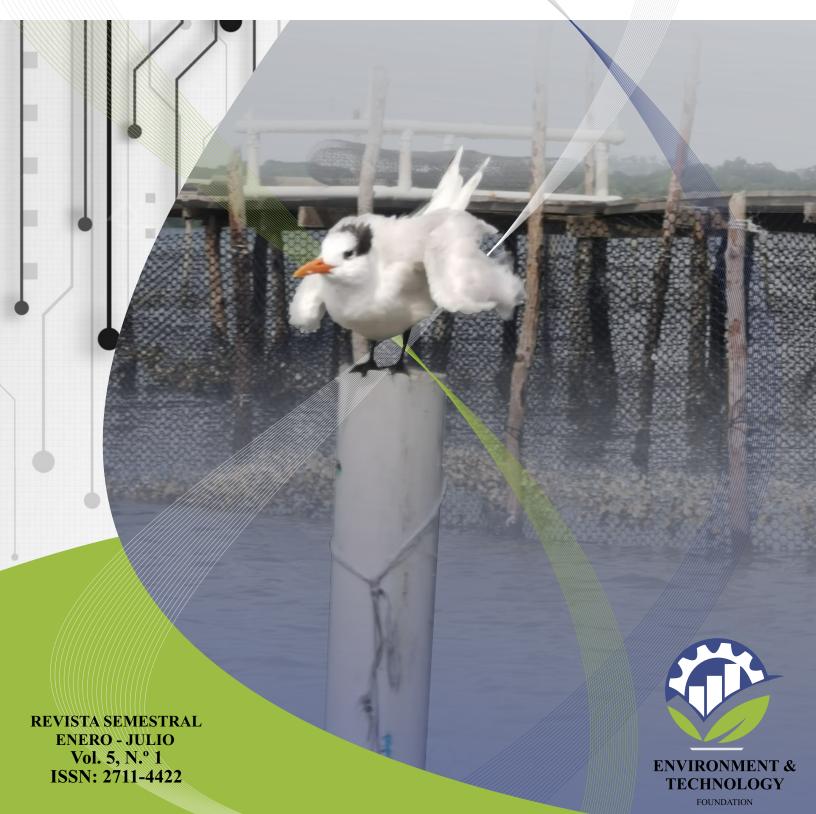
# ENVIRONMENT & TECHNOLOGY





# **Environment & Technology**

ISSN: 2711-4422

# Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024

#### PROPIEDAD Y EDITORIAL

Environment & Technology Foundation

# DIRECCIÓN EDITORIAL

PhD. Liliana Piedra Castro, Costa Rica PhD. Jaime Ernesto Rivera Hernández, México

# COMITÉ EDITORIAL

PhD. Libia Julio Galvis, Colombia

PhD. Fernando Ramírez Muñoz, Costa Rica

PhD. Rubén Darío Sepúlveda Vargas, Colombia

PhD. Jorge Rafael Villadiego Lorduy, Colombia

PhD. Graciela Alcántara Salinas, México

PhD. Gustavo Barrantes Castillo. Costa Rica

PhD. Giovanni Sáenz Arce, Costa Rica

PhD. Carlos Sabater Piqueres, España

PhD. Tomás Guzmán Hernández, Costa Rica

Msc. Yuri Morales López, Costa Rica

PhD. Massimo Leserri, Italia

MSc. Alfredo Esquivel Acosta, Colombia

MSc. Javier Ricardo Sánchez Castillo, Colombia

PhD. José Manuel Luna Nemecio. México

PhD. Elkin Quiñonez Agámez, Colombia

PhD. Wladimir Mejía Ayala, Colombia

# **COMITÉ CIENTÍFICO**

PhD. Cristian Morerira Segura, Costa Rica

PhD. Joaquín Durán Mora, Costa Rica

PhD. María Fernanda Garrido Rubiano, Colombia

PhD. Merwan Chaverra Suárez, España

PhD. Napoleón Blanco Orozco, Nicaragua

PhD. Salvatore Barba, España

PhD. Elena Rustrian Portilla, México

PhD. Lina García Corrales, Colombia

PhD. Juan A. Pérez Sato, México

PhD. Eric Pascal Houbron, México

MsC. Omar Díaz Hernández, Colombia

PhD. Jorge Osorio Martínez, Colombia

MsC. Stalyn Guerrero Gómez, Colombia

MsC. Nydia Valencia Jiménez, Colombia

MsC. Concepción Amador Ahumada, Colombia

MsC. Luis López Duarte, Nicaragua

MsC. Orlando Tordecilla Correa, Colombia

ESP. Jairo Vélez Vargas, Colombia

MsC. Yhonattan Méndez Nobles, Colombia

MsC. Daniel Espinosa Corrales, Colombia

MsC. Adolfo Cortecero Bossio, Colombia

ESP. Oscar Tuiran Polo, Colombia

PhD, Pedro Simón Lamprea, Colombia

MsC. Jhoan Pérez Benitez, Colombia

MsC. Edgar Manotas Olascoaga, Colombia

MsC. Abel Felipe Vargas Rueda, México

PhD. Diana Zambrano Moreno, Colombia

MsC. Natalia Real Luna, México

PhD. Rafael Arturo Muñoz-Márquez Trujillo, México

PhD. Rooel Campos Rodríguez, Costa Rica

MBA. Daniel Francisco Pérez Murillo, Costa Rica

PhD. Ana Rodrigez Negrette, Colombia

ESP. Pedro Payares Ramos, Colombia

E&T Foundation no asume responsabilidad por posiciones presentadas por los autores de los articulos.

Con Licencia Creative Commons CC BY-NC-ND

#### **COLABORADORES**

Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre. Universidad Nacional de Costa Rica (Costa Rica).

Asociación de Geógrafos del Caribe Colombiano (Colombia).

Programa de Doctorado de Ciencias Naturales para el Desarrollo. Instituto Tecnológico, Universidad Nacional, Universidad Estatal a Distancia (Costa Rica).

Grupo de Investigación, Ambiente y Tecnología Adscrito a Environment &; Technology Foundation (Colombia).

Grupo de Investigación, Sostenibilidad y Competitividad Adscrito a Environment &; Technology Foundation (Colombia).

Centro de Estudios Geográficos, Biológicos y Comunitarios, S.C. (México).

Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas. Universidad Nacional de Costa Rica (Costa Rica).

Programa de Maestría en Salud Pública, Universidad de Córdoba (Colombia).

Grupo de Investigación Huellas Calidad de Vida, Adscrito a la Maestría en Salud Pública. Universidad de Córdoba (Colombia).

Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba (México).

Departamento de Geografía y Medio Ambiente, Universidad de Córdoba (Colombia).

Doctorado en Educación y Cultura Ambiental, Universidad de la Amazonia (Colombia).

Maestría en Sistemas Sostenibles de Producción, Universidad de la Amazonia (Colombia).

#### ASISTENTE EDITORIAL

Natalia Narvaez Moreno, Colombia

# FOTOGRAFÍA PORTADA

Jorge Villadiego Lorduy

#### DISEÑO

DG. Andrés Felipe Del Toro Pérez

#### **Editorial**

Estimados lectores.

Es un placer ofrecerle en este volumen de la revista Environment & Technology, investigaciones innovadoras, las cuales se enfocan en los aspectos de la conservación de los ecosistemas y de la sostenibilidad agrícola. En esta edición se busca a través de los diversos estudios publicados mostrar cómo se pueden abordar los aspectos tecnológicos en relación a la conservación de los recursos naturales.

Los mecanismos de conservación del medio ambiente a través de diferentes estrategias, serán claves para mitigar todos los daños que ha sufrido el planeta tierra por las actividades antrópicas, es por eso que tener conocimientos sobre los patrones de la caída de hojarasca y su relación con la productividad primaria es de gran importancia, al comprender mejor cómo las variaciones climáticas influyen los diferentes ecosistemas ribereños. Resaltando que la innovación es el punto clave para estar permanente resiliente ante todos estos cambios que sufren los recursos naturales, por actividades en las que se ve involucrado el ser humano, es por eso que el manejo de las plagas agrícolas a través de mecanismo como son los hongos, son aspectos innovadores en los cultivos tropicales.

Por otro lado, en este mundo cambiante en donde la escases de alimento es alta en diferentes regiones a nivel global, ofrecer mecanicismos innovadores para que las personas tengan seguridad alimentaria a través de soluciones agrícolas sostenibles, serán claves y fundamentales para mejorar la escases de alimentos en comunidades rurales, demostrando así que la agricultura hidropónica puede ser una opción viable y respetuosa con el medio ambiente. Teniendo en cuenta que estos mecanismos innovadores en los sistemas agrícolas, también nos ayudan a reflexionar sobre el impacto ambiental que puede causar los herbicidas, pero como el manejo adecuado de esto puede contribuir a la sostenibilidad de los cultivos, minimizando la dispersión de agroquímicos en el ambiente. Así como también, como estos se pueden degradar a través de biocamas, siendo esta una buena técnica innovadora y sostenible para la mitigación del impacto de agroquímicos en pequeñas fincas, mostrando así una solución eficiente y práctica para los agricultores que enfrentan el desafío de manejar productos químicos peligrosos.

Agradecemos profundamente a todos los autores, revisores y al equipo editorial por su dedicación y esfuerzo en hacer posible esta edición, que sin duda aporta importantes contribuciones al conocimiento científico en el ámbito ambiental y agrícola.

Ingeniero Sanitario y Ambiental Pedro Luis Payares Ramos Gestor selló editorial Environment & Technology Foundation Esp en Gerencia Ambiental.



# **Environment & Technology** | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024 URL: https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/

# **CONTENIDO:**

Hojarasca como indic ribereños de los Co Rica	redores Biológi	cos Montes del	Aguacate y Lag	o Arenal Tenorio	o, Costa
Litterfall as an inc riparian forests of Corridors, Costa R	the Montes del		_		
Jéssica Arias Ram Beita.	írez, Luis Diego	Alfaro Alvarado,	Roberto Cordero	Solórzano, Albert	t Morera
Evaluación in vitro (Cobb, 18	393)	Thorne,	1949	en	Costa
In vitro evaluation (Cobb, 1893) Thor	n of nematophag	gous fungi agains			
Berlioth Ugalde N Padilla.	Monge, Roy Arta	avia-Carmona, Al	lejandro Vargas	Martínez, Walter	Peraza-
Evaluación de un sist centro de Veracruz, M					
Evaluation of a far Mexico.	mily hydroponic	system as a susta	ninable food alterr	native in central V	eracruz,
Juan Antonio Pér Alcántara-Salinas,				vera-Hernández,	Graciela
Evaluación de la disp hidrosensibles	у		método	en	zimático
Evaluation of glypsensitive papers an			ogical and econor	mic approach wit	h water-
Milton Sael Apario	rio Villanueva, Jo	osé Luis Marrugo	Negrete.		

_	radación de plaguicidas altamente peligrosos mediante biocamas en pequeñas fincas de Zarcero, juela
	Degradation of highly hazardous pesticides using biobeds on small farms in Zarcero, Alajuela.
1	Mary Paz Jiménez Domínguez, Clemens Ruepert, Martha Orozco Aceves.

Hojarasca como indicador de producción primaria y su relación con variables climáticas en bosques ribereños de los Corredores Biológicos Montes del Aguacate y Lago Arenal Tenorio, Costa Rica

Litterfall as an indicator of primary production and its relationship with climatic variables in riparian forests of the Montes del Aguacate Biological and Lake Arenal Tenorio Biological Corridors, Costa Rica



Karen Vásquez Cascante

Máster en Gestión del Turismo Sostenible Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre Universidad Nacional

https://orcid.org/0009-0002-4362-2240

karen.vasquez.cascante@una.cr

Costa Rica

Environment & Technology | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024: 1-27

**URL:** <a href="https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/">https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/</a>

**DOI:** <a href="https://doi.org/10.56205/ret.5-1.1">https://doi.org/10.56205/ret.5-1.1</a>

Recibido: 25/02/2024 Revisado: 07/05/2024 Aprobado: 19/06/2024

# Luis Diego Alfaro Alvarado

Doctor en Ecología y Conservación
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional
<a href="https://orcid.org/0000-0001-9534-1948">https://orcid.org/0000-0001-9534-1948</a>
<a href="mailto:luis.alfaro.alvarado@una.cr">luis.alfaro.alvarado@una.cr</a>
Costa Rica

# Roberto Cordero Solórzano

Doctor en Biología
Laboratorio de Ecología Funcional y Ecosistemas Tropicales
Universidad Nacional
<a href="https://orcid.org/0000-0001-7270-104X">https://orcid.org/0000-0001-7270-104X</a>
<a href="mailto:roberto.cordero.solorzano@una.ac.cr">roberto.cordero.solorzano@una.ac.cr</a>
Costa Rica

# Albert Morera Beita

Doctor en Biología y Conservación de la Biodiversidad
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional
<a href="https://orcid.org/0009-0007-7343-0967">https://orcid.org/0009-0007-7343-0967</a>
<a href="mailto:albert.morera.beita@una.ac.cr">albert.morera.beita@una.ac.cr</a>
Costa Rica

#### Resumen

La hojarasca se refiere a aquel material depositado sobre la superficie del suelo que está compuesto por plantas y sus órganos muertos, como corteza, hoja, ramas, inflorescencias, frutos, semillas, epífitas y otros materiales no identificados. La cantidad de hojarasca caída por periodo de tiempo se le conoce como producción de biomasa caída y es utilizada como una medida de la productividad primaria neta, que es fácil de medir y su variación inter e intra anual permite comparar diferentes ecosistemas forestales. El muestreo se realizó en siete sitios dentro del Corredor Biológico Montes del Aguacate y cuatro en el Corredor Biológico Lago Arenal Tenorio, los cuales se sitúan en propiedades privadas, poseen cobertura boscosa y cuerpos de agua. Se analizaron las variaciones temporales de la hojarasca capturada y se relacionaron con las variables climáticas de temperatura y precipitación. Los patrones de la hojarasca mostraron similitudes con estudios anteriores, la cual disminuye con la precipitación y aumenta con la temperatura; sin embargo, la hojarasca no es homogénea a lo largo del año lo que refleja la heterogeneidad del dosel del bosque, por lo que puede estar relacionado con las variaciones espaciales en el estado de sucesión del bosque y por los patrones de degradación, uso y presiones antropogénicas sobre el bosque. El conocimiento sobre los patrones de la caída de hojarasca y su relación con la productividad primaria pueden servir de base para fundamentar la implementación de estrategias de manejo y conservación de los bosques situados dentro de los Corredores Biológicos Montes del Aguacate y Lago Arenal Tenorio.

Palabras clave: Biomasa caída; bosque ribereño; corredores biológicos; sucesión bosques; variables ambientales.

#### Abstract

Litterfall refers to all the material deposited on the soil surface; it is composed of plants and their dead organs, such as bark, leaves, branches, inflorescences, fruits, seeds, epiphytes, and other unidentified materials. The amount of litterfall per period is known as litterfall production and is used as a measure of net primary productivity, which is easy to measure, and its inter- and intra-annual variation allows comparison between different forest ecosystems. The sampling was carried out in seven sites within the Montes del Aguacate Biological Corridor and four in the Lake Arenal Tenorio Biological Corridor, all of them located on private properties and have forest cover close to a body of water. The temporal variations of the fallen biomass were analyzed and related to the climatic variables of temperature and precipitation. Litterfall patterns showed similarities with previous studies, which decrease with precipitation and increase with temperature; however, litterfall is not homogeneous throughout the year, reflecting the heterogeneity of the forest canopy, which may be related to spatial variations in the state of forest succession, or patterns of forest degradation and land use. Knowledge about the patterns of litterfall and its relationship with primary productivity can serve as a basis to support the implementation of strategies for the management and conservation of forests located within the Biological Corridors.

**Key words**: Litter production; riparian forest; biological corridors; forest succession; environmental variables.

# Introducción

El término hojarasca es utilizado en todos los ecosistemas, sean estos bosques, sabanas o desiertos y se refiere a gran parte del material depositado sobre la superficie del suelo. A la cantidad de hojarasca caída por un periodo de tiempo se le conoce como producción de hojarasca. El material orgánico que produce la hojarasca corresponde a hojas, troncos, ramas, materiales reproductivos (flores, inflorescencias, frutos, semillas y néctar), material radical y asociaciones como micorrizas (Clark et al., 2001; Cruz, 2001).

La hojarasca forma parte de la biomasa forestal, la cual corresponde a la cantidad total de materia orgánica vegetal que puede estar presente en un ecosistema en un momento determinado; la misma se expresa en unidades de peso seco por unidad de superficie (gm<sup>-2</sup>) y puede estar compuesta de biomasa epigea y biomasa hipogea. Por lo tanto, la hojarasca caída representa la cantidad total de carbono orgánico almacenado en las porciones aéreas y subterráneas del ecosistema (Huechacona, 2016; Salas et al., 1988). La hojarasca influye directamente sobre la productividad primaria o tasa de producción de materia orgánica en el ecosistema por unidad de área y de tiempo y se expresa en gm<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>. Se refiere a la tasa a la cual las plantas de un ecosistema transforman la energía lumínica en materia orgánica mediante el proceso de fotosíntesis, por unidades de área/tiempo. Parte de esa energía se pierde en la respiración y el resto se invierte en la formación de nuevo tejido, a lo que se denomina producción primaria neta (PPN) (Cruz, 2001; Huechacona, 2016). Es por medio de la PPN que la materia orgánica se acumula en una determinada área en un tiempo específico.

La PPN resulta de la diferencia entre la fotosíntesis total (producción primaria bruta – PPB) y la respiración total de las plantas dentro de un ecosistema (Quinto et al., 2007). Sin embargo, Clark et al. (2001), indican que no es posible medir esta diferencia en campo y la PPB no se puede medir directamente, ya que la medición de la respiración total de un ecosistema es compleja (Ryan, 1991). La PPN representa el flujo neto de carbono de la atmósfera a las plantas por unidad de área y tiempo.

La recolección de la hojarasca es utilizada como una medida de la PPN, pues su generación representa un estado dinámico estable (Prause, Arcede-Caram & Angeloni,

2003). La producción de hojarasca comprende entre un 20% y un 30% de la productividad total neta, y está regulada sobre todo por procesos biológicos y climáticos; a su vez son importantes las condiciones topográficas, edáficas y características de las comunidades ecológicas que componen el ecosistema forestal: riqueza de especies, composición etaria y densidad de individuos (Di Stefano & Fourier, 2005; Hernández, Santa & Gallardo, 1992). Las características espacio-temporales de la caída de hojarasca, reflejan procesos funcionales importantes en un ecosistema forestal, por ejemplo, la dinámica de la productividad y el equilibrio de nutrientes en los ecosistemas forestales (Nakagawa, 2019). Además, conocer los patrones de caída de biomasa a largo plazo es de particular importancia para predecir las fluctuaciones en las funciones forestales en el futuro, sobre todo ante el cambio climático (Aguilar, 2011; Aguilar et al., 2011).

Este estudio se desarrolla dentro de dos corredores biológicos (CB) en Costa Rica, quienes conceptualmente contribuyen con la conectividad entre áreas protegidas inmersas en una matriz (paisaje) con usos diferenciados del suelo, que buscan contrarrestar los distintos procesos de fragmentación de los hábitats (Ruíz, Cardona & Duque, 2012). La conectividad es un elemento fundamental del paisaje y una de las estrategias para mitigar los efectos de su fragmentación es la creación de CB, lo cual permite mantener la conexión entre parches de bosque (SINAC, 2015). Sin embargo, a pesar de que en Costa Rica se han establecido aproximadamente 44 CB que cubren el 38% de la superficie del país, la fragmentación continúa y existe una falta de política de priorización al respecto, que es fundamental para avanzar en la consolidación de estas estrategias de conectividad (Morera-Beita, Sandoval-Murillo & Alfaro-Alvarado, 2020). Por tanto, el objetivo fue analizar las variaciones temporales de la hojarasca como indicador de la productividad primaria y su respuesta a las condiciones de temperatura y precipitación particulares en remanentes de bosques ribereños dentro de los CB Montes del Aguacate (CBMA) y Lago Arenal Tenorio (CBLAT) de Costa Rica.

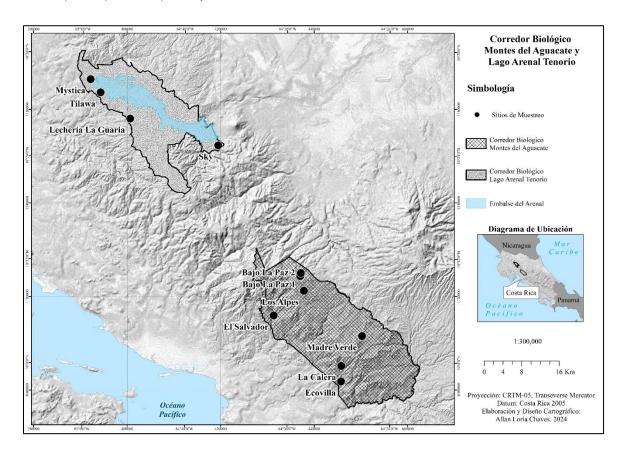
# Metodología

Se seleccionaron siete sitios de muestreo en el CBMA y cuatro en el CBLAT. Los sitios de muestreo se localizaron en propiedades privadas que poseen cobertura boscosa

cercana a un cuerpo de agua, específicamente un río o quebrada permanente; estos sitios se denominan bosques ribereños (Ministerio de Ambiente y Energía, 2020)

# Área de estudio

De acuerdo con el Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC, 2015), el CBMA tiene una extensión de 69,051 hectáreas. Se ubica en las coordenadas -84°30'38.575" Oeste y 10°3'28.319" Norte y abarca cantones tanto de la provincia de Alajuela como de Puntarenas (Instituto Geográfico Nacional-IGN, 2009; SINAC, 2015) (**Figura 1**). Por otro lado, el CBLAT comprende 33,855.28 ha y se ubica en las coordenadas 84°52'49.0" Oeste y 10°29'08.1" Norte. Abarca la cuenca del embalse Arenal y entre sus objetivos tiene establecer la conectividad entre los Parques Nacionales Volcán Arenal y Volcán Tenorio (**Figura 1**). El CBLAT lo conforman diversos poblados de la región Pacífico Norte (Guanacaste) y de la región Norte de Alajuela (Gutiérrez-Montes & Sibelet, 2011; SINAC, 2020).



*Figura 1.* Ubicación geográfica de los Corredores Biológicos Montes del Aguacate y Lago Arenal Tenorio. Fuente: Elaboración propia

# Trampas de hojarasca

Se aplicó una metodología basada en el uso de trampas de hojarasca de 0.5 m² de superficie. Esta técnica fue propuesta por Quinto et al. (2007) y recomendada en la versión del Protocolo de Monitoreo de Müller-Landau y Wright (2010). Las trampas de hojarasca se colocaron a una distancia mínima de 50 metros entre ellas y a una altura sobre el nivel del suelo de 80 cm, procurando que quedaran de la manera más nivelada posible. Se colocaron en total 42 trampas de hojarasca: 28 en siete sitios del CBMA y 16 en cuatro sitios del CBLAT.

