/pnsp/pestgw/Pest-GW_2001_Text.html) (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Koskinen W. C. y Clay S. A. 1997. Factors affecting atrazine fate in North Central U.S. Soils. *Reviews of Environmental Contamination & Toxicology* 151:117-165.
- Kruger E. L., Somasundaram L., Ramesh S. K. y Coats J. R. 1993. Persistence and degradation of [14C]atrazine and [14C]deisopropylatrazine as affected by soil depth and moisture conditions, *Environmental Chemistry* 12:1959-1967.

- Kung K., Steenhuis T., Kladvko E., Gish T., Bubenzer G. y Helling C.S. 2000. Impact of preferential flow on the transport of adsorbing and non-adsorbing tracers. *Soil Science Society American Journal* 64:1290-1296.
- Laird D. A., Barriuso E., Dowdy R. H. y Koskinen W. C. 1992. Adsorption of atrazine on smectites. *Soil Science Society of America Journal* 56:62-67.
- Laura D., de Socio G., Frassanito R., Rotilio D. 1996. Effects of atrazine on *Ochrobactrum anthropi* membrane fatty acids. *Applied Environmental Microbiology* 62:2644-2646.
- Leeds P. B. 1995. Movement of water and solutes to surface and ground waters. In Walker A., Allen R., Bailey S., Blair A., Brown C., Günther P., Leake C., Nicholls P. eds. *Proceedings of a Symposium held at The University of Warwick, Coventry UK, nº 62.* 3-12 p.
- Lewin B. 2001. *Genes VII.* Ed. Marbán Madrid España 990p.
- Liu J. y Quian C. 1995. Hydrophobic coefficients of s-triazine and phenylurea herbicides. *Chemosphere* 31:3951-3959.
- Locke M. y Bryson C. 1997. Herbicides-soil interactions in reduced tillage and plant residue management systems. *Weed Science* 45: 307-320.
- Lowry O. H., Nira J., Lewis A. y Randall R. 1951. Protein measurement with the "folin phenol reagent", *Journal Biology Chemistry* 192:265-275.
- Ma L., Southwick Ll. M., Willis G. H. y Selim H. M. 1993. Hysteretic characteristics of atrazine adsorption-desorption by a Sharkey soil. *Weed Science* 41:627-633.
- Madigan M., Martinko J., y Parker J. 2006. *Biología de los microorganismos,* Octava edición. Prentice May. Madrid, España, 983 p.
- Mandelbaum R. T., Allan D. A. Wachett L. P. 1995. Isolation and

- characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Applied Environmental Microbiology* 61:1451–1457.
- Mandelbaum R. T., Wackett L. P. y Allan D. L. 1993. Rapid hydrolysis of atrazine to hydroxyatrazine by soil bacteria. *Environmental Science Technology* 27:1943-1946.
- Martens D. A. y Bremner J. M. 1997. Inhibitory effects of fungicides on hydrolysis of urea and nitrification of urea nitrogen in soil. *Pesticide Science* 49:344-352.
- McCarthy P. L. 1991. Engineering concepts for in situ bioremediation. *Journal Hazard Materials* 28:1-11.
- Mendoza R., Hernández E., Cortés J. I., Turrent A., Lerma L. A. y Aceves E. 2002. Tecnologías sobre fertilización, densidad de población y variedades en maíz a escala comercial. Disponible en World Wide Web: [http:// www.chapingo.mx/terra/contenido/20/4/art485-495.pdf](http://www.chapingo.mx/terra/contenido/20/4/art485-495.pdf) (último acceso 3 de diciembre de 2007).
- Mihelcic J. R. y Luthy R. G. 1991. Sorption and microbial degradation of naphthalene in soil-water suspensions under denitrification conditions. *Environmental science Technology* 25:169-177.
- Millar P. y Westra P. 1998. Herbicide behaviour in soils. Universidad del Estado de Colorado. Publication 0.562, 125p.
- Miller M. E. y Alexander M. 1991. Kinetics of bacterial degradation of benzilamine in a montmorillonite suspension. *Environmental Science Technology* 25:240-245.
- Montgomery J. H. 1997. *Agrochemicals*. 2nd. Edition. Lewis publishers, Boca Raton, NY. 643 p.
- NASS (National Agriculture Statistical Services). 2003. Agriculture chemical use

database data provided electronically by national agriculture statistical services, USA. Disponible en World Wide Web [http://www.pestmanagement.info/nass/app\\_statcs1\\_year.cfm](http://www.pestmanagement.info/nass/app_statcs1_year.cfm). (último acceso 3 de diciembre de 2007).

NRA (National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals). 2002. Final report review of atrazine. NRA Chemical Review Program. Canberra, Australia. Disponible en World Wide Web: [http://www.apvma.gov.au/chemrev/downloads/atrazine\\_final.pdf](http://www.apvma.gov.au/chemrev/downloads/atrazine_final.pdf) (último acceso 3 de diciembre de 2007).

OECD (Organización para el Desarrollo y Cooperación Económica). 2002a. Guidelines for the testing of chemicals proposal for a new guideline 307. Aerobic and anaerobic transformation in Soil. Disponible en World Wide Web: <http://www.oecd.org/publications/> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

OECD (Organización para el Desarrollo y Cooperación Económica). 2000b. Guidelines for the determination of soil adsorption/desorption, using a batch equilibrium method, TG 106. Disponible en World Wide Web <http://ecb.jrc.cec.eu.int/documents/Testing-Methods/ANNEXV/18web2001.pdf> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

OECD. 2002c. Guidelines for the Testing of Chemicals Proposal for a New Guideline 312. Leaching in Soil Columns. Disponible en World Wide Web: <http://www.oecd.org/publications/> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

OLCA (Observatorio Latinoamericano de Conflictos Ambientales). 2000. Plaguicidas con solicitudes de prohibición y de severa restricción, Alianza por una mejor calidad de vida / Red de acción en plaguicidas de Chile, Disponible en World Wide Web [www.olca.cl/oca/plaguicidas/plag04.htm](http://www.olca.cl/oca/plaguicidas/plag04.htm) (último acceso 3 de diciembre de 2007).

diciembre de 2007).

OPS (Organización Panamericana de la Salud), 2002. Normas internacionales para la calidad del agua de bebida. Disponible en World Wide Web: <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/e/normas.html> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

Palma-López D. J. y Cisneros J. D. 2000. Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. 2ª Edic. Vol 1. Fundación Produce Tabasco, A.C. Villahermosa, Tabasco. 115 p.

Park J. H., Feng Y., Ji P., Voice T. C. y Boyd A., 2003, Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Applied Environmental Microbiology* 69(6): 3288–3298

Pesticide Database. 2004. Pesticide action network, San Francisco, CA, USA. Disponible en World Wide Web: <http://www.pesticideinfo.org/Index.html> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

Radosevich M., Traina S. J., Hao Y. L., Tuovinen O. H. 1995. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. *Applied Environmental Microbiology* 61:297–302.

Reinhardt C. F. y Nel P. C. 1993. The influence of type, soil water content and temperature on atrazine persistence. *South African Journal of Plant and Soil* 10:45-49.

Rittmann B. E., Smets B., y Stahl D. A. 1990. Genetic capabilities of biological processes. part 1, *Environmental Science Technology* 24:23-29.

Rittmann B. E. y McCarty P. L. 1980. Model of steady-state-biofilm kinetics, *Biotechnology* 22:2357-2359.

