

Degradación de plaguicidas altamente peligrosos mediante biocamas en pequeñas fincas de Zarcero, Alajuela

Degradation of highly hazardous pesticides using biobeds on small farms in Zarcero, Alajuela



E & T

Environment & Technology | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024: 83-108

URL: <https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/>

DOI: <https://doi.org/10.56205/ret.5-1.5>

Recibido: 10/04/2024

Revisado: 26/06/2024

Aprobado: 10/09/2024

Mary Paz Jiménez Domínguez

Instituto del Café de Costa Rica

Lic.

Ingeniera en Gestión Ambiental

marypazj15@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-2679-2304>

Costa Rica

Clemens Ruepert

Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas

Universidad Nacional, Costa Rica

M.Sc.

Químico Ambiental

clemens.ruepert@una.cr

<https://orcid.org/0000-0001-5109-2222>

Costa Rica

Martha Orozco Aceves

Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas

Universidad Nacional, Costa Rica

Ph.D.

Química Bacterióloga Parasitóloga

martha.orozco.aceves@una.cr

<https://orcid.org/0000-0001-6223-912X>

Costa Rica

Resumen

Los sitios de manipulación de plaguicidas en las fincas se consideran fuentes puntuales de contaminación, donde se liberan al ambiente plaguicidas altamente peligrosos o PAPs. Para contrarrestar lo anterior se ha desarrollado la biocama, que es un dispositivo para retener y degradar residuos de plaguicidas líquidos mediante la acción microbiana de la biomezcla. Sin embargo, en Latinoamérica se cuenta con escasa información sobre su eficiencia en condiciones reales de uso en fincas. El objetivo de esta investigación fue evaluar la degradación de PAPs en biocamas ubicadas en tres fincas del cantón Zarcero, provincia de Alajuela. Se tomaron muestras de las biomezclas, a 15 y 30 cm de profundidad durante tres meses consecutivos, las cuales se analizaron mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida. Los plaguicidas detectados se analizaron integral e individualmente comparando las concentraciones en ambas profundidades. Se consideró indicio de degradación de un plaguicida cuando su concentración fue menor a 30 cm en comparación con 15 cm; o se detectó a 15 cm, pero estuvo ausente a 30 cm. Los resultados confirmaron la eficiencia de la biocama para degradar PAPs de uso no intensivo como linuron, carbendazim y cipermetrina. Se debe continuar investigando la degradación de PAPs de uso intensivo como fue clorotalonil en el pasado reciente, ya que es posible que la tasa de vertido supere la tasa de degradación, lo que erróneamente puede interpretarse como mal funcionamiento de la biocama. Lo anterior lleva a replantear el modelo de biocama promovido en la zona de Zarcero para optimizar la degradación de plaguicidas.

Palabras clave: biomezcla; buenas prácticas agrícolas; clorotalonil; contaminación puntual; degradación enzimática.


Abstract

Pesticide handling sites on farms are considered point sources of contamination, where highly hazardous pesticides or HHPs are released into the environment. To counteract this, the biobed has been developed, which is a device to retain and degrade liquid pesticide residues through microbial action of biomixture. However, in Latin America there is little information on the biobed efficiency under real conditions of use in farms. The objective of this research was to evaluate the degradation of HHPs in biobeds located in three farms in the Zarcero canton, Alajuela province. For this, samples of the biomixtures were taken at 15 and 30 cm depth for three consecutive months, these were analyzed by gas and liquid chromatography. The pesticides detected were analyzed integrally and individually, comparing the concentrations at both depths. An indication of pesticide degradation was considered when its concentration was lower at 30 cm as compared with 15 cm; or was detected at 15 cm, but was absent at 30 cm. The results confirmed the efficiency of the biobed to degrade non-intensive HHPs such as linuron, carbendazim and cypermethrin. Further research should be carried out on the degradation of intensively used HHPs such as chlorothalonil in the recent past, since the discharge rate may exceed the degradation rate, which may be mistakenly interpreted as a malfunction of the biobed. This leads to rethinking the biobed model promoted in the Zarcero area to optimize pesticide degradation.

Key word: best agricultural practices; biomixture; chlorothalonil; enzymatic degradation; point source of contamination.

Introducción


Las áreas de manipulación de plaguicidas en las fincas se consideran fuentes puntuales de contaminación (Rojas, 2016), ya que en estas zonas pueden ocurrir derrames accidentales o no accidentales, liberándose plaguicidas al ambiente que no forman parte de las aplicaciones con fines fitosanitarios (Córdova, Góngora, Giácoman-Vallejos, Quintal-Franco y Ponce-Caballero, 2017; Diez, et al., 2013). Dos actividades críticas en la manipulación de plaguicidas que se realizan en las fuentes puntuales de contaminación son: i. la medición, trasvase y vertido de plaguicidas concentrados en los equipos de aspersión y sus diluciones, y ii. el manejo de los residuos de plaguicidas tanto en los equipos de aplicación como en envases vacíos (Castillo, Torstensson & Stenström, 2008). Estas actividades requieren especial cuidado y control para evitar liberar contaminantes, ya que, derrames de pequeñas cantidades de plaguicidas concentrados (por ejemplo, durante la operación de medición o trasvase) poseen cantidades de ingrediente activo (i.a.) que pueden llegar a ser hasta de un gramo, lo que en el tiempo implica la liberación de cantidades considerables de plaguicidas. Por esta razón, las fuentes puntuales de contaminación se consideran de gran impacto ambiental.



Para minimizar la liberación de plaguicidas al ambiente a través en las fuentes puntuales de contaminación en fincas agrícolas, se ha propuesto la instalación y uso de la biocama, la cual fue creada como sistema de contención de derrames accidentales o no accidentales de dichas sustancias (Castillo, Delgado-Moreno, Núñez, Nogales y Romero, 2016; Hidalgo, Calvo y Loría, 2015). Esto es porque los plaguicidas concentrados se manipulan sobre la superficie de la biocama. Asimismo, el llenado de equipos se realiza sobre la biocama, la cual recibe cualquier líquido derramado. Por otro lado, en la biocama es posible desechar residuos de mezclas de plaguicidas o aguas de lavado de equipos. Los plaguicidas depositados en la biocama son retenidos y degradados microbiológicamente (Castillo, et al., 2008; Córdova, et al., 2017). Esta tecnología se enmarca en las buenas prácticas agrícolas, y su uso resulta crítico en toda finca que haga uso de plaguicidas. La tecnología posee la ventaja de adaptarse a las necesidades de la finca de acuerdo con su tamaño, tipo de producción agrícola, régimen de uso de plaguicidas, condiciones climáticas y disponibilidad de recursos (Guerra, 2020).

Para asegurar la degradación de plaguicidas mediante la acción microbiana, la biocama debe construirse con materiales ricos en carbono que posean y promuevan una cantidad y diversidad alta de microorganismos, que mediante acción enzimática puedan oxidar e hidrolizar los plaguicidas (Castellanos, 2012; Góngora-Echeverría, Quintal-Franco, Arena-Ortiz, Giácoman-Vallejos, Ponce-Caballero, 2018). Para lograr lo anterior, aproximadamente la mitad del material de una biocama es la llamada biomezcla, que se prepara mezclando partes iguales de abono orgánico y residuos vegetales frescos (Chavarría, 2015; Chin-Pampillo, 2025; Castillo, et al., 2016). Además de la biomezcla, en la biocama se colocan otros materiales como suelo, carbón, arena y piedra (Castillo, et al., 2016), los cuales tienen la función de degradar, adsorber e inmovilizar plaguicidas. El proceso de degradación enzimática se puede detectar pocas semanas después de haber realizado el vertido de plaguicidas en la biocama y hasta 12 meses después, pero esto dependerá de las condiciones climáticas, materiales utilizados en la fabricación de biomezcla y los i.a. que fueron desechados (Calvo y Molina, 2019).