#### Recolección de datos

La recolección de hojarasca se realizó durante un periodo de tres años (2018, 2019 y 2020), ya que cada CB se estudió en periodos diferentes. Para cada CB, durante 12 meses, cada mes se recolectó la hojarasca en cada trampa. En esta colecta se incluyeron: hojas y ramas (desechando diámetros ≥ 2 cm, o las que su longitud fuera ≥ 50 cm de largo). En cada uno de los CB en estudio se colocó un Datalogger, sensor de temperatura, programado para realizar registros continuos cada 15 minutos. Los datos de precipitación fueron obtenidos de las bases de datos del Instituto Meteorológico Nacional (IMN) y del Instituto Costarricense de Electricidad (ICE).

La instalación de las trampas de hojarasca y primera recolección de datos en cada sitio se inició en diferentes meses del año para cada CB, por lo que para el CBMA el estudio se realizó entre julio del 2018 y noviembre de 2019 y en el CMLAT fue entre octubre de 2019 y diciembre de 2020. El total de datos para cada sitio en ambos CB fue de 12 meses.

# Proceso de secado y separación de hojarasca

En el laboratorio, se pesaron las muestras húmedas y se pasaron a bolsas de papel. Todo el material recolectado durante cada mes se secó en un horno a 65 °C durante 72 horas. Posteriormente, se separaron y pesaron los componentes de cada muestra en hojas

(que incluían pecíolos, raquis y tallos no leñosos), madera fina (<20 mm de diámetro, incluyendo corteza y zarcillos leñosos), partes reproductivas (flores, frutas, semillas y sus estructuras de soporte o pedicelos) y otros materiales (excrementos de oruga, polvo, insectos muertos, etc.) Para la separación, se utilizaron dos tamices Nº 35 y Nº 10 (Müller-Landau & Wright, 2010).

#### Análisis de datos

Los sitios del CBMA se dividieron en tres grupos, Grupo A (El Salvador y Ecovilla), Grupo B (Bajo La Paz 1, Bajo La Paz 2 y Los Alpes), Grupo C (Madre Verde y La Calera); para el CBLAT fueron considerados dos grupos, Grupo A (Lechería Guardia y Sky) y el Grupo B (Tilawa y Mystica).

Se calculó la sumatoria del peso máximo y mínimo de la hojarasca y el coeficiente de variación (CV) para cada mes. Se elaboraron gráficos comparativos por sitios muestreados en cada uno de los CB. Mediante un análisis de varianza se analizaron las posibles diferencias entre los sitios en el mismo CB y se aplicó *a posteriori* la prueba de Bonferroni para establecer diferencias entre las medias (Gutiérrez, 2010). Se calcularon los intervalos de confianza para cuantificar el patrón estacional de caída de hojarasca mensual (por cada componente y caída de hojarasca total) y su relación con temperatura y precipitación mensuales.

# Resultados y discusión

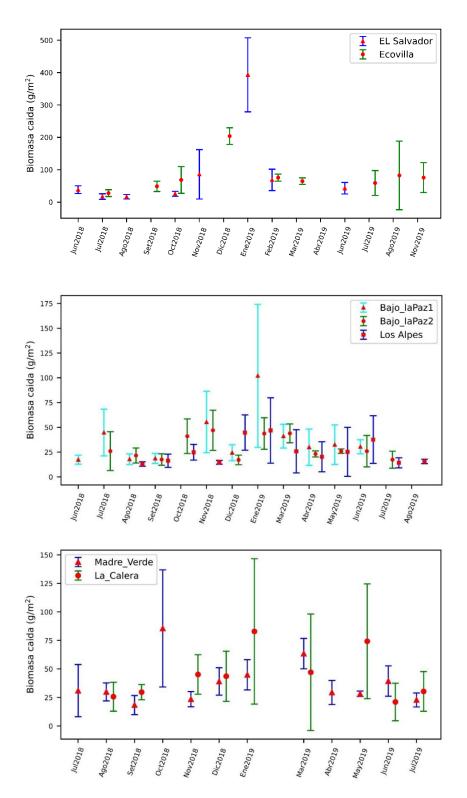
En el CBMA, la producción anual de hojarasca fue superior en el Grupo A con respecto al Grupo B y el Grupo C, mientras que en el CBLAT la producción anual de hojarasca fue superior en el Grupo A en comparación con el Grupo B (**Tabla 1**). Dentro de cada grupo, los sitios con mayor cantidad de hojarasca recolectada fueron El Salvador, Bajo la Paz I y Madre Verde para CBMA (**Figura 2**) y Lechería Guaria y Tilawa para el CBLAT (**Figura 3**).

Tabla 1.

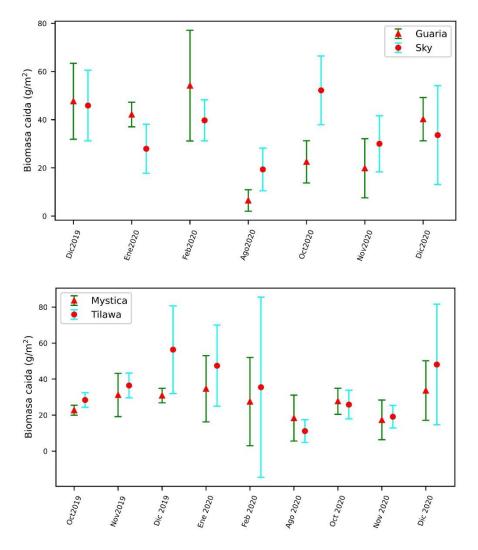
Estadísticas descriptivas (media, ±D.E., máximo y mínimo) de hojarasca por corredor y sitios agrupados en grupo A, grupo B y grupo C en el CBMA durante el 2018-2019; y grupo A y grupo B en el CBLAT durante 2019-2020

	СВ	Variables	Producción mensual (g/m2)	Peso hojas (g/m2)	Peso reproductivas (g/m2)	Producción anual (g/m²/año)
	Grupo A	Media	90.36	66.44	10.84	440.19
	-	D.E.	105.86	91.06	15.11	
MA	-	Min. – Max.	10.46 – 563.36	7.07 – 491.53	0.00 - 50.76	
	Grupo B	Media	30.50	22.53	1.95	230.98
	-	D.E.	24.36	14.91	3.94	
	-	Min. – Max.	1.23 – 202.66	00.0 – 95.0	0.0 - 27.07	
	Grupo C	Media	40.70	28.28	4.02	293.40
	-	D.E.	30.37	23.03	4.78	
	-	Min. – Max.	0.0 - 153.8	0.0 – 144.08	0.0 - 26.48	
	Grupo A	Media	49.29	33.93	5.09	
LAT Grupo B	D.E.	29.24	17.39	9.14	142.17	
	-	Min. – Max.	0.0 - 145.83	0.0 - 75.8	0.0 – 44.01	
	Grupo B	Media	48.41	29.83	7.45	249.86
	-	D.E.	35.98	18.09	21.12	
	-	Min. – Max.	0.0 – 181.95	0.0 – 93.14	0.0 – 131.89	

Fuente: Elaboración propia



*Figura 2.* Media mensual de hojarasca (± D.E) en sitios de los Grupos A (El Salvador y Ecovilla), B (Bajo La Paz 1, Bajo La Paz 2 y Los Alpes) y C (Madre Verde y La Calera) del Corredor Biológico Montes del Aguacate, 2018-2019. Fuente: Elaboración propia



*Figura 3.* Media mensual de hojarasca 95% (± D.E) en los sitios del Grupo A (Lechería Guardia y Sky) y el Grupo B (Tilawa y Mystica) del Corredor Biológico Lago Arenal - Tenorio, 2019-2020. Fuente: Elaboración propia

Resultados similares a nuestro estudio (**Tabla 1**) se han reportado para ecosistemas tropicales forestales en diferentes países. Por ejemplo, Del Valle-Arango (2003); Epstein et al. (2002); López-Hernández et al. (2013); Piatek & Allen (2000) y Vaneklaas (1991), reportan variaciones de hojarasca al año entre 240 a 760 g/m². En ecosistemas de bosque pluvial se registraron variaciones de caída entre 500 - 1500 g/m²/año en Chocó, Colombia (Quinto, Ramos & Abadía, 2007; Takeda, 1996). En ecosistemas de bosques tropicales de montaña en Nariño, Colombia se reportaron entre 179 - 1,070 g/m²/año (Vargas-Parra & Varela, 2007). En otros ecosistemas diferentes, por sus condiciones climáticas, bosque seco

se reporta 608.9 g/m²/año, y en plantaciones forestales (750 g/m²/año) se reporta mayor cantidad de hojarasca con respecto a este estudio (Di Stefano & Fournier, 2005; Huenachona, 2016); Sin embargo, Anderson & Swift (1983) reportaron para bosques tropicales muy húmedos entre 560 – 1,330 g/m²/año, mientras Clark et al. (2001b) estimaron datos de 70 bosques tropicales maduros entre 170 – 1,180 g/m²/año, cuyos rangos incluyen los valores estimados para los CB del presente estudio. De acuerdo con la base de datos global de hojarasca y reservas de carbono y nutrientes en la hojarasca, se menciona que en Costa Rica se realizó un estudio de la producción y descomposición del mantillo en un bosque secundario húmedo premontano (Fournier & Camacho, 1973) y se obtuvo un promedio mensual de 224.61 g/m², con un total en 10 meses de 2,246.1 g/m². En la Estación Biológica La Selva se reporta 23,090 g/m²/año (Goncalves et al., 2014.), que son valores superiores a los reportados en el CBMA y CBLAT (**Tabla 1**).

Es importante tener en cuenta la variabilidad de las condiciones climáticas durante los periodos de cada estudio, por lo que establecer un patrón común a todos los bosques o incluso entre mismos tipos de bosques con diferentes variables podría ser equívoco. Además, la variación mensual de hojarasca y sus componentes están asociados al ciclo vegetativo y a las etapas fenológicas características de cada especie, su clase etaria, la precipitación, composición de especies, disponibilidad de nutrientes y a la etapa de sucesión (López-Hernández et al., 2013). A pesar de las diferencias con estudios anteriores, con la excepción del estudio realizado por Clark et al. (2001), es necesario considerar que estos podrían variar significativamente por el método de muestreo y las condiciones de hábitat del sitio de estudio, ya que la producción de hojarasca es mayor en zonas húmedas, cálidas y con suelos fértiles (Quinto, Ramos & Abadía, 2007). Es de anotar que la media anual total (g/m<sup>2</sup>/año) del CBMA mostró fuertes evidencias en cuanto a la diferencia entre sitios (F=8.69878, p=0.0001), específicamente en El Salvador que se evidencia mayor producción de hojarasca y Ecovilla que presentó diferencias con otros tres sitios del mismo CB (Tabla 2). En los sitios del CBLAT se mostró una débil evidencia (F=1.202677, p=0.311).

**Tabla 2.**Prueba de Bonferroni de la Producción Anual media (g/m²/año) para los sitios en el CRMA

Sitio		Media de la diferencia	SE	df	t	P bonferroni
Bajo La Paz 1	Bajo La Paz 2	12.23	12.1	252	1.014	1.000
	Ecovilla	-38.76	13.6	252	-2.852	0.099
	El Salvador	-62.83	13.7	252	-4.573	<.001
	La Calera	-3.30	12.3	252	-0.267	1.000
	Los Alpes	14.02	12.0	252	1.168	1.000
	Madre Verde	1.21	12.0	252	0.101	1.000
Bajo La Paz 2	Ecovilla	-50.99	13.1	252	-3.890	0.003
	El Salvador	-75.06	13.3	252	-5.660	<.001
	La Calera	-15.52	11.8	252	-1.315	1.000
	Los Alpes	1.79	11.4	252	0.156	1.000
	Madre Verde	-11.02	11.4	252	-0.963	1.000
Ecovilla	El Salvador	-24.07	14.7	252	-1.641	1.000
	La Calera	35.47	13.4	252	2.654	0.178
	Los Alpes	52.78	13.1	252	4.044	0.001
	Madre Verde	39.97	13.1	252	3.063	0.051
El Salvador	La Calera	59.54	13.5	252	4.405	<.001
	Los Alpes	76.85	13.2	252	5.820	<.001
	Madre Verde	64.04	13.2	252	4.850	<.001
La Calera	Los Alpes	17.32	11.7	252	1.475	1.000
	Madre Verde	4.50	11.7	252	0.384	1.000
Los Alpes	Madre Verde	-12.81	11.4	252	-1.126	1.000

Fuente: Elaboración propia

De los dos CB estudiados, el CBMA fue el más heterogéneo en términos de cantidad de hojarasca (**Tabla 2**). Los sitios Bajo la Paz 1, Bajo la Paz 2 y Los Alpes se ubicaron en bosques maduros, mientras que el resto de los sitios de muestreo se ubicaron en bosque

secundarios. Este CB muestra una mayor presencia de "otro tipo de tierras" que, de acuerdo a la clasificación del Sistema Nacional de Información Territorial (SNIT, 2020), significa que hay pastos, cultivos, zonas edificadas o desarrolladas y suelos desnudos. Lo anterior, podría estar relacionado con la proporción de fragmentos de bosque en diferentes estados de sucesión, lo cual explicarían esta variación interna a nivel espacial; ya que como lo indican Huenachona (2016) y de Queiroza (2019), uno de los principales cambios que ocurren en bosques tropicales durante la sucesión es el aumento de hojarasca, lo que podría repercutir en la caída de hojarasca y puede ser menor o mayor que la producida en el año anterior, debido a su tasa de descomposición en ese ambiente (Correia et al., 2016; Vitousek & Sanford, 1986). Según indica Aguilar et al. (2011), en un estado de sucesión avanzado, la cantidad de hojarasca acumulada en los bosques es mayor, sin embargo, existen otras características que podrían justificar la diferencia, tales como la temperatura, precipitación y altitud entre los sitios (Girardin et al., 2020).

La importancia de conocer el estado de la dinámica de la caída de hojarasca es porque los bosques representan el 47% de la cobertura mundial (FAO, 2001) y son sumideros de carbono en el planeta (Aguilar et al., 2011; 2011; Rojo, Jasso & Velásquez, 2003; Quinto, Ramos & Abadía, 2007). En Costa Rica, el 43.5% del territorio terrestre es ocupado por bosques naturales, donde es posible hallar gran diversidad de ecosistemas, en su mayoría, fragmentos de bosque secundario y algunas áreas con permanencia de bosques maduros (Aguilar, 2011). Estas áreas resultan ser importantes no solo en la conservación y protección de diversidad de especies, sino en la utilización de estas como sumideros de carbono en el planeta (Metz et al., 2001). Asimismo, un aumento en la concentración de CO<sub>2</sub> puede afectar el crecimiento y desarrollo natural de bosques; con mayor CO<sub>2</sub> capturado, hay un aumento de la hojarasca, debido a que el proceso de fotosíntesis se ve estimulado (Ainsworth & Rogers, 2007).

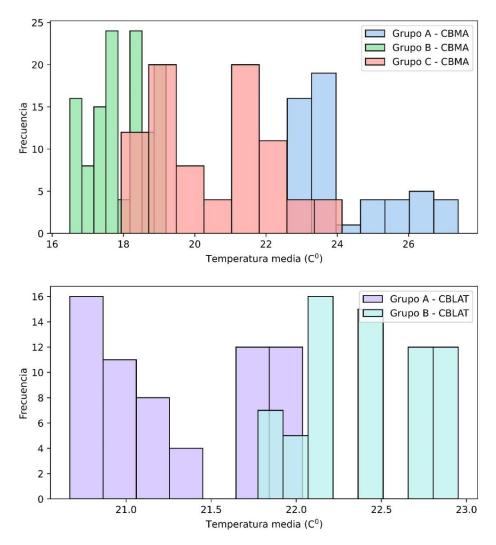
Es importante destacar que la ganancia de carbono en los bosques fragmentados depende de muchos factores más allá del estado de sucesión, como la intensidad y el tipo de fragmentación, la composición de especies, la calidad del suelo, la disponibilidad de agua y nutrientes y la frecuencia y el tipo de disturbios. Además, la recuperación de la hojarasca y el carbono en los bosques fragmentados puede llevar décadas o incluso siglos, dependiendo

de la magnitud de la fragmentación y la capacidad de recuperación del ecosistema (Laurance, Sayer & Cassman, 2014).

Las hojas son el principal componente para ambos CB (CBMA 73.5% para el Grupo A, 73.9% para el Grupo B y 69.5% para el Grupo C; CBLAT: Grupo A 36.6% y Grupo B 61.6%) (**Tabla 1**); este patrón coincide con otros estudios (de Queiroza et al., 2019; Di Stefano & Fournier, 2005; Haase et al., 1999; Huenachona, 2016; López-Hernández et al., 2013; Morellato, 1992; Muoghalu et al., 1993; Nakagawa et al., 2019; Scott et al., 1992; Sundarapandian & Swamy, 1999; Vargas-Parra & Varela, 2007).

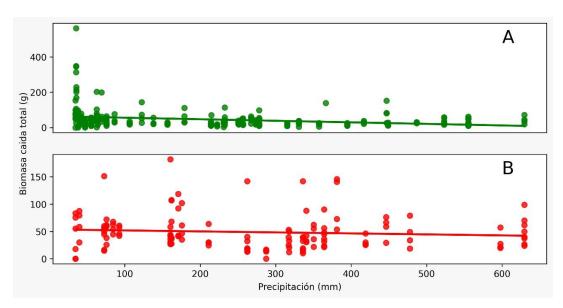
López-Hernández et al. (2013) indican que entre el 30% y el 70% del total de los nutrientes almacenados anualmente se encuentran en las hojas, lo que representa una alta demanda de estos con respecto al resto de componentes. Comprendiendo que los procesos en los bosques mantienen un retorno al suelo, donde el 70% de la producción total de hojarasca son hojas, independientemente del tipo de bosque (Meentemeyer et al., 1982), se estima que esto podría ocasionar que la acelerada descomposición de las hojas sea la forma básica para que ocurra el ciclo de nutrientes y sea una fuente de energía para los organismos heterótrofos que dependen de ello (Correia et al., 2016; Rai et al., 2016). Por tanto, la mayor contribución a la hojarasca siempre serán las hojas, a pesar de que actualmente se puedan tener algunas inconstantes debido al cambio climático (Foster & Rahmstorf, 2011).

Con respecto a la temperatura presentada en cada sitio de muestreo, se obtiene que el Grupo A (El Salvador y Ecovilla) del CBMA es el que presenta mayor temperatura media, coincidiendo con que en ambos lugares se obtuvo mayor cantidad de hojarasca (**Figura 4**). Ambos lugares presentan precipitación similar.



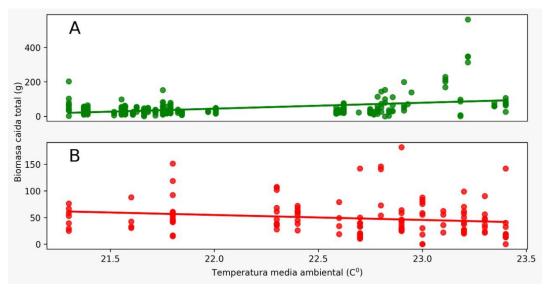
*Figura 4.* Frecuencia de temperatura media mensual obtenida en cada sitio de muestreo de los Corredores Biológicos Lago Arenal Tenorio y Montes del Aguacate, 2018-2019-2020. Fuente: Elaboración propia

En el CBMA la cantidad de biomasa caída fue mayor cuando se presentó menos de 100 mm de lluvia; mientras que en el CBLAT entre los 75 y 317 mm de precipitación se alcanzaron los índices más altos de biomasa capturada (**Figura 5**).



*Figura 5.* Comparación de la cantidad de biomasa caída con respecto a la precipitación media obtenida en los Corredores Biológicos Montes del Aguacate (A) y Lago Arenal Tenorio (B), 2018-2019-2020. Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, al analizar la biomasa caída con respecto a la temperatura media ambiental, se observa que hay una leve tendencia a tener más caída de biomasa a mayor temperatura, siendo más evidente para el CBMA, donde la mayor cantidad de captura de biomasa se obtiene al superar los 23 °C (**Figura 6**).



*Figura 6.* Frecuencia de la cantidad de biomasa caída con la temperatura media ambiental de los sitios entre corredores. Corredores Biológicos Montes del Aguacate (A) y Lago Arenal Tenorio (B), 2018-2019-2020. Fuente: Elaboración propia

Al aplicar la correlación de Pearson entre la caída de hojarasca y ambas variables climáticas, se obtuvo fuerte evidencia de correlación entre la variable de hojarasca caída y la temperatura (82.09%, p= 0.002) y una débil correlación entre la variable hojarasca caída y la precipitación (38.96%, p = 0.2362).

Diferentes autores coinciden en que mayores cantidades de hojarasca están asociadas con menores precipitaciones y temperaturas más altas, lo que coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio para el CBMA. Kume et al. (2011), Nakagawa et al. (2018) y Quinto, Ramos & Abadía (2007), evidenciaron una relación entre el aumento de la precipitación media anual y la PPN, sobre todo en ecosistemas húmedos en bosques tropicales, es decir, la PPN disminuye al ir aumentando la precipitación, porque la alta pluviosidad aumenta el ciclo de nutrientes y la disponibilidad de los mismos; mucha lluvia reduce el oxígeno en el suelo y esto es perjudicial para los microorganismos descomponedores y para las raíces de las plantas, lo que reduce la obtención de recursos, por lo tanto, reduce la productividad (Cruz, 2001; de Queiroza et al., 2019; Herbohn y Congdon, 1993; John, 1973; Lebret, Nys & Forgead, 2001). Por otro lado, Quinto, Ramos & Abadía (2007), Clark et al. (2001) y Kalácska, Calvo-Alvarado & Sánchez-Azofeifa (2005), afirman que hay una reducción de productividad al reducirse la temperatura en los sitios, que podría explicarse por la altitud, lo cual indica que, a mayor altura, menor temperatura y menor productividad.

De acuerdo con Cruz (2001) y López-Hernández et al. (2003) deberíamos tener en cuenta la dominancia de especies en los sitios de muestreo, ya que los ciclos de las caídas de hojas están influenciados por los árboles de dosel emergente y dominante. Por ejemplo, los sitios más productivos de este estudio, Ecovilla y El Salvador, son los sitios con la predominancia de especies como *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (guanacaste), *Anacardium excelsum* (Bertero & Balb. ex Kunth) Skeels (espavel) y *Brosimun alicastrum* Sw. (ojoche), que generalmente son dominantes del dosel o muy abundantes.