Sáez P. B. y Rittmann B. E. 1990. Discussion of kinetics and stoichiometry of activated sludge treatment of a toxic organic wastewater, *Journal*

Water Pollution 61:357-358.

Salgado G. S., Bucio L. A., Riestra D. D., L. C. Lagunes-Espinoza, 2001, Caña de azúcar: hacia un manejo sustentable. Campus Tabasco, Colegio de Postgraduados-ISPROTAB. H. Cárdenas, Tabasco. 349 p.

Sánchez- Vera G., Obrador-Olán J., Palma-López D., Salgado-García S. Densidad aparente en un vertisol con diferentes agrosistemas. Interciencia 28:347-351.

Sánchez-Camazano M., Sanchezj-Martín M.J., Rodríguez-Cruz M.S. 2000. Sodium dodecyl sulphate-enhanced desorption of atrazine: effect of surfactant concentration and organic matter content of soil Chemosphere 41: 1301-1305.

SARH (Secretaría de agricultura y Recursos Hidráulicos). Consideraciones preliminares para el mejoramiento de la producción en el distrito de riego 063 Guasave, Sin. México, 70 p.

Saxton W. J., Rawls J. S., Romberger J. S. y Papendick, R.I. 1986. Estimating generalized soil-water characteristics from texture. Soil Science Society American Journal 50(4):1031-1036

Schachtschabel P. y Scheffer F. 1998. Lehrbuch der bodenkunde, 14. Ed., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 494 p.

Schoen S. R. y Winterlin E. P. 1987. The effects of various soil factors and amendments on the degradation of pesticides mixtures Journal Environmental Science Health B22:347-377.

Scow K. M. y Alexander M. 1992. Effect of diffusion and sorption on the kinetics of biodegradation: experimental results with synthetic aggregates. Soil Science Society of America Journal 56:128-134.

SEMARNAP-IMTA (Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca

- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua). 2002. Contaminación y drenaje agrícola. Coordinación de Tecnología de Riego y Drenaje. Subcoordinación de Contaminación y Drenaje Agrícola. Jiutepec, Morelos, México 132p.
- Seybold C. A. y Mersie W. 1996. Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, hidrxiatrazine, and metolachlor in two soils from Virginia. *Journal Environmental Quality* 25:1179-1185.
- Shapir N., Mandelbaum R.T., Jacobsen C.S. 1998. Rapid atrazine mineralization under denitrifying conditions by *Pseudomonas* sp. strain ADP in aquifer sediments. *Environmental Science and Technology* 32:3789-3792.
- Silva A. P., Marina D. Menjivar J. 2007. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la actividad microbial y rendimiento de avena forrajera en un suelo andisol del departamento de Nariño, Colombia. *Acta agronómica* 56:25-32.
- Steinberg C.E.W., Lorenz R. y Spieser O.H. 1995. Effects of atrazine on swimming behavior of zebrafish, *Water Research* 29:981-985.
- Stevenson E., P. Baumann, and J.A. Jackman. 2003. Pesticide properties that affect water quality. Texas Agricultural Extension Service, the Texas A & M University System. Disponible en World Wide Web <http://insects.tamu.edu/extension/bulletins/b-6050.html> (último acceso 4 de diciembre de 2007).
- Stratton R. G., Namkung E. y Rittmann B. 1993. Secondary utilization of trace organics by biofilms on porous media, *Journal American of Water Works Associates* 75:463-469.
- Struthers J. K., Jayachandran K. y Moorman T. B.. 1998. Biodegradation of atrazina by *Agrobacterium radiobacter* strain J14a and use in

bioremediation of contaminated soil, *Applied Environmental Microbiology* 60:3368–3375.

Swartjes F.A., Fahrenhorst C. y Renger M. 1991. Entwicklung und erprobung eines simulationmodelles für die verlagerung von schwermetallen in wasserungesättigten böden, Umweltbundesamt Berlin, UBA-Texte UBA-FB 91-069.

Tappe W., Groeneweg J. y Jantsch B. 2002. Diffuse atrazine pollution in German aquifers, *Biodegradation* 13:3-10.

Thomas G. F., Fred W. R., Klein R. N., Holshouser D. L., Christiansen A. P., James A. S., Gary L. Z. 1996. Agricultural management practices to reduce atrazine in surface water. Publication A-20, G96-1299, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, Nebraska, USA.

Topp E. y Smith W. 1992. Sorption of the herbicides atrazine and metolachlor to selected plastics and silicone rubber, *Journal Environmental Quality* 21:316-317.

USDA (United States Department of Agriculture). 1996. Agricultural chemical usage. 1995 Field crops summary, United States Department of Agriculture, Washington, DC. 97p.

USDA (United States Department of Agriculture). 2003. Soil water characteristics hydraulic proprieties calculator. Disponible en World Wide Web <http://www.bsye.wsu.edu/saxton/soilwater/> (último acceso 4 de diciembre de 2007).

USEPA (United States Environmental Protection Agency), 2003. Interim reregistration eligibility decision for atrazine. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Disponible en World Wide Web: [http://www.epa.gov/oppsrd1/REDs/atrazine\\_ired.pdf](http://www.epa.gov/oppsrd1/REDs/atrazine_ired.pdf) (último acceso 3

de diciembre de 2007).

USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1994. Atrazine, simazine and cyanazine, notice of Initiation of Special Review Federal register, Washington, DC 59, 60412-60443, Disponible en World Wide Web <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1994/November/Day-23/pr-54.html> (último acceso 3 de diciembre de 2007).

USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1998. OPPTS 835.1220 Sediment and soil adsorption/desorption isotherm. Disponible en World Wide Web [http://www.epa.gov/opptsfrs/OPPTS\\_Harmonized/835\\_Fate\\_Transport\\_and\\_Transformation\\_Test\\_Guidelines/Drafts/835-1220.pdf](http://www.epa.gov/opptsfrs/OPPTS_Harmonized/835_Fate_Transport_and_Transformation_Test_Guidelines/Drafts/835-1220.pdf) (último acceso 3 de diciembre de 2007).

van Afferden M., Hansen A. M., Kaiser C. y Chapelain N. 2002. Laboratory test system to measure microbial respiration rate. *International Journal of Environment and Pollution* 26:220-232.

Villada-Canela M.. 2005. Estimación del riesgo de contaminar mantos freáticos por infiltración de herbicida atrazina en distritos de riego en México, Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería, Campus Morelos. Universidad Nacional Autónoma de México, 110 p.

Wackett L. P., Sadowsky M. J., Martinez B., Shapir N. 2002. Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies. *Applied Microbiology Biotechnology* 58(1):39.

Wang Z., Gamble D. y Langford C. 1992. Interaction of atrazine with laurentian soil. *Environmental Science Technology* 26:560-565.

Wassergüte y AbfallWirtscha. 1991. Sanierung kontaminierter böden, Mülltechnisches Seminar, Technische Universität Manchen, Karlsruhe,

Baden-Wurtemberg, Deutschland 121p.

Wassergüte y Abfallwirtschaft. 1991. Sanierung kontaminierter böden, Mültechnisches Seminar, Technische Universität Manchen. 43p.

Wauchope R. D. y Myers R. S. 1985. Adsorption-desorption kinetics of atrazine and linuron in fresh water-sediment aqueous slurries. Journal Environmental Quality 14:132-136.