La biocama se creó en Suecia, pero actualmente existen diferentes diseños en distintos países, los cuales son el resultado de la adaptación de la tecnología a las condiciones de cada



lugar y a los materiales disponibles (Castillo, et al., 2008). En Costa Rica, se han realizado diversos esfuerzos para validar la eficiencia de la biocama, pero la mayoría de estos han consistido en ensayos experimentales en condiciones semicontroladas (Chavarría, 2015; Madrigal, 2015; Jiménez, 2018), existiendo poca validación en condiciones de uso real en finca. Uno de los cantones en los cuales se ha promovido la construcción y uso de la biocama es Zarcero, Alajuela, el cual se caracteriza por su actividad hortícola, además de la producción lechera y derivados (INEC, 2015; Municipalidad de Zarcero, 2016). Desde 2014, el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) se ha dado a la tarea de instalar biocamas en las fincas hortícolas; sin embargo, no se ha realizado un estudio formal para monitorear su eficiencia y realizar ajustes para optimizar su funcionamiento en caso de ser necesario.

La evaluación de la eficiencia de las biocamas instaladas en Zarcero es de suma importancia dado que es una de las zonas hortícolas del país con alto uso de plaguicidas, algunos de los cuales están clasificados como altamente peligrosos (PAPs) (PAN, 2021); por ejemplo, aquéllos a base de clorotalonil, clorpirifos, mancozeb y cipermetrina. Además, se han identificado prácticas inadecuadas de manejo de estos i.a. y de disposición de sus residuos, provocando una alta carga ambiental de contaminantes en los ecosistemas (Weiss, Ruepert, Echeverría-Sáenz, Eggen, & Stamm, 2023; del Puerto, Suárez y Palacio, 2014; IRET, 2018; Ramírez, 2015; Vargas, 2021). Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la degradación de PAPs en biocamas ubicadas en tres fincas del cantón Zarcero, provincia de Alajuela.

Metodología

Selección de las fincas

El proyecto fue desarrollado en tres fincas del cantón Zarcero, dos en el distrito de Laguna y una en Tapezco. En las fincas hortícolas seleccionadas se cultiva una serie de hortalizas como zanahoria (*Daucus carota*), papa (*Solanum tuberosum*), culantro (*Coriandrum sativum*), lechuga (*Lactuca sativa*) y cebolla (*Allium cepa*). El área total de las fincas varió desde 0,5 a 1,0 ha de superficie, y en las tres se hace uso de plaguicidas como parte de un manejo integrado de plagas, es decir, que incorporan métodos alternativos a

plaguicidas; por ejemplo, agentes de control biológico, feromonas, extractos botánicos y otros, pero se utilizan plaguicidas regularmente. Detalles de las tres fincas se indican a continuación (**Tabla 1**).

Tabla 1.

Características de las fincas hortícolas en estudio.

Característica	Finca A	Finca B	Finca C
Ubicación	Laguna	Laguna	Tapezco
Superficie	0,5 ha	1 ha	0,5 ha
Cultivos sembrados	Zanahoria, culantro, cebolla y papa	Papa y zanahoria	Cebolla, lechuga, zanahoria, culantro y papa
Uso de plaguicidas	Una vez a la semana y en algunos casos dos cuando el tiempo no es favorable	Cada 5-7 días dependiendo del tiempo	Una vez por semana en verano y dos veces por semana en invierno
Algunos plaguicidas de uso frecuente	Mancozeb con cobre y propineb	Clorotalonil, cipermetrina y mancozeb	Clorotalonil, clorpirifos, linuron
Preparación de mezclas de plaguicidas	En un tonel, agitando con un palo o directamente en el equipo de aspersión	En un tonel, agitando con un palo o directamente en el equipo de aspersión	En un tonel, agitando con un palo o directamente en el equipo de aspersión
Disposición de residuos de mezclas y aguas de lavado de equipos	En suelo o pasto cercano	En suelo o se reaplica a los cultivos	En suelo cerca de cultivos
Contención de derrames de producto concentrado	No se realiza ninguna práctica de contención	No se realiza ninguna práctica de contención	No se realiza ninguna práctica de contención

Fuente: elaboración propia.

Construcción de biocamas

La instalación de las biocamas en las tres fincas se realizó de la siguiente manera:

A. Selección del sitio de instalación: se definió en conjunto con los agricultores, el lugar para colocar la biocama, de tal manera que la logística para su uso fuera lo más sencilla posible. Idealmente, las biocamas se construyeron bajo techo, cerca del lugar donde se realiza la preparación de las mezclas de plaguicidas, que es generalmente un sitio con disponibilidad de agua.

B. Construcción: las biocamas se construyeron en toneles plásticos de 200 L. Los materiales utilizados y su colocación dentro de los toneles se realizó de acuerdo con lo indicado por Jiménez (2018) de la siguiente manera: al fondo del tonel se colocó una capa de 15 cm de espesor de una mezcla de partes iguales de arena y piedra, seguida de una capa de carbón de madera de 5 cm de altura. Posteriormente, se colocaron unos 32 kg de suelo de la misma finca, (lo que equivale a un saco aproximadamente), seguido de la biomezcla, que consistió en una mezcla en partes iguales de abono orgánico y residuos vegetales frescos picados. En términos prácticos, se mezcló el contenido de un saco de abono orgánico y el mismo volumen de residuos vegetales. El abono orgánico utilizado tenía la siguiente composición de acuerdo con la etiqueta del fabricante: nitrógeno (0,20-1,30 %), fósforo (0,80-2,50 %), potasio (0,60-1,70 %), magnesio (0,20-1,20 %), calcio (2-9 %), zinc (100-350 ppm), cobre (40-120 ppm), hierro (650-750 ppm), manganeso (450-900 ppm) y materia orgánica (32,30 %). Finalmente, se colocó una capa de granza o cabecilla de arroz de aproximadamente 10 cm de grosor. Antes de comenzar a usarse, las biocamas se taparon y dejaron reposar o madurar por un periodo de 22 días para permitir el establecimiento de las poblaciones microbianas.

C. Utilización y seguimiento: pasado el periodo de maduración, se inició el uso de la biocama para desechar residuos de plaguicidas. Se realizaron visitas mensuales a las fincas para revisar las biocamas y verificar que se encontraban funcionando adecuadamente.


Muestreo

Los muestreos de biomezcla para cuantificar residuos de plaguicidas se realizaron a dos profundidades: 15 y 30 cm, y de forma mensual por tres meses consecutivos para cada biocama. En total se recolectaron 18 muestras de biomezcla (3 biocamas \times 3 meses \times 2 profundidades). Las muestras fueron compuestas, es decir, se tomaron 10 submuestras a la misma profundidad con la ayuda de un barreno para homogenizarlas posteriormente, utilizando guantes de nitrilo (Mendoza y Espinoza, 2017). Las muestras compuestas se colocaron en papel aluminio calcinado y en una bolsa con cierre hermético claramente identificada; luego, fueron transportadas en una hielera, con el fin de evitar la pérdida de humedad. Posteriormente, las muestras se almacenaron en congelación hasta su análisis químico.