En este estudio solamente se consideraron factores como precipitación y temperatura, sin embargo, la variación en la productividad pudo haber estado afectada por factores como la humedad, la variabilidad de las condiciones climáticas de cada año, las técnicas utilizadas para la recolección de hojarasca en cada estudio, de los tipos de especies que

habitan el bosque, la profundidad del suelo y sus variables estructurales como la inclinación, altura del bosque, grado de ramificación, área de la copa (Cruz, 2001; López-Hernández et al., 2003; Martínez-Alonso et al., 2007; Nakagawa et al., 2018, Vargas-Parra & Varela, 2007).

De manera general, es posible desprender de esta investigación que la cantidad de biomasa caída muestra en casi todos los sitios un aumento de esta hacia los inicios de cada año, lo cual coincide con el patrón general ambiental del inicio del periodo con menor precipitación, identificando la predominancia de comunidades forestales con alta presencia de especies deciduas o semideciduas. Este patrón clásico dispara una serie de procesos e interacciones que se derivan de procesos fenológicos y que están dirigidos primariamente por la dependencia de estas comunidades forestales de la disponibilidad hídrica edáfica y el estrés hídrico atmosférico, como los reportados en bosques similares (Castro et al., 2018; Souza et al., 2019; Morffi-Mestre et al., 2020).

Al final, las mismas variaciones locales encontradas por sitio sugieren que los futuros impactos de los cambios globales van a determinar la productividad y destino final de nuestros bosques y que variarán de manera importante por sus rasgos específicos a nivel local (Hofhansl et al., 2014).

# **Conclusiones**

Existen evidencias de que la cantidad de hojarasca varía temporalmente y espacialmente a lo largo del año, pues no es homogénea por trampa por sitio de estudio debido a la heterogeneidad del dosel. Las variaciones entre los meses pueden obedecer a oscilaciones estacionales, sequías y períodos de mucha lluvia, además, la distribución de la caída de hojarasca en los sitios de estudio, también podría estar determinada por la distribución de los individuos, del tipo de especies, su edad, sus respuestas a estímulos bióticos y abióticos, la densidad de individuos, microclima, el régimen hídrico local, la herbívora, las reservas de nutrientes, la disponibilidad de agua y las condiciones climáticas locales. Los resultados del trabajo indican la importancia de continuar investigando con mayor detalle la relación suelo-vegetación y la importancia que tienen los nutrientes que brinda la hojarasca en las comunidades vegetales. Esto implica el entendimiento de la

dinámica de la deposición de la hojarasca y cómo contribuye a la conservación de las propiedades físicas y químicas del suelo, manteniendo la fertilidad del mismo, evitando la erosión, además, regenerando el suelo y manteniendo los procesos ecológicos en los CB.

La degradación de la tierra es uno de los problemas ambientales, regionales y mundiales más graves, por lo que todos los ecosistemas forestales tienen cambios considerables en sus áreas originales, principalmente debido a la acción antropogénica. En este sentido, la hojarasca representa un buen indicador de recuperación de áreas degradadas y puede ser utilizada para el establecimiento de prácticas que promuevan la sucesión y restauración ecológica de la vegetación de manera acelerada (Arato et al., 2003).

# Agradecimientos

Se agradece al equipo del proyecto "Propuesta metodológica para el estudio de la integralidad ecológica de un corredor biológico", a cargo del Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre (ICOMVIS) de la Universidad Nacional; a los funcionarios del Laboratorio de Dinámica y Restauración de Ecosistemas (LADIRECO) de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional, al Instituto Meteorológico Nacional (IMN) y al Instituto Costarricense de Electricidad (ICE).

# Referencias

Acevedo, H., & Villalobos, Y. (2015). Corredor Biológico Montes del Aguacate: Plan para la Gestión Estratégica 2015-2021. Área de Conservación Cordillera Volcánica Central. San Ramón, Costa Rica: Sistema Nacional de Áreas de Conservación. <a href="https://conservationcorridor.org/cpb/SINAC\_2015.pdf">https://conservationcorridor.org/cpb/SINAC\_2015.pdf</a>

Aguilar, H. (2011). Biomasa sobre el suelo y carbono orgánico en el suelo en cuatro estadios de sucesión de bosques en la Península de Osa, Costa Rica. Tesis de Ingeniería Forestal. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. <a href="https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/360">https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/360</a>

Aguilar-Arias, H., Ortiz-Malavassi, E., Vilchez-Alvarado, B., & Chazdon, R. L. (2011). Biomasa sobre el suelo y carbono orgánico en el suelo en cuatro estadios de sucesión

- de bosques en la Península de Osa, Costa Rica. Revista Forestal Mesoamericana Kurú, 9(22), 22-31. https://doi.org/10.18845/rfmk.v9i22.360
- Ainsworth, E. A., & Rogers, A. (2007). The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO2]: mechanisms and environmental interactions. Plant, Cell & Environment, 30(3), 258-270. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01605.x
- Anderson, J. M., & Switft, M. J. (1983). Decomposition in a tropical forest. Pp. 287-309.
  In: Sutton, S. L., Whitmore, T. C., & Chadwick, A.C. (Eds). Tropical Rainforest:
  Ecology and Management. Oxford: Blackwell. <a href="https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01515.x">https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01515.x</a>
- Arato, H. D., Martins, S. V., & Ferrari, S. H. D. S. (2003). Produção y decomposição de serapilheira em um sistema agroflorestal implantado para recuperação de área degradada em Viçosa-MG. Rev. Árvore 27, 715–721. <a href="https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000500014">https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000500014</a>
- Castro, S. M., Sánchez-Azofeifa, G. A., & Sato, H. (2018). Effect of drought on productivity in a Costa Rican tropical dry forest. Environmental Research Letters, 13(4), 045001. <a href="https://doi.org/10.1088/1748-9326/aaacbc">https://doi.org/10.1088/1748-9326/aaacbc</a>
- Clark, D. A., Brown, S., Kicklighter, D. W., Chabers, J. D., Thomlinson, J. R., & Ni, J. (2001a). Measuring Net Primary Production in forest: Concepts and field methods. Ecological Applications, 11, 356-370. <a href="https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[0356:MNPPIF]2.0.CO;2">https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[0356:MNPPIF]2.0.CO;2</a>
- Clark, D. A. Brown, S., Kicklighter, D. W., Chabers, J. D., Thomlinson, J. R., Ni, J., & Holland, E. (2001b). Net Primary Production in tropical forest: An evaluation and synthesis of existing field data. Ecological Applications, 11 (2), 371-384. https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[0371:NPPITF]2.0.CO;2
- Cruz, G. L. (2001). Comparación de la caída de hojarasca entre fragmentos y áreas de bosque continuo altoandino en la región suroccidental de la sabana de Bogotá. Trabajo de grado para optar por el título de Licenciatura en Biología. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

- https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/55703/HOJARASCA.pdf? sequence=1
- De Correia, G. G. S., Martins, S. V., Miranda, A., de Silva, K. A., de Correia, G. G. S., Martins, S. V., Miranda-Neto, A., & de Silva, K. A. (2016). Estoque de serapilheira em floresta em restauração e em Floresta atlântica de tabuleiro no sudeste brasileiro. Rev. Árvore 40(1), 13-20. <a href="https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100002">https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100002</a>
- Del Valle-Arango, J. I. (2003). Cantidad, calidad y nutrientes reciclados por la hojarasca fina de bosques pantanosos del Pacífico Sur Colombiano. Interciencia, 28, 443-449. <a href="https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\_abstract&pid=S0378-18442003000800003&lng=es&nrm=iso">https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\_abstract&pid=S0378-18442003000800003&lng=es&nrm=iso</a>
- Di Stefano, J. F., & Fournier, L. A. (2005). Caída de hojarasca y tasas de descomposición de las hojas de *Vochysia guatemalesis* en una plantación de 10 años, Tabarcia de Mora: Costa Rica. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43629102
- Epstein, H. E., Burke, I. C., & Lauenroth, W. K. (2002). Regional patterns of decomposition and primary production rates in the U.S. Great Plains. Ecology, 83, 320-327. <a href="https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1890/0012-9658(2002)083[0320:RPODAP]2.0.CO;2">https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1890/0012-9658(2002)083[0320:RPODAP]2.0.CO;2</a>
- Foster, G., & Rahmstorf, S. (2011). Evolución de la temperatura global 1979-2010. Environmental Research Letters, 6 (4), 044022. <a href="https://doi.org/10.1088/1748-9326/6/4/044022">https://doi.org/10.1088/1748-9326/6/4/044022</a>
- Fournier, L. A., & Camacho, L. (1973). Producción y descomposición del mantillo en un bosque secundario húmedo de premontano. Rev. Biol. Trop., 2 1 (1), 59–67. https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/27324
- Girardin, C. A. J., Malhi, Y., Feeley, K. J. & Rapp, J. M. (2020). Seasonality of above-ground net primary productivity along an Andean altitudinal transect in Peru. Journal of Tropical Ecology, 30(6), 503-519. <a href="https://doi.org/10.1017/S0266467414000443">https://doi.org/10.1017/S0266467414000443</a>

- Goncalves, F. G., Treuhaft, R. N., Santos, J. R., & Graca, P. M. L. A. (2014). Forest Structure and Biomass Data, La Selva, Costa Rica: 2006. ORNL DAAC, Oak Ridge, Tennessee, USA. https://doi.org/10.3334/ORNLDAAC/1215
- Gutiérrez, E. E. (2010). Métodos estadísticos para las ciencias biológicas (2ª. Ed.). Heredia, Costa Rica: Universidad Nacional.
- Gutiérrez-Montes, I. A., & Sibelet, N. (2011). Estrategia de conservación y calidad de vida en el Corredor Biológico Lago Arenal Tenorio. Costa Rica. Informe de investigación elaborado dentro del curso. Costa Rica: CATIE. <a href="https://agritrop.cirad.fr/579868/3/579868.pdf">https://agritrop.cirad.fr/579868/3/579868.pdf</a>
- Haase, R. (1999). Litterfall and nutrients return in seasonally flooded and non-flooded forest of the Pantanal, Mato Grosso, Brazil. For. Ecol. Manage., 117, 129-147. https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00477-0
- Herbohn, J. L., & Congdon, R. A. (1993). Ecosystem dynamics at disturbed and undisturbed sites in north Queensland wet tropical rainforest. II. Litterfall. Journal of Tropical Ecology, 9, 365-380. <a href="https://doi.org/10.1017/S0266467400007409">https://doi.org/10.1017/S0266467400007409</a>
- Hernández, I. M, Santa, I., & Gallardo, J. F. (1992). Dinámica de la descomposición de la hojarasca forestal en bosques de la cuenca del Duero (Provincia Zamora): modelización de la pérdida de peso. Arid Land Research and Management 6(4), 339-355. <a href="https://doi.org/10.1080/15324989209381328">https://doi.org/10.1080/15324989209381328</a>
- Hofhansl, F., Kobler, J., Ofner, J., Drage, S., Pölz, E. M., & Wanek, W. (2014). Sensitivity of tropical forest aboveground productivity to climate anomalies in SW Costa Rica. Global Biogeochemical Cycles, 28(12), 1437-1454. <a href="https://doi.org/10.1002/2014GB004934">https://doi.org/10.1002/2014GB004934</a>
- Huechacona, A. H. (2016). Dinámica de la producción de hojarasca y el índice de área foliar (IAF) en un bosque tropical seco en Yucatán. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Centro de Investigación Científica de Yucatán, México. <a href="https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/419/1/PCB\_M\_Tesis\_20">https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/419/1/PCB\_M\_Tesis\_20</a> 16\_Astrid\_Huechacona.pdf

- Instituto Geográfico Nacional. (2009). División Territorial Administrativa de la República de Costa Rica. (2 ed.). Costa Rica: Ministerio de Obras Públicas y Transportes (MOPT). <a href="https://www.imprentanacional.go.cr/editorialdigital/libros/historiaygeografia/division\_17.pdf">https://www.imprentanacional.go.cr/editorialdigital/libros/historiaygeografia/division\_17.pdf</a>
- John, D. M. (1973). Accumulation and decay of litter and net Production of forest in tropical West Africa. Oikos, 24, 430-435. https://doi.org/10.2307/3543819
- Kalácska, M., Calvo-Alvarado, J. C., & Sánchez-Azofeifa1, G. A. (2005). Calibration and assessment of seasonal changes in leaf area index of a tropical dry forest in different stages of succession. Tree Physiology, 25, 733-744. <a href="https://doi.org/10.1093/treephys/25.6.733">https://doi.org/10.1093/treephys/25.6.733</a>
- Kume, T., Tanaka, N., Kuraji, K., Komatsu, H., Yoshifuji, N., & Saitoh, T. M. (2011). Tenyear evapotranspiration estimates in a Bornean tropical rainforest. Agricultural and Forest Meteorology, 151, 1183-1192. <a href="https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2011.04.005">https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2011.04.005</a>
- Laurance, W. F., Sayer, J., & Cassman, K. G. (2014). Agricultural expansion and its impacts on tropical nature. Trends in Ecology & Evolution, 29(2), 107-116. https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.12.001
- Lebret, M., Nys, C., & Forgeard, F. (2001). Litter production in an Atlantic beech (*Fagus sylvatica* L.) time sequence. Ann. For. Sci. 58, 755-768. https://doi.org/10.1051/forest:2001161
- López-Hernández, J. M., González-Rodríguez, H., Ramírez-Lozano, R. G., Cantú-Silva, I., Gómez-Meza, M. V., Pando-Moreno, M., & Estrada-Castillón, A. E. (2013). Producción de hojarasca y retorno potencial de nutrientes en tres sitios del estado de Nuevo León, México. Polibotánica, 35, 41-64. <a href="http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1405-27682013000100003">http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1405-27682013000100003</a>
- Martínez-Alonso, C., Valladares, F., Camarero, J. J., López-Arias, M., Serrano, M., & Rodríguez, J. A. (2007). The uncoupling of secondary growth, cone and litter production by intradecadal climatic variability in a Mediterranean Scots pine forest.

- Forest Ecology and Management, 253, 19-29. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.06.043
- Meentemeyer, V., Box, E. O., & Thompson, R. T. (1982). World patterns and amounts of terrestrial litter production. BioScience, 32, 125-128. https://doi.org/10.2307/1308565
- Metz, B, O.R. Davidson, R. Swart, y J. Pan. (Eds.). (2001). Climate change 2001: Glosario de términos. Anexo B. Mitigation. Contribution of Working Group III to the Third Assessment Report of the IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Cambridge, UK / US: Cambridge University Press. 752 pp. <a href="https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/05/SYR\_TAR\_full\_report.pdf">https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/05/SYR\_TAR\_full\_report.pdf</a>
- Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE). (2020). Política Nacional de Áreas de Protección de Ríos, Quebradas, Arroyos y Nacientes, 2020-2040. San José, Costa Rica. 72 pp. <a href="https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC200065/">https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC200065/</a>
- Morellato, L. P. C. (1992). Nutrient cycling in two southeast Brazilian forests. I. Litterfall and litter standing crop. J. Trop. Ecol. 8: 205–215. <a href="https://www.jstor.org/stable/2559704">https://www.jstor.org/stable/2559704</a>
- Morera-Beita, C., Sandoval-Murillo, L. F., & Alfaro-Alvarado, L. D. (2020). Evaluación de corredores biológicos en Costa Rica: estructura de paisaje y procesos de conectividad-fragmentación. Revista Geográfica de América central 66(1), 129-155. <a href="https://dx.doi.org/10.15359/rgac.66-1.5">https://dx.doi.org/10.15359/rgac.66-1.5</a>
- Morffi-Mestre, H., Ángeles-Pérez, G., Powers, J. S., Andrade, J. L., Huechacona-Ruiz, A. H., May-Pat, Chi-May, F. & Dupuy, J. M. (2020). Multiple factors influence seasonal and interannual litterfall production in a tropical dry forest in Mexico. Forests, 11(12), 1241. <a href="https://doi.org/10.3390/f11121241">https://doi.org/10.3390/f11121241</a>
- Müller-Landau, H. C., & Wright, S. J. (2010). Litterfall Monitoring Protocol. CTFS Global Forest Carbon Research Initiative. Center for Tropical Forest Studies. Panamá. <a href="https://forestgeo.si.edu/sites/default/files/litterfall\_protocol\_2010.pdf">https://forestgeo.si.edu/sites/default/files/litterfall\_protocol\_2010.pdf</a>

- Muoghalu, J. I., Akanni, S. O., & Eretan, O. O. (1993). Litterfall and nutrient dynamics in a Nigerian rainforest seven years after a ground fire. J. Veg. Sci., 4, 323-328. https://doi.org/10.2307/3235590
- Nakagawa, M., Ushio, M., Kume, T., & Nakashizuka, T. (2019). Seasonal and long-term patterns in litterfall in a Bornean tropical rainforest. Ecological Research, 34(1), 31-39. https://doi.org/10.1111/1440-1703.1003
- Piatek, K. B., & Alen, H. L. (2000). Site preparation effects on foliar N and P use, 15-years old *Pinus taeda*. Forest Ecology and Management, 129, 143-152. https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00150-4
- Pizano, C., & Curiel, J. (2015). El monitoreo del suelo en los procesos de restauración ecológica: indicadores, cuantificadores y métodos. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. https://www.researchgate.net/publication/283486457
- Prause, J., Arcede-Caram, G., & Angeloni, P. N. (2003). Variación mensual en el aporte de cuatro especies forestales nativas del parque Chaqueño Humado (Argentina). Revista de Ciencias Forestales, (10), 39-45. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48101004
- Queiroz, M. G., Silva, T. G. F., Zolnier, S., Souza, C. A. A., Souza, L. S. B., Steidle-Neto, A. J., Araújo, G. G. L., & Ferreira, W. P. M. (2019). Seasonal patterns of deposition litterfall in a seasonal dry tropical forest. Agricultural and Forest Meteorology, 279, 107712. https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107712
- Quinto, H., Ramos-Palacios, Y. A., & Abadia-Bonilla, D. (2007). Cuantificación de la caída de hojarasca como medida de la productividad primaria neta en un bosque pluvial tropical en Salero, Chocó, Colombia. Revista institucional Universidad Tecnológica del Chocó, (26), 28-41. <a href="https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2544438.pdf">https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2544438.pdf</a>

- Rai, A., Singh, A. K., Ghosal, N., & Singh, N. (2016). Understanding the effectiveness of litter from tropical dry forests for the restoration of degraded lands. Ecol. Eng., 93, 76-81. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.014
- Reid, N., Marroquín, J., & Beyer, M. P. (1990). Utilization of shrubs and trees for browse, fuelwood and timber in the tamaulipan thorn scrub, northeastern Mexico. Forest Ecology and Management, 36, 61-79. <a href="https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90064-I">https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90064-I</a>
- Rojo, G. E., Jasso, J., & Velásquez, A. (2003). Las masas forestales como sumideros de CO2 ante un cambio climático global. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 9 (1), 57-67. <a href="https://www.redalyc.org/pdf/629/62990106.pdf">https://www.redalyc.org/pdf/629/62990106.pdf</a>
- Rotherham, I. D., & Lambert, J. D. (2011). Ecological corridors as a means of restoring and conserving biodiversity in fragmented landscapes. Journal for Nature Conservation, 19(5), 291-295. <a href="https://doi.org/10.1111/csp2.475">https://doi.org/10.1111/csp2.475</a>
- Ruíz, C., Cardona, D., & Duque, J. L. (2012). Corredores biológicos una estrategia de recuperación en paisajes altamente fragmentados. Estudio de caso Microcuenca La Bolsa, municipio de Marinilla. Gestión y Ambiente, 15(1), 7-18. <a href="https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424101002">https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424101002</a>
- Ryan, M. G. (1991). A simple method for estimating gross carbon budgets for vegetation in forest ecosystems. Tree physiology 9(1-2), 255-266. https://doi.org/10.1093/treephys/9.1-2.255
- Salas, E., Parton, L., Joyce, A., & Lauenroth, K. (1988). Primary production of the central grassland region of the United States: spatial pattern and major controls. Ecology, 69(1), 40-45. <a href="https://doi.org/10.2307/1943158">https://doi.org/10.2307/1943158</a>
- Scott, D. A., Proctor, J., & Thompson, J. (1992). Ecological studies on a lowland evergreen rainforest on Maraca Island, Roraima, Brazil. II. Litter and nutrient cycling. J. Trop. Ecol., 80, 705-717. <a href="https://doi.org/10.2307/2260861">https://doi.org/10.2307/2260861</a>
- Sistema Nacional de Áreas de Conservación (2020). Plan de Gestión del Corredor Biológico Lago Arenal Tenorio 2020-2025. Área de Conservación Arenal-

- Tempisque. Costa Rica. <a href="https://biocorredores.org/corredoresbiologicos/recursos/plan-de-gestion-del-corredor-biologico-tenorio-miravalles-2017-2022">https://biocorredores.org/corredoresbiologicos/recursos/plan-de-gestion-del-corredor-biologico-tenorio-miravalles-2017-2022</a>
- SNIT (Sistema Nacional de Información Territorial). (2020). Mapa tipo bosque SINAC. Instituto Geográfico Nacional. Costa Rica. <a href="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2?k=Y2FwYTo6U0lOQUM6Ok1CT1RDUg=="https://www.snitcr.go.cr/Visor/indexver2"https://ww
- Souza, S. R., Veloso, M. D., Espírito-Santo, M. M., Silva, J. O., Sánchez-Azofeifa, A., Souza e Brito, B. G., & Fernandes, G. W. (2019). Litterfall dynamics along a successional gradient in a Brazilian tropical dry forest. Forest Ecosystems, 6, 1-12. https://forestecosyst.springeropen.com/articles/10.1186/s40663-019-0194-y
- Sundarapandian, S. M., & Swamy, P. S. (1999). Litter production and leaf litter decomposition of selected tree species in tropical forests at Kodayar in the Western Ghats, India. For. Ecol. Manage, 123, 231-244. <a href="https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00062-6">https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00062-6</a>
- Takeda, H. (1996). Templates for the Organization of Soil Animal Communities in Tropical Forest. Ecological Research 16(5), 961-973. <a href="https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.2001.00450.x">https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.2001.00450.x</a>
- Vaneklaas, E. J. (1991). Litterfall and nutrient fluxes in two montane tropical rain forests, Colombia. Journal of Tropical Ecology, 7, 319-336. https://www.jstor.org/stable/2559629
- Vargas-Parra, L., & Varela, A. (2007). Producción de hojarasca de un bosque de niebla en la reserva natural la planada (Nariño, Colombia). Revista de la Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. Edición especial I, 12, 35-49. <a href="https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4872">https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4872</a>
- Vitousek, P. M., & Sanford, R. L. (1986). Nutrient cycling in moist tropical forest. Annual Review of Ecology and Systematics, 17, 137-167. <a href="https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.001033">https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.001033</a>

# Evaluación in vitro de hongos nematófagos contra el nematodo barrenador Radopholus similis (Cobb, 1893) Thorne, 1949 en Costa Rica

# In vitro evaluation of nematophagous fungi against the boring nematode *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 in Costa Rica



Environment & Technology | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024: 28-48

URL: <a href="https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/">https://revistaet.environmenttechnologyfoundation.org/</a>

**DOI:** https://doi.org/10.56205/ret.5-1.2

Recibido: 09/12/2023 Revisado: 12 /05/2024 Aprobado: 12 /06/2024 Berlioth Ugalde Monge Licenciada en Agricultura Alternativa Servicio Fitosanitario del Estado (SFE). San José berlioth.ugalde.monge@est.una.ac.cr https://orcid.org/0000-0002-7481-7561 Costa Rica

Roy Artavia-Carmona Licenciado en Agricultura Alternativa Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias Laboratorio de Nematología, Heredia roy.artavia.carmona@una.cr

https://orcid.org/0000-0003-0906-5444

Costa Rica

Alejandro Vargas Martínez Maestría en Estadística Aplicada Universidad Nacional. Escuela de Ciencias Agrarias. Heredia <u>alejandro.vargas.martinez@una.ac.cr</u> <u>http://orcid.org/0000-0001-8039-8984</u> Costa Rica

Walter Peraza-Padilla
Maestría en Agricultura Alternativa
Universidad Nacional. Escuela de Ciencias Agrarias
Laboratorio de Nematología, Heredia
walter.peraza.padilla@una.cr
https://orcid.org/0000-0003-4651-5555
Costa Rica

#### Resumen

El objetivo fue evaluar la capacidad nematicida in vitro de hongos nematófagos (HN) de plantaciones de banano de la región Huetar Atlántica contra el nematodo Radopholus similis. Previamente identificados los HN, se utilizaron varios aislamientos para evaluar su patogenicidad contra R. similis. Estos incluyeron dos aislamientos de Fusarium oxysporum (Fox2 y Fox3), dos de Trichoderma asperellum (Trich1 y Trich3) y uno de Purpureocillium lilacinum (Pli). Se realizó una suspensión y conteo de esporas de cada hongo para determinar la concentración de conidios (UFC/ml) a inocular. Posteriormente se depositó por plato 0,5 ml de una suspensión que contenía 60 adultos y juveniles de R. similis y se realizó el conteo de nematodos a las 24h y 42h y se verificó la capacidad depredadora de cada aislamiento. Se realizó un análisis estadístico ANOVA y comparaciones de medias con el programa estadístico InfoStat para evaluar el efecto de los tratamientos en la mortalidad de R. similis. A las 24 horas después de la inoculación, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, con un promedio de mortalidad del 15-30%. Sin embargo, a las 42 horas, se identificaron diferencias significativas en la capacidad antagónica de los aislamientos Trich3, Fox3, Fox2 y Trich1, con porcentajes de mortalidad del 53.3%, 41.6%, 37.9% y 37.7% respectivamente. El aislamiento Pli (25.8%) no mostró diferencias significativas en comparación con el control (Tx1). Los aislamientos de T. asperellum y F. oxysporum poseen una alta capacidad nematófaga contra R. similis con potencial para ser utilizados como agentes de control biológico.