Weber J., Best J. y Gonese J. 1993. Bioavailability and bioactivity of sorbed organic chemicals. Chapter 10 In: Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil. Soil Science Society of America Special Publication no.32. 63p.

Wehrmann J. y Scharpf H. C. 1979. Der mineralstickstoffgehalt des Bodens als Mafstab für den Stickstoffdüngerbedarf (Nmin - methode). Plant Soil 52:109-126.

WHO (World Health Organization), 2004. Guidelines for drinking water-quality. Annex 4. Chemical summary tables Geneva, Switzerland pp 488 – 493, Disponible en World Wide Web [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/) (último acceso 3 de diciembre de 2007).

Winkelmann D. A. y Klaine S. J. 1991. Atrazine metabolite behavior in soil-core microcosms. In: Somasundaram L. Coats J. R. eds, Pesticide transformation products: fate and significance in the environment. American Chemical Society, Washington, DC, pp 254-273.

Zeng Y., Colin L. y Stephens S. 2001. Atrazine pathway map, Universidad de Minnesota. Disponible en World Wide Web <http://umbbd.ahc.umn.edu/core/graphics/> (último acceso 3 de diciembre de 2007).



## **Anexo 1. Área de estudio**

### **1.1. Selección de área de estudio**

Para el estudio se tomaron muestras de dos diferentes zonas agrícolas del país, con base en las siguientes características: a) profundidad de nivel freático, b) superficie sembrada de cultivo indicador y c) características del suelo. Estas zonas se encuentran ubicadas en los estados de Tabasco y Sinaloa. A continuación se describen con mayor detalle las características.

a) Profundidad de nivel freático. Se optó por seleccionar regiones que presentaran un nivel freático somero (1 y 3 m). Para apreciar en un tiempo experimental corto la migración de atrazina a las aguas subterráneas.

b) Superficie sembrada de cultivo indicador. La zona ubicada en Tabasco se encuentra en un área potencialmente agrícola y el DR 063 es uno de los distritos más importantes de Sinaloa. El padrón de cultivo de ambos está diversificado en más de 30 productos, mismos que anualmente demandan gran cantidad de herbicidas. La selección de las zonas se realizó con base a los tipos de cultivos que se siembran, tales como pastos, maíz y caña de azúcar, los cuales tienen la mayor demanda de uso de atrazina.

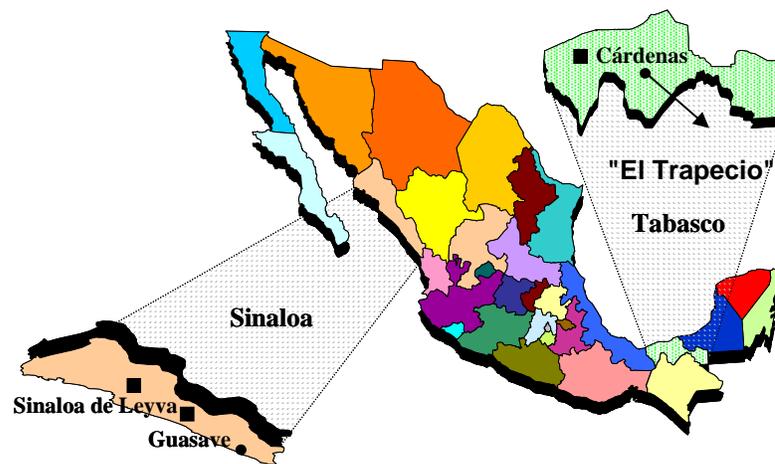
c) Tipo de suelo. Se realizó una caracterización granulométrica de diferentes puntos de las áreas de estudio, y se seleccionó suelos que cumplieran con dos características principales: representatividad de las zonas agrícolas en México y permeabilidad de los suelos considerando un mayor riesgo de infiltración hacia el nivel freático.

### **1.2. “El Trapecio” Cárdenas, Tab.**

Una de las regiones con mayor potencial agrícola del país está localizada en el sureste del territorio nacional. En este lugar se encuentra una de las zonas de muestreo, específicamente en el campo experimental perteneciente al

Colegio de Postgraduados (CP), en "El Trapecio" Cárdenas, Tabasco ubicado en el km 21 de la Carretera Circuito del Golfo Cárdenas-Coatzacoalcos.

Geográficamente este campo se localiza entre los meridianos 93° 23' y 93° 33' de longitud Oeste y los paralelos 17° 49' y 18° de latitud Norte dentro del área del Plan de la Chontalpa (Figura 1). El nivel freático en la región está a una profundidad promedio de 1 m. En la zona se cultiva principalmente caña de azúcar, maíz, sorgo y hortalizas.



**Figura 1.** Ubicación del campo experimental El Trapecio en Cárdenas, Tabasco y del Distrito de Riego 063 en Guasave, Sin.

### 1.3. Clima

La zona de estudio en Cárdenas, Tabasco presenta un clima cálido, húmedo tropical, con lluvias abundantes en verano y otoño. La precipitación media anual es de 2 200 mm, presenta una distribución temporal entre época de lluvias (de junio a octubre) y época de "nortes" entre noviembre y enero. La época de relativa sequía se presenta de febrero a mayo. La evaporación media anual es de 1 234 mm, varía entre 1 094 y 1 455 mm (INEGI, 2000a).

La temperatura media anual es de 25.9 °C, siendo la media mensual más baja de 22.2 °C en enero y la más alta de 35.4 °C en el mes de mayo. La humedad relativa del aire es muy alta, variando en el transcurso del año entre 68 y 98 %, el promedio anual es de 80 % (INEGI, 2000a).

#### **1.4. Suelos**

El área de El Trapecio, igual que la mayor parte de la superficie del estado de Tabasco, se localiza en una planicie aluvial reciente, con elevaciones topográficas comprendidas entre 3 y 20 msnm. La superficie del módulo experimental está compuesta por dos tipos de suelos, denominados serie Limón y serie Libertad, 79 % del suelo en el módulo pertenece a la serie Limón y 21 % a la serie Libertad y a las transiciones entre las dos series (Palma-López y Cisneros, 2000).

De acuerdo con la composición granulométrica, los suelos de la serie Limón son arcillosos, mientras que los suelos de la serie Libertad son más arenosos y permeables (Palma-López y Cisneros, 2000). El contenido de carbono orgánico es de aproximadamente 1.9 % (CNA-IMTA-CP, 1999). La densidad promedio del suelo es de 1.21 g cm<sup>-3</sup>. Los suelos de la serie Limón se catalogan como Vertisoles crómicos y los de la serie Libertad, como Fluvisoles eútricos según la clasificación FAO-UNESCO (FAO, 2003).

#### **1.5. Agricultura**

Los suelos ubicados en esta zona agrícola, la cual tiene un extensión de 50 hectáreas, se encuentran cultivados principalmente con pastos (35 %), caña de azúcar (25 %), maíz (11 %), cacao (10 %) y entre otros (8 %), mientras que el 11 % son selvas y acahuales. El agrosistema para la caña de azúcar es uno de los más tecnificados y las labores, desde la preparación del suelo hasta la cosecha, se realizan a través de maquinaria agrícola que tiende a modificar características físicas del terreno (Salgado *et al.*, 2001).