Cuantificación de residuos de plaguicidas

La extracción de los plaguicidas en las muestras de biomezcla se realizó en el Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas (LAREP) del IRET-UNA, mediante una extracción con acetato de etilo y baño ultrasónico, basado parcialmente en la metodología de Sánchez-Brunete, Alberro, Tadeo (2004) y NMKL (2013). Para esto, se colocaron 5 g de la muestra de biomezcla previamente homogeneizada en tubos plásticos de centrifuga Falcon de 50 mL. Seguidamente, se agregó un estándar interno (clorpirifos D10) y 10 mL de acetato de etilo (grado para residuos de plaguicidas). Los tubos se introdujeron en un baño ultrasónico por 10 minutos, posteriormente, se agregaron a cada tubo 5 g de sulfato de sodio para ultrasonicarlos por 10 minutos más y, finalmente, fueron centrifugados durante 10 min a 3 000 rpm. Se tomaron 5 mL de sobrenadante con pipeta Pasteur para transferirlos a tubos de 10 mL previamente pesados en balanza analítica. Se hicieron diluciones de los extractos con acetato de etilo y metanol. Con cada tanda de muestras se incluyó un blanco muestra que contenía disolvente, estándar interno y sulfato de sodio.

Los extractos fueron inyectados junto con los respectivos patrones en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS: Agilent, 7890A-5975C) y en un cromatógrafo líquido con detector de masas-masas (LC-MSMS: Waters, Acquity UPLC H-



Class con Xevo TQ-S micro). En los análisis, se incluyó una amplia lista de plaguicidas, que comprendieron alrededor de 120 i.a.

Análisis de resultados

El análisis de los datos de residuos de plaguicidas en las muestras de biomezcla se basó en un promedio de sus duplicados (extraídos e inyectados separadamente). Con los resultados obtenidos de la cuantificación de residuos de todos los plaguicidas detectados (en las dos profundidades de muestreo) se realizó por biocama un Análisis de Coordenadas Principales (PCO por sus siglas en inglés) (Anderson, 2001). Para realizar el PCO, se construyeron matrices de semejanza en las cuales se incluyó una variable dummy = 1 (lo cual es recomendable cuando existen valores = 0 para algunos plaguicidas que no se detectaron en todas las muestras) y se utilizó la distancia euclidiana.

El PCO brindó información integral de lo sucedido con el conjunto de plaguicidas encontrados a las dos profundidades de muestreo y dio la pauta para ahondar en el comportamiento de plaguicidas individuales, especialmente los PAPs. Para analizar con mayor detalle lo sucedido con plaguicidas individuales, a los PCO se les incluyeron burbujas bidimensionales para visualizar las concentraciones de plaguicidas específicos. A mayor tamaño de la burbuja, mayor fue la concentración del plaguicida. Todos los análisis anteriores se realizaron mediante el programa estadístico PRIMER v6 (PRIMER-E Ltd.).

Determinación de la eficiencia de las biocamas en la degradación de plaguicidas

Para cada biocama se realizaron comparaciones de los plaguicidas encontrados en biomezcla tomada a 30 cm con respecto a los encontrados a los 15 cm de profundidad. En una situación ideal esperada, las concentraciones de plaguicidas deberían ser siempre menores a la profundidad de 30 cm en comparación con las encontradas a la profundidad de 15 cm si se presenta degradación de los diferentes i.a. Sin embargo, esta situación ideal no se observó en muchos casos, por lo que se plantearon los siguientes criterios para considerar o no la degradación de un plaguicida.

a) Posible degradación: cuando la concentración de un plaguicida a 30 cm fue menor con respecto a la encontrada a 15 cm de profundidad.

b) Posible degradación: cuando el plaguicida fue detectado a 15 cm de profundidad y no a 30 cm de profundidad.

c) Posible ausencia de degradación: cuando la concentración a 30 cm fue igual o mayor a la detectada a 15 cm.

Resultados y discusión

Biocama finca A

Un 50% de los plaguicidas cuantificados eran fungicidas (carbendazim, clorotalonil, flutolanil, metalaxil, tebuconazol y trifloxistrobina), 42% insecticidas (cipermetrina, clorpirifos, dimetoato, imidacloprid y malation) y 8% herbicidas (linuron) (**Tabla 2**). El análisis integral de los plaguicidas cuantificados en la biocama A (PCO) indicó diferencias considerables en los tipos y concentraciones de plaguicidas detectados en las dos profundidades únicamente durante el primer muestreo (mayor separación de los puntos en el plano multidimensional; **Figura 1**). Mientras que, durante el segundo y tercer muestreo, el análisis indicó mayor similitud al comparar las dos profundidades (menor separación entre los puntos en el plano multidimensional; **Figura 1**).

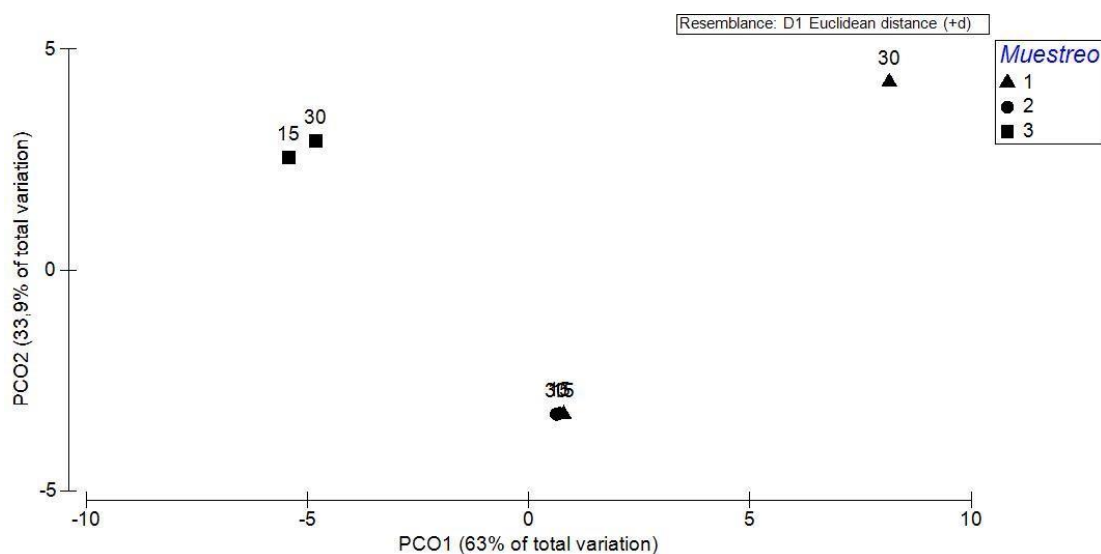


Figura 1. Análisis de Coordenadas Principales de los plaguicidas detectados en la biomezcla de la biocama A a 15 y 30 cm de profundidad en tres muestreos mensuales consecutivos. Fuente: Elaboración propia.

La revisión del detalle de las concentraciones de plaguicidas individuales en las dos profundidades de muestreo evidenció la posible degradación de flutolanil y linuron (en el primer y tercer muestreo), ya que estos i.a. se detectaron a 15 cm, pero no a 30 cm de profundidad (**Tabla 2**). A manera de ejemplo, se presenta el comportamiento del linuron mediante la superposición de burbujas bidimensionales en el PCO (**Figura 2**), que indican concentraciones menores a mayor profundidad, excepto en el segundo muestreo.