Palabras clave: Nematodo barrenador; control biológico; patogenicidad; antagonismo, mortalidad

#### **Abstract**

The objective was to evaluate the in vitro nematicidal capacity of nematophagous fungi (HN) from banana plantations in the Huetar Atlantic Region against the nematode *Radopholus similis*. Once HN were previously identified, several isolates were used to evaluate their pathogenicity against *R. similis*. These included two isolates of *Fusarium oxysporum* (Fox2 and Fox3), two of *Trichoderma asperellum* (Trich1 and Trich3), and one of *Purpureocillium lilacinum* (Pli). A suspension and spore count of each fungus was carried out to determine the concentration of conidia (CFU/ml) to inoculate. Subsequently, 0.5 ml of a suspension containing 60 adults and juveniles of *R. similis* was deposited per plate and the nematodes were counted at 24 and 42 hours and the predatory capacity of each isolate was verified. An ANOVA statistical analysis and comparisons of means were performed with the InfoStat statistical program to evaluate the effect of the treatments on the mortality of *R. similis*. At 24 hours after inoculation, no significant differences were observed between treatments, with an average mortality of 15-30%. However, at 42 hours, significant differences were identified in the antagonistic capacity of the Trich3, Fox3, Fox2 and Trich1 isolates, with mortality percentages of 53.3%, 41.6%, 37.9% and 37.7% respectively. The Pli isolate (25.8%) did not show significant differences compared to the control (Tx1). The isolates of *T. asperellum* and *F. oxysporum* have a high nematophagous capacity against the *R. similis* with the potential to be used as biological control agents.

Keywords: Borer nematode; biologic control; pathogenicity; antagonism, mortality

## Introducción

El banano (*Musa paradisiaca*) es una planta procedente del Sudeste Asiático que se cultiva desde hace aproximadamente 10 000 años (UNCTAD, 2013). Esta herbácea gigante, perteneciente a la clase de las monocotiledóneas y a la familia de las musáceas, crece en los trópicos y por sus propiedades nutritivas, se posiciona entre los principales alimentos y frutas cultivadas en muchas partes del mundo (Vargas-Céspedes *et al.*, 2017).

El fruto de esta musácea representa un alimento esencial para más de 400 millones de personas a nivel mundial (Dita *et al.*, 2010). Se estima que las exportaciones mundiales de banano alcanzaron los 20,2 millones de toneladas en 2019 (FAO, 2020). Los mayores exportadores de banano a nivel mundial fueron Ecuador y Filipinas, seguido por países de América Latina y el Caribe (Guatemala, Costa Rica, Panamá y República Dominicana) (Zhiminaicela-Cabrera *et al.*, 2020).

El cultivo de banano en Costa Rica posee una importante participación en el sector agropecuario, con un valor de exportaciones de \$ 997 550 000 USD al 2019. Estos datos colocan a esta fruta en el primer lugar en términos de valor de las exportaciones del sector, lo que representó aproximadamente un 35,8% de la participación total en esta actividad. Además, durante este año, se produjeron aproximadamente 2 183 158 toneladas métricas de banano (Castillo-Benavides, 2021). Esta actividad se desarrolla en Costa Rica principalmente en la región Huetar Atlántica del país (Barraza *et al.*, 2020).

En la actualidad, la superficie de exportación de esta fruta en Costa Rica abarca alrededor de 42,066 hectáreas. Las áreas principales de cultivo de banano se encuentran distribuidas en varios cantones, destacando Limón centro, Talamanca, Matina, Guácimo, Sarapiquí, Siquirres y Pococí. Estos representan más del 97% de las hectáreas de banano cultivadas en el país (Mata-Martínez, 2021).

Al ser el banano un monocultivo, es propenso a la incidencia de enfermedades y plagas, entre estas últimas, los nematodos fitoparásitos. En plantaciones con varios años de establecidas, es común encontrar comunidades poliespecíficas de nematodos (Gowen, Quénéhervé & Fogain, 2005). De acuerdo con las frecuencias y densidades poblacionales, durante el año y en las zonas productoras de plátano y banano de cada país, *R. similis* es el

más abundante y la principal especie fitoparásita, constituyendo entre el 82 y 97% de la población de nematodos en raíces y cormos (Guzmán-Piedrahita, 2011; Holguín-Quispe, 2018).

En plantas infectadas con *R. similis*, los primeros síntomas son evidentes cuando se observan lesiones en forma de estrías que rodean completamente las raíces. Estas heridas destruyen todas las raíces y a medida que la lesión aumenta, se forman cavidades en la corteza que facilitan la entrada de otros microorganismos secundarios, como hongos, bacterias saprofitas o fitopatógenas. La presencia de estos microorganismos puede causar la muerte de la planta (Rendón-Restrepo, 2020).

Tradicionalmente el control de nematodos fitoparásitos se realiza mediante el uso de nematicidas químicos de los grupos organofosforados y carbamatos los cuales han sido clasificados como plaguicidas altamente peligrosos por su alta toxicidad (SFE, 2020). Estos productos químicos provocan efectos ambientales negativos y la eliminación de organismos no blanco como nematodos de vida libre (Arboleda, Guzmán y Mejía, 2012), los cuales juegan un papel esencial en los ecosistemas al descomponer materia orgánica, reciclar nutrientes y regular poblaciones microbianas. La creciente preocupación por reducir el uso de agroquímicos impulsa el desarrollo de tecnologías que facilitan la obtención de productos a partir de microorganismos, tanto en términos de calidad como de cantidad, para la aplicación en áreas de cultivo (Burges, 2007).

La implementación de alternativas no químicas representa un desafío en el desarrollo de estrategias para combatir plagas y enfermedades (Kerry, 2001). Dentro del amplio grupo de organismos que pueden ser utilizados se encuentran los hongos nematófagos (HN), los cuales han sido ampliamente estudiados y son los más importantes en la regulación de poblaciones de nematodos (Chen & Dickson, 2004). Los HN poseen la capacidad para capturar, atacar, matar y destruir nematodos en todos sus estadios, dependiendo de la especie y el género (Fernández-Jiménez *et al.*, 2019). La forma de captura de estos hongos es mediante órganos especializados como redes, botones y conidios adhesivos, además, algunos poseen anillos constrictores o simples (Ocampo-Gutiérrez, 2021).

La mayoría de estos hongos pueden sobrevivir como saprófitos, atacar a otros hongos (micoparásitos), colonizar raíces de plantas o ser producidos en laboratorio en medios nutritivos (Bojanich, 2019). Costa Rica posee gran potencial para utilizar los HN como medio de control biológico, debido a su diversidad y amplia distribución geográfica que incluye ecosistemas naturales y agrícolas (Varela-Benavides *et al.*, 2017). Por este motivo, la siguiente investigación tuvo como objetivo la evaluación del potencial nematicida *in vitro* de cinco hongos aislados de fincas bananeras de la Región Huetar Atlántica de Costa Rica contra una población del nematodo barrenador *Radopholus similis*.

## Metodología

#### Sitios de muestreo

Durante junio a agosto de 2021, se llevaron a cabo giras de prospección para la recolectar muestras de suelo. El muestreo se realizó de manera aleatoria tomando 25 submuestras por hectárea en seis fincas bananeras en los cantones de Limón, Pococí, Siquirres y Talamanca todas pertenecientes a la región Huetar Atlántica.

Las muestras de suelo se recolectaron con un barreno y luego se cuarteó hasta obtener aproximadamente 1 kg de muestra. Las muestras se guardaron en bolsas plásticas y se etiquetaron con la fecha, el lugar de recolección y las coordenadas geográficas correspondientes. Posteriormente, cada muestra se trasladó en un contenedor térmico al Laboratorio de Nematología de la Universidad Nacional para su procesamiento y análisis.

## Aislamiento, purificación e identificación de hongos antagonistas

El aislamiento de HN en las muestras de suelo se llevó a cabo utilizando el método de "espolvoreado en placa" descrito por Barrón (1977). Para cada muestra recolectada, se extrajo entre 0,5 a 1,0 g de suelo, el cual se dispuso en platos Petri con agar-agua (AA) de 10 cm de diámetro. Este procedimiento se realizó con un total de 5 repeticiones por cada localidad muestreada. Posteriormente se incubó cada caja Petri a temperatura ambiente (17-27°C) a luz natural durante una semana.

Después de observar la presencia de estructuras como hifas, conidios o esporas, se procedió al aislamiento con la ayuda de un pincel delgado con un cabello fino unido al extremo anterior que permitió sujetar dichas estructuras. Luego, cada estructura encontrada se colocó en platos Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) con ácido láctico al 25% (p/v) que evitó la presencia de bacterias y favoreció el crecimiento micelial (Sánchez-Miranda *et al.*, 2021).

Después de una semana, se observó el crecimiento de los hongos y se llevó a cabo la fase de purificación y replicación mediante tres repeticiones en platos Petri con PDA y antibiótico hasta obtener cultivos puros. Posteriormente mediante la técnica de cultivos monospóricos descrita por Cañedo y Ames (2004), se establecieron tres repeticiones de cultivos monospóricos para cada aislamiento. Para conservar cada hongo aislado se utilizó el "método de conservación en aceite mineral estéril", descrito por Little y Gordon (1967), y modificado por Deshmukh (2003). Los hongos se conservaron en viales de 7 cm alto x 1.6 cm de ancho con capacidad para 25 ml con PDA y aceite mineral a una temperatura de 4°C, lo cual redujo su tasa metabólica para preservar su viabilidad a largo plazo.

La identificación morfológica se realizó con las claves de Cooke y Godfrey (1964) y Barnett y Hunter (1998). Se realizó un montaje de las estructuras fúngicas para cada uno de los hongos aislados. Se utilizó un microscopio Nikon eclipse 80*i* y se observó cada hongo a una ampliación de 100x. Se comparó la morfología observada con las características descritas en las claves mencionadas anteriormente, con el fin de lograr la identificación cada hongo.

Para la identificación molecular de los hongos, se realizó la extracción de ADN mediante la metodología de Hoyos-Carvajal *et al.* (2008), con algunas modificaciones y se efectuaron pruebas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) para la amplificar de distintas regiones del genoma (ITS, TEF1α, 1-alfa, rpb2 y β-tubulina). Los productos de PCR se evaluaron por electroforesis en geles de agarosa TopVision al 1% teñidos con GelRed 1X y se visualizaron bajo a luz UV. Posteriormente, fueron enviados a Macrogen Inc. en Corea del Sur, para su purificación y secuenciación en ambas direcciones mediante el método Sanger (Sanger *et al.*, 1977).

Una vez obtenidos estos resultados, se construyeron secuencias consenso y se editaron utilizando el programa BioEdit Sequence Alignment Editor versión 7.2.5, a partir

de las dos hebras (*forward* y *reverse*) con respecto al electroferograma obtenido. Finalmente, se compararon las secuencias de ADN obtenidas con accesiones reportadas en el GenBank® por medio de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov">http://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>) para la identificación de especies.

## Reproducción de R. similis en discos de zanahoria

Para obtener el inóculo del nematodo, se utilizó la metodología descrita por O´Bannon y Taylor (1968) y Moody *et al.* (1973), se llevó a cabo en el Laboratorio de Nematología de la UNA. Para la reproducción de la población de *R. similis* en cultivo monoxénico, se utilizaron zanahorias frescas y sanas. Las zanahorias se desinfectaron previamente utilizando detergente líquido para eliminar cualquier contaminante externo. Luego, se dejaron sumergidas 15 minutos en una solución que contenía 2 L de agua destilada y 400 mL de cloro al 3%. Transcurrido ese tiempo, se lavaron con agua destilada y se llevaron a una cámara de flujo laminar previamente desinfectada donde se flamearon con alcohol al 95%. Luego, se eliminó la cáscara de la zanahoria y se cortó en discos de 4 cm de diámetro por 0.5 cm ancho.

En total se cortaron 10 discos que fueron transferidos con pinzas previamente esterilizadas a platos Petri de 6 cm de diámetro y se sellaron con papel Parafilm®. Durante tres días se observó cada plato Petri para descartar alguna contaminación. Posteriormente, se procedió a inocular en cada uno de ellos de una suspensión de 75 µl de agua destilada que contenía aproximadamente 100 nematodos. Los platos Petri fueron rotulados y sellados nuevamente con papel Parafilm® y se almacenaron en una incubadora en oscuridad a una temperatura de 27 °C. Dos meses después de la inoculación, se observó la reproducción de los nematodos en los discos de zanahoria.

## Pruebas de antagonismo in vitro

Se utilizaron cinco HN previamente identificados morfológica y molecularmente para las pruebas *in vitro* los cuales se encontraban en medio papa dextrosa agar (PDA). Después se preparó una suspensión de esporas de cada hongo, rozando con un asa bacteriológica la superficie del medio de cultivo junto con el hongo. Posteriormente, se realizó el conteo de

esporas en un hematocitómetro y se determinó la concentración de conidios (UFC/ml) a colocar por plato Petri. Las pruebas de antagonismo se realizaron en el Laboratorio de Nematología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la UNA.

Para determinar el potencial biocontrolador de los hongos seleccionados se utilizaron cajas Petri de 6 cm para cada hongo. Cada caja contenía 8 ml de AA (20g/L). Además, se adicionó una cantidad anteriormente definida de UFC (1x10<sup>6</sup>) para cada aislamiento. Los platos Petri se incubaron entre 17 a 27°C y luz natural durante cuatro días. Posteriormente, se realizó el lavado con agua destilada de los discos de zanahoria que contenían los nematodos; el objetivo era obtener la máxima cantidad posible de nematodos.

Luego se llevaron a cabo los conteos, se realizaron diluciones y se obtuvo la cantidad requerida de nematodos por alícuota. Se depositó por plato 0,5 ml de una suspensión con 60 individuos (hembras, machos y juveniles) de la especie *R. similis*. Las cajas se incubaron en las condiciones de luz y temperatura descritas anteriormente y por último se realizó el conteo de nematodos a las 24h y 42h y se verificó la capacidad antagónica de cada aislamiento. Se llevó a cabo la observación y verificación de la capacidad de movimiento de los nematodos. En los casos en que no se evidenció actividad de desplazamiento, se utilizó un pescador de nematodos para comprobar su estado, es decir, si estaban vivos o muertos.

## Diseño experimental

La unidad experimental correspondió a la misma que la unidad observacional, que consistió en una placa Petri con agar agua que contenía una suspensión de 0.5 ml de nematodos. La estructura de tratamiento fue bifactorial con interacción, donde el primer factor fueron los hongos nematófagos con cinco niveles correspondientes a los aislamientos y el segundo factor fueron las evaluaciones con 2 niveles correspondientes a las lecturas. Cada combinación de factores tuvo cinco repeticiones y por ser la parcela homogénea estructuralmente, se estableció un diseño completamente aleatorizado (DCA).

## Análisis estadístico

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de mortalidad en *R. similis*, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con medidas repetidas en el tiempo bajo la teoría de los modelos lineales mixtos. El modelo lineal para el experimento fue bifactorial con interacción. Se comprobaron los supuestos del ANOVA con gráficos diagnósticos (cuantiles de los términos de error, gráficos de residuos y gráficos de residuos vs. predichos) y se escogió el mejor modelo en función de los criterios de Akaike (AIC) y de información Bayesiano (BIC). Una vez comprobado que en el porcentaje de mortalidad existieron diferencias estadísticas para la interacción o algún factor individual, se realizó las comparaciones de medias por medio de la prueba de Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (p ≤0.05) y se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020).

## Resultado y discusión

## Identificación morfológica y molecular de HN

Se aislaron un total de cinco HN, basados en las descripciones microscópicas, aspectos morfológicos y la identificación molecular mediante PCR. Los resultados obtenidos de las comparaciones de las secuencias de nucleótidos con accesiones reportadas en el GenBank®, permitieron la correcta identificación de cada uno de los cinco hongos. La secuencia de nucleótidos de la región TEF1-α de los aislamientos provenientes de muestras de suelo de Siquirres (Fox2) y de Pococí (Fox3) presentaron un nivel de homología de 100% con *F. oxysporum* (MN386735) reportado en Malasia (Kee *et al.*, 2020).

La secuencia de nucleótidos de los productos amplificados de la región TEF1-α de los aislamientos Trich1 de Limón y Trich3 de Pococí, presentaron homología del 100% con *T. asperellum* (MZ442656) reportado en Paraguay (Florentín, 2022). Finalmente, el aislamiento Pli proveniente de muestras de suelo de Talamanca, presentó un nivel de homología del 99.7% en el gen de la β-tubulina con respecto a *P. lilacinum* (KY488512) reportado en Brasil (Amatuzzi *et al.*, 2017). Las secuencias obtenidas en este estudio fueron subidas al GenBank® y se obtuvieron los números de accesión para cada uno de los hongos identificados (Tabla 1).

**Tabla 1.**Origen e identificación de los hongos nematófagos aislados de muestras de suelo de la Región Huetar Atlántica, utilizados en las pruebas in vitro. Costa Rica, 2021

Procedencia	Nombre científico	Código	Identidad (%*)	Accesión* *	
Pococí	Trichoderma asperellum	Trich3	100	OR418173	
Siquirres	Fusarium oxysporum	Fox2	100	OR828460	
Limón	Trichoderma asperellum	Trich1	100	OR418174	
Pococí	Fusarium oxysporum	Fox3	100	OR828461	
Talamanca	Purpureocillium lilacinum	Pli	99,7	OR418119	

<sup>\*</sup>Porcentajes de identidad (%) calculados por medio de la herramienta en línea BLAST Nucleotide del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). \*\* Números de accesión de cada uno de los hongos identificados en este estudio.

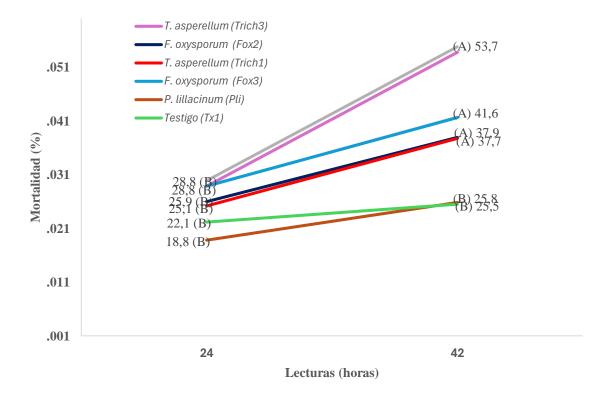
## Evaluación del antagonismo in vitro de hongos nematófagos

El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la interacción de los hongos con las evaluaciones (p<0.05), lo que evidenció una relación entre los diferentes aislamientos y el tiempo de lectura. Estas variaciones ejercieron un impacto significativo en la capacidad antagónica sobre los nematodos, ya que el índice de mortalidad más alto se observó luego de 42 horas de exposición, en comparación con la primera lectura efectuada a las 24 horas.

El tratamiento control (Tx1), el cual únicamente contenía nematodos en los platos Petri, en términos del porcentaje de mortalidad, fue similar a los otros tratamientos en los dos tiempos de lectura (p<0.005). El tratamiento control (Tx1) manifestó en promedio un porcentaje de mortalidad del 22.1% en la primera lectura (24 horas) y un 25.5% en la segunda lectura (42 horas) (Figura 1). La diferencia en mortalidad en ambas lecturas fue del 3,3%, lo que hace indicar que *R. similis* se mantuvo activo y móvil, como era de esperar, ya

que los nematodos se encontraban en el medio de cultivo AA + agua destilada, sin estar expuestos a ningún antagonista.

En el caso de *T. asperellum (Trich3)* y *T. asperellum (Trich1)* mostraron un promedio de porcentaje de mortalidad del 28.8% y 25.1%, a las 24 horas después de la inoculación respectivamente. Estos valores no presentaron una diferencia significativa en comparación con el tratamiento control (Tx1). A las 42 horas de exposición, los tratamientos Trich3 y Trich1 mostraron un aumento en el promedio de porcentaje de mortalidad, con valores del 53.3% y 37.7%, es decir, la diferencias entre ambos fueron del 24.5% y 12.6% respectivamente. Estos resultados tienen relación con los reportados por Candelero et al. (2015), quienes mediante pruebas in vitro después de 48 horas de inoculación, demostraron la capacidad antagónica de varias especies de *Trichoderma spp.* sobre juveniles de *Meloidogyne incognita* con porcentajes de reducción, en algunos casos, de hasta el 100%.