## **1.6. Distrito de riego 063, Guasave, Sinaloa.**

El Distrito de Riego 063 (DR 063) está ubicado en la parte norte del estado de Sinaloa, abarca una superficie de 1 200 km<sup>2</sup>, distribuido en los municipios de Guasave y Sinaloa de Leyva. Limita al norte con el Canal Principal, margen derecha, al sur con las Marismas (Golfo de California), al este con la primera y segunda unidad del Distrito de Riego No. 075 y al oeste con el Arroyo de San Rafael (Figura 1). Su localización geográfica está entre los meridianos 108° 10' y 108° 40' de longitud Oeste y los paralelos 25° 30' y 25° 50' de latitud Norte a una altitud promedio de 20 msnm (SARH, 1982). El nivel freático en la región está a una profundidad promedio de 1.5 m

## **1.7. Clima**

En la zona de Distrito de Riego 063 el clima se presenta cálido a seco sin excedente de humedad durante todo el año. La temperatura media anual es de 23.9 °C, las temperaturas máximas y mínimas extremas son de 42.0 °C y 4.4 °C y la precipitación media anual es de 409 mm, concentrándose del 70 y 80 % en el verano, dependiendo de la presencia de tormentas tropicales y huracanes y el resto se distribuye en el invierno en los meses de noviembre a enero. La evaporación media anual es de 2 202 mm.

En la región dominan vientos del Norte con una frecuencia constante e intensidad moderada y con una alta incidencia de ciclones en los meses de septiembre, octubre y noviembre (INEGI, 2000a).

## **1.8. Suelos**

Todos los suelos del DR 063, tienen el mismo origen y modo de formación. Proceden de productos de la meteorización y descomposición de las rocas que constituyen la Sierra Madre Occidental, cuyos materiales son transportados por arrastre de suspensión de corrientes fluviales, quedando

una parte depositados en la planicie costera y el resto llega al mar, originando suelos aluviales de diferente grado de desarrollo. El suelo de la zona de estudio, que corresponde al valle de Guasave es generalmente de tipo Feozem y Vertisol (FAO, 2003) presentando una textura limosa, moderadamente permeable y susceptible a la erosión. En la zona existen suelos de tipo limo-arenoso, limo-arcilloso, entre otros.

### **1.9. Agricultura**

La agricultura en el DR 063 es moderna y avanzada. Su padrón de cultivos está diversificado en más de 30 productos que se comercializan en el mercado nacional e internacional. Son típicos de esta región los cultivos de maíz, algodón, arroz, cártamo, sorgo, soya, papa, tomate, frijol, trigo y garbanzo. El consumo promedio de fertilizante nitrogenados es 15 342.2 T ciclo<sup>-1</sup>, de los cuales se utilizaron 10 908.0 T ciclo<sup>-1</sup> para cultivos de maíz (SEMARNAP-IMTA, 2002)- En el caso del uso de atrazina se aplican en promedio 73.0 T año<sup>-1</sup> (Villada-Canela, 2005).

## **Anexo 2. Metodología para la caracterización de las muestras de suelo**

### **2.1. Contenido de agua**

Para determinar el contenido de agua se pesaron 10 g de suelo húmedo en una cápsula de porcelana previamente tarada ( $P_H$ ); la muestra se secó en un horno a 105 °C durante 24 horas. La cápsula con la muestra de suelo seco se colocó en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesó ( $P_s$ ), el procedimiento de secado y pesado se realizó hasta obtener peso contante. El contenido de agua se calculó con la siguiente ecuación (ASTM, 2000b).

$$\text{Contenido de agua [\%]} = \left( 1 - \frac{P_s - P_c}{P_H - P_c} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde

$P_s$  = Peso de la cápsula y la muestra después de secado (g)

$P_c$  = Peso de la cápsula previamente tarada (g)

$P_H$  = Peso de la cápsula con muestra húmeda (g)

### **2.2. Materia orgánica**

En un crisol previamente tarado ( $C_p$ ) se pesaron 10 g de suelo seco ( $C_s$ ) y se pusieron a calcinar en una mufla a 440°C durante 2 hrs, el crisol con las cenizas se sacó de la mufla y se colocó en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente. Una vez alcanzado que el crisol con cenizas alcanzó la temperatura ambiente se pesó ( $C_c$ ). Para determinar el contenido de materia orgánica se utilizó la siguiente ecuación (ASTM, 2000b).

$$\text{Materia orgánica [\%]} = \frac{C_c - C_p}{C_s - C_p} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde

$C_c$  = Peso del crisol con cenizas (g)

$C_p$  = Peso del crisol previamente tarado (g)

$C_s$  = Peso de la cápsula con suelo seco (g)

### 2.3. pH

Para la determinación de pH se secaron 10 g de suelo a temperatura ambiente y se depositaron en un vaso de precipitado de 100 mL. Se añadieron 20 mL de agua MilliQ pH 5.5 y conductividad eléctrica de 0.6  $\mu\text{S}$  y se agitó manualmente durante un minuto. Posteriormente se dejó reposar durante 10 minutos. El proceso de agitación y reposo se repitió dos veces, después se mezcló perfectamente la suspensión del suelo y se midió el pH en el suelo (ASTM, 1995). El potenciómetro se calibró con las soluciones amortiguadoras de pH 4, 7 y 10 a 25°C.

### 2.4. Granulometría

La distribución de partículas de tamaño mayor a 0.074 mm (retenidas sobre la malla 200) se determinó por tamizado, mientras que la distribución de partículas de tamaño menor a éste se realizó mediante un proceso de sedimentación, utilizando un hidrómetro (ASTM, 2000c).

Las muestras de suelo se homogenizaron y se dejaron secar hasta temperatura ambiente. El porcentaje de arena se determinó pasando la muestra de suelo seco a través de la malla 200. El material retenido en esta malla se clasificó como arenas.

El porcentaje de limo y arcilla se determinó a partir de una muestra de 60 g de suelo seco que pasó por la malla 200. Se colocó el suelo en un vaso de

precipitado y se adicionaron 100 mL de agua. La mezcla se agitó con una varilla de vidrio, para homogenizarla. Posteriormente, se adicionaron 20 mL de de floculante y 150 mL de agua desionizada. Una vez preparada la mezcla, se dejó reposar durante 18 horas. Transcurrido este tiempo, la suspensión suelo-agua se agitó durante 10 minutos utilizando un agitador mecánico, y la solución se depositó en un cilindro de sedimentación y se aforó con agua hasta un litro. El cilindro se agitó manualmente durante un minuto y posteriormente se introdujo el hidrómetro, entonces a diferentes tiempos se registró la densidad de la suspensión durante el proceso de sedimentación.