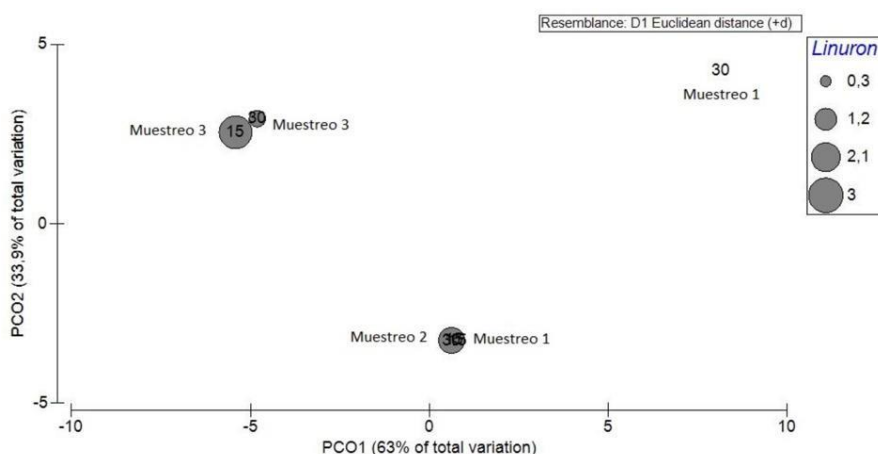



Figura 2. Concentración de linuron ($\mu\text{g/g}$ biomezcla) cuantificado en la biocama A a 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de linuron detectada. Fuente: Elaboración propia.


El linuron es un herbicida altamente tóxico, se considera PAP debido a que se sabe o se supone tóxico para la reproducción humana, según el Sistema Globalmente Armonizado (SGA) de la Unión Europea (UE) o Japón (PAN, 2021). Por otro lado, es estable en medios neutros, poco móvil en suelo, donde se acumula fácilmente, y moderadamente persistente en el suelo con una vida media de entre 22 y 150 días, y un valor promedio de 60 días (IRET, 2019). Es importante indicar que los herbicidas se utilizan de forma puntual en el ciclo de cultivo de las hortalizas, es decir, su uso no es intensivo. El vertido de este tipo de plaguicidas en la biocama se realiza de manera esporádica, brindando las condiciones necesarias de tiempo, humedad y temperatura para favorecer la degradación por acción microbiana en la biomezcla (Chin-Pampillo, Ruiz-Hidalgo, Masís-Mora, Carazo-Rojas, Rodríguez-Rodríguez, 2015; Días, Gebler, Niemeyer, Itako, 2020).



Otros plaguicidas cuyas concentraciones fueron menores a una profundidad de 30 cm, lo cual se consideró indicio de degradación, fueron carbendazim, metalaxil y malatión (**Tabla 2**). Todos los anteriores han sido reportados como susceptibles de degradarse mediante acción microbiana (Derbalah, El-Banna, Saad, 2020; Zhou, Guo, Wang, Wang, Zhang, 2023). De los anteriores, carbendazim y malatión se encuentran dentro de la lista de PAPs; el primero por ser una sustancia clasificada como sospecha de ser tóxica para la reproducción humana, además de que se conoce que induce mutaciones hereditarias en las células germinales de los seres humanos, lo anterior de acuerdo con el SGA de la UE o Japón. El malatión ha sido señalado por la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) como probable carcinógeno, además de ser altamente tóxico para abejas, según la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) (PAN, 2021).

Los plaguicidas clorotalonil (fungicida) y clorpirifos (insecticida) presentaron concentraciones bajas a una profundidad de 30 cm, sugiriendo su degradación (**Tabla 2**). Sin embargo, durante el primer muestreo, las concentraciones de ambos plaguicidas fueron mayores a la profundidad de 30 cm, lo cual inicialmente sugirió la no degradación. Más aún, los datos evidenciaban una posible acumulación de estos plaguicidas a mayor profundidad de la biomezcla, lo cual es especialmente importante en el caso del clorotalonil, que ha sido el fungicida de uso intensivo en horticultura (Ramírez, et al., 2017) hasta noviembre de 2023, año en que se decretó su prohibición (Decreto N° 44280-S-MAG-MINAE, 2023).

Diversas investigaciones informan una degradación eficiente de clorotalonil y clorpirifos por acción microbiana (Betancourt-Portela, Bautista-Duarte, Narváez-Flores, Parra-Lozano, 2018; Xi-Hui, et al., 2018; Arya, Binitha, Unnikrishnan, 2022; Escudero-Leyva, et al., 2022). Incluso, en una investigación realizada en una biocama similar a las usadas en el presente ensayo, se halló degradación de aproximadamente el 50% de clorotalonil en un periodo de 12 días (Jiménez, 2018). Este es un tiempo corto si se considera que la vida media del clorotalonil es de entre uno y dos meses y hasta un año (Stamatiu, 2013). No obstante, es probable que la degradación de clorotalonil en la biocama esté produciendo metabolitos, que son más persistentes y solubles, como fue reportado en estudios recientes en suelo y aguas subterráneas (Hintze, Hannalla, Guinchard, Hunkeler, Glauser, 2021; Zhang,



Liu, Saleem, Wang, 2019). La cuantificación de metabolitos en la biomezcla es un aspecto importante de considerar en futuras investigaciones sobre degradación de plaguicidas en la biocama.

Clorotalonil y clorpirifos son de relevancia ya que forman parte de la lista de PAPs, en el primer caso por ser señalado por la EPA como probable/posible carcinogénico (incluyendo posiblemente carcinogénico para seres humanos) en dosis altas, y por su alta toxicidad aguda. El clorpirifos se sabe o se sospecha que es tóxico para la reproducción humana y es altamente tóxico para abejas (PAN, 2021).

Tabla 2.

Plaguicidas detectados en biomezclas de las biocamas A, B y C.

Biocamas	Muestréos	Profundidad (cm)	Concentraciones de plaguicidas detectados ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo de biomezcla)													
			Azoxistrobina	Carbendazim	Clorotalonil	Cipermetrina	Clorpirifós	Flutolanil	Linuron	Malatión	Imidacloprid	Metaxil	Dimetoato	Tebuconazol	Tiametoxam	Trifloxistrobina
A	1	15						0,7	0,43							
		30			9,2	3,7	3,5									
	2	15	0,01					0,08	0,97	0,49	0,01	0,03				
		30						0,14	1,69	0,2	0,05					
	3	15	0,8				0,04	0,43	2,72	1,13	0,18	2,09	0,78	7,8		1,8
		30	0,38	0,02	1,2	0,01	0,11	0,68	0,12		0,67	0,34	8,2			1,1
B	1	15			9,2	3,7	3,5				0,09					
		30			18,1	10,3	8,9				0,16					
	2	15	1	141	25	318					27,1	1				
		30		256	7						12,1					
	3	15		45,5	5,1	2,89										
		30		36,3	1,7	0,78										
C	1	15	5,6												0,42	
		30	3,3												0,24	
	2	15	10,7	0,1	0,25	0,1			11,79						0,8	
		30	1,4						1,56						0,12	
	3	15	3	3,16		0,88			5,54						0,61	
		30	2,9	6,89		7,91			2,8						0,74	

Fuente: Elaboración propia.

Nota: Espacios en blanco indican que no se detectó el plaguicida en cuestión.



Biocama Finca B

De los plaguicidas cuantificados, el 54% eran fungicidas (clorotalonil, metalaxil y carbendazim), 36% insecticidas (cipermetrina, clorpirifos y dimetoato) y 10% herbicidas (linuron). El PCO indicó diferencias considerables en los tipos y concentraciones de plaguicidas detectados a las dos profundidades únicamente durante el segundo muestreo (mayor separación de los puntos en el plano multidimensional; **Figura 3**). Mientras que, durante el primer y tercer muestreo, el análisis global de los residuos de plaguicidas cuantificados indicó mayor similitud al comparar las dos profundidades (menor separación entre los puntos en el plano multidimensional; **Figura 3**).