*Figura 1.* Gráfico de líneas de las medias de mortalidad (%) en función de los aislamientos para cada lectura [Medias con letra común no son diferentes estadísticamente (p>0.05)].

En las cajas Petri inoculadas con *T. asperellum* (Trich1 y Trich3), se observó gran cantidad de esporas y micelio alrededor de la cutícula de los nematodos (Figura 2 A y B). Este efecto se podría asociar con la capacidad de micoparasitismo que posee *Trichoderma*, así como a su habilidad para competir por recursos nutricionales y espacio. De acuerdo con Herrera *et al.* (2023), el fenómeno de micoparasitismo involucra la producción de una variedad de enzimas, entre las cuales se incluyen quitinasas, glucanasas, quitobionas, peroxidasas, celulasas y proteasas. Estas enzimas, pudieron en este estudio, explicar la capacidad de este hongo de penetrar la cutícula de los nematodos. Además, investigaciones realizadas por Medina-Olea (2020) y Hernández-Ochandía *et al.* (2015), indicaron que aislamientos de *T. asperellum* poseen la habilidad de degradar la pared celular de *R. similis*, lo cual está directamente vinculado con la actividad de las enzimas líticas mencionadas anteriormente.

Asimismo, no se descarta la posibilidad de que *T. asperellum* (Trich1 y Trich3) hayan producido y liberado al medio, metabolitos secundarios (MS) que, al interactuar con los nematodos, hayan provocado su inmovilización y finalmente la muerte. Según Medina (2016) y Mesa-Vanegas *et al.* (2019), algunos de estos compuestos son policétidos, terpenos, terpenoides, pirógenos, fenoles y alcaloides.

En el caso de los dos aislamientos de *F. oxysporum* (Fox2 y Fox3), ambas presentaron porcentajes de mortalidad del 25.9% y 28.8% respectivamente, a las 24 horas después de la inoculación, similares al tratamiento control (Tx1) que fue de 25.5 %. Ambos aislamientos, no mostraron diferencias estadísticamente significativas en términos del promedio de mortalidad en comparación con el Tx1 en la primera lectura.

En la segunda lectura, ambos tratamientos (Fox2 y Fox3), mostraron un aumento significativo en el promedio de mortalidad de adultos y juveniles de *R. similis* con porcentajes del 37.9% y 41.6% respectivamente. Ambos aislamientos mostraron diferencias del 12.0% y 12.8% en la segunda lectura a las 42 horas.

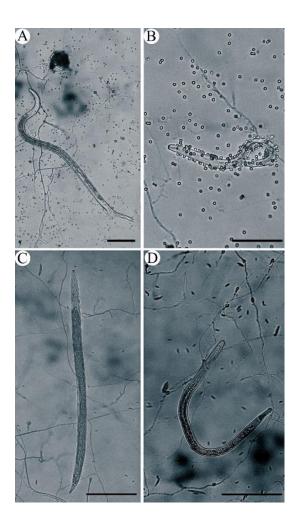
Resultados similares con el uso de compuestos como la bikaverina y el ácido fusárico, aislados del hongo endófito *F. oxysporum*, fueron reportados por Seong *et al.* (2021). Estos compuestos produjeron mortalidades del 50.0% y 43.0% al nematodo

Bursaphelenchus xylophilus, respectivamente. En este estudio, la observación de nematodos juveniles y adultos inmóviles en los platos Petri inoculados con este hongo, podría indicar la presencia de este compuesto (Figura 2 C y D). Adicionalmente, en un ensayo realizado por Morales-García (2014), en el cual evaluó el potencial de biocontrol de dos aislamientos de *F. oxysporum* contra *R. similis* en plantas de banano producidas en condiciones *in vitro*, se obtuvieron resultados similares a los de este estudio con una reducción de las poblaciones en raíz de un 39.2% y 54.1%, respectivamente.

De los cinco aislamientos utilizadas en esta investigación, *P. lilacinum* (Pli) fue el que mostró el menor porcentaje de parasitismo como potencial agente de control biológico. En la lectura a las 24 horas, mostró un porcentaje de mortalidad del 18.8%, menor que el que se observó en el tratamiento control (Tx1). En la segunda lectura a las 42 horas, alcanzó un promedio de mortalidad del 25.8%, sin mostrar diferencias significativas con respecto al (Tx1) y con una media muy por debajo de los demás tratamientos (Trich1, Trich3, Fox2 y Fox3) (Figura 1).

En una investigación realizada por Varela-Benavides *et al.* (2017), donde evaluaron el potencial antagonista *in vitro* de *P. lilacinum* a las 96 horas contra *R. similis*, obtuvieron una tasa de mortalidad del 37.2%, lo que representó una diferencia del 11.4% mayor en comparación con los resultados obtenidos en este estudio, con el uso de un aislamiento de la misma especie. La diferencia en el porcentaje de mortalidad podría estar relacionada con algunas variables como el tiempo de exposición del nematodo con el antagonista, el sitio donde fue aislado y el tipo de suelo (Flores-Castañeda, 2016).

Adicionalmente, podría obedecer a pequeñas variaciones en las condiciones de laboratorio, como la temperatura, humedad y el medio de cultivo. Por otra parte, a pesar de ser la misma especie, las diferencias en el parasitismo podrían deberse a la variabilidad genética y fisiológica de cada aislamiento de hongo, según su nivel de eficacia.



*Figura 2.* Actividad nematófaga de algunos aislamientos utilizados para las pruebas las pruebas in vitro. A: *F. oxysporum.* B: *T. asperellum.* C: *F. oxysporum.* D: *T. asperellum.* Heredia, 2023. Escala: A: 110 μm. B: 120 μm. C: 170 μm y D: 145 μm.

## **Conclusiones**

Se observó un aumento significativo en el porcentaje de mortalidad de los nematodos en los tratamientos después de 42 horas de exposición en comparación con las mediciones realizadas a las 24 horas. Los hongos *T. asperellum* y *F. oxysporum* demostraron una mayor eficacia en el control de *R. similis* en comparación con *P. lilacinus* y el tratamiento control.

Los resultados revelaron una interacción importante entre las variables de tipo de hongo y tiempo de exposición. Esto significa que el efecto de los hongos en la mortalidad de los nematodos puede variar dependiendo del tiempo de exposición.

El uso de hongos nematófagos es una prometedora estrategia de control de nematodos fitoparásitos; sin embargo, se requieren más investigaciones para evaluar su eficacia en diversas condiciones de suelo y cultivos, así como para determinar su posible impacto ambiental y en otros organismos no objetivo. Es importante realizar pruebas en invernadero y campo para confirmar el potencial de estos hongos como controladores de nematodos y para identificar factores que puedan afectar su efectividad, como temperatura, densidad de inóculo y fuentes de carbono.

Finalmente, este estudio brinda información importante sobre el potencial de algunos de estos hongos como métodos alternativos para el control de *R. similis* en el suelo. Además, se evidenció la presencia de HN en la región Huetar Atlántica, por lo que podrían ser una alternativa más a los programas de manejo integrado de plagas (MIP) en cultivos de importancia agrícola en Costa Rica, para reducir el uso de nematicidas altamente tóxicos que provocan efectos negativos a la salud humana y al ambiente.

## Agradecimiento

Los autores desean agradecer toda la ayuda brindada al Ing. Agrónomo Jefferson Araúz Badilla.

#### Referencias

Arboleda, F., Guzmán, A., & Mejía, L. F. (2012). Efecto de extractos cetónicos de higuerilla (*Ricinus communis* Linneo.) sobre el nematodo barrenador [*Radopholus similis* (cobb.) thorne] en condiciones in vitro. *Luna Azul*, 35, 28-47. Recuperado de <a href="https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/lunazul/article/view/1724">https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/lunazul/article/view/1724</a>.

Amatuzzi, R.F., Poitevin, C. G., Poltronieri, A. S., Zawadneak, M. A. C. & Pimentel, I. C. (2017). Entomopathogenic fungi as a biological control agent against *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae). Basic Pathology, Federal University of

- Parana State, Centro Politécnico, Curitiba, Parana 91531990. Brasil, 10(1), 18. Recuperado de https://doi.org/10.1590/1519-6984.166681
- Barnett, H., & Hunter, B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. The American Phytopathological Society. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington State University, Pullman. APS Press. USA. St. Paul, Minnesota USA.
- Barraza, D., Jansen, K., Wesseling, C., & van Wendel de Joode, B. (2020). Pesticide risk perceptions among bystanders of aerial spraying on bananas in Costa Rica. *Environmental Research*, 189. Art. 109877. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109877">https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109877</a>
- Barrón, G. L. (1977). The nematode destroying fungi. Lancaster, Pennsylvania. USA. Lancaster Press, Inc. 140 p.
- Bojanich, M. V. (2019). Interacción biológica de las enzimas producidas por hongos nematófagos saprófitos de suelo, contra huevos de *Toxocara canis*. [Tesis de Doctorado] Universidad Nacional de La Plata. Recuperado de <a href="http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/74972">http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/74972</a>.
- Burges, H. D. (2007). Techniques for testing microbials for control of arthropod pests in greenhouses. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*, 463-479. Recuperado de https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5933-9\_22
- Candelero, D., Cristóbal, A., Reyes, R., Tun, S., Gamboa, A., & Ruíz, S. E. (2015). *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense*Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, *Phyton*, 84(1), 113-119. Recuperado de

  <a href="https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.113">https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.113</a>
- Cañedo, V., & T. Ames. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62 p. Recuperado de <a href="http://www.cipotato.org/library/pdfdocs/AN65216.pdf">http://www.cipotato.org/library/pdfdocs/AN65216.pdf</a>.

- Castillo-Benavides, J. (2021). Desarrollo de una propuesta metodológica para evaluar la contribución del sector bananero al desarrollo territorial sostenible del cantón de Matina en la provincia de Limón, Costa Rica. [Tesis Maestría] Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. Recuperado de <a href="https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/10579/Desarrollo de una propuesta\_metodol%c3%b3gica.pdf?sequence=5&isAllowed=y">https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/10579/Desarrollo de una propuesta\_metodol%c3%b3gica.pdf?sequence=5&isAllowed=y</a>
- Chen, S. & Dickson, D. (2004). Biological control of nematodes by fungal antagonist. Nematology. *Advances and perspectives*, 2. Beijing, China.
- Cooke, R. & Godfrey, B. (1964). A key to the nematode-destroying fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 47(1), 61-74.
- Deshmukh, S. (2003). The Maintenance and Preservation of Keratinophilic Fungi and Related Dermatophytes. *Mycoses*, 46, 203-207, Alemania. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00860.x">https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00860.x</a>
- Dita, M., Waalwijk, C., Buddenhagen, I., Souza Jr, M. & Kema, G. (2010). A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant pathology*, 59(2), 348-357. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02221.x">https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02221.x</a>
- Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., González L., Tablada M., & Robledo, C. (2020). Centro de Transferencia InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <a href="http://www.infostat.com.ar">http://www.infostat.com.ar</a>
- FAO. (2020). Análisis del mercado del banano: resultados preliminares 2019. Roma. Recuperado de https://www.fao.org/publications/card/es/c/CA7567ES/
- Fernández-Jiménez, M., Bulla-Castañeda, D., Sanabria-Villate, A., & Pulido-Medellín, M. (2019). Implementación de hongos nematófagos para el control de parásitos gastrointestinales. *Pensamiento y Acción*, 27, 7-20. Recuperado de Recuperado de <a href="https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento\_accion/article/view/10201">https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento\_accion/article/view/10201</a>

- Flores-Castañeda, D. (2016). Evaluación del potencial nematófago de los hongos Arthrobotrys musiformis y Arthrobotrys oligospora en bovinos. [Tesis Licenciatura] Universidad de La Salle. Colombia.
- Florentin, M. (2022). Isolation and characterization of *Trichoderma* species with biocontrol potential from Paraguay. Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Mcal. Lopez, San Lorenzo, Paraguay. Recuperado de <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MZ442656.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MZ442656.1</a>
- Gowen, S. R., Quénéhervé, P. & Fogain, R. (2005) Nematode parasites of bananas and plantains. In: Luc, M., Sikora, R. A. and Bridge, J. (eds.) Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CABI, Wallingford,
- Holguín-Quispe, A. (2018). Nematodos parásitos asociados al cultivo de banano (*Musa* spp.) en el distrito de la matanza, Valle del Alto Piura. Perú. [Tesis Licenciatura]. Universidad Nacional de Piura. Recuperado de <a href="http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/1287">http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/1287</a>
- Herrera, E., Reyes, M., Cristóbal, J., Basto, C., Zavala, M. (2023). *Trichoderma*: recurso microbiológico y sus aplicaciones en la agricultura en Yucatán, México. *Centro de Investigación Científica de Yucatán*, A.C. Recuperado de <a href="http://www.cicy.mx/sitios/desde\_herbario/">http://www.cicy.mx/sitios/desde\_herbario/</a>
- Hernández-Ochandía, D., Rodríguez, M., Peteira, B., Miranda, I., Arias, Y. & Martínez, B. (2015). Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* Chitwood. *Protección Vegetal.* 30(2), 139-147.
- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I. & Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 451-458. Recuperado de <a href="https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11477">https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11477</a>

- Guzmán-Piedrahita, O. (2011). El nematodo barrenador (*R. similis* [Cobb] Thorne) del banano y plátano. *Revista Luna Azul, 33*, 137-153. Universidad de Caldas Manizales, Colombia.
- Kee, Y., Zakaria, L., & Mohd, M. (2020). Morphology, phylogeny and pathogenicity of Fusarium species from *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. *Plant Pathology*, 69(3), 442-454. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1111/ppa.13138">https://doi.org/10.1111/ppa.13138</a>
- Kerry, B. R. (2001). Exploitation of the nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). Fungi as Biocontrol Agents-Progress, Problems and Potential. Wallingford, UK: *CAB International*, 155-166. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1079/9780851993560.0155">https://doi.org/10.1079/9780851993560.0155</a>.
- Little, G. & Gordon, M. (1967). «Survival of Fungal Cultures Maintained Under Mineral Oils for Twelve Years. *Mycologia*, *59* (4), 733-736, EE. UU. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.2307/3757105">https://doi.org/10.2307/3757105</a>
- Mata-Martínez, F. (2021). El encadenamiento productivo desarrollado por las empresas bananeras en la zona Huetar Caribe de Costa Rica: estudio de caso sobre upgrading social y económico. [Tesis Maestría]. Universidad Nacional de Costa Rica. Recuperado de <a href="https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/22504">https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/22504</a>.
- Medina Olea, R. (2020). Manejo integrado del nematodo (*Radopholus similis*) en el cultivo de banano (Musa AAA)". [Tesis de Bachillerato]. Universidad Técnica De Babahoyo, Ecuador. Recuperado de <a href="http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8373">http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8373</a>
- Medina, F. S. (2016). Mecanismos de protección de *Trichoderma* sp. y patogénesis de *Fusarium oxysporum* en el Nardo (*Polianthes tuberosa*) [Tesis Doctorado]. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
   Guadalajara, Jalisco. Recuperado de <a href="http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/373">http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/373</a>
- Mesa-Vanegas, A. M., Marín, A., & Calle-Osorno, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades*

- biológicas, 41(111), 32-44. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02">https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02</a>
- Moody, E., Lownsbery, B., & Ahmed, J. (1973). Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology*, 5(3), 225.
- Morales-García, D. (2014). Bioprospección de hongos endófitos para el control biológico del nematodo barrenador *R. similis* (Cobb) Thorne en el cultivo del banano. [Tesis Maestría]. Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. Recuperado de <a href="https://hdl.handle.net/2238/5797">https://hdl.handle.net/2238/5797</a>
- O'Bannon, J., & Taylor, A. (1968). Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. *Phytopathology*, 58(3), 385.
- Ocampo-Gutiérrez, A. (2021). Caracterización taxonómica y actividad depredadora de hongos nematófagos, evaluación y clasificación química de los compuestos con actividad nematicida contra *Haemonchus contortus*. [Tesis Doctorado]. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. Recuperado de <a href="http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1487">http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1487</a>
- Rendón-Restrepo, L. (2020). Capacitación a productores sobre el nematodo fitoparásito *Radopholus similis*, en cultivos de musáceas y su respectivo biocontrolador, *Paecilomyces lilacinus*, en el municipio de Andes-Antioquia, Colombia. [Tesis de grado]. Universidad de Antioquia. Recuperado de <a href="https://hdl.handle.net/10495/18372">https://hdl.handle.net/10495/18372</a>.
- Sánchez-Miranda, M. D., Moreno-Mayorga, L. F., & Páramo-Aguilera, L. A. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. Revista *Ciencia Y Tecnología* El Higo, 11(1), 26–42. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715">https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715</a>
- Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B.G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fides, C. A., Hutchison, C. A., Slocombe, M., Smith, M. (1977). Nucleotide sequence of bacteriophage uX174 DNA. Nature, 265:687-95. Recuperado de https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/870828/

- Servicio Fitosanitario del Estado (SFE). (2020). Productos restringidos en Costa Rica al 01/06/2020. Unidad de registros de Agroquímicos y equipos de aplicación. Departamento de agroquímicos y equipos. Recuperado de <a href="https://www.sfe.go.cr/DocsStatusRegistro/Listado\_de\_Restringidos.pdf">https://www.sfe.go.cr/DocsStatusRegistro/Listado\_de\_Restringidos.pdf</a>.
- Seong, J., Shin, J., Kim, K., & Cho, B.K. (2021). Microbial production of nematicidal agents for controlling plant-parasitic nematodes. *Process Biochemistry*, *108*, 69–79. Recuperado de <a href="https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.006">https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.006</a>
- UNCTAD. (2013). Mercado de productos básicos en los países en desarrollo: Banano. Ginebra, Suiza. Recuperado de <a href="https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM\_cp01\_Banana\_es.pdf">https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM\_cp01\_Banana\_es.pdf</a>.
- Varela-Benavides, I., Durán-Mora, J. & Guzmán-Hernández, T. (2017). Evaluación in vitro de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis. Revista Tecnología en Marcha*, 30(1), 27-37. Recuperado de <a href="https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\_marcha/article/view/3062">https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\_marcha/article/view/3062</a>
- Vargas, A., Watler, W., Morales, M. & Vignola, R. (2017). Ficha técnica cultivo de banano. Prácticas efectivas para la reducción de impactos por eventos climáticos en el cultivo de banano en Costa Rica. Recuperado de <a href="https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8205.pdf">https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8205.pdf</a>.
- Zhiminaicela Cabrera, J. B., Quevedo Guerrero, J. N., & García Batista, R. M. (2020). La producción de banano en la Provincial de El Oro y su impacto en la agrobiodiversidad. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, *3*(3), 189-195. Recuperado de <a href="https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/327/350.">https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/327/350.</a>

# Evaluación de un sistema hidropónico familiar como una alternativa alimentaria sustentable en el centro de Veracruz, México

# Evaluation of a family hydroponic system as a sustainable food alternative in central Veracruz, Mexico



#### Environment & Technology | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024: 49-65

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

**DOI:** <a href="https://doi.org/10.56205/ret.5-1.3">https://doi.org/10.56205/ret.5-1.3</a>

Recibido:12/04/2024 Revisado: 16/05/2024 Aprobado: 02/09/2024

## Juan Antonio Pérez-Sato

PhD in Animal and Plant Science Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba https://orcid.org/0000-0002-8842-6262 pantonio@colpos.mx México

#### Ricardo Sánchez-Páez

Maestro Tecnólogo en Agronegocios Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba https://orcid.org/0000-0002-6988-871X risa@colpos.mx México

#### Jaime Ernesto Rivera-Hernández

PhD en Ciencias Naturales para el Desarrollo Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba <a href="https://orcid.org/0000-0003-4240-9966">https://orcid.org/0000-0003-4240-9966</a>
<a href="mailto:rivalcan@gmail.com">rivalcan@gmail.com</a>
México

## Graciela Alcántara-Salinas

PhD en Etnobiología Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba https://orcid.org/0000-0002-3673-2831 alcantara.graciela@colpos.mx México

## Amauri Díaz-Solís

Biólogo
Centro de Estudios Geográficos, Biológicos y Comunitarios, S.C.

<a href="https://orcid.org/0000-0002-4274-6260">https://orcid.org/0000-0002-4274-6260</a>

<a href="mailto:adiazs@geobicom.org">adiazs@geobicom.org</a>

México

## Elda Lucía Santiago-Pacheco

Ingeniera Agrónoma
Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba
<a href="https://orcid.org/0009-0007-2984-1494">https://orcid.org/0009-0007-2984-1494</a>
<a href="mailto:elsp.260994@outlook.com">elsp.260994@outlook.com</a>
<a href="mailto:mailt

#### Resumen

La acuaponía es un sistema de producción agrícola resultado de la combinación de otros dos sistemas: la hidroponía (cultivo de vegetales que utilizan soluciones acuosas con nutrientes disueltos) y la acuicultura (cultivo de peces). El objetivo de la presente investigación fue evaluar el crecimiento de cultivos de *Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam. y *L. sativa* var. *angustana* Irish ex Bremer, coexistiendo con "mojarra tilapia" (*Oreochromis niloticus* L.), en un sistema acuapónico familiar de raíz flotante. Para lo anterior, se consideraron dos parámetros para monitorear el desarrollo y crecimiento de las plantas: número de hojas y longitud de raíz. Con el fin de dar un seguimiento a la calidad del agua de los estanques a lo largo del tiempo que duró el estudio, se registraron dos veces por semana las variables fisicoquímicas: pH, oxígeno disuelto (OD) en ml/l y temperatura en grados Celsius. Los resultados indican que hubo diferencias significativas en el crecimiento y adaptación entre ambas variedades de lechugas al sistema acuapónico. *Lactuca sativa* var. *longifolia*, presentó un desarrollo vegetativo significativamente mayor en comparación con *L. sativa* var. *angustana*, así como un mayor número de hojas y una mayor longitud radicular. Se concluye que es factible el cultivo acuapónico de *Lactuca sativa* var. *longifolia* en un sistema familiar, toda vez que cumple con los estándares requeridos para su consumo. Las condiciones fisicoquímicas del agua en el sistema acuapónico utilizado se mantuvieron favorables para el crecimiento de los organismos vegetales.