Con los datos obtenidos y aplicando la ley de Stokes (Ecuación 3) se determinó el diámetro de las partículas sedimentadas (D) que tardan un tiempo t en caer desde la superficie a la profundidad  $Z_r$ ; y el porcentaje de partícula inferior a diámetro de partícula sedimentada (D).

$$D = \frac{\sqrt{18 \eta}}{(\gamma - \gamma_w)} \sqrt{\frac{Z_r}{t}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde

D= diámetro de las partículas (mm)

$Z_r$ = profundidad (cm)

t= tiempo en caer desde la superficie a la profundidad  $Z_r$  (seg),

$\gamma$ = peso específico de la partícula ( $\text{g cm}^{-3}$ ),

$\gamma_w$ = peso específico del agua ( $\text{g cm}^{-3}$ ),

$\eta$ = viscosidad del agua

Para determinar el porcentaje de de partícula en los 6 g de muestra se utiliza la siguiente ecuación.

$$N = \frac{\gamma}{(\gamma - 1)} \frac{V}{Ps} \gamma_c (r - r_w) * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde

$P_s$  = peso seco de la muestra ensayada (g)

$V$  = volumen de la suspensión (1000 cm<sup>3</sup>)

$\gamma_c$  = peso específico del agua a la temperatura de calibración ( $\approx 1$  g cm<sup>-3</sup>)

$r$  = lectura del hidrómetro en la suspensión

$r_w$  = lectura del hidrómetro en agua

$N$  = Partícula en los 60 g de suelo que pasaron la mala 200 (%)

Si  $R = 1\,000(r-1)$  y  $R_w = 1\,000(r_w-1)$ , (factores para la calibración del hidrómetro) la ecuación 3 se transforma en la ecuación 5.

$$N = \frac{\gamma}{(\gamma - 1)} \frac{100}{P_s} (R - R_w) \quad \text{Ecuación 5}$$

Por otro lado se debe considerar que la muestra que se utiliza en esta prueba es una representativa de la fracción fina, por tanto el porcentaje  $N$  se refiere únicamente a la parte fina y no al total de la muestra de suelo. Entonces se debe hacer una corrección del porcentaje con respecto al total de la muestra, utilizando la siguiente fórmula.

$$N' = \frac{N}{100} * \% \text{ que pasa el tamiz ASTM no.10} \quad \text{Ecuación 6}$$

Para obtener la curva de granulometría, los datos que se grafican son el diámetro de la partícula ( $D$ ) contra el porcentaje de partículas ( $N'$ ) con diámetro inferior al determinado ( $D$ ), obteniendo una curva de granulometría y determinando así el porcentaje de limo y arcilla que contiene la muestra.

## 2.5. Textura

Las cantidades de arena, limos y arcilla en un suelo define su textura. Para lo cual se puede emplear el triángulo de texturas (Figura 2) para la clasificación

de los suelos. Por tanto considerando los porcentajes de arenas, limos y arcillas determinados en la granulometría y el triángulo de textura se clasificaron los diferentes tipos de suelo.

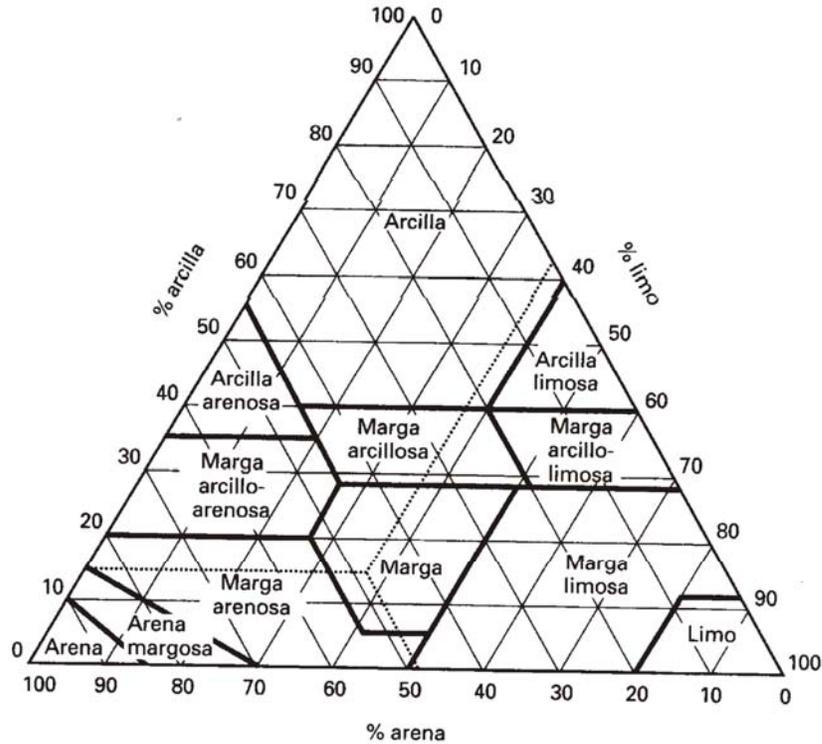


Figura 2. Diagrama triangular de clasificación de suelos del Departamento de Agricultura de los EE.UU (tomado de Eweis *et al.*, 1999)

## 2.6. Conductividad hidráulica

Es la velocidad de descarga de agua en condiciones de flujo laminar, a través de un medio poroso, con un cierto gradiente hidráulico y en condiciones estándar de temperatura. La determinación de la conductividad hidráulica de campo se hizo con base en una ecuación matemática (Ecuación 7) que relaciona propiedades complejas del suelo con características del suelo determinadas en laboratorio (textura del suelo y humedad). La ecuación desarrollada por Saxton (1986) y aplicada en el

siguiente modelo matemático Soil Water Characteristics Hydraulic Properties Calculator (USDA, 2003).

$$K = 2.778 \times 10^{-6} \{ \exp [12.012 - 0.0755 \times (\% \text{ arena}) + [-3.8950 + 0.03671 \times (\% \text{ arena}) - 0.1103 \times (\% \text{ arcilla}) + 8.7546 \times 10^{-4} \times (\% \text{ arcilla})^2] (1/\theta) \}$$

Ecuación 7

Donde

K = Conductividad hidráulica (m s<sup>-1</sup>)

$\theta$  = Contenido de humedad (m<sup>3</sup> m<sup>-3</sup>)

## 2.7. Compactación

La prueba utilizada fue la D698 (ASTM, 2000a) que determina las condiciones óptimas de compactación de un suelo en el laboratorio, con el objeto de que proporcione valores similares en cualquier sitio que se efectúe.

Para lo cual se puso a secar 2 500 g de muestra de suelo homogeneizado y tamizado a través de la malla 4 (4.69 mm). Una vez seca se esparce agua en una cantidad proporcional a la humedad requerida, en este caso 50 % de la capacidad de campo. El suelo se revuelve perfectamente tratando que el agua se distribuya perfectamente.

Una vez humedecida la muestra se vacía en un cindro proctor el material suficiente para obtener una capa con suelo disgregado de 8 cm de espesor. Esta capa se compacta mediante golpes del pistón procurando repartirlos en toda la superficie utilizando la guía metálica para que la altura de caída sea la misma (30.5 cm). Los golpes de pistón, se dan levantando este hasta el nivel superior de la guía y dejándolo caer libremente. Este procedimiento de vaciar y compactar se repite dos veces hasta que se juntan tres capas de suelo compactado.

Al terminar la compactación de las tres capas, con una espátula de cuchillo se recorre el perímetro interior para despegar el material, enrasando la muestra al nivel superior del cilindro. Posteriormente se pesa la muestra con el cilindro previamente tarado; para posteriormente la muestra se extrae del cilindro y se realiza la prueba de permeabilidad.