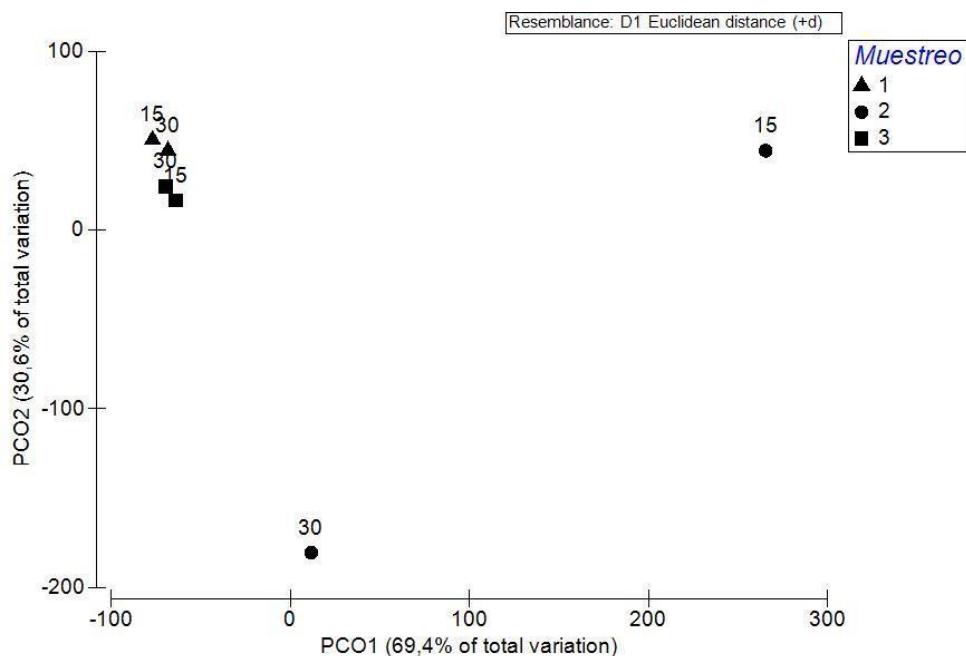


Figura 3. Análisis de coordenadas principales de los plaguicidas detectados en biomezcla de la biocama B a las profundidades de 15 y 30 cm en tres muestreos mensuales consecutivos. Fuente: Elaboración propia.

El análisis de plaguicidas individuales detectados en biomezcla de la biocama B, evidenció diversos comportamientos de las concentraciones cuantificadas a las dos profundidades de muestreo (**Tabla 2**). Un ejemplo importante es el insecticida cipermetrina, debido a que se aplica de manera intensiva en el cantón (Ramírez, et al., 2017). La concentración de cipermetrina fue mayor a 30 cm en el primer muestreo; en el segundo y

tercer muestreo su concentración fue menor a 30 cm, lo que sugirió degradación del i.a. (**Figura 4**).

La cipermetrina se considera PAP debido a su alta toxicidad para las abejas (PAN, 2021). Por otro lado, posee una molécula estable a temperatura ambiente, es inmóvil o ligeramente móvil en suelo arcilloso y su persistencia varía ampliamente de acuerdo con las características del suelo; la vida media es de 10 a 40 días en los suelos aireados y 5 a 15 días en condiciones de mala aireación. Además, su degradación depende de la temperatura y presencia de microorganismos (Bhatt, et al., 2021; IRET, 2019). La evidencia aquí recopilada sugiere que la biomezcla brindó las condiciones necesarias para la degradación de la cipermetrina. La mayor concentración a los 30 cm de profundidad durante el primer muestreo pudo responder a un vertido del insecticida en la biocama en una fecha cercana a la toma de la muestra de biomezcla, antes de que la degradación del i.a. pudiera ser evidente.

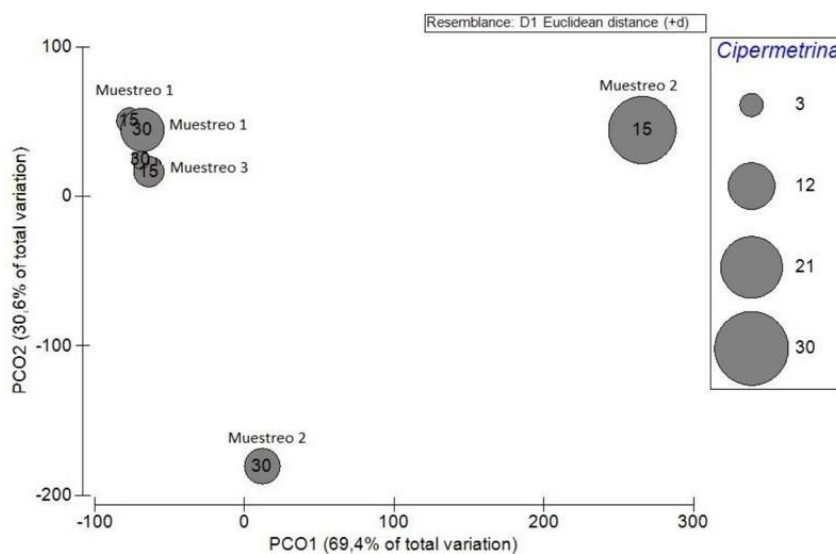


Figura 4. Concentración de cipermetrina ($\mu\text{g/g}$ biomezcla) cuantificada en la biocama B a 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de cipermetrina detectada. Fuente: Elaboración propia.

Otro ejemplo relevante de lo ocurrido en la biocama B, fue el del clorotalonil, cuya concentración fue mayor a 30 cm de profundidad en el primer y segundo muestreo, sugiriendo la no degradación. Incluso, durante el segundo muestreo se cuantificaron concentraciones particularmente altas de este i.a. ($256 \mu\text{g/g}$ biomezcla) a los 30 cm, lo que sugiere que, lejos de degradarse, este plaguicida se estaba acumulando a mayores profundidades de la biomezcla

(Figura 5). No obstante, en el tercer muestreo, la concentración de clorotalonil disminuyó en ambas profundidades (Figura 5), sugiriendo la degradación del i.a.

Es importante seguir investigando la degradación en la biomezcla de plaguicidas de uso intensivo como lo ha sido el clorotalonil, ya que la cantidad depositada en la biocama podría ser alta y frecuente. Lo anterior afectará directamente la capacidad de degradación de la biomezcla, produciendo que el plaguicida se concentre momentáneamente a mayores profundidades, conduciendo a conclusiones incorrectas sobre la no degradación del i.a. Por otro lado, se puede plantear la posibilidad de realizar ajustes al diseño de la biocama utilizada para lograr degradar plaguicidas de uso intensivo; por ejemplo, incrementando la altura de la misma para aumentar la columna de biomezcla.

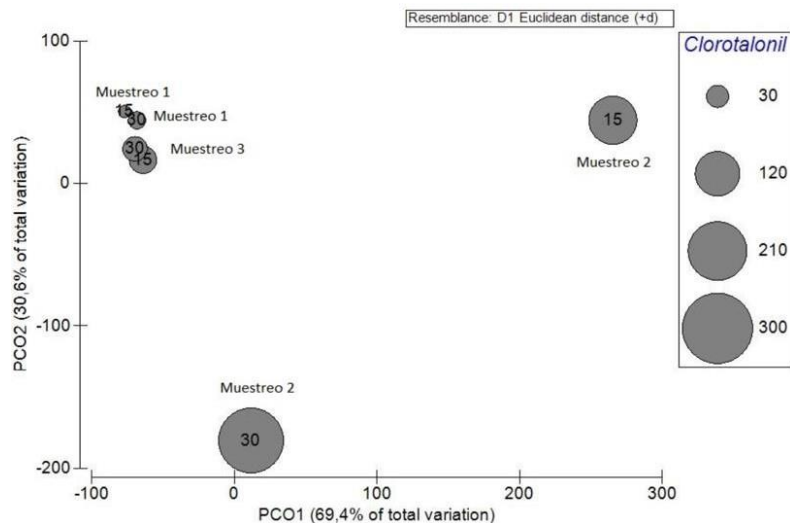


Figura 5. Concentración de clorotalonil ($\mu\text{g/g}$ biomezcla) cuantificado en biomezcla de la biocama B a las profundidades de 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de clorotalonil detectado. Fuente: Elaboración propia.