Palabras clave: Acuaponía; producción rural; seguridad alimentaria

#### **Abstract**

Aquaponics is an agricultural production system resulting from the combination of two other systems: hydroponics (vegetable cultivation using watery solutions with dissolved nutrients) and aquaculture (fish cultivation). The objective of this research is to evaluate the growth of *Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam. and *L. sativa* var. *angustana* Irish ex Bremer coexisting with "mojarra tilapia" (*Oreochromis niloticus* L.), in a floating root family hydroponic system. In order to fulfil the above, two parameters to monitoring the development and growing of plants were considered: number of leaves and root length. To monitoring the water quality of the ponds throughout the time the study lasted, the physicochemical variables were recorded twice a week: pH, dissolved oxygen (DO) in ml/l and temperature in degrees Celsius. The results indicated that there were significant differences in the growth and adaptation between both varieties of lettuce to the hydroponic system. *Lactuca sativa* var. *longifolia*, presented a significantly higher vegetative development compared to *L. sativa* var. *angustana*, as well as a greater number of leaves and root length. The aquaponic cultivation of *Lactuca sativa* var. *longifolia* is feasible in a family system, since it meets the standards required for its consumption is concluded. Finally, the physicochemical conditions of the water in the hydroponic system used remained favourable for the growth of plant organisms.

**Key word**: Five keywords must be included, which must not be present in the title.

## Introducción

La acuaponía es un sistema de producción agrícola resultado de la combinación de otros dos sistemas: la hidroponía (cultivo de vegetales que utilizan soluciones acuosas con nutrientes disueltos) y la acuicultura (cultivo de peces) (Viladomat, 2012), es decir, se trata de un sistema de acuicultura recirculante, donde los desechos que producen los peces, por acción bacteriana son transformados en nutrientes esenciales para el crecimiento de los vegetales (Martínez-Yáñez, 2013).

De esta manera, la acuaponía se ha convertido en una técnica de producción tendiente a lo sustentable, ya que aprovecha los residuos generados por los peces, recicla el agua al máximo y eficientiza el espacio. Adicionalmente, representa una forma de producción orgánica de cultivos de plantas de rápido crecimiento y con alto contenido nutritivo, además de que ofrece altos rendimientos a través de métodos fáciles y económicos (FAO, 2016).

En otras palabras, la acuaponía es un método que produce alimentos orgánicos de forma eficiente, eliminando al 100% la dependencia de los fertilizantes químicos y la contaminación por desechos de aguas residuales de criaderos de peces. Así también, minimiza el uso de agua en la agricultura y acuicultura, siendo una actividad adecuada para implementar en lugares con escasez de agua y suelos infértiles (FAO, 2016).

De esta manera, los sistemas acuapónicos familiares han sido diseñados para el ahorro de espacio y para reducir la mano de obra y el tiempo invertido en su manejo, así como también las especies de plantas y peces que pueden incorporarse para su cultivo son muy diversas (Caló, 2011).

No obstante, las especies vegetales más recomendadas para este tipo de sistemas son las hortalizas de hoja ancha y las denominadas aromáticas, las cuales suelen ser especies de cultivo de ciclo corto y de rápido crecimiento. Entre las primeras destacan las variedades de *Lactuca sativa* L. ("lechuga") y entre las del segundo grupo, *Ocimum basilicum* L. ("albahaca"), *Mentha x piperita* L. ("menta") y *Origanum vulgare* L. ("orégano"). Con respecto a las especies de peces, las más utilizadas suelen ser: *Oreochromis niloticus* L. ("mojarra tilapia") en climas cálidos y *Oncorhynchus mykiss* Walbaum ("trucha arcoíris"), en climas de templados a fríos (INTAGRI, 2017).

Así, la acuaponía es una alternativa productiva viable para desarrollarse en el entorno familiar de hogares rurales, tanto para autoconsumo como para venta a pequeña escala (Somerville et al., 2022; Caldas-Quiñonez et al., 2019). Por esto, Valdes-Zamora (2018), considera que esta técnica es amigable con el ambiente y puede incrementar rendimientos, por lo que mejora la calidad de vida de quienes la aplican, contribuyendo a la seguridad alimentaria, generando empleos y fortaleciendo la integración social en ambientes rurales.

Finalmente, esta técnica no se limita a sistemas cerrados ni a la utilización exclusiva de agua dulce; como mencionan Larrinaga-Mayoral et al. (2020), es posible la utilización de agua con contenidos de sales moderados en ambientes áridos, para la producción de peces y vegetales, además de dar un uso final al agua, utilizándola como riego en cultivos en suelo a cielo abierto.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar dentro de un sistema hidropónico familiar de raíz flotante, el desarrollo y crecimiento de dos variedades de lechuga: *Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam. ("lechuga baby sucrine") y *Lactuca sativa* var. *angustana* Irish ex Bremer ("lechuga espárrago"), coexistiendo con peces de la especie *Oreochromis niloticus* L. ("mojarra tilapia").

## Metodología

# Descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el área de Permacultura del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, ubicado en la región de las Altas Montañas, en el municipio de Amatlán de los Reyes, en el estado de Veracruz, México (18° 51' 22" N, 96° 51' 43" O) (**Figura 1**). La altitud promedio sobre el nivel del mar es de 648 m y el clima dominante es cálido húmedo con abundantes lluvias en verano.

Los rangos de temperatura varían entre 20 y 24 °C y la precipitación anual está entre 1,900 y 2,600 mm³ (CEIEG-Veracruz, 2018). La zona está cubierta por pequeños relictos de bosque tropical perennifolio (Rzedowski, 1978) o selva mediana subperennifolia (Miranda y Hernández-X., 1963), dominando principalmente la vegetación secundaria derivada de este tipo de vegetación, intercalada con grandes extensiones de cultivos de café y caña de azúcar (Rivera-Hernández et al., 2019).

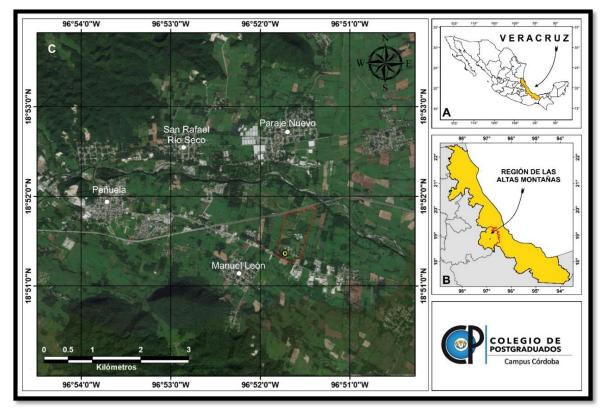


Figura 1. Ubicación del área de estudio. A. Ubicación del estado de Veracruz con referencia al país. B. Ubicación de la región de las Altas Montañas en el estado de Veracruz; con un punto verde se indica la ubicación del área de estudio en esta región. C. Ubicación del área de estudio marcada con un círculo amarillo y un punto negro al centro. El polígono del Colegio de Postgraduados se marca con una línea roja.

## Materiales y métodos

<u>Diseño del sistema hidropónico.</u> Este estudio se llevó a cabo del 24 de julio al 24 de octubre de 2019, a lo largo de 12 semanas. El diseño partió de la premisa de que fuera lo más sencillo y económico posible, pero sin perder efectividad. Se adaptaron los sistemas propuestos por Somerville et al. (2022) y Lobillo et al. (2016), tomando en cuenta las condiciones (disponibilidad de agua y electricidad, topografía del terreno, etc.) y los materiales locales.

El agua utilizada en este proyecto se tomó de un sistema de captación de agua de lluvia preexistente en el sitio, por lo que no se requirió de tratamientos químicos previos para su uso, ya que esta agua presenta de forma natural un pH neutro y bajas concentraciones de sales disueltas.

Se establecieron dos depósitos con capacidad de 1000 l de agua cada uno y en total se construyeron, a partir de tambos de plástico de 200 l de capacidad cortados longitudinalmente en su parte media, ocho tinas de plástico con capacidades de 100 l de agua cada una (**Figura 2**).

Para la recirculación de agua, se construyó un sistema de tuberías de PVC en cada estanque, el cual se conectó a una motobomba eléctrica. Las camas de cultivo flotantes del sistema acuapónico fueron construidas con tiras de bambú (*Guadua angustifolia* Kunth). Las tinas fueron protegidas con malla de gallinero para evitar la depredación de peces por parte de animales de vida silvestre (aves principalmente) (**Figura 2**).



Figura 2. Sistema hidropónico desarrollado y utilizado en este estudio.

<u>Introducción de peces</u>. Una semana después de haber instalado el sistema acuapónico, se introdujeron las tilapias (*O. niloticus*) con una densidad de 50 individuos para cada

repetición (Estanque 1 = Repetición 1; Estanque 2 = Repetición 2); se especifica que no hubo ninguna diferencia fisicoquímica en el agua ni en ninguna otra variable para los dos estanques considerados en este estudio. En total, 100 individuos conformaron dos grupos: R1 (50 peces) y R2 (50 peces). El alimento seleccionado para los peces fue de la marca comercial NUTRIPEC extruido flotante, el cual fue suministrado dos veces al día, en una cantidad de 100 g de alimento a cada individuo; cada 15 días se aumentaron 20 gr a la cantidad inicial hasta alcanzar tallas comerciales de cosecha.

Producción de lechugas. La germinación de las semillas de lechugas se realizó en almácigos utilizando "tierra negra" y composta casera. Se consideró que las plántulas presentaran de dos a cuatro hojas verdaderas y una altura entre 8 a 10 cm para ser trasplantadas (28 días de edad). Tres semanas posteriores a la instalación del sistema y dos después de la introducción de los peces, se realizó el trasplante de plántulas de lechugas, de las dos variedades consideradas. El substrato utilizado para la siembra y fijación de cada plántula en las camas flotantes del sistema fue hule espuma. Se sujetaron y enrollaron los tallos y las raíces de cada plántula con este material (**Figura 4**).

Se colocaron 15 plantas de cada variedad por tina. De manera intercalada (tina 1 con la variedad *longifolia*; tina 2 con la variedad *angustana*, etc.), en conjunto, se "sembraron" ocho tinas, cuatro tinas con la variedad *longifolia* y cuatro con la *variedad angustana*, para cada Estanque o Repetición, para un subtotal de 60 plantas por variedad y un total de 120 plantas por Estanque o Repetición.

Para estimar el desarrollo y crecimiento de las plantas, se utilizó un tipo de muestreo sistemático al azar (Espinoza, 2017). Se seleccionaron cinco individuos de cada tina de cultivo y utilizando instrumentos lo más simples posibles (reglas graduadas), se estimaron los parámetros cuantificables de interés: número de hojas y longitud de raíz.

<u>Seguimiento a la calidad de agua</u>. Para este apartado, se registraron dos veces por semana, las variables fisicoquímicas: pH, oxígeno disuelto (OD) en ml/l y temperatura en grados Celsius.

Análisis estadístico. Bajo un enfoque cualitativo (Saavedra, 2017), con base en características ideales o no para un producto para consumo humano, se establecieron tres

categorías de los individuos cosechados: bueno, regular y malo (**Tabla 1**; **Figura 3 y 4**). Todos los individuos muestreados fueron asignados a una de estas categorías.

Para el caso de las variables fisicoquímicas estimadas: pH, temperatura y oxígeno disuelto, se aplicó una prueba "t" de Student para examinar las diferencias entre dos muestras independientes y pequeñas y con cualquier tipo de distribución (normal o no) (Rodríguez-Crespo, 2021). Para observar posibles diferencias en la calidad de las lechugas de las dos variedades consideradas, se aplicó una prueba de  $X^2$  (chi cuadrada), para valorar la independencia de dos distribuciones de las proporciones de las categorías de calidad establecidas, para el contraste de dos hipótesis: una nula ( $H_0$ ) y una alternativa ( $H_1$ ): (Hernández  $et\ al.$ , 2017). Para este estudio, las hipótesis fueron:

 $H_0$ : la distribución de las proporciones en las calidades establecidas (buena. regular, mala), fueron iguales en las dos variedades de lechugas cultivadas.

 $H_1$  la distribución de las proporciones en las calidades establecidas (buena. regular, mala), no fueron iguales en las dos variedades de lechugas cultivadas.

Tabla 1.

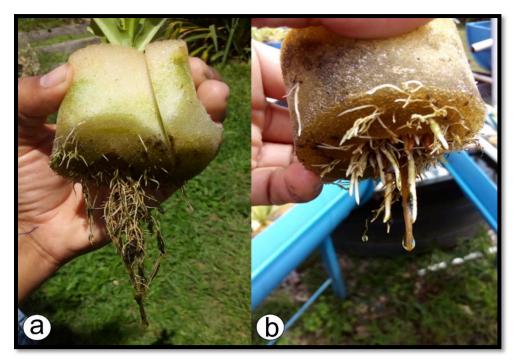
Categorías cualitativas para las dos variedades de lechugas consideradas en este estudio

Categoría	Lactuca sativa var. longifolia	Lactuca sativa var. angustana
Bueno	Número de hojas entre 29 a 39 y una longitud de raíz entre 11 a 13 cm	Número de hojas entre 10 a 13 y una longitud de raíz entre 9 a 12 cm
Regular	Número de hojas entre 18 a 28 y una longitud de raíz entre 8 a 10 cm	Número de hojas entre 5 a 9 y una longitud de raíz entre 4 a 8 cm
Malo	Número de hojas entre 7 a 17 y una longitud de raíz entre 5 a 7 cm	Número de hojas entre 0 a 4 y una longitud de raíz entre 0 a 3 cm

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de Saavedra (2017).



*Figura 3.* Categorías cualitativas de las hojas de plantas de lechuga (*L. sativa* var. *longifolia*) producidas, según el criterio de Saavedra (2017): (a) buena, (b) regular y (c) mala. Fuente: elaboración propia.



*Figura 4.* Categorías cualitativas de las raíces de plantas de lechuga (*L. sativa* var. *longifolia*) producidas, según el criterio de Saavedra (2017): (a) buena, (b) mala. Fuente: elaboración propia.

## Resultados y discusión

Lactuca sativa var. longifolia

La variedad *longifolia* logró un mayor desarrollo vegetativo de las estructuras consideradas en el estudio: número de hojas y longitud radicular (**Tabla 2**). De tal forma que, con base en los resultados y de acuerdo con Saavedra et al. (2017), es posible considerarla dentro del rango óptimo de producción para el consumo humano conocido para esta variedad de *L. sativa*. Una prueba de chi cuadrada  $X^2$  (2, N=120) = 25.67, p<.05, para la variable número de hojas y  $X^2$  (2, N=120) = 25.69, p<.05 para la variable longitud de la raíz, mostraron que hay diferencias significativas entre ambas poblaciones en estas dos variables consideradas.

Tabla 2.

Porcentaje de individuos de cada variedad de lechuga y las variables estimadas

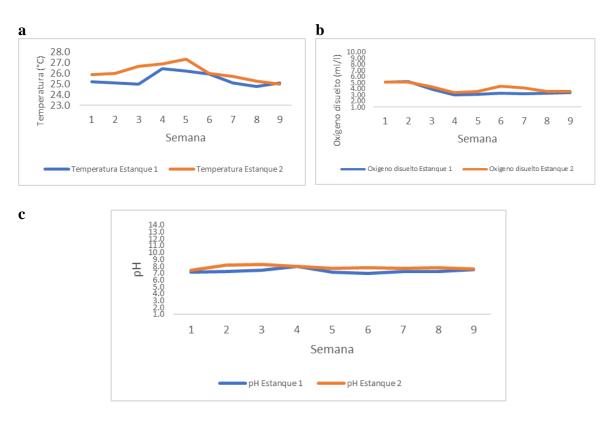
9				
Número de hojas	Bueno	Regular	Malo	
R1	5.00%	85.00%	10.00%	
R2	0.00%	55.00%	45.00%	
Longitud de la raíz	Bueno	Regular	Malo	
R1	40.00%	55.00%	5.00%	
R2	10.00%	85.00%	5.00%	
Lactuca sativa var. angu	ustana			
Número de hojas	Bueno	Regular	Malo	
R1	25.00%	35.00%	40.00%	
R2	25.00%	75.00%	0.00%	
Longitud de la raíz	Bueno	Regular	Malo	
R1	0.00%	85.00%	15.00%	
R2	5.00%	95.00%	0.00%	

consideradas para cada una de las categorías cualitativas definidas (n= 40 individuos)

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados muestran que hubo diferencias en el desarrollo y crecimiento de las dos variedades consideradas, lo cual puede explicarse al considerar los ciclos vegetativos y aspectos morfológicos de la estructura radicular particulares de cada variedad, así como su capacidad de adaptación a las condiciones de este cultivo, las cuales, de acuerdo con los resultados obtenidos, son mejores en la variedad *longifolia*.

Las condiciones fisicoquímicas, considerando las variables pH, oxígeno disuelto (OD) en ml/l y temperatura en grados Celsius, fueron las adecuadas y favorables para peces y plantas a lo largo de la realización del estudio. Ninguna variación drástica que se reflejara en los resultados obtenidos fue detectada (**Figura 5 a, b, c**).



*Figura 5 a, b y c.* Comportamiento a lo largo de nueve semanas, de las variables fisicoquímicas consideradas en el estudio. Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Para aclarar el punto anterior, bajo la hipótesis nula de no diferencias significativas en el comportamiento de las condiciones fisicoquímicas del agua en los dos estanques utilizados (R1 y R2), la prueba de "t" de Student realizada, mostró que solo las hubo en la variable pH y no en las variables Temperatura y Oxígeno disuelto (**Tabla 3**). En síntesis, el sistema hidropónico se mantuvo en condiciones favorables para el desarrollo y crecimiento vegetal. La calidad del agua en el sistema se mantuvo estable con ligeras alteraciones, brindando estabilidad a la producción agrícola durante el experimento. Con respecto, a las diferencias en pH, se postula una buena capacidad adaptativa en estas dos variedades de *Lactuca sativa*.

**Tabla 3.** Prueba "t" de Student para comprobar si hay diferencias significativas en el comportamiento fisicoquímico del agua de los dos estanques (R1 y R2) utilizados en este estudio

	Observac iones		1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1			$S^2$		''t'' observa	''t'' tabula	g. l.	P<	
Variable	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	da	da		
Temperat ura (°C)	9	9	25.4	26.1	0.606 6	0.760 5	0.368	0.578 4	2.0319	2.1199	16	0.0 5
Oxígeno disuelto (ml/l)	9	9	3.71	4.12	0.863	0.649 5	0.745	0.421 9	1.1416	2.1199	16	0.0
рН	9	9	7.3	7.8	0.299 7	0.274 3	0.089 8	0.075	3.5362	2.1199	16	0.0 5

La acuaponía (que incluye a la hidroponía), a pesar de tener una historia de conocimiento y aplicación relativamente reciente, puede y debe ser una estrategia sustentable para combatir y reducir la pobreza extrema y malnutrición en poblaciones humanas marginadas de países como el nuestro (Gómez-Merino et al., 2015; Ortega-López et al., 2015). Este estudio se enmarca en este contexto y demuestra que la producción sustentable de algunas variedades de lechugas (en particular, *Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam.) es posible bajo esta técnica.

Nuestros resultados en este apartado, concuerdan con los obtenidos por Reyes-Flores et al. (2016, 2020), para la producción de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) en un sistema acuapónico similar y demuestran que la introducción previa de los peces a los contenedores, tres semanas antes de la introducción de lechugas, fomentan una adecuada fertilización del sistema y pone a disposición de las plántulas de lechuga los suficientes nutrientes para su desarrollo y crecimiento.

## **Conclusiones**

Las dos variedades de lechuga utilizadas tuvieron una adaptación, desarrollo y crecimiento diferenciados. Lo anterior puede ser explicado con base en que cada variedad presenta ciclos vegetativos muy diferentes en términos de desarrollo de estructuras radiculares y de producción de hojas.

La variedad *longifolia* fue la más favorecida en el sistema acuapónico propuesto: presentó un mejor y mayor desarrollo vegetativo evaluado con base en las variables estimadas número de hojas y longitud de raíz. Es importante resaltar que, aunque la mayor parte de los individuos muestreados se encuentran en la categoría regular, en cuanto a las características ideales para el consumo, este desarrollo vegetativo basado en número de hojas producidas se encuentra dentro del rango óptimo de producción para consumo humano. La variedad *angustana*, con base en los criterios citados, logró en su mayoría calidades dentro de las categorías "regular" y "malo", que la hacen salir de los rangos óptimos de producción para consumo humano de este cultivo.

El sistema hidropónico se mantuvo en condiciones favorables para el desarrollo y crecimiento vegetal y la calidad del agua en el sistema se mantuvo estable, brindando estabilidad a la producción agrícola.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos se puede afirmar que la producción de lechuga *Lactuca sativa* var. *longifolia* es una alternativa viable en sistemas hidropónicos familiares, particularmente con fines de autoconsumo y dentro de un contexto de sustentabilidad.

# Agradecimientos

Se agradece al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba por las facilidades prestadas para la realización de la presente investigación. A los dos revisores anónimos que enriquecieron el manuscrito.