Con el número de golpes, número de capas, peso del pistón, altura del pistón y volumen de la muestra se calcula la energía de compactación.

$$E_c = \frac{N * n * w * h_p}{V} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde

Ec= Energía de compactación (kg cm cm<sup>-3</sup>)

N= Número de golpes

n=Número de capas

w= Peso del pistón (kg)

hp= Altura del pistón (cm)

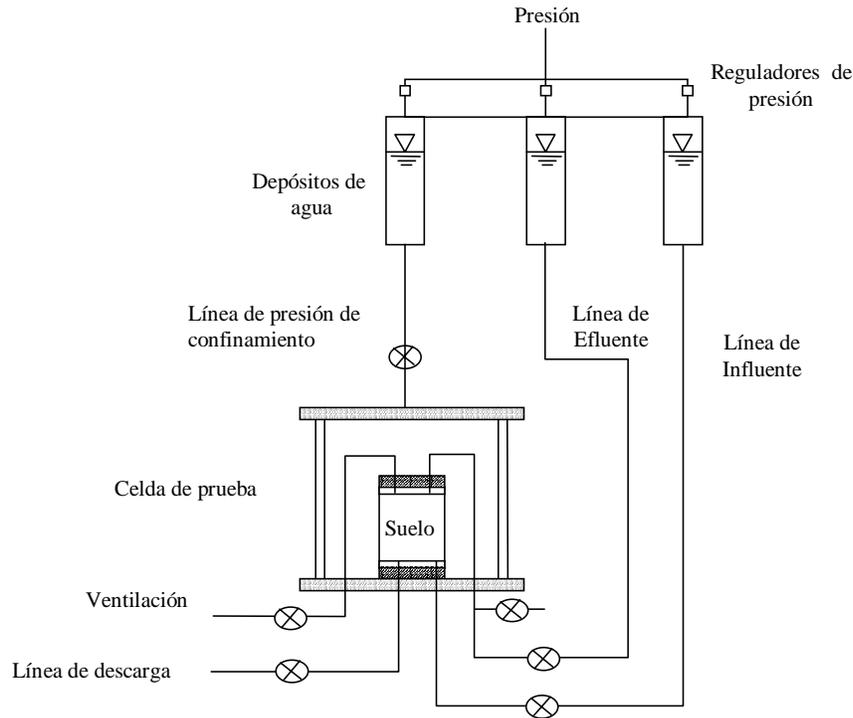
V= Volumen de la muestra (cm<sup>3</sup>)

En la fase experimental de mecánica de suelos, las pruebas de compactación se realizaron con el equipo Próctor. En la etapa experimental de hidrogeoquímica se utilizó un equipo Próctor en miniatura, con el fin de reproducir la compactación que se obtenga en la fase experimental de mecánica de suelos.

## 2.8. Permeabilidad

Con la finalidad de determinar el coeficiente de conductividad hidráulica “k” en las muestras preparadas en las pruebas de compactación se realizaron

pruebas de conductividad hidráulica con el permeámetro de carga constante del Laboratorio de Mecánica de Suelos del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), esquematizado en la Figura 3. Esta prueba se detalla en la norma D5084 (ASTM, 2003).



**Figura 3.** Permeámetro de carga constante

Las columnas de suelo con dimensiones de 10 cm de diámetro y 14 cm de altura se somete a un proceso de labrado para disminuir el diámetro de la muestra a 7 cm, posteriormente es colocada en los cabezales de la celda del permeámetro.

Para instalar la columna de suelo en la base de la celda de prueba, se coloca una piedra porosa seguida de un papel filtro (Whatman) en la parte superior e inferior, y se cubre la columna de suelo con una membrana de látex.

Instalada la columna de suelo en la celda, es cerrada totalmente para evitar fugas y por una línea de confinamiento se conduce agua hacia la celda de prueba; la cual proporciona a la muestra una presión lateral. La cual se calcula con la siguiente ecuación:

$$\sigma = \frac{\rho h}{\delta} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde

$\sigma$ = Presión de confinamiento (Kpa)

$\rho$ = Densidad del suelo ( $\text{kg cm}^{-3}$ )

$\delta$ = factor de conversión  $0.01020$  ( $\text{Kpa kg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ )

Después de colocar la columna en la celda y una vez que esta se encuentra confinada por la presión lateral, se procede a saturar (con agua) la columna de suelo. Cuando la muestra se encuentra saturada se determina la permeabilidad del suelo; si la conductividad hidráulica obtenida en el permeámetro no correspondía al valor de la conductividad hidráulica de campo (obtenida con la función de pseudotransferencia), se procedía a repetir el procedimiento compactación-conductividad hidráulica. Este procedimiento se llevó a cabo con varias columnas a diferentes compactaciones. Lo anterior se realizó hasta alcanzar el valor de la conductividad hidráulica de campo.

Los cálculos se hicieron considerando la ley de Darcy:

$$Q = K i A \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde

$Q$ = Gasto que pasa a través de la muestra ( $\text{cm}^3 \text{s}^{-1}$ )

$K$ = Conductividad hidráulica ( $\text{cm s}^{-1}$ )

$i$ = Gradiente hidráulico ( $\text{cm cm}^{-1}$ )

$A$ = Área transversal de la muestra ( $\text{cm}^2$ )

## 2.9. Densidad aparente

La densidad aparente de un suelo se define con la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m_s - C_o}{V_s} \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde

$m_s$ = Peso de la cápsula con suelo seco (g)

$V_s$ = Volumen total del suelo saturado (mL)

$C_c$ = Peso de la cápsula previamente tarada (g)

En una columna de acrílico (3.5 cm de diámetro y 7 cm de alto) se colocó una piedra porosa seguida de un papel filtro, posteriormente se pusieron tres capas de suelo compactando cada capa con tres golpes, los golpes se realizaron con un pistilo de 2.5 cm de diámetro, 15 cm de altura y 250 g de peso, con el fin de obtener una compactación similar a la encontrada en campo. Una vez compactado el suelo se puso papel filtro y otra piedra porosa. La columna de suelo compactada se sumergió en un baño de agua hasta saturar el suelo. Una vez saturado el suelo se registró el volumen de la columna de suelo ( $V_s$ ).

Posteriormente, se retiró de la columna el suelo saturado y se depositó en una cápsula previamente tarada ( $C_c$ ). Se secó el suelo a 110 °C durante 24 horas, después de este tiempo se puso el suelo en un desecador y se registró el peso de la cápsula con el suelo seco ( $m_s$ ); con los datos obtenidos se aplicó la ecuación 12 para obtener la densidad aparente del suelo (ASTM, 1997).

## 2.10. Porosidad

Con la densidad aparente se determinó la porosidad de los suelos utilizando la siguiente ecuación.

$$\eta = 1 - \frac{\rho}{\rho_{\text{esp}}} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde

$\eta$  = Porosidad ( $\text{cm}^{-3}$  suelo seco/  $\text{cm}^{-3}$  suelo húmedo)

$\rho_{\text{esp}}$  = Densidad específica del suelo

La densidad específica es una relación de la masa de suelo seco entre el volumen del suelo real (sin agua y aire). Tiene un intervalo de 2.5-2.7g  $\text{cm}^{-3}$  para suelos, para sustancias orgánicas igual a 1.3-1.5 g  $\text{cm}^{-3}$  y para arcilla es 2.2-2.9 g  $\text{cm}^{-3}$  (Schachtschabel y Scheffer 1998), para los suelos muestreado se considero una densidad específica de 1.8 g  $\text{cm}^{-3}$  (ASTM, 1997).