Biocama C

El 50% de los plaguicidas cuantificados fueron fungicidas (azoxistrobina, clorotalonil), 33% insecticidas (cipermetrina, clorpirifos y tiametoxam) y 17% herbicidas (linuron). El PCO indicó que se presentaron diferencias en el conjunto de plaguicidas detectados en la biomezcla tomada a 15 y 30 cm de profundidad en el segundo y tercer muestreo (mayor separación de los puntos en el plano multidimensional; Figura 6). Esta situación no ocurrió

en el primer muestreo (menor separación de los puntos en el plano multidimensional; **Figura 6**).

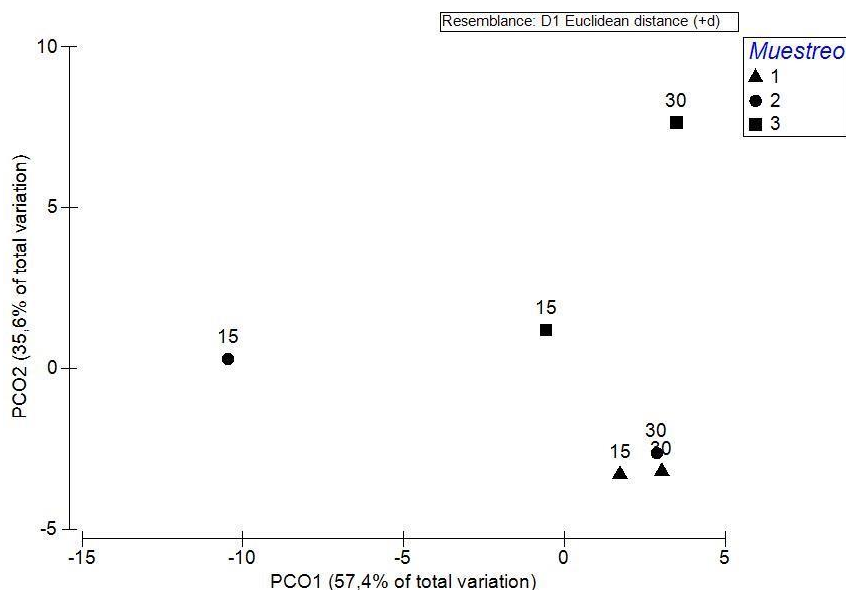


Figura 6. Análisis de coordenadas principales de los plaguicidas detectados en biomezcla de la biocama C a las profundidades de 15 y 30 cm en tres muestreos mensuales consecutivos. Fuente: Elaboración propia.

Al revisar el comportamiento de plaguicidas individuales, se observa que durante el primer muestreo hubo plaguicidas como azoxistrobina y tiametoxam cuyas concentraciones eran cerca del doble a 15 cm con respecto a 30 cm de profundidad en la biomezcla (**Tabla 2**), lo cual se consideró indicio de degradación. De estos dos plaguicidas, únicamente tiametoxam se considera PAP por ser altamente tóxico para abejas (PAN, 2021). Específicamente, para la azoxistrobina (**Figura 7**), la información ambiental es escasa; sin embargo, se sabe que su persistencia en suelo es de extrema a ligera con una movilidad media (Andrades, Herrero, Marín, Sánchez, Rodríguez, 2015). No obstante, el tiempo de residencia del plaguicida en la biomezcla (un mes aproximadamente) pareció ser suficiente para comenzar el proceso de degradación.

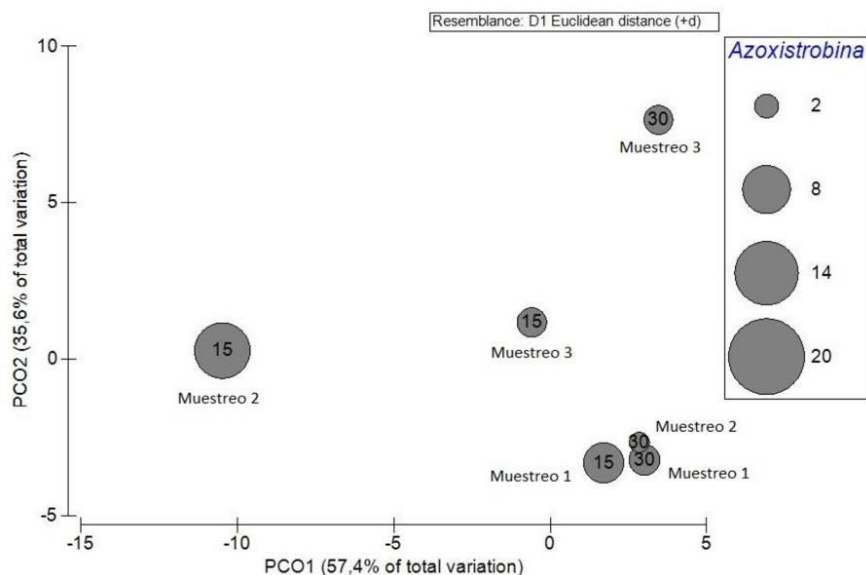


Figura 7. Concentración de azoxistrobina ($\mu\text{g/g}$ biomezcla) cuantificado en biomezcla de la biocama C, a dos profundidades; 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de azoxistrobina detectada. Fuente: Elaboración propia.

En la biocama C las concentraciones de clorotalonil, cipermetrina y clorpirifos fueron variables en ambas profundidades. Durante el tercer muestreo las concentraciones de estos plaguicidas fueron considerablemente mayores a 30 cm de profundidad (**Tabla 2**). En concordancia con lo observado en las biocamas A y B, se hipotetiza que, en el caso de plaguicidas de uso intensivo como el clorotalonil, es probable que su tasa de vertido pueda superar la tasa de degradación o, por otro lado, que posterior al vertido, el i.a. se acumule a mayor profundidad mostrando concentraciones superiores. Sin embargo, con el paso de los días, los microorganismos presentes en la biomezcla comienzan la degradación enzimática, con lo cual disminuyen las concentraciones de los plaguicidas vertidos. Nuevamente se presenta el comportamiento de las concentraciones de clorotalonil en la **Figura 8**. En la biocama C, se detectó la presencia de clorotalonil en las dos profundidades, únicamente durante el tercer muestreo y específicamente la concentración a 30 cm superó lo cuantificado a 15 cm. De acuerdo con lo observado en las biocamas A y B, se esperaría que en un muestreo posterior se detectara una concentración menor de clorotalonil a 30 cm de profundidad, ya que existe evidencia que indica que este plaguicida se degrada en la biomezcla.