#### Referencias

- Amaya-Cedrón, L.A. (2019). Prueba Chi-Cuadrado en la estadística no paramétrica. Ciencias, 1(1), 13–17. https://doi.org/10.33326/27066320.2017.1.829.
- Caldas-Quiñonez, A.L., Castillo-Deza, I.A., Prado-Moscoso, S.Y., Rosales-Quiroz, L.R., & Vargas-Leiva, L.D. (2019). Diseño y construcción de sistemas acuapónicos a pequeña escala para familias de la región Piura. Trabajo de investigación. Facultad de Ingeniería. Universidad de Piura, Perú. <a href="https://pirhua.udep.edu.pe/handle/11042/4285">https://pirhua.udep.edu.pe/handle/11042/4285</a>
- Caló, P. (2011). Introducción a la acuaponía. Dirección de Agricultura. Centro Nacional de Desarrollo Acuícola (CENADAC), Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Gobierno de la Argentina. <a href="http://chilorg.chil.me/download-doc/86262">http://chilorg.chil.me/download-doc/86262</a>
- CEIEG-Veracruz. (2018). Cuadernillo municipal Amatlán de los Reyes. Sistema de información municipal. Comité Estatal de Información Estadística y Geográfica del Estado de Veracruz. Secretaría de Finanzas y Planeación. Gobierno del Estado de Veracruz de Ignacio de la llave, México. <a href="http://ceieg.veracruz.gob.mx/wp-content/uploads/sites/21/2018/05/Amatl%C3%A1n-de-los-Reyes.pdf">http://ceieg.veracruz.gob.mx/wp-content/uploads/sites/21/2018/05/Amatl%C3%A1n-de-los-Reyes.pdf</a>
- Espinosa-Moya, E. A. (2015). Producción de tres especies de herbáceas utilizadas como filtros biológicos en sistemas acuapónicos para la producción intensiva de tilapia (*Orechromis niloticus* var. *stirling*). Tesis de Maestría en Biociencias, Universidad de Guanajuato. <a href="https://lc.cx/0tJOE8">https://lc.cx/0tJOE8</a>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2016). Implementing aquaponics in the Gaza Strip. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <a href="http://www.fao.org/3/a-i5620e.pdf">http://www.fao.org/3/a-i5620e.pdf</a>
- Gómez-Merino, F.C., Ortega-López, N.E., Trejo-Téllez, L.I., Sánchez-Páez, R., Zalazar-Marcial, E., & Salazar-Ortiz, J. (2015). La acuaponía: alternativa sustentable y

- potencial para producción de alimentos en México. Agroproductividad, 8(3), 60-65. https://n9.cl/x6cuv
- Hernández de la Rosa, Y., Hernández Moreno, V. J., Batista Hernández, N. E., & Tejeda Castañeda, E. (2017). ¿Chi cuadrado o Ji cuadrado?. *Medicentro Electrónica*, 21(4), 294-295. <a href="https://lc.cx/wM1TL0">https://lc.cx/wM1TL0</a>
- INTAGRI (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura). (2017). Acuaponía: Producción de Plantas y Peces. Serie Horticultura Protegida Núm. 32. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. https://n9.cl/a5sv5
- Larrinaga-Mayoral, J.A., Racotta-Dimitrov, I., & Yamada, S. (2020). Manual técnico de acuaponía combinada con cultivo a cielo abierto adaptado en zonas áridas. Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development Program (SATREPS). JICA, Tottori University, CIBNOR, TUMSAT y JST. Imprenta Fukui, Tottori, Japón. <a href="https://www.jica.go.jp/Resource/mexico/espanol/activities/c8h0vm00007f8s9j-att/manual\_sp.pdf">https://www.jica.go.jp/Resource/mexico/espanol/activities/c8h0vm00007f8s9j-att/manual\_sp.pdf</a>
- Lobillo-Eguíbar, P., Fernández-Cabanás, V.M, Blanco-Cabrera, J.M., Ponce-Nieto, A., Quevedo-Ruiz, J., Luque-López, C., Selma-González, J.M. y López-Jaime, J.A. (2016). Guía acuapónica: paso a paso. Cómo poner en marcha y mantener una instalación acuapónica familiar. Asociación de Agricultura Ecológica Social y Comunitaria del Polígono Sur de Sevilla-VERDES del SUR. España. <a href="https://www.academia.edu/30712362/GU%C3%8DA\_ACUAP%C3%93NICA\_PAS">https://www.academia.edu/30712362/GU%C3%8DA\_ACUAP%C3%93NICA\_PAS</a> O a PASO
- Martínez-Yáñez, R. (2013). La acuaponía como alternativa de producción agropecuaria sostenible ¿Una posibilidad para tener en casa? REDICINAySA 2(5): 16-23. <a href="https://www3.ugto.mx/redicinaysa/images/Revistas2013/redicinaysa-sept-oct-2013-universidad-guanajuato.pdf">https://www3.ugto.mx/redicinaysa/images/Revistas2013/redicinaysa-sept-oct-2013-universidad-guanajuato.pdf</a>
- Miranda, F., y Hernández-X., E. (1963). Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Boletín de la Sociedad Botánica de México 28: 29-179. <a href="https://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1084/776">https://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1084/776</a>

- Ortega-López, N.E., Trejo-Téllez, L.I., Gómez-Merino, F. C., Alonso-López, A., & Salazar-Ortiz, J. (2015). Crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en un sistema acuapónico abierto. Agroproductividad, 8(3), 20-25. https://n9.cl/g79c4
- Rivera-Hernández, J.E., Muñoz-Márquez Trujillo, R.A., Vargas-Rueda, A.F., Alcántara-Salinas, G., Real-Luna, N., & Sánchez-Páez, R. (2019). Flora, vegetación y paisaje de la región de las altas montañas de Veracruz, México, elementos importantes para el turismo de naturaleza. Agro Productividad 12(12): 19-29. <a href="https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1460/1242">https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1460/1242</a>
- Reyes-Flores, M., Sandoval-Villa, M., Rodríguez-Mendoza, N., Trejo-Téllez, L.I., Sánchez-Escudero, J., & Reta-Mendiola, J. (2016). Concentración de nutrientes en efluente acuapónico para producción de *Solanum lycopersicum* L. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, (17), 3529-3542.

https://www.redalyc.org/pdf/2631/263149506012.pdf

- Reyes-Flores, M., Sandoval-Villa, M., Rodríguez-Mendoza, M. de las N., & Trejo-Téllez, L.I. (2020). Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido en acuaponía complementado con fertilización foliar de micronutrimentos. Agro Productividad, 13(5), 79-86. <a href="https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1635/1320">https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1635/1320</a>
- Rodríguez-Crespo, J. (2021). El test de la T de Student, sólo en poblaciones normales? Trabajo de fin de grado, Facultad de Matemáticas, Universidad de Santiago de Compostela, España. <a href="https://lc.cx/eviyzu">https://lc.cx/eviyzu</a>
- Rzedowski, J. (1978). Vegetación de México. Editorial Limusa, México.
- Saavedra, G., Corradini, F., Antúnez, A., Felmer, S., Estay, P., & Sepúlveda, P. (2017).

  Manual de producción de lechuga. Instituto de Desarrollo Agropecuario (INIA),

  Instituto de Investigaciones Agropecuarias Universitarias (IIA). 337 p.

  <a href="https://lc.cx/gS9QkN">https://lc.cx/gS9QkN</a>

- Somerville, C., Cohen, M., Patanella, E., Stankus, A., & Lovatelli, A. (2022). Producción de alimentos en acuaponía a pequeña escala. Cultivo integral de peces y plantas. Documento Técnico de Pesca y Acuicultura #589. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). <a href="https://n9.cl/tvoa1">https://n9.cl/tvoa1</a>
- Valdes-Zamora, A. (2018). Análisis y perspectivas de la acuaponía en México. Tesis de maestría en Ciencias en Estrategia Agroempresarial, Universidad Autónoma Chapingo. México. <a href="https://lc.cx/-xlExG">https://lc.cx/-xlExG</a>
- Valenzuela-Antelo, A., Sandoval-Villa, M., Almaraz-Suárez, J.J., Alcántar-González, G., & Bórquez-López, R. (2023). Efecto de la granulometría del tezontle en tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en acuaponía. Terra Latinoamericana, 41, 1-11. <a href="https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v41/2395-8030-tl-41-e1598.pdf">https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v41/2395-8030-tl-41-e1598.pdf</a>
- Viladomat, L. (2012). Handbook for construction and operation of domestic scale aquaponic systems in the West Bank. Oxfam, Italia. <a href="https://www.coursehero.com/file/37855383/Handbook-for-small-scale-aquaponics-in-the-West-Bank-pdf/">https://www.coursehero.com/file/37855383/Handbook-for-small-scale-aquaponics-in-the-West-Bank-pdf/</a>

# Evaluación de la dispersión del glifosato en cultivos: enfoque ecológico y económico con papeles hidrosensibles y método enzimático

# Evaluation of glyphosate dispersion in crops: ecological and economic approach with water-sensitive papers and enzymatic method



Environment & Technology | ISSN: 2711-4422

Vol. 5 No. 1. Enero-Julio, 2024: 66-82

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

DOI: <a href="https://doi.org/10.56205/ret.5-1.4">https://doi.org/10.56205/ret.5-1.4</a>

Recibido: 29/05/2024 Revisado: 16/06/2024 Aprobado: 08/09/2024 Milton Sael Aparicio Villanueva
Químico
Universidad de Córdoba
msaparicio@correo.unicordoba.edu.co
https://orcid.org/0009-0000-4085-739X
Colombia

José Luis Marrugo Negrete

Ph.D.

Ingeniero químico Universidad de Córdoba

jmarrugo@correo.unicordoba.edu.co https://orcid.org/0000-0002-3181-7529

Colombia

### Resumen

Implementar un proceso experimental para el muestreo, cuantificación y deriva de glifosato en aspersiones manuales utilizando parches de algodón, el método de inmunoadsorción ligada a enzimas y papales hidrosensibles (WSP) en el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia, utilizando papeles hidrosensibles (WSP) y el método de inmunoadsorción ligada a enzimas en muestras de algodón. **Metodología:** La aspersión se realizó manualmente con una bomba de fumigación de 18 L. Se ubicaron 132 estaciones de muestreo con WSP y parches de algodón en un terreno de 50 x 20 metros. Los papeles hidrosensibles se analizaron mediante el software "DepositScant" y las muestras de algodón con el método enzimático. El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion versión XVI aplicando análisis de varianza, de distribución y pruebas significativas (p<0.05). **Resultados**. Se reportaron concentraciones promedio de glifosato de 1,50  $\pm$  0,16  $\mu$ g/L para la aspersión; 0,65  $\pm$  0,14  $\mu$ g/L en la post aspersión diurna y 0,07  $\pm$  0,02  $\mu$ g/L para la post aspersión nocturna. De acuerdo con los WSP se descarta el efecto deriva que se produce por la acción del viento. **Conclusión**. Se detectó glifosato en el 48,4% de las muestras analizadas para los procesos de aspersión, post aspersión diurna y nocturna. Las concentraciones de glifosato en la zona variaron considerablemente evidenciando una persistencia en el ambiente.

**Palabras clave**: Aspersión; Deposición atmosférica; ELISA; Plaguicidas; Toxicidad. (Fuentes: CAB thesaurus, FAO, MeSH, NLM.).

#### Abstract

To implement an experimental process for the sampling, quantification and drift of glyphosate in manual spraying using cotton patches, the enzyme-linked immunoadsorption method and water-sensitive papers (WSP) in the municipality of Ciénaga de Oro - Córdoba, Colombia, using water-sensitive papers (WSP) and the enzyme-linked immunoadsorption method in cotton samples. **Methodology:** Spraying was performed manually with an 18 L fumigation pump. A total of 132 sampling stations with WSP and cotton patches were located in a 50 x 20 meter plot. Hydrosensitive papers were analyzed using "DepositScant" software and cotton samples were analyzed using the enzymatic method. Statistical analysis was performed with Statgraphics Centurion software version XVI applying analysis of variance, distribution and significant tests (p<0.05). **Results.** Average glyphosate concentrations of 1.50  $\pm$  0.16  $\mu$ g/L were reported for the spraying; 0.65  $\pm$  0.14  $\mu$ g/L in the daytime post-spraying and 0.07  $\pm$  0.02  $\mu$ g/L for the nighttime post-spraying. According to the WSPs, the drift effect produced by wind action is ruled out. **Conclusion.** Glyphosate was detected in 48.4% of the samples analyzed for the spraying, daytime and nighttime post-spraying processes. Glyphosate concentrations in the area varied considerably, showing persistence in the environment.

**Key word**: Spraying; Atmospheric deposition; ELISA; Pesticides; Toxicity (Sources: CAB thesaurus, FAO, MeSH, NLM).

# Introducción

El glifosato es un herbicida ampliamente utilizado en la agricultura por su eficacia para el control de malezas. Su uso excesivo ha planteado preocupaciones en torno a los riesgos que pueda generar en la salud y el ambiente. Estas preocupaciones han llevado a cambios en las regulaciones y políticas de uso en diferentes regiones y a enfatizar la búsqueda de alternativas más seguras (IARC, 2020).

La exposición a este plaguicida se da muy frecuente cuando se realizan aspersiones aéreas o manuales, presentando un inconveniente adicional: el desvío de la aspersión dentro del área de interés (blanco) por acción del viento, conocido como deriva (Massaro y García, 2017). Este efecto implica un riesgo para las matrices ambientales cercanas al área de aspersión como suelo, agua y personas, por lo cual, determinar el efecto deriva y las concentraciones persistentes de glifosato en las aspersiones, se ha convertido en un objetivo clave para determinar sus posibles riesgos.

Según Bohórquez (2020), la ingesta diaria aceptada de glifosato en humanos se estableció en 0,30 mg/kg de peso corporal según las evaluaciones toxicológicas. Un exceso en el organismo puede llevar a la muerte, con una letalidad menor al 30% en la población,

con resultados clínicos que varían desde toxicidad de múltiples órganos, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, gastrointestinal, cardiovascular y efectos respiratorios (ICA, 2018a).

Para la determinación de la concentración de glifosato en cualquier matriz es necesaria la derivación de la molécula para su posterior detección. La técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) es la más utilizada en la actualidad, pero tiene altos costos de análisis (Paravani et. al., 2016) y el proceso de derivatización es muy complejo. Por otro lado, se han desarrollado nuevos métodos para la determinación de glifosato, como el empleo del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), que es práctico, rápido, sensible, de bajo costo y selectivo que no requiere de instrumentación sofisticada y permite analizar un elevado número de muestras en poco tiempo (Paravani et. al., 2016).

Los objetivos del presente trabajo consistieron en implementar un proceso experimental para el muestreo de glifosato, utilizando parches de algodón, cuantificación de las concentraciones mediante el método de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) y la deriva provocada en la aspersión manual glifosato en la vegetación circundante por medio de papales hidrosensibles (WSP) en el municipio de Ciénaga de Oro.

# Metodología.

Sitio de estudio. El estudio se desarrolló en un lote de 1000 m² de área (50 x 20 m) que posee una vegetación conformado por hierba, pasto y algunos arbustos con tamaños desde los 20 cm hasta 1 m de altura, frente a la universidad de Córdoba sede Berástegui, municipio de Ciénaga de Oro, (8°52′55" N y 75°41′04" W) que se encuentra al Nororiente del Departamento de Córdoba. De acuerdo con el Instituto Geográfico Agustín Codazzi IGAC, por sus características topográficas y de suelos, es un municipio con una vocación para la producción agrícola (63%), donde se destacan los cultivos transitorios (43%). La categoría de vocación de forestal de protección ocupa un 17%, seguida de áreas con vocación agrosilvícola con cultivos permanentes (6%) como se muestra en la **Figura 1.** 

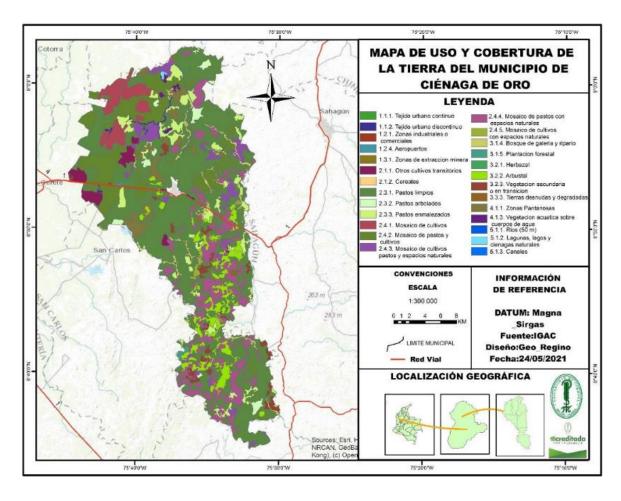


Figura 1. Sitio de estudio. Fuente: Regino (2021)

La aspersión se realizó de manera manual sobre la vegetación existente utilizando una bomba de fumigación Royal Condor de 18 L, con una presión de trabajo de 40 psi (+/-10%), boquilla de 600 cm³/min y una mezcla de Round up Activo, concentrado soluble (Glifosato: 356 g/L de ácido glifosato). Se aplicaron diferentes técnicas de aspersión de acuerdo a la vegetación existente y al conocimiento de los campesinos: una mitad del área en zigzag horizontalmente (vegetación corta o mediana) y la otra mitad verticalmente (vegetación mediana y alta) aplicada a diferentes alturas 20, 30 y 60 cm del suelo.

Recolección de muestras. Las estaciones de muestreo se ubicaron de la siguiente manera: tres estaciones centrales separadas a 12,5 m; 12 estaciones en el perímetro del área de estudio (rectángulo) y 15 estaciones ubicadas en ocho líneas distribuidas de acuerdo al centro de la zona de estudio a 10 y 20 m partiendo del borde al área de aspersión (**Figura 2**).



Figura 2. Estaciones de muestreo. Fuente: Milton Aparicio (Google Earth)

Los puntos de muestreo consistieron en una base de triple de 20 x 20 cm a la altura del suelo o del dosel circundante en el centro del área de aspersión donde se ubicaron tres parches de algodón y tres papeles hidrosensibles, (**Figura 3**).

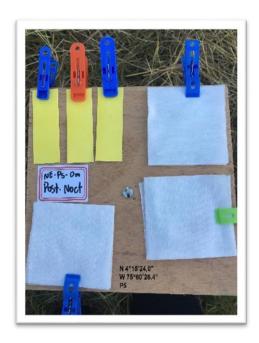


Figura 3. Estación de muestreo. Fuente: Milton Aparicio (Elaboración propia).

El proceso de pre-aspersión (considerado blanco o control para el análisis) consistió en la ubicación de los WSP y parches en las estaciones de muestreo y posterior recolección luego de 30 min y 4 horas respectivamente (tiempos de recolección en cada muestro); de acuerdo con el estudio de Lamprea et. al. (2011). Se ubicaron nuevos WSP y parches para el proceso de aspersión (aplicación), luego de 8 horas de la aplicación (postaspersión diurna, PAD) y al cabo de 16 horas se ubicaron solamente parches de algodón (postaspersión nocturna, PAN), teniendo en cuenta los tiempos de recolección para cada muestreo. Se utilizaron en cada proceso pinzas de teflón, guantes de nitrilo y bolsas de aluminio debidamente rotuladas.

Las muestras se recolectaron en el mes de marzo, un total de 372 parches de algodón, 93 para cada proceso de muestreo: Pre Aspersión, Aspersión (aplicación), PAD y PAN; y 279 papeles hidrosensibles (WSP), 93 para cada proceso de muestreo: Pre Aspersión, Aspersión y PAD. Los WSP se fotografiaron luego de ser recolectados y los parches se almacenaron en cadena de frio en cavas hasta su debido trasporte al laboratorio.

Análisis de papeles hidrosensibles (WSP). Los WSP se escanearon a través del software Deposit Scan y se estimó la concentración de glifosato en cada una de las estaciones de muestreo, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Gly_{depos} = Vol_{depos} \left( \frac{\mu L_{mezcla}}{cm^2} \right) \times Gly_{mezcla} \left( \frac{ng_{glifosato}}{\mu L_{mezcla}} \right)$$

Donde:

 $Gly_{depos}$  es la cantidad de glifosato en  $ng/cm^2$  que se deposita en cada estación de muestro.

 $Vol_{depos}\ en\ \mu L/cm^2\ es\ la\ cantidad\ de\ mezcla\ que\ se\ deposita\ cada\ WSP,\ obtenida\ a$  partir del análisis de las imágenes con Deposit Scan.

Gly<sub>mezcla</sub> en ng/μL es la cantidad teórica de glifosato en la mezcla.

Gly<sub>mezcla</sub> se obtiene a partir de la preparación de la mezcla de aspersión, sabiendo que la concentración de glifosato (ácido) en el producto formulado es de 356 g/L, y que la

mezcla de aspersión mantiene la relación 10 L de producto formulado por cada 30 L de mezcla. A partir de esta información Gly<sub>mezcla</sub> es estimado en 118,5 ng/μL.

Determinación de la concentración de glifosato mediante el método ELISA. Para la detección y cuantificación las medidas fueron llevadas a cabo en placas de pocillos de acuerdo a la cantidad de muestras a analizar y respetando las instrucciones del fabricante.

El analito se extrajo de las muestras (parches de algodón) utilizando 50 mL de agua desionizada y aplicando ultrasonido durante 15 minutos. Se añadieron 250  $\mu$ L de los estándares y muestras a viales rotulados para su derivatización agregando 1 mL de buffer (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH 1 M), y luego 100  $\mu$ L del reactivo diluido de derivatización previamente preparado a cada vial, homogenizando con un vortex. Incubamos por 10 min a temperatura ambiente.

Se agregó 50 µL de los estándares, control y muestras en cada pozo individual, luego, se adicionó 50 µL del anticuerpo específico, mezclando por 60 segundos. Se incubó por 30 min a temperatura ambiente cubriendo la placa con papel siliconado evitando contaminación en las muestras.

Luego de incubar, se agregó 50 µL de enzima conjugada mezclando por 60 segundos, se incubó nuevamente por 60 min. Finalizado el tiempo, se lavó por triplicado cada pozo con 250 µL de solución de lavado, se secó la placa y se verificó que no quedara ningún rastro de líquido en los pozos. A continuación, se agregó 150 µL de solución cromófora (desarrollo de color) en la placa y se mezcló durante 30 s. Se incubó por 30 min cubriendo con papel siliconado.

Al finalizar la incubación se agregaron 100 µL de solución Stop Color (ácido sulfúrico 0,5 M) y se mezclaron suavemente durante 30 s. Finalmente, se midió la placa con las muestras en el Equipo Lector ELISA a 450 nm.

# Aspectos éticos

Según la OMS (2020) y Bai et. al. (2016), el glifosato se encuentra en la clasificación 2A como probable carcinógeno para humanos, y los plaguicidas que contienen glifosato están registrados en Colombia en la clase toxicológica IV, levemente tóxicos de forma

aguda, basados en la  $DL_{50}$  oral a ratas del ingrediente activo, considerada mayor de 5.000 mg/kg.

La EPA (U.S. Environmental Protection Agency) clasifica al glifosato como un sustrato "menos tóxico" (categoría IV) para animales, esto debido al modo de acción único del glifosato que se limita a una pequeña gama de organismos, principalmente plantas verdes, hongos y bacterias. La vida media del glifosato y su metabolito principal, AMPA, puede prolongarse entre 10-98 días, dependiendo de las propiedades químicas del suelo y condiciones ambientales, y la ingesta diaria aceptada en humanos se estableció en 0,3 mg/kg de peso corporal, según las evaluaciones toxicológicas (Bohórquez, 2020).

# Resultados y discusión.

A continuación, se relaciona la estimación promedio de las concentraciones de glifosato en WSP (**Figura 4**) a partir del número de gotas depositadas en las tres tarjetas hidrosensibles de cada sitio de muestreo y el uso del software Deposit Scan.



Figura 4. Estimación de la concentración de glifosato en WSP.

Fuente: Milton Aparicio (Elaboración propia)

# Datos obtenidos por el método Elisa

Curva de Calibrado. La concentración de glifosato se obtuvo interpolando los valores de absorbancia obtenidos en las muestras, en una curva de calibración del %B/B $_0$  versus concentración de glifosato. B es la media de la absorbancia de los estándares de concentración conocida provistos por la empresa Abraxis LLC (0; 0,075; 0,2; 0,5; 1,0 y 4,0  $\mu$ g/L) y B $_0$  la media de la absorbancia del solvente utilizado sin glifosato.

Concentraciones obtenidas. En la **Tabla 1** se describen las concentraciones promedios encontradas en los puntos más importantes, analizados por duplicado por el método ELISA.

 Tabla 1.

 Concentraciones promedio de glifosato en cada punto de muestreo.