## 2.11. Capacidad de campo

En una columna de acrílico (3.5 cm de diámetro y 7 cm de alto) se compactó el suelo con la misma energía de compactación usada en la determinación de densidad aparente, al inicio y final de la columna de suelo compactado se colocó papel filtro seguido de una piedra porosa; la columna ya preparada se colocó en baño de agua a temperatura ambiente hasta que alcanzará su saturación, una vez saturada se retiraron las piedras porosas y se pesó el suelo ( $S_{\text{sat}}$ ), posteriormente se puso la columna a escurrir y se pesó nuevamente sin las piedras porosas ( $S_{\text{esc}}$ ). Con la siguiente ecuación se determinó la capacidad de campo para cada uno de los suelo (ASTM, 1997).

$$WHC = \eta * \frac{S_{sat} - S_{esc}}{S_{sat}} \times 100 \quad \text{Ecuación 13}$$

Donde

WHC= Capacidad de campo

S<sub>sat</sub>= Suelo saturado (g)

S<sub>esc</sub>= Suelo escurrido (g)

η= Porosidad

## 2.12. Nitrógeno disponible

También se realizó la determinación de la cantidad de nitrógeno disponible en cada muestra de suelo. El procedimiento, se basó en la extracción de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de las muestras de suelo (Wehrmann y Scharpf, 1979). Para cada muestra, los suelos se agitaron en un tubo de ensaye 5 g de suelo fresco con 50 mL de una solución de KCl 2N durante una hora en un rotor (Cole Parmer, model 7637), después se filtró y se obtuvo extracto del suelo. Del extracto se tomó una alícuota de 10 mL a la que se le adicionó 1 g de dealeación de devarda (reductor del nitrato a amoniaco). La mezcla se destiló, y por medio del arrastre de vapor el nitrógeno contenido en el extracto se capturó en una trampa que contenía ácido bórico 0.46 M y rojo de metilo como indicador. Esta solución fue titulada con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.005 M y el volumen de ácido utilizado sirvió para determinar la cantidad de nitrato presente en el suelo, por medio de la siguiente ecuación:

$$NO_3^{-1} = (M - B)(N)(14) \left( \frac{V_i}{a} \right) \left( \frac{1}{p} \right) (1000) \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde

M = Volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastado para la muestra (mL)

B = Volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastado para el blanco (mL)

N= Normalidad del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

$V_i$ = Volumen del KCl (mL)

$a$ = Alícuota de extracto (mL)

$p$ = peso de la muestra de suelo (g)

Para la determinación de nitrógeno amoniacal el procedimiento fue similar al realizado para nitratos, sólo que en vez de aleación de devarda se adiciona 1 g de MgO y se utiliza verde de bromocresol como indicador. Este procedimiento se validó realizando la determinación de nitrato y amonio en soluciones patrón.

### Anexo 3. Hojas de entrada para el modelo Victor 0.1

Hoja de entrada para encontrar el coeficiente de dispersión de atrazina en el suelo procedente de Cárdenas Tabasco.

```
% Rutina para solucionar la ecuación
% de Advección-dispersión- con o sin reacción 1D,
% y pulso constante (Atrazina)

v=.03 % [cm/min] velocidad de poro
D=1.9% [cm^2/min]propuesto
K=0.0038 % [ml/mg]con reacción
C0=20.23 %[mg/l]
tp=10 %[min]tiempo del pulso
t=12.77%[min]tiempo salida de la muestra
%x=(0:.05:3)'
x=11.0 %[cm]Longitud de la columna

raiz1=(v^2+4*D*K)^.5
raiz2=(4*D*t)^.5
raiz3=(4*D*(t-tp))^.5
p1=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-t*raiz1)/raiz2)
p2=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+t*raiz1)/raiz2)
%p3=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%p4=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%c=C0*(p1+p2-p3-p4)/2 %[mg/l]fuera del pulso
c=C0*(p1+p2)/2 %[mg/l]dentro del pulso
%A=[x,c];
%save a:pldat A -ascii
%plot(x,c,'y-')
```

Hoja de entrada para encontrar el coeficiente de dispersión de atrazina en el suelo procedente de Módulo I-2 procedentes de Guasave Sinaloa.

```
% Rutina para solucionar la ecuación
% de Advección-dispersión- con o sin reacción 1D,
% y pulso constante (Atrazina)

v=.0186 % [cm/min] velocidad de poro
D=6% [cm^2/min]propuesto
K=0.00217 % [ml/mg]con reacción
C0=20.23 %[mg/l]
tp=10 %[min]tiempo del pulso
t=21.50%[min]tiempo salida de la muestra
%x=(0:.05:3)'
x=11.0 %[cm]Longitud de la columna

raiz1=(v^2+4*D*K)^.5
raiz2=(4*D*t)^.5
raiz3=(4*D*(t-tp))^.5
p1=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-t*raiz1)/raiz2)
p2=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+t*raiz1)/raiz2)
%p3=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%p4=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%c=C0*(p1+p2-p3-p4)/2 %[mg/l]fuera del pulso
c=C0*(p1+p2)/2 %[mg/l]dentro del pulso
%A=[x,c];
%save a:pldat A -ascii
%plot(x,c,'y-')
```

Hoja de entrada para encontrar el coeficiente de dispersión de atrazina en el suelo procedente de Módulo II-2 procedentes de Guasave Sinaloa.

```
% Rutina para solucionar la ecuación
% de Advección-dispersión- con o sin reacción 1D,
% y pulso constante (Atrazina)

v=.0384 % [cm/min] velocidad de poro
D=2.8% [cm^2/min]propuesto
K=0.00113 % [ml/mg]con reacción
C0=20.23 %[mg/l]
tp=10 %[min]tiempo del pulso
t=17.22%[min]tiempo salida de la muestra
%x=(0:.05:3)'
x=11.0 %[cm]Longitud de la columna

raiz1=(v^2+4*D*K)^.5
raiz2=(4*D*t)^.5
raiz3=(4*D*(t-tp))^.5
p1=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-t*raiz1)/raiz2)
p2=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+t*raiz1)/raiz2)
%p3=exp((x/(2*D))*(v-raiz1)).*erfc((x-(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%p4=exp((x/(2*D))*(v+raiz1)).*erfc((x+(t-tp)*raiz1)/raiz3)
%c=C0*(p1+p2-p3-p4)/2 %[mg/l]fuera del pulso
c=C0*(p1+p2)/2 %[mg/l]dentro del pulso
%A=[x,c];
%save a:pldat A -ascii
%plot(x,c,'y-')
```

#### **Anexo 4. Análisis de sensibilidad del modelo Victor 0.1**

El análisis de sensibilidad consistió en mover los parámetros seleccionados uno a uno (todos los demás permanecieron constantes, con su valor normal) y observando la influencia de los cambios sobre las predicciones del modelo (Hamby, 1994).

La sensibilidad del modelo a cambios en los parámetros de entrada fue cuantificada numéricamente por el máximo cociente de variación de las salidas y entradas del modelo. Los valores absolutos de los cocientes fueron tomados para propósitos de comparación y el índice del máximo cociente absoluto de variación, MAROV (por sus siglas en ingles), para cada parámetro fue determinado por:

$$MAROV = \text{Max} \left| \frac{(O - O_{BC})}{(I - I_{BC})} * \frac{(I_{BC})}{(O_{BC})} \right|$$

Donde

O=Valor de salida correspondiente al parámetro modificado

O<sub>BC</sub>=Valor de salida del modelo (correspondiente al parámetro experimental o de la literatura)

I =Valor de entrada con el cual se quiere medir la sensibilidad

I<sub>BC</sub> Valor de entrada original (parámetro experimental o de la literatura)

Para un parámetro cuanto mayor es el índice MAROV, mayor es la influencia de ese parámetro sobre la salida del modelo. Cuando el índice es igual a la unidad, significa que una variación en la entrada del modelo resultará en la misma variación a la salida del modelo.