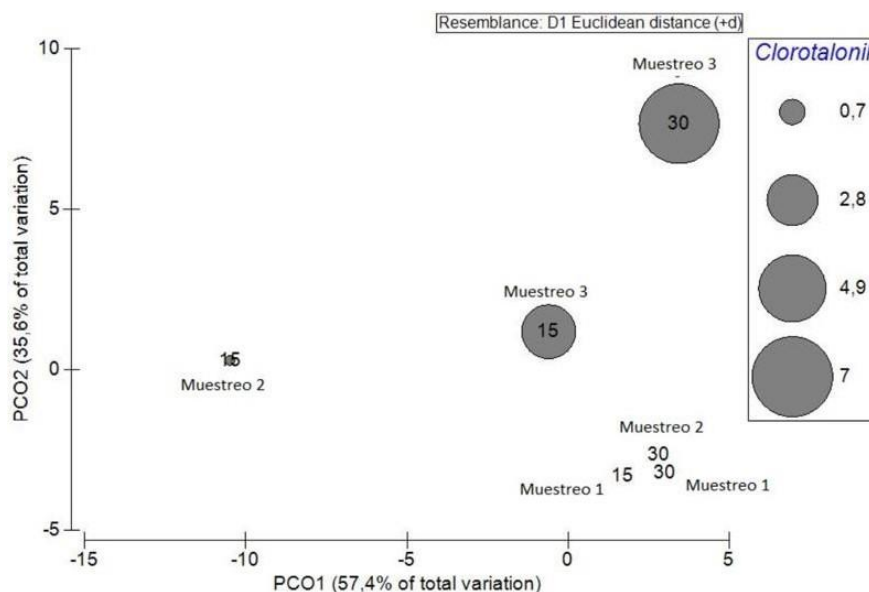



Figura 8. Concentración de clorotalonil ($\mu\text{g/g}$ biomezcla) cuantificado en la biocama C, a las profundidades de 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de clorotalonil encontrada. Fuente: Elaboración propia.

Conclusiones

La información recopilada en este estudio indica que la biocama tropicalizada, construida en toneles de 200 L puede utilizarse con buenos resultados para lograr la degradación de plaguicidas que no se utilizan de manera intensiva; por ejemplo, azoxistrobina, carbendazim, cipermetrina, dimetoato, flutolanil, malatión, metalaxil y linuron. Las concentraciones de estos plaguicidas fueron menores a la mayor profundidad de la biomezcla. A partir de este resultado, se confirma que la biomezcla compuesta por abono orgánico y residuos vegetales brinda condiciones que favorecen la actividad microbiana que facilita la degradación de los plaguicidas. Por otro lado, se debe continuar investigando de forma detallada la dinámica de degradación de plaguicidas en la biomezcla, sobre todo de aquéllos de uso intensivo en la agricultura, los cuales se depositan de manera constante en la biocama. Aun cuando existe evidencia de que estos i.a. pueden ser degradados en la biomezcla, el diseño tropicalizado parece no tener el potencial para una degradación eficiente, porque los plaguicidas se depositan a una mayor velocidad de la que son degradados. Para superar este inconveniente, será necesario realizar ajustes al diseño; por ejemplo, incrementar el tamaño y cantidad de biomezcla. Además, es necesario intensificar el seguimiento del uso de la biocama




por parte de las personas agricultoras; desde la inducción, implementación correcta y uso adecuado en el tiempo. Lo anterior resulta de suma importancia, debido a que varios de los plaguicidas de uso intensivo en la horticultura son plaguicidas altamente peligrosos que pueden generar impactos negativos en el ambiente y la salud humana. Es importante profundizar en la reflexión social sobre la relevancia de sustituir el uso de plaguicidas por métodos alternativos, como control biológico, extractos botánicos, y otros, e incluso promover enfoques productivos basados en la agroecología, para el bien del entorno vivo y la salud humana.

Agradecimiento

Las autoras y autor agradecemos a las personas agricultoras participantes del proyecto *Estrategia integral para disminuir el uso de plaguicidas en la agricultura y mejorar la calidad ambiental en Zarceño, Alajuela* (código SIA 0496-16, el cual fue financiado por el Fondo Institucional de Desarrollo Académico (FIDA) de la Universidad Nacional de Costa Rica.

Referencias

- Anderson, M. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32-46.
- Andrades, R.M.S.; Herrero, H.E.; Marín, B.J.M.; Sánchez, M.M.J. y Rodríguez, C.M.S (2015). Disipación del fungicida azoxistrobina en un suelo de viñedo de la Rioja enmendado con sustrato postcultivo del champiñón: experimento en campo y laboratorio. *Enovicultura*, 34, 6-16.
- Arya, P.R.; Binitha, N.K. & Unnikrishnan B.V. (2022). Microbial inoculants as most effective agents for degradation of chlorpyrifos in coarse textured laterite soils. PREPRINT (Version 1) available at Research Square.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1517385/v1>
- Betancourt-Portela, J.-M.; Bautista-Duarte, P.-A.; Narvaez-Florez, S., Parra-Lozano, J.-P. (2018). Biodegradation of chlorothalonil fungicide in coastal areas of the colombian



caribbean suitable for banana crops. *Tecciencia*, 13(25),19-28.

<https://doi.org/10.18180/tecciencia.2018.25.3>

Bhatt, P.; Bhatt, K.; Sharma, A.; Zhang, W; Mishra, S., Chen, S. (2021). Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(3), 317-338. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1853032>

Calvo, O. y Molina, D. (2019). Tecnología limpia para el tratamiento de aguas residuales de plaguicidas provenientes de pequeñas y medianas fincas con cultivos de café y aguacate, en el cantón de León Cortés, zona de Los Santos. [Tesis de Licenciatura no publicada]. Universidad Nacional, Costa Rica.


Castellanos, R.J. (2012). Selección y caracterización de microorganismos degradadores de plaguicidas. En Ramírez, M.C.; Wilches, T.A. y Cifuentes, O.G.R. (Comp.), *Memorias 3er. Seminario en Ciencias Básicas e Ingeniería* (pp. 90-102). Tunja, Colombia: Universidad de Boyacá.

Castillo, D.J.M.; Delgado-Moreno, L.; Núñez, R.; Nogales, R. y Romero, E. (2016). Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*, 214, 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.105>

Castillo, M. del P.; Torstensson, L. & Stenström, J. (2008). Biobeds for environmental protection from pesticide use: A review. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 56(15), 6206-19. <https://doi.org/10.1021/jf800844x>

Chavarría, P. (2015). Manejo de residuos líquidos de plaguicidas en las aplicaciones agrícolas a través de la elaboración de un sistema de biopurificación con recirculación. Instituto Nacional de Aprendizaje, Costa Rica.

Chin Pampillo, J. S. 1. (2015). Diseño de una biomezcla para la degradación de carbofurán en sistemas de biopurificación de aguas de lavado originadas en los equipos de aplicación de plaguicidas. [San José], Costa Rica.

- 
- Chin-Pampillo, J.-S.; Ruiz-Hidalgo, K.; Masís-Mora, M.; Carazo-Rojas, E., Rodríguez-Rodríguez, C. (2015). Design of an optimized biomixture for the degradation of carbofuran based on pesticide removal and toxicity reduction of the matrix, *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 19184-19193.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-5093-3>
- Cooper, R.J.; Fitt, P.; Hiscock, K.M.; Lovett, A.A.; Gumm, L.; Dugdale, S.J.; Rambohul, J.; Williamson, A.; Noble, L.; Beamish, J., Hovesen, P. (2016). Assessing the effectiveness of a three- stage on- farm biobed in treating pesticide contaminated wastewater, *Journal of Environmental Management*, 181, 874-882.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016-06-047>
- Córdova, M.E.A.; Góngora, E.V.R.; Giácoman-Vallejos, G.; Quintal-Franco, C. y Ponce-Caballero, C. (18-20 de octubre de 2017). Influencia de la humedad y temperatura en la disipación de cinco plaguicidas [Presentación en papel]. XII Congreso Regional para Norteaméricay el Caribe. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.
- Decreto N° 44280-S-MAG-MINAE (2023). Distribución, transporte, reempaque, reenvase, manipulación, venta, mezcla y uso del ingrediente activo de grado técnico y plaguicidas slntéticos formulados que contengan el ingrediente activo clorotalonil. *La Gaceta N 223, alcance N.237 del 20 de noviembre del 2023*.
https://www.imprentanacional.go.cr/pub/2023/11/30/ALCA237_30_11_2023.pdf
- Del Puerto, A.; Suárez, S., Palacio, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Derbalah, A.S.H.; El-Banna, A., Saad, A.M. (2020). Efficiency of *Candida tropicalis* for potential degradation of metalaxyl in the aqueous media, *Current Microbiology*, 77, 2991–2999. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02121-0>
- Días, L. de A.; Gebler, L.; Niemeyer, J.-C. & Itako, A.-T. (2020). Destination of pesticide residues on biobeds: State of the art and future perspectives in Latin America, *Chemosphere*, 248, 126038. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.12603>

Diez, J.M.C.; Palma, C.G.; Altamirano, Q.C.; Briceño, M.G.; Calderón, R.C., Díaz, S.J., Rubilar, A.O. y Tortella, F.G. (2013). Manual de construcción y operación de lechos biológicos. Universidad de la Frontera, Instituto de Agroindustria. Temuco, Chile. 120 p.