P. Muestreo	Prom A	Prom PAD	Prom PAN		
C <sub>1</sub>	1,737	0,622	0,079		
C <sub>2</sub>	1,598	0,608	0,080		
C <sub>3</sub>	1,434	0,729	0,089		
P <sub>1</sub>	1,282	0,505	0,087		
P <sub>2</sub>	1,512	0,411			
P <sub>3</sub>	1,815	0,865	0,081		
P <sub>4</sub>	1,475	0,563	0,088		
P <sub>5</sub>	1,494	0,555	0,091		
P <sub>6</sub>	1,360	0,599	0,078		
<b>P</b> <sub>7</sub>	1,377	0,616	0,084		

P <sub>8</sub>	1,381	0,711	N.D.*
P9	1,361	0,721	0,079
P <sub>10</sub>	1,418	0,788	N.D.*
P <sub>11</sub>	1,584	0,723	N.D.*
P <sub>12</sub>	1,663	0,824	0,086
Promedio	1.500 (±0.157)	0.655 (±0.141)	0.741 (±0.604)

N.D.\*: No Detectado. Límite Observado de Detección (LD): 0,07 μg/L. Límite de Cuantificación 4 μg/L. Fuente: Milton Aparicio (Elaboración propia).

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla, no existe correlación de los puntos de mayor y menor concentración entre los WSP y algodones.

La mayor concentración en los WSP se encontró en el punto  $C_3$  (16.093,8 µg/L) que fue diferente de acuerdo con los algodones, donde el punto con mayor concentración fue el punto  $P_3$  (1,815 µg/L). Los puntos con menor concentración, fueron el punto  $P_5$  (6183,3 µg/L) para WSP y el punto  $P_1$  (1,282 µg/L) para algodones. Este comportamiento puede deberse a la influencia de factores ambientales como el viento y la vegetación circundante, así como a la técnica empleada en la aspersión.

Teniendo en cuenta los puntos analizados, se logró estimar resultados positivos en el 48,4% de las muestras para cada uno de los procesos de Aspersión, PAD y PAN, que, de acuerdo con el análisis estadístico, las concentraciones promedias fueron de 1,50  $\pm$  0.156; 0,65  $\pm$  0,14 y 0,07  $\pm$  0,02  $\mu$ g/L respetivamente. Lo anterior puede dar una idea de la persistencia que podría tener el glifosato con este tipo de aplicaciones.

Los resultados obtenidos el día de la aspersión en el área de estudio son similares a los encontrados por Morshed et. al. (2011) y por Lavy et. al. (1992), que aplicaron una metodología de muestreo parecida a la utilizada en este estudio y a los resultados obtenidos por Paravani et. al (2016), Kumar et. al. (2014) y Nardo et. al. (2015), quienes utilizaron el

método de inmunoensayo por enzimas ELISA para el análisis de las muestras, estos datos se relacionan en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.**Relación de los resultados de ELISA con la literatura consultada

Autor	Investigación	Resultado
Johnson et al. 2005	Utilizaron parches de algodón estándar (100 cm²; Philip Harris Medical, Birmingham, Reino Unido) adaptados a la ropa de los trabajadores expuestos a fumigación con tractores. La cuantificación se realizó mediante la cromatografía de gases acoplado a masas.	$7-37 \text{ mg/m}^3$
Kumar et al. 2014	Utilizaron ratones C57BL/6, TLR4-/- e IL-13-/- en una granja, exponiéndolos a inhalar extractos de muestras de aire ricas en glifosato recolectadas durante la fumigación de herbicidas. Analizaron muestras de sangre mediante la técnica ELISA. Adicional evaluaron la respuesta celular, la respuesta humoral y la función pulmonar de los ratones expuestos.	$17,33 \ \mu g/L - 22,59 \ ng/m^3$
Lavy et al. 1992	Usaron gasa de algodón en forma de parches de 15 cm² pegada a la ropa de los trabajadores. La cuantificación se realizó con el método de HPLC-UV utilizando un muestreador automático LDC/Milton Roy, Whatman C18 PartiSphere. Todas las muestras fueron analizadas a 254 y 280 nm.	0,03 – 11,27 μg/mL
Morshed et al. 2011	Recolectaron las muestras a través de gasa de algodón (Gasmed Sdn. Bhd., Malasia) ubicadas a 1 m de altura y posteriormente se analizaron mediante la Cromatografía Líquida con Detector de Diodos y Fluorescencia (HPLC-FD).	$0.84 - 4.16 \text{ ng/cm}^2$

Nardo et al. 2015	Investigaron la presencia de glifosato en muestras de agua y algunos de sus afluentes de la Laguna de Rocha, Uruguay, mediante ELISA y cromatografía iónica	$0,27-0,92~\mu { m g/L}$
Este estudio	Determinación de glifosato utilizando papeles hidrosensibles y el método de inmunoabsorción ligada a enzimas (elisa) en muestras de algodón en el municipio de Ciénaga de Oro	0,077 – 1,815 μg/L

Fuente: Milton Aparicio (Elaboración propia)

La tabla 3 muestra las comparaciones de los resultados obtenidos con los reportados en la literatura. Los resultados de este estudio mostraron concentraciones que variaron entre 0,077 μg/L y 1,815 μg/L. Estas cifras se compararon con investigaciones previas como la de Johnson et. al. (2005), quienes encontraron concentraciones más altas (7 – 37 mg/m³) en trabajadores expuestos a la fumigación agrícola con tractores. Además, estudios como el de Kumar et. al. (2014), revelaron concentraciones significativamente mayores en experimentos controlados con ratones expuestos directamente a aerosoles de herbicidas, con niveles que alcanzaron hasta 22,59 ng/m3. En contraste, estudios como el de Morshed et. al. (2011), mostraron concentraciones más moderadas (0,84 – 4,16 ng/cm²) recolectadas a un metro de altura con gasas de algodón, similares a las encontradas por Milton et al. (2023). Esta variabilidad subraya la influencia de los métodos de exposición y las condiciones ambientales en la presencia de glifosato, destacando la importancia de considerar diferentes contextos para una evaluación precisa de riesgos ambientales y de salud pública.

Para los procesos de PAD y PAN, se obtuvieron resultados positivos para la presencia de glifosato encontrando concentraciones para PAD desde  $0.555~\mu g/L~(PAD-P_5)$  hasta de  $0.824~\mu g/L~(PAD-P12)$  y de  $0.077~\mu g/L~(PAN-C_3)$  hasta  $0.091~\mu g/L~(PAN-P_4)$  para las PAN; esta variación de los resultados en el área de estudio se debe a las diferentes cantidades de glifosato que se depositaron por toda la zona.

A continuación, se relacionan geográficamente las concentraciones encontradas en los procesos de Aspersión (**Figura 5a**), PAD (**Figura 5b**) y PAN (**Figura 5c**) para los parches de algodón.

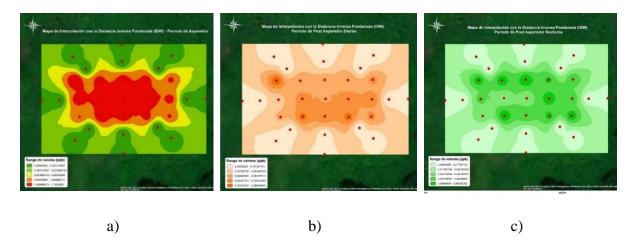


Figura 5. Mapa geográfico de concentraciones: a) Aspersión, b) PAD, c) PAN. Fuente:
Milton Aparicio (Elaboración propia).

La mayor concentración de glifosato en el proceso de aspersión se concentra en la parte central del área de estudio, aunque podemos observar también influencia hacia la parte noroeste que corresponde al punto P<sub>3</sub>. Para el proceso de PAD la mayor influencia de glifosato se trasladó a la parte sur en los puntos 8, 10 y 12 y en el punto P<sub>3</sub> al noroeste de la zona. Finalmente, para el proceso de PAN las concentraciones de glifosato se trasladan a la derecha de la zona de estudio y parte de la zona norte.

# Discusión

La utilización de papeles hidrosensibles brindó información importante del movimiento del glifosato en el área de estudio, con los resultados obtenidos entre el software Deposit Scan y ELISA se descarta el efecto deriva que se produce por la acción del viento.

Teniendo en cuenta el método de aplicación manual, el cual es a 1 m aproximadamente del suelo, podemos inferir que es mínimo el movimiento del glifosato por acción del aire a diferentes zonas cercanas al área de aplicación.

Las concentraciones de glifosato en la zona variaran considerablemente y se evidencia una persistencia en el ambiente del glifosato con concentraciones de 0,655  $\pm$  0,140  $\mu$ g/L para la aspersión diurna (4 h) y de 0,077  $\pm$  0,017  $\mu$ g/L para la aspersión nocturna (8 h).

Los mapas geográficos muestran un comportamiento aleatorio de las concentraciones de glifosato al transcurrir el tiempo, que puede deberse a la acción del viento, temperatura y humedad del lugar.

Se analizó un número considerable de muestras obteniendo resultados confiables (reproducibles) en el 48,4% de ellas en los procesos de Aspersión, PAD y PAN, por tanto, el método ELISA se considera una alternativa confiable y sencilla de análisis.

#### Conclusiones.

El método ELISA utilizado, demuestra ser una alternativa eficiente, rápida y económica ya que se logró reproducir los parámetros estandarizados por sus fabricantes para la determinación de la concentración de glifosato; así mismo, estos resultados son similares a los obtenidos por otros métodos y autores ya citados en este trabajo.

No obstante, teniendo en cuenta los trabajos previos, como el de Johnson et al. (2005), el glifosato puede permanecer prolongadamente en la ropa y piel de las personas, lo cual puede provocar enfermedades cutáneas y respiratorias; los mismos autores concluyeron que la exposición dérmica, en manos, guantes y calcetines de los trabajadores oscila entre 0,6 y 13,6 ml/h. Adicional una exposición potencial al líquido de pulverización por inhalación en el 85 % de las muestras, con rango de 7 a 37 mg/m³, lo cual infiere una alta exposición al glifosato.

Esto se refleja también en el estudio de Kumar et. al. (2014), cuyos resultados demuestran la capacidad de las muestras de aire ricas en glifosato y del glifosato puro, para inducir inflamación tipo 2 de las vías respiratorias, tanto en períodos de tiempo cortos como prolongados; y el de Morshed et. al. (2011), donde encontraron que la concentración más alta de glifosato (42,96 µg/m³) se midió en el aire en la zona de respiración del operador durante el período de aplicación de aspersión de 25 minutos. Por tanto, se debe tener cuidado con los procesos de aspersión y uso de glifosato, como también utilizar los equipos de protección personal específicos para cuidar la salud de las personas aplicadoras y otras expuestas.

# Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda a la población campesina y trabajadores agrícolas de Ciénega de Oro, que manipulan glifosato y otros plaguicidas, los siguientes puntos:

- Utilizar siempre los equipos de protección personal adecuados.
- Disminuir y controlar la aplicación de glifosato en el control de plagas y malezas en los cultivos de la zona.
- Las aplicaciones manuales de glifosato se deben hacer en la menor distancia posible del suelo, para evitar efectos negativos por la exposición del glifosato adsorbido en la ropa de los campesinos.
- Si la vegetación o campo a fumigar es alta, se recomienda la utilización de trajes antifluido y mascarillas de seguridad para evitar el contacto de la piel, ojos y vías respiratorias del glifosato y evitar posibles riesgos a la salud.
- Unir esfuerzos con los entes territoriales como Alcaldía o Gobernación, para adelantar campañas alternativas de manejo responsable de los cultivos, evitando la contaminación por la aplicación de agroquímicos, buscando una agricultura sustentable y amigable con el medio ambiente.

# Agradecimientos

Al doctor José Luis Marrugo Negrete por colaboración, conducción y ejecución de este trabajo. Al Grupo de Aguas, Química Aplicada y Ambiental, Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental, Montería, por la colaboración en el muestreo y análisis de las muestras por el método ELISA.

A Dios por permitirme culminar esta meta de crecimiento personal y profesional. Especialmente a mi madre por todo su apoyo y motivación a mis hermanos y amigos que estuvieron conmigo en este proceso motivándome y aconsejándome a seguir adelante

## Referencias

Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), Organización Mundial de la Salud. (2020). Evaluation of Five Organophosphate Insecticides and Herbicides.

- Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), Organización Mundial de la Salud. <a href="https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-volume-112-evaluation-of-five-organophosphate-insecticides-and-herbicides/">https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-volume-112-evaluation-of-five-organophosphate-insecticides-and-herbicides/</a>
- Bai SH, Ogbourne SM. (2016). Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. Environ Sci Pollut Res Int. Oct; 23(19):18988-9001. doi: 10.1007/s11356-016-7425-3. Epub 2016 Aug 19. PMID: 27541149.
- Bohórquez Vivas, D. (2020). Métodos analíticos para la determinación de Glifosato en matrices ambientales. <a href="https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77955">https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77955</a>
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018a). Registros de venta de plaguicidas químicos de uso agrícola. Recuperado de <a href="https://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Regulacion-y-Control-de-Plaguicidas-Quimicos/REGISTROS-DE-VENTA-FEB-28-2017.aspx">https://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Regulacion-y-Control-de-Plaguicidas-Quimicos/REGISTROS-DE-VENTA-FEB-28-2017.aspx</a>
- Johnson, DA Rimmer, Ani Garrod, JE Helps, C. Mawdsley, (2005). Exposición del operador al aplicar herbicidas de uso en vehículos todo terreno y aplicadores de gotitas controlados, The Annals of Occupational Hygiene, Volumen 49, Número 1, enero de 2005, páginas2532, https://doi.org/10.1093/annhyg/meh073
- Kumar, S., Khodoun, M., Kettleson, E. M., McKnight, C., Reponen, T., Grinshpun, S. A., & Adhikari, A. (2014). Glyphosate-rich air samples induce IL-33, TSLP and generate IL-dependent airway inflammation. Toxicology, 325, 42–51. https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.08.008
- Lamprea, Katerine & Ruban, Véronique. (2011). Characterization of atmospheric deposition and runoff water in a small suburban catchment. Environmental technology. 32. 1141-9.10.1080/09593330.2010.528045.
- Lavy, T. L., Cowell, J. E., Steinmetz, J. R., & Massey, J. H. (1992). Conifer seedling nursery worker exposure to glyphosate. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 22(1), 6–13. doi:10.1007/bf00213295 (Trabajo que se utilizó para la comparación de resultados.)

- Massaro, R., & García, A. (2017). Evaluación de la deriva en pulverización aérea y terrestre con plaguicidas en situación de barbecho. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Centro Regional Santa Fe Estación Experimental Agropecuaria INTA Oliveros.

  <a href="https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-ensayo-deriva-aerea-y-terrestre.pdf">https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-ensayo-deriva-aerea-y-terrestre.pdf</a>
- Morshed, Md. Mahbub et al. "Determinación de glifosato mediante métodos de muestreo pasivos y activos en atmósfera de campo tratada". Revista Africana de Investigación Agrícola 6 (2011): 4010-4018. DOI: 10.5897/AJAR11.533 (Trabajo que se utilizó para la comparación de resultados y generación de metodología)
- Nardo, D., Evia, G., Castiglioni, E., Egaña, E., Galietta, G., Laporta, M., & Núñez Chichet,
  M. E. (2015). Determinación de Glifosato mediante inmunoensayo enzimático
  (ELISA) en el Paisaje Protegido Laguna de Rocha y su entorno,
  Uruguay. INNOTEC, (10 ene-dic), 64–70. <a href="https://doi.org/10.26461/10.06">https://doi.org/10.26461/10.06</a>
- Organización Mundial de la Salud, OMS (2020). "Anexo B: Clasificación Toxicológica de los Plaguicidas," pp. 245–247, 2015. **ISBN:** 9789240016057. <a href="https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240005662">https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240005662</a>
- Paravani, Enrique V., Sasal, María C., Sione, Silvana M., Gabioud, Emmanuel A., Oszust, José D., Wilson, Marcelo G., Demonte, Luisina, & Repetti, María R.. (2016). Determinación de la concentración de glifosato en agua mediante la técnica de inmunoabsorción ligada a Enzimas (ELISA). Revista internacional de contaminación ambiental, 32(4), 399-406. <a href="https://doi.org/10.20937/rica.2016.32.04.03">https://doi.org/10.20937/rica.2016.32.04.03</a>
- Regino Bruno, J. (2021). Vocación agrícola, y conflictos por cambios en los usos del suelo en el municipio de Ciénaga de Oro Córdoba: una mirada desde la geografía rural. (https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/4280)

# 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



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.

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

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 mesuales 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 × 3 meses × 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, Albero, 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.

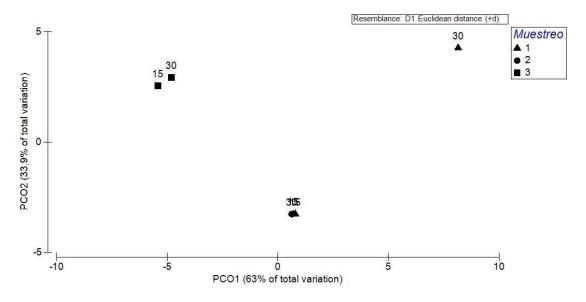
a) Posible degradación: cuando la concentración de un plaguicida a 30 cm fue menor con respecto a la encontrada a 15 cm de profundidad.

- 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

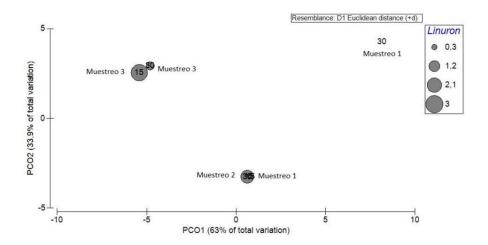
## Biocama finca A

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 (μg/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.

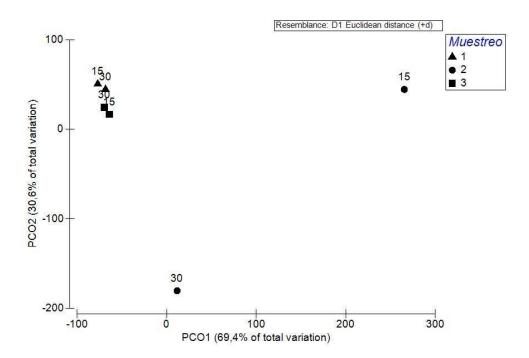
Biocamas	Muestreos	Profundidad				Concentr	aciones d	e plaguici	das detec	tados (µg	g/g peso hú	medo de	biomezcla	a)		
		(cm)	Azoxistrobina	Carbendazim	Clorotalonil	Cipermetrina	Clorpirifos	Flutolanil	Linuron	Malation	Imidacloprid	Metalaxil	Dimetoato	Tebuconazol	Tiametoxam	Trifloxistrobina
A	1	15						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
В	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	<u>.</u>		<u>,                                      </u>						<u>,</u>
C	1	15	5,6												0,42	
		30	3,3					<u>.</u>		<u>.</u>	<u>.</u>				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**).

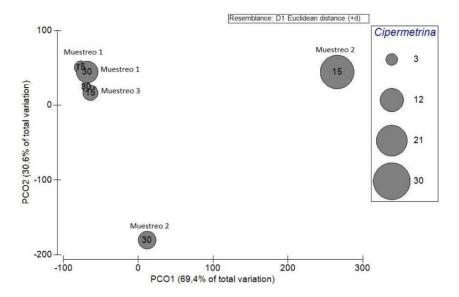


*Figura 3.* Análisis de coordenadas principales de los plaguicidas detectados en biomezcla de la biocama B a las profundidades de 15 y 30 cm en tres muestreos mensuales consecutivos. Fuente: Elaboración propia.

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.

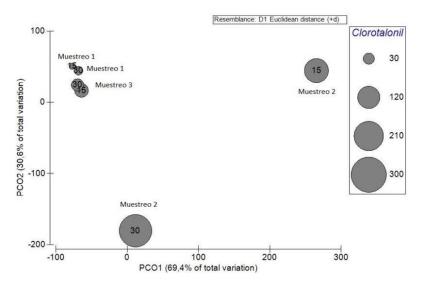


*Figura 4*. Concentración de cipermetrina (μg/g biomezcla) cuantificada en la biocama B a 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de cipermetrina detectada. Fuente: Elaboración propia.

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 µg/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.

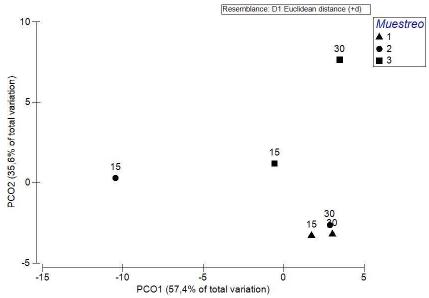


*Figura 5.* Concentración de clorotalonil (μg/g biomezcla) cuantificado en biomezcla de la biocama B a las profundidades de 15 y 30 cm. El diámetro de las burbujas es proporcional a la concentración de clorotalonil detectado. Fuente: Elaboración propia.

## Biocama C

El 50% de los plaguicidas cuantificados fueron fungicidas (azoxistrobina,

clorotalonil), 33% insecticidas (cipermetrina, clorpirifos y y tiametoxam) y 17% herbicidas

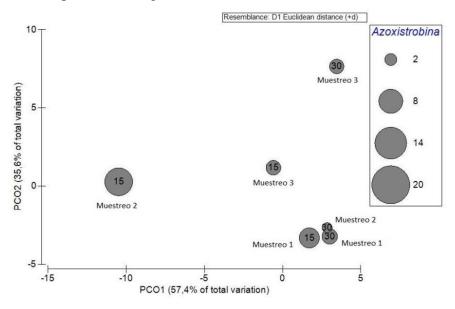


(linuron). El PCO indicó que se presentaron diferencias en el conjunto de plaguicidas detectados en la biomezcla tomada a 15 y 30 cm de profundidad en el segundo y tercer muestreo (mayor separación de los puntos en el plano multidimensional; **Figura 6**). Esta situación no ocurrió en el primer muestreo (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.

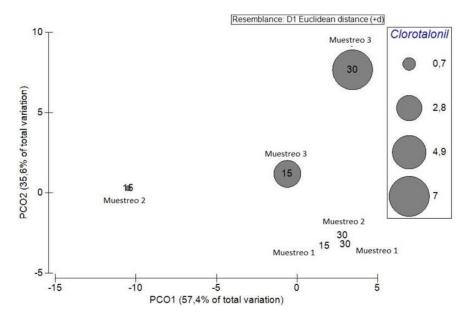
Al revisar el comportamiento de plaguicidas individuales, se observa que durante el primer muestreo hubo plaguicidas como azoxistrobina y tiametoxam cuyas concentraciones eran cerca del doble a 15 cm con respecto a 30 cm de profundidad en la biomezcla (**Tabla 2**), lo cual se consideró indicio de degradación. 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 (μg/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 (μg/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 Zarcero, 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. Enoviticultura, 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/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.; Giácoman-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 dela calidad ambiental en Zarcero, Alajuela. Proyecto Académico, Universidad Nacional. CostaRica.
- 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 lazona 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 Unidades 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.