Se evaluaron los parámetros de entrada velocidad de poro, constante de adsorción y coeficiente de dispersión; y como parámetro de salida la concentración de atrazina que infiltra a través del tiempo. Obteniendo los siguientes resultados

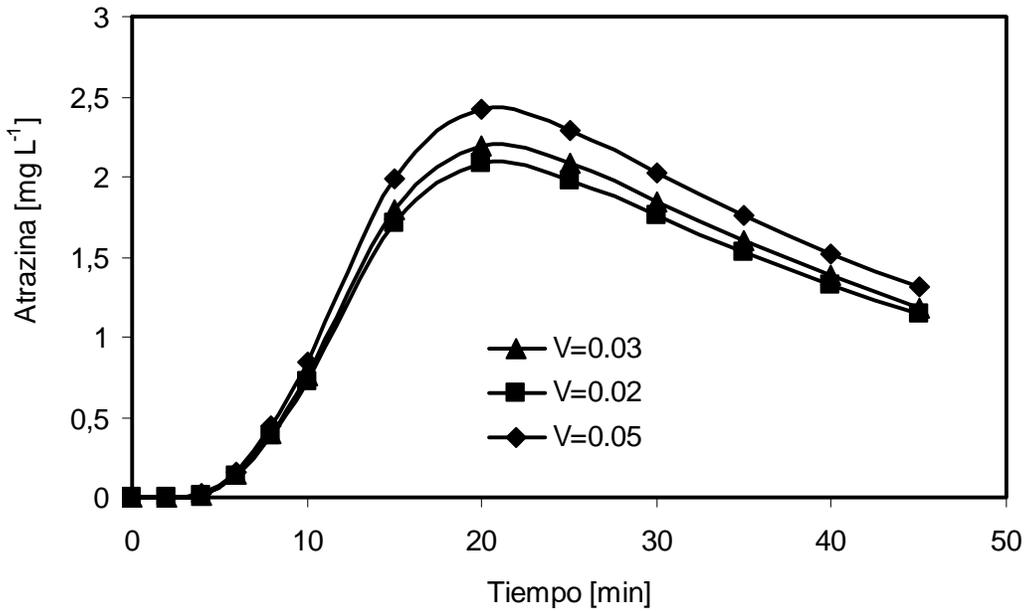


Figura 4. Simulación del transporte de atrazina variando la velocidad de poro

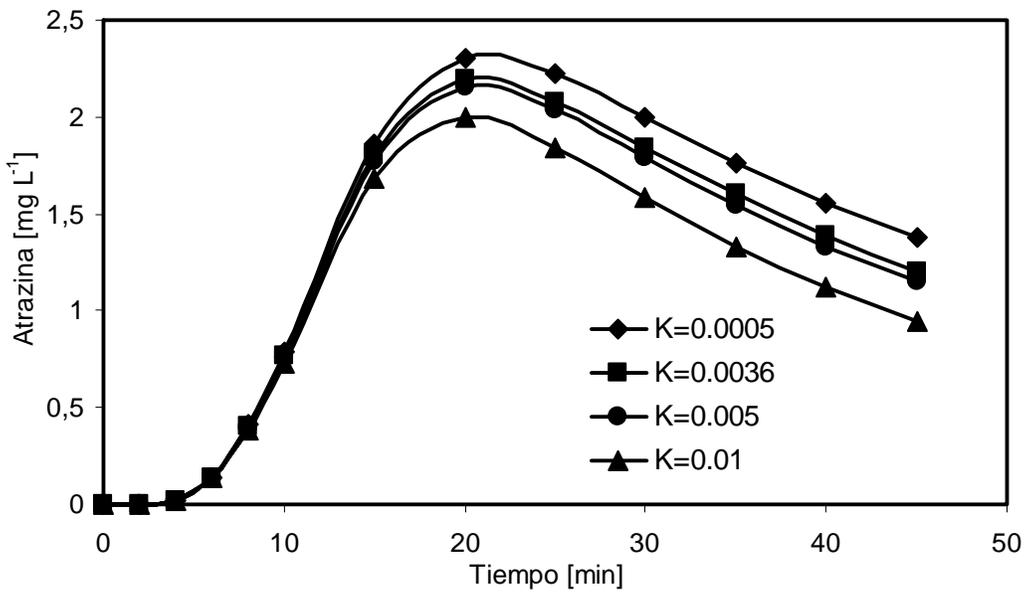
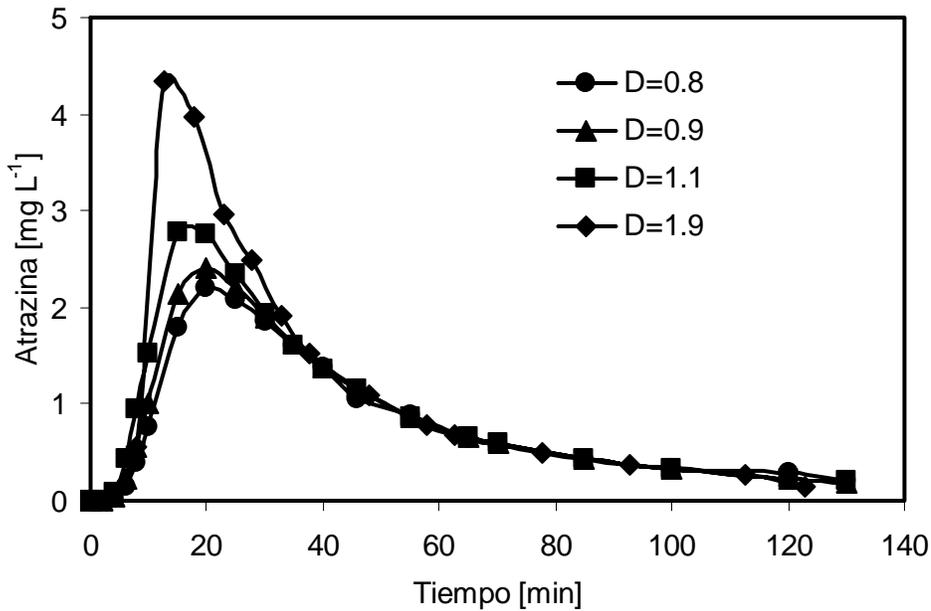


Figura 5. Simulación del transporte de atrazina variando la constante de adsorción



**Figura 6.** Simulación del transporte de atrazina variando la el coeficiente de dispersión

Con los resultados obtenidos y aplicando la ecuación de para determinar el índice de MAROV respecto a la concentración de atrazina ( $\mu\text{g/L}$ ) que migra a través de la columna se obtuvieron los siguientes valores.

**Tabla 4.1** Valores del índice de MAROV

Parámetro	Unidades	Nivel de influencia	MAROV
Dispersión	$\text{cm}^2 \text{d}^{-1}$	1	0.29
Adsorción	$\text{L Kg}^{-1}$	2	0.074
Velocidad de poro	$\text{cm min}^{-1}$	3	0.047

En la tabla anterior se observa que el parámetro con mayor influencia es la dispersión sobre la adsorción y velocidad de poro.