Escudero-Leyva, E.; Alfaro-Vargas, P.; Muñoz-Arrieta, R.; Charpentier-Alfaro, C.; Granados-Montero, M. del M.; Valverde-Madrigal, K.-S.; Pérez-Villanueva, M.; Méndez-Rivera, M.; Rodríguez-Rodríguez, C.-E.; Chaverri, P. & Mora-Villalobos, J.-A. (2022). Tolerance and biological removal of fungicides by *Trichoderma* species isolated from the endosphere of wild *Rubiaceae* plants, *Frontiers in Agronomy*, 3, 772170. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.772170>


Góngora-Echeverría, V.R.; Quintal-Franco, C.; Arena-Ortiz, M.L.; Giacomán-Vallejos, G. & Ponce-Caballero, C. (2018). Identification of microbial species present in a pesticide dissipation process in biobed systems using typical substrates from southeastern Mexico as a biomixture at a laboratory scale, *Science of the total Environment*, 628-629, 528-538. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.082>

Guerra, V.I. (2020). Camas biológicas: una herramienta versátil y proactiva para el uso adecuado de fitosanitarios, *Actualidad en I+D*, 46(2),140-144.

Hidalgo, B.D.; Calvo, B.O. y Loría, B.R. (2015). Sistemas de saneamiento básico rural con tecnologías limpias, un enfoque innovador y seguro para la población trabajadora en fincas: la experiencia con recolectores en la zona de Los Santos, Costa Rica. *SALTRA: Salud, Trabajo, Ambiente. Noticias Centroamericanas*, 13.

Hintze, S.; Hannalla, Y.S.B.; Guinchard, S.; Hunkeler, D. & Glauser, G. (2021). Determination of chlorothalonil metabolites in soil and water samples. *Journal of chromatography. A*, 1655, 462507. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462507>

INEC [Instituto Nacional de Estadística y Censos de Costa Rica]. (2015). VI Censo Nacional Agropecuario: Atlas estadístico agropecuario. Recuperado de: http://www.inec.go.cr/sites/default/files/documetos-bibliotecavirtual/01._atlas_estadistico_agropecuario_2014.pdf



IRET [Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas]. (2018). Estrategia integral para disminuir el uso de plaguicidas en la agricultura y mejora de la calidad ambiental en Zarcero, Alajuela. Proyecto Académico, Universidad Nacional. Costa Rica.

IRET [Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas]. (2019). Manual de plaguicidas de Centroamérica. Instituto Regional del Estudio en Sustancias Tóxicas. Universidad Nacional. Recuperado de <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/>

Jiménez, M. (2018). Evaluación del potencial de degradación de biocamas con microorganismos descomponedores de clorotalonil en la finca experimental Santa Lucía. Informe final de graduación. Universidad Nacional, Costa Rica.

Madrigal, Z.K. (2015). Degradación de carbofurán y análisis de toxicidad en dos biomezclas bioaumentadas con *Trametes versicolor*. [San José, Costa Rica].

Mendoza, R.B. y Espinoza, A. (2017). Guía técnica para muestreo de suelos. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. Recuperado de: <https://repositorio.una.edu.ni/3613/1/P33M539.pdf>

Municipalidad de Zarcero. (2016). Cantón de Zarcero: breve reseña. Recuperado de: <http://www.zarcero.go.cr/sobre-zarcero>

NMKL [Nordic Committee On Food Analysis]. (2013). Method 195: Pesticide residues. Analysis in foods with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric determination. Nordic Committee On Food Analysis.

PAN [PESTICIDE ACTION NETWORK]. PAN International List of Highly Hazardous Pesticides. Pesticide Action Network. 2021. Recuperado de: http://pan-international.org/wp-content/uploads/PAN_HHP_List.pdf

Ramírez, M.F. (2015). Buenas prácticas agrícolas para el mejoramiento ambiental de la zona de Zarcero, Alajuela, Costa Rica. SALTRA: Salud, Trabajo, Ambiente. Noticias Centroamericanas, 12.

Ramírez, M.F.; Orozco, A.M.; Fournier, L.M.L.; Berrocal, M.S.; Echeverría, S.S.; de la Cruz, M.E.; Chaverri, F.J.F.; Moraga, L.G.; Solano, D.K.; Alfaro, A.A.; Pinnock, B.M.; Rodríguez, R.G.; Bravo, D.V.; Calvo, A.J.A., Ruepert, C. (2017). Las buenas prácticas agrícolas en el uso y manejo de agroquímicos en la zona hortícola de Zarcero, Alajuela. Instituto Regional del Estudio en Sustancias Tóxicas, Universidad Nacional.

Rojas, G.A.M. (2016). Elaboración de un mecanismo de cobertura nacional para el manejo de la contaminación difusa. Universidad de Costa Rica. Recuperado de <https://da.go.cr/wp-content/uploads/2017/01/Informe-Final-Contaminacion-Difusa-UCR.pdf>


Sánchez-Brunete, C.; Albero, B. y Tadeo, J.L. (2004). Multiresidue determination of pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry detection, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(6),1445–1451. <https://doi.org/10.1021/jf0354646>

Stamatiu, S.K. (2013). Tolerancia y biodegradación de plaguicidas con hongos filamentosos. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. [Tesis de Doctorado]. Colegio de Postgraduados, México. Recuperado de: http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/2175/1/Stamatiu_Sanchez_K_DC_Entomologia_Acarologia_2013.pdf

Vargas, C.E. (2021). Uso aparente de plaguicidas en la agricultura de Costa Rica. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Costa Rica. Recuperado de: https://impactoplaguicidas.cr/wp-content/uploads/2021/12/USO-APARENTE-DE-PLAGUICIDAS_MAY22_VF_PRINT.pdf

Weiss, F.T.; Ruepert, C.; Echeverría-Sáenz, S.; Eggen, R.I.L. & Stamm, C. (2023). Agricultural pesticides pose a continuous ecotoxicological risk to aquatic organisms in a tropical horticulture catchment. *Environmental Advances*, 11, 100339. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100339>

Xi-Hui, X.; Xiao-Mei, L.; Long, Z.; Yang, M.; Xu-Yuan, Z.; Jing-Ya, F.; Shun-Peng, L. & Jian-Dong, J. (2018). Bioaugmentation of chlorothalonil-contaminated soil with



hydrolytically or reductively dehalogenating strain and its effect on soil microbial community, *Journal of Hazardous Materials*, 351, 240-249.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.002>.

Zhang, Q., Liu, H., Saleem, M., & Wang, C. (2019). Biotransformation of chlorothalonil by strain *Stenotrophomonas acidaminiphila* BJ1 isolated from farmland soil. *Royal Society open science*, 6(11), 190562. <https://doi.org/10.1098/rsos.190562>

Zhou, T.; Guo, T.; Wang, Y.; Wang, A. Zhang, M. (2023). Carbendazim: Ecological risks, toxicities, degradation pathways and potential risks to human health, *Chemosphere*, 314. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137723